

بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در پنیر پاستوریزه عرضه شده دو کارخانه تولیدکننده فرآوردهای لبنی در شهر تهران با روش الایزا

دکتر حمیدرضا توکلی^۱، دکتر مجید ریاضی پور^{۲*}، دکتر حسن رفعتی^۳، سیمین نقوی^۱، حسین رستمی^۱، دکتر مژگان سقازاده^۵

۱- گروه تغذیه، مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۲- مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۳- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۴- مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج) ۵- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

* نویسنده مسؤول: تهران، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین های میکروبی. تلفن: ۰۹۱۲۳۸۴۵۸۲۳

پست الکترونیک: mriazipour@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۳/۱۰ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲

چکیده

مقدمه: آفلاتوکسین M1 یکی از شایع ترین سموم قارچی است که غالباً در فرآوردهای شیری یافت می‌گردد و عوارض خطرناکی را به همراه دارد. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در پنیر پاستوریزه عرضه شده توسط دو کارخانه تولیدکننده فرآوردهای لبنی در شهر تهران می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی، ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه تولید شده توسط دو کارخانه مختلف در دو فصل تابستان و زمستان به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش ELISA از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری Man- withiney t-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: AFM1 در ۶۲٪ از نمونه‌های مورد آزمایش یافت شد و متوسط مقدار آفلاتوکسین ng/kg (۰/۹۰ ± ۰/۵۱) تعیین گردید. تنها ۶ نمونه (۹/۳٪ مواد مثبت) دارای آلودگی بیش از حد مجاز استاندارد ایران (۰/۰۰۰ ng/kg) بودند. میانگین AFM1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده در تابستان به طور معناداری (۰/۰۳٪) کمتر از نمونه‌های جمع‌آوری شده در زمستان بود.

نتیجه گیری: در صد قابل توجهی از پنیرهای تولید شده توسط کارخانجات مختلف در ایران دارای آلودگی به آفلاتوکسین M1 هستند که می‌تواند سلامت عموم جامعه را تهدید نماید. کنترل و نظارت بیشتر بر خوراک دام و شرکت‌های تولیدکننده این محصولات می‌تواند در کاهش میزان آلودگی فرآوردهای شیری به این مایکوتوكسین مؤثر باشد.

گل واژگان: آفلاتوکسین M1، پنیر پاستوریزه، فرآورده‌های لبنی، ELISA

مقدمه

انسان به طور غیر مستقیم با مصرف فرآوردهای دامی به ویژه فرآوردهای شیری مانند پنیر در معرض عوارض آفلاتوکسین‌ها قرار می‌گیرد. این سموم عوارض خطرناکی همچون مسمومیت مزمن، سرطان‌زاوی و ناقص‌الخلقه‌زاوی را به دنبال دارند (۵). علی‌رغم اینکه سمیت آفلاتوکسین M1 به مراتب کمتر از آفلاتوکسین B1 است، ولی با توجه به جمیعت مصرف کننده مواد لبنی این موضوع از اهمیت زیادی برخوردار است (۵ و ۶). در ایران مطالعات متعددی در مورد اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها در محصولات لبنی مانند شیر و پنیر انجام شده است که از آن

آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از مایکوتوكسین‌ها هستند که به دنبال رشد برخی از گونه‌های آسپرژیلوس نظیر آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در مواد غذایی به ویژه در حبوبات و غلات تولید می‌شوند. گونه‌های آسپرژیلوس انواع آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1، G2 را تولید می‌کنند که در بین آنها B1 از سمی‌ترین بروخوردار است و بیش از سایر انواع آفلاتوکسین در غذا و علوفه کپک‌زده یافت می‌شود (۱ و ۲). پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و فرآوری شیر تأثیری بر کاهش سمیت و بقای آفلاتوکسین M1 ندارد (۳ و ۴). بنابراین

صورت تصادفی و در چندین نوبت با فاصله زمانی یک ماه و از تولیدات مختلف این دو کارخانه در دو فصل مختلف جمجمه اوری گردید. پس از نمونه برداری و انتقال آنها به آزمایشگاه، مراحل آماده سازی و اندازه گیری مقدار AFM1 در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پزشکی به شرح زیر انجام پذیرفت:

۵۰ گرم از هر نمونه پنیر، بدون افزودن آب، کاملاً مخلوط و یکنواخت گردید. سپس ۲ گرم از آن (که با استفاده از ترازوی ۵۰ دیجیتال اندازه گیری شده بود) در داخل لوله فالکون میلی لیتری قرار گرفته و برای عصاره گیری بکار رفت. طبق دستورالعمل کیت الایزا که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت، به منظور استخراج سم آفلاتوکسین M1 از نمونه های پنیر، عصاره گیری با استفاده از حلال دی کلرو متان خالص ۲ گرم از نمونه پنیر، ۴۰ میلی لیتر حلال اضافه می گردید و با استفاده از همزن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه مخلوط می شد. سپس لوله فالکون به مدت ۱۵ دقیقه به طور ثابت قرار می گرفت تا حلال در زیر و مواد شناور در سطح آن قرار گیرد. با کنار زدن لایه رویی، ۱۰ میلی لیتر از لایه زیرین با استفاده از پی پت برداشت و به لوله فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل می شد و به منظور تبخیر حلال به مدت یک شب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. روز بعد به لوله فالکون حاوی ۰/۵ باقی مانده روغنی شکل مقدار ۰/۵ میلی لیتر مтанول، (مرک، آلمان) اضافه و کاملاً مخلوط می شد. سپس محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۷۰۰ g ۲۷۰۰ سانتریفیوژ و لایه رویی آن (ان هپتان) دور ریخته می شد. سپس صد میکرو لیتر از لایه مтанول - آبی زیرین با ۴۰۰ میکرو لیتر از بافر شماره ۱ تعییه شده در کیت، مخلوط شده (با نسبت ۱ به ۵) و صد میکرو لیتر از آن برای انجام الایزا استفاده می گردید. برای اندازه گیری آفلاتوکسین موجود در نمونه ها از یک روش الایزای رقابتی استفاده گردید. برای این کار کیت RIDASCREEN® Aflatoxin M1 ۳۰/۱۵ R-Biopharm آلمان (Art. No.: R1111) تهیه و مراحل زیر طبق دستورالعمل ضمیمه شده در کیت انجام پذیرفت:

- ۱- به تعداد کافی و مورد نیاز چاهک کیت از بسته بندی خارج و در قالب مربوطه قرار گرفت. ۲- سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول حاصل از عصاره گیری پنیر در چاهک قرار گرفت.
- ۳- از استانداردهای شماره ۱ تا ۶ به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر داخل چاهک ها ریخته شد. ۴- پلیت به آرامی مخلوط و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد) در تاریکی قرار

جمله می توان به مطالعه تاج کریمی و همکاران (۱۳۸۶) بر روی آلودگی فصلی AFM1 در شیر پنچ منطقه ایران و مطالعه کامکار و همکاران (۱۳۸۵) بر روی آلودگی پنیرهای سفید به AFM1 اشاره نمود (۱ و ۳). کریم و همکاران (۱۳۸۷) با استفاده از روش HPLC سطوحی از آلودگی به آفلاتوکسین M1 را در آب پنیر، کشک و پنیر نشان دادند (۷) و فلاح و همکاران نیز (۱۳۸۸) با استفاده از روش ELISA وجود آفلاتوکسین M1 در دو نوع پنیر سفید و پنیر خامهای را به ترتیب به میزان ۱/۰۰ و ۷۲/۳ درصد گزارش نمودند (۸). رحیمی و همکاران (۱۳۸۸) نیز آلودگی پنیر سنتی اصفهان به AFM1 را نشان دادند.

تمام کشورهای پیشرفته و بسیاری از کشورهای در حال توسعه از جمله ایران دارای مقررات مربوط به حد مجاز AFM1 هستند ولی متأسفانه در کشور ما مقررات مربوط به کترل مایکوتوكسین ها در محصولات لبنی اجرا نمی گردد و لذا نتایج این قبیل مطالعات می توانند موجب جلب توجه مسؤولین مربوطه به اجرای این مقررات شود (۹). در بسیاری از کشورهای جهان به منظور آگاهی از میزان آلودگی فرآوردهای لبنی مصرفی به AFM1 و اطمینان از سلامت این محصولات مطالعات فراوانی انجام گرفته که نتایج آنها نشان می دهد در برخی از این کشورها آلودگی به عنوان یک مشکل بهداشتی مطرح است و سلامت مردم جامعه را تهدید می کند. به عنوان مثال Aycicek و همکاران (۲۰۰۴) مقدار آفلاتوکسین M1 را در محصولات لبنی ترکیه تعیین نمودند. این مطالعه بر روی ۱۴۳ نمونه پنیر پاستوریزه (شامل ۴۹ نمونه پنیر خامهای و ۹۴ نمونه پنیر سفید)، ۵۳۰ نمونه پنیر محلی و ۲۷ نمونه کره انجام شد که حد مجاز را نشان دادند (۱۰).

با توجه به اینکه بیشترین محصولات لبنی مصرفی مردم ایران توسط چند کارخانه خاص به ویژه دو کارخانه مشهور بررسی شده در این تحقیق تولید و عرضه می گردد، در این مطالعه پنیر AFM1 مورد بررسی شده توسط این دو کارخانه از نظر آلودگی به این مطالعه اولًا اطلاع از وضعیت آلودگی این ماده غذایی پر مصرف در شهر تهران و ثانیاً ارزیابی روش الایزا در تشخیص آفلاتوکسین M1 در محصولات لبنی مانند پنیر بوده است.

روش کار

در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه تولید شده توسط دو کارخانه تولید کننده فرآورده های لبنی در شهر تهران در دو فصل تابستان و زمستان (۵۰ نمونه در هر فصل) به

واکنش ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه و مخلوط گردید. ۱۰- پس از ۱۵ دقیقه، میزان جذب حفرات در طول موج ۴۵۰ نانومتر در مقابل بلانک هوا قراتت گردید. ۱۱- نهایتاً با رسم منحنی استاندارد و اعمال ضربی رقت، مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های مجھول محاسبه گشت.

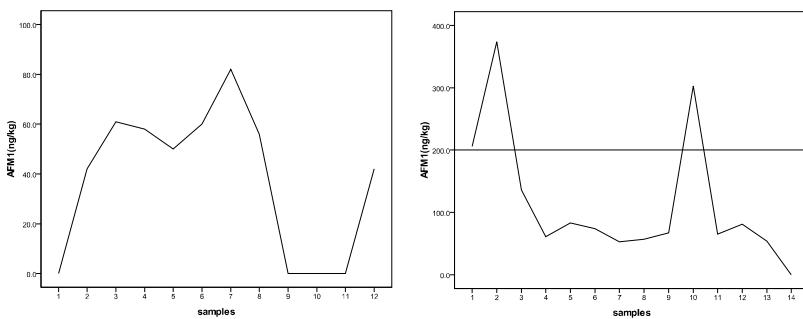
نتایج

نتایج مربوط به مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده بر حسب فصل و شرکت تولیدکننده محصول در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.

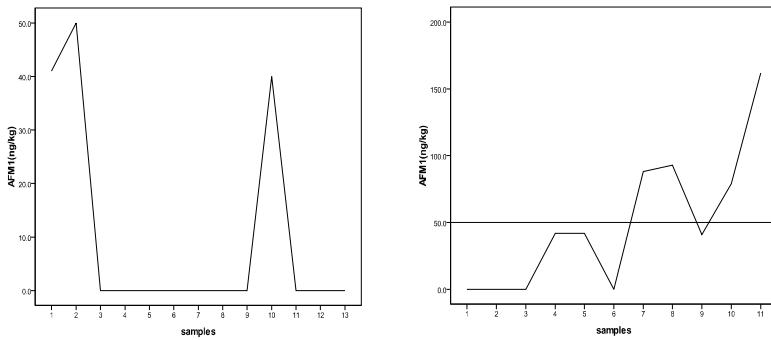
گرفت. ۵- مایع موجود در حفرات تخلیه و سپس داخل آنها سه بار با بافر شستشوی تعییه شده در کیت شستشو گردید. ۶- سپس ۱۰۰ میکرولیتر از ماده کونژوگه آنزیمی که به نسبت ۱ به ۱۱ در بافر شماره ۲ رقیق شده بود، به هر یک از حفره‌ها اضافه و پس از مخلوط نمودن، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی قرار گرفت. ۷- مجدداً مایع موجود در حفرات تخلیه و داخل آنها سه بار با بافر شستشوی تعییه شده در کیت شستشو گردید. ۸- سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای کروموزن اضافه و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی در دمای محیط گرمخانه‌گذاری گردید. ۹- برای ختم

جدول ۱- مقایسه مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر مورد آزمایش (ng/kg) بر حسب فصل و کارخانه تولیدکننده

نام کارخانه	تعداد نمونه	متوسط مقدار AFM1 در نمونه‌های تابستان	متوسط مقدار AFM1 در نمونه‌های زمستان	میانگین
کارخانه A	۵۰	۱۱۵/۵۰ ($\pm 10/۲۲$)	۳۷/۸۰ ($\pm 29/۷۸$)	۷۶/۵۸ ($\pm 67/۹۸$)
کارخانه B	۵۰	۵۰/۰۴ ($\pm 42/۱۰$)	۱۰/۳۳ ($\pm 19/۵۶$)	۳۰/۱۳ ($\pm 35/۸۲$)
میانگین (جمع)	۱۰۰	۸۲/۷۷ ($\pm 74/۱۶$)	۲۴/۰۱ ($\pm 24/۶۵$)	۵۳/۳۹ ($\pm 51/۹۰$)



نمودار ۱- مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده (تابستان سمت چپ و زمستان سمت راست) شرکت A (ng/kg)



نمودار ۲- مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده (تابستان سمت چپ و زمستان سمت راست) شرکت B (ng/kg)

توسط این دو کارخانه معنادار بوده است ($p<0.05$). همچنین ۶ نمونه ($9/۳$ % موارد مثبت) دارای آلودگی بیش از حد استاندارد تشخیص داده شد که هر ۴ نمونه مربوط به فصل زمستان بود. از نظر فصلی از ۵۰ نمونه گرفته شده در فصل تابستان در ۲۲ نمونه (44%) و از ۵۰ نمونه گرفته شده در فصل زمستان در ۴۰ نمونه (80%) آلودگی به AFM1 تأیید گردید و از نظر مقدار AFM1، غلظت آفلاتوکسین در نمونه‌های زمستان نزدیک

در این مطالعه در ۶۲٪ از نمونه‌های مورد آزمایش، وجود AFM1 تأیید گردید و متوجه مقدار آفلاتوکسین M1 در ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه آزمایش شده، ($53/39 \pm 51/90$ ng/kg) در کیلوگرم تعیین گردید. بدین صورت که متوجه مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر شرکت‌های A و B به ترتیب ($76/98 \pm 67/98$) و ($30/13 \pm 30/83$) ng/kg در کیلوگرم تعیین گردید و اختلاف مقدار AFM1 در پنیر تولید شده

نمونه‌های مربوط به فصل زمستان به طور معناداری بیش از نمونه‌های تولیدشده در فصل تابستان بود (نمودار ۱ و ۲). نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام شده توسط فلاخ و همکاران و کریم و همکاران (۸ و ۷) که بر روی پنیرهای سفید و خامه‌ای ایران انجام گردید همخوانی و مطابقت دارد. در این مطالعات نیز آلودگی فرآورده‌های لبنی به ویژه انواع پنیر عرضه شده در بازار به AFM1 مورد تأیید قرار گرفته است و همچون مطالعه حاضر برای بررسی آلودگی به AFM1 از روش ELISA استفاده گردید که نشان می‌دهد این روش از روش‌های معتبر در تأیید آلودگی به آفلاتوکسین است. فلاخ و همکاران ۲۱۰ نمونه پنیر شامل ۱۱۶ نمونه پنیر سفید و ۹۴ نمونه پنیر خامه‌ای عرضه شده در استان‌های اصفهان و بزد را با تکنیک ELISA بررسی نمودند که در ۱۶۱ نمونه (۱۸۰/۱) نمونه‌های پنیر سفید و ۷۲/۳٪ نمونه‌های پنیر خامه‌ای وجود مقادیر بیش از ۲۰۰ نانوگرم در کیلوگرم تأیید گردید و غلظت AFM1 در ۲۴/۲٪ نمونه‌ها بیش از حد استاندارد بوده است (۸) در این مطالعات نیز همچون مطالعه کامکار (۳) میزان آلودگی بیش از مطالعه ما بوده است. همچنین در مطالعه ما تعداد و درصد موارد آلودگی بیش از حد استاندارد (۹/۳٪) کمتر از مطالعه فوق می‌باشد. رحیمی و همکاران نیز ۸۸ نمونه پنیر سنتی را بررسی نمودند که در ۴۷ نمونه (۵۳/۴٪) وجود آفلاتوکسین M1 با غلظت ۱۲۵۴-۸۲ نانوگرم در کیلوگرم تأیید گردید که درصد آلودگی نمونه‌های مورد آزمایش در این مطالعه تقریباً با درصد آلودگی نمونه‌های مطالعه ما مطابقت می‌نماید (۹). در این مطالعه نیز همچون مطالعه حاضر اختلاف آلودگی در نمونه‌های مربوط به فصول تابستان و زمستان معنادار بوده است به طوری که اختلاف مقدار آلودگی به AFM1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان به طور معناداری بیش از حد مقدار آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل تابستان ($p < 0.005$) بوده است. نتایج سایر مطالعات انجام شده در داخل کشور مانند مطالعات تاج کریمی و همکاران (۱۳۸۶) و کریم و همکاران (۱۳۸۷) نیز آلودگی بالای شیر و انواع فرآورده‌های لبنی مانند پنیر، کشک و آب پنیر به AFM1 را تأیید می‌نماید (۱ و ۷).

در مطالعات انجام شده در سایر کشورها نیز آلودگی انواع پنیرهای مصرفی به AFM1 مورد تأیید قرار گرفته است. به عنوان مثال Elgerbi در لیبی (۲۰۰۴) وجود AFM1 در ۷۵٪ از نمونه‌های پنیر سفید نرم با میانگین ۵۲۰-۱۱۰ نانوگرم در کیلوگرم را تأیید نمود (۱۱). در آلمان kiermeier و همکاران ۱۹۷ نمونه پنیر پاستوریزه مورد آزمایش قرار دادند و در

به چهار برابر مقدار آن در نمونه‌های مربوط به فصل تابستان بوده است (جدول ۱) که از نظر آماری این اختلافات معنادار است ($p < 0.05$). همچنین متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر شرکت A در دو فصل تابستان و زمستان به ترتیب ($\pm ۲۹/۷۵$ و $\pm ۳۷/۸۰$) و ($\pm ۱۰۶/۲۲$ و $\pm ۱۱۵/۵۰$) نانوگرم در کیلوگرم و در نمونه‌های شرکت B در این دو فصل به ترتیب ($\pm ۱۹/۵۶$ و $\pm ۱۰/۲۳$) و ($\pm ۵۲/۱۰$ و $\pm ۵۰/۰۴$) نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید که این اختلاف در مورد نمونه‌های هر دو شرکت از نظر فصلی معنادار بوده است ($p < 0.05$).

نتایج این مطالعه نشان داد مقدار AFM1 در نمونه‌های تولید و عرضه شده توسط کارخانه A (هم نمونه‌های گرفته شده در تابستان و هم نمونه‌های گرفته شده در زمستان) به طور معناداری بیش از مقدار AFM1 نمونه‌های تولید و عرضه شده توسط کارخانه B می‌باشد (نمودار ۱ و ۲).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که ۶۲٪ از نمونه‌های پنیر عرضه شده توسط دو کارخانه تولید کننده محصولات لبنی به مقادیری از AFM1 آلوده هستند و در ۶ نمونه (۹/۳٪ موارد مثبت) آلودگی بیش از حد استاندارد (200 ng/kg) بوده است. متوسط میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه پنیر $53/39$ نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید که نشان دهنده آلوده بودن شیر اولیه مورد استفاده کارخانجات فوق برای تهیه این فرآورده لبنی است. در مطالعه‌ای که توسط کامکار و همکاران (۱۳۸۵) بر روی میزان آفلاتوکسین M1 موجود در پنیرهای سفید عرضه شده توسط کارخانجات مختلف در استان تهران انجام گرفت، از ۸۰ نمونه مورد بررسی، وجود AFM1 در $83/3$ ٪ نمونه‌ها مورد تأیید قرار گرفت که در مقایسه با نتایج مطالعه ما میزان آلودگی بیشتر بوده است (۳). در آن مطالعه محدوده مقادیر آلودگی در ماههای مختلف سال متفاوت بوده است به طوری که بالاترین میانگین AFM1 در نمونه‌های ماه اسفند (291 نانوگرم در کیلوگرم) و پایین‌ترین میانگین AFM1 در نمونه‌های شهریورماه (177 نانوگرم در کیلوگرم) تعیین گردید و نشان داده شد که میانگین توکسین در نمونه‌های پنیر جمع‌آوری شده در فصول بهار و تابستان به طور معناداری پایین‌تر از نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصول پاییز و زمستان می‌باشد. در مطالعه ما نیز میزان آلودگی به AFM1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان و تابستان به ترتیب $24/01$ و $82/77$ ng/kg تعیین گردید و در مورد نمونه‌های هر دو کارخانه مقدار AFM1 در

این موضوع به دلیل توجه بیشتر مسؤولین بهداشتی به این امر بوده است. با این وجود با توجه به نتایج مطالعات انجام شده در کشور در زمینه آلوودگی فرآورده‌های لبنی به AFM1 به ویژه نتایج حاصل از مطالعه اخیر می‌توان ادعا نمود که وضعیت آلوودگی پنیر به آفلاتوکسین در ایران نامطلوب بوده و با توجه به عوارض حاصل از این سم قارچی (سمومیت مژمن، سرطان‌زاپی و ناقص‌الخلقه‌زاپی) بایستی اقدامات مؤثری برای کنترل آلوودگی به میزان AFM1 در محصولات لبنی صورت پذیرد. پیشنهادات زیر می‌تواند در کاهش آلوودگی فرآورده‌های شیری به ویژه پنیر مؤثر واقع گردد.

۱- کنترل جبره غذایی دام‌های شیری: کنترل آلوودگی جیره غذایی و مواد مصرفی دام‌های شیری و دادن غذای سالم به آنها، می‌تواند در تولید شیرهای فاقد سم، یا شیرهای دارای حداقل آلوودگی بسیار مؤثر باشد. مواد غذایی مورد مصرف دام‌ها (مخصوصاً دام‌های شیری) بایستی از نظر آلوودگی‌های آفلاتوکسین (به خصوص AFB1) مورد بررسی قرار گرفته و در صورت آلووده بودن از گردونه مصرف خارج گردد (۲۳). علوفه مصرفی دام‌ها بایستی در شرایط خشک و خنک نگهداری گرددند زیرا مقدار این سم در شیر و پنیر... بستگی به مقدار سم در علوفه دارد.

۲- آموزش: آموزش دامداران به منظور عدم استفاده از علوفه مانده و کپک زده در تقدیم دام‌های شیری و کنترل و نظارت بیشتر بر مراکز دریافت شیر خام و کارخانه‌های تولیدکننده محصولات لبنی به منظور عدم استفاده از شیر دارای آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز نیز می‌تواند در کنترل آلوودگی فرآورده‌های لبنی مؤثر واقع گردد.

۳- کنترل و نظارت کارخانه‌های تولیدکننده محصولات لبنی: کنترل منظم این کارخانجات همراه با نمونه‌گیری تصادفی از محصولات عرضه شده توسط آنها در بازار از نظر آلوودگی به AFM1 منجر به دقت بیشتر تولیدکنندگان و آلوودگی کمتر محصولات لبنی به این توکسین خواهد شد (۲۱ و ۲۲).

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله وظیفه خود می‌دانند از معاونت فن‌آوری تحقیقات و به ویژه از مرکز تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) برای تصویب و حمایت مالی این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی نمایند.

نمونه (٪۶۹) آلوودگی به AFM1 را مورد تأیید قرار دادند (۱۲) و در بربزیل Prado و همکاران (۲۰۰۰) با بررسی ۷۵ نمونه پنیر جمع‌آوری شده از منطقه Minas Gerais، آلوودگی در ٪۷۴/۷ از نمونه‌ها با غلظت ۶۹۲–۲۰۰ نانوگرم در کیلوگرم را ثابت نمودند (۱۳). میزان آلوودگی و غلظت آفلاتوکسین در پنیرهای مورد بررسی در این مطالعات بیشتر از میزان آلوودگی پنیرهای مورد بررسی در مطالعه ما بوده است که نشان می‌دهد این مشکل تنها به کشور ما محدود نمی‌شود و حتی در کشورهای پیش‌رفته‌ای چون آلمان هم این مشکل بهداشتی وجود دارد. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام شده در کشورهایی چون ایتالیا، اسلوونی، ترکیه و نیجریه نشان از آلوودگی بیشتر پنیرهای مصرفی در کشور ما دارد زیرا بر اساس مطالعه Finoli و همکاران (۱۹۹۶)، Barbieri و همکاران (۱۹۹۴) و Montagna و همکاران (۲۰۰۸) در ایتالیا، همکاران (۱۹۹۸) و Cirilli در ایالت Barbierی (۱۹۹۴) و همکاران (۲۰۰۸) در ایالت Montagna (۱۹۹۸) در اسلوونی نیز نشان دادند که تهه در ۱۵٪ درصد آلوودگی نمونه‌های پنیر آزمایش شده در این کشور به ترتیب ۸، ۹، ۱۸/۲، ۹٪ ۱۶/۶٪ بوده است (۱۴–۱۷). Tokar و Vengust از نمونه‌های مورد آزمایش آلوودگی به AFM1 وجود داشته است و Gurbay و همکاران (۲۰۰۶) در ترکیه میزان آلوودگی به AFM1 در ۲۸/۲٪ از نمونه‌های مورد مطالعه را تأیید نمودند (۱۸) و Atanda و همکاران (۲۰۰۷) در نیجریه که بر روی نوعی پنیر محلی در ایالات ogun نیجریه انجام شد نتایج مشابهی را به دست آمدند است (۲۰). اگرچه درصد آلوودگی به AFM1 در این کشورها پایین‌تر از کشور ما است با این وجود نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که موضوع آلوودگی به AFM1 یک مشکل بهداشتی در بسیاری از کشورهای جهان است و آلوودگی شیر و فرآورده‌های آن به آفلاتوکسین M1 که جزء پرمصرف‌ترین مواد غذایی بوده و مصرف آنها توسط متخصصین تغذیه تأکید گردیده است، می‌تواند بهداشت و سلامت مصرف‌کنندگان خصوصاً کودکان، سالمدان و بیماران را به خطر بیندازد. مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نیز تأییدکننده این موضوع است و نشان می‌دهد که شیرهای پاستوریزه، شیرهای استریلیزه شده با دمای بالا و نیز پنیرهای سفید تولید شده در ایران دارای آلوودگی به آفلاتوکسین M1 هستند (۲۱ و ۲۲).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد درصد آلوودگی فرآورده‌های لبنی (به ویژه پنیر) به آفلاتوکسین M1 نسبت به سال‌های گذشته در کشور به میزان قابل توجهی کاهش یافته است که

References

- 1- Tajkarimi M, Shojaee Aliabadi F, Salah Nejad M, Pursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran. *Int J Food Microbiol* 2007;116(3):346-9.
- 2- Zinedine A, Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Moltó JC, Idrissia L, Mañesb J. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *Int J Food Microbiol* 2007;114(1):9-25.
- 3- Kamkar A, Jahed Khaniki Gh, Bokai S, Hosseini H. Aflatoxin M1 and Iranian white cheese. *Journal of Faculty of Veterinary, Tehran University*. 2006;61(3):201-6.
- 4- Muscarella M, Lo Magro S, Palermo C, Centonze D. Validation according to European Commission Decision 2002/657/EC of a confirmatory method for aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Chim Acta* 2007;594(2):257-64.
- 5- Polychronaki N, West RM, Turner PC, Amra H, Abdel-Wahhab M, Mykkänen H, et al. A longitudinal assessment of aflatoxin M1 excretion in breast milk of selected Egyptian mothers. *Food Chem Toxicol* 2007;45(7):1210-5.
- 6- Fallah AA. Aflatoxin m1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. *Food control* 2010;21(11):1478-81.
- 7- Karim G, Kamkar A, Aliabadi FS, Khaksar R. Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing. *Food Chem Toxicol* 2008;46(6):2236-38.
- 8- Fallah AA, Jafari T, Fallah A, Rahnama M. Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food Chem Toxicol* 2009;47(8):1872-5.
- 9- Rahimi E, Karim G, Shakerian A. Occurrence of aflatoxin M1 in traditional cheese consumed in Esfahan, Iran. *World Mycotoxin Journal* 2009;2(1):91-4.
- 10- Aycicek H, Yarsan E, Sarimehmetoglu B, Cakmak O. Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey. *Vet Hum Toxicol* 2002;44(5):295-6.
- 11- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit Contam* 2004;21(6):592-7.
- 12- Kiermeier F, Weiß G, Behringer G, Miller M. On the presence and the content of aflatoxin M in commercial cheese samples. *Z Lebensm Unters Forsch* 1977;163(4):268-71. (Article in German)
- 13- Prado G, Oliveira MS, Pereira ML, Abrantes FM, Santos LG, Veloso T. Aflatoxin M1 in samples of "Minas" cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2000;20(3):398-400.
- 14- Finoli CA, Bellavita VM, Cerruti G. Sulla Presenza di aflatossina M1 in Latte a derivati. *Ltte Latticini conserve Anim* 1996;8(9):611-25.
- 15- Barbieri G, Bergamini C, Ori E, Resca P. Aflatoxin M1 in Par-meson cheese HPLC determination. *J Food Sci* 1994;59(6):1313-31.
- 16- Cirilli G, Aldana G, Cirilli GS. Contamination of dairy product by hydroxy aflatoxins. *Microbiol Aimenta Nutr* 1988;6:217-9.
- 17- Montagna MT, Napoli C, De Giglio O, Iatta R, Barbuti G. Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in southern Italy. *Int J Mol Sci* 2008(9):2614-21.
- 18- Tokar KG, Vengust A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control* 2008;19:570-7.
- 19- Gurbay A, Engin AB, Caglayan A, Shahin G. Aflatoxin M1 levels in commonly consumed cheese and yogurt samples in Ankara, Turkey. *Ecology of Food and Nutrition* 2006;45(6):449-59.
- 20- Atanda OO, Oguntubo A, Adejumo O, Ikeorah H, Akpan I. Aflatoxin M1 contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere* 2007;68:1455-8.
- 21- el-Nezami HS, Nicoletti G, Neal GE, Donohue DC, Ahokas JT. Aflatoxin M1 in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol* 1993;33(3):173-9.
- 22- Fallah AA. Assessment of aflatoxin m1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food chem Toxicol* 2010;48(3):1872-5.
- 23- Imtiaz H, Anwar J, Rafiq Asi M, Munawara MA, Kashif M. Aflatoxin m1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food control* 2010;21(2):122-4.

Aflatoxin M1 Contamination of Pasteurized Cheese Produced by Two Dairy Factories in Tehran, Assessed by ELISA Technique

Tavakoli HR¹ (PhD), Riaziour M^{*2} (PhD), Rafati H^{3,4} (PhD), Naghavi S¹ (BS), Rostami H¹ (BS), Saghazadeh M⁵ (PhD)

¹Department of Nutrition, Health Research Center,

Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Therapeutic Microbial Toxin Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Statistics and Epidemiology, School of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences ⁴Trauma Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Qom Branch, Iran

Received: 31 May 2010, Accepted: 22 Dec 2010

Abstract

Introduction: Aflatoxin M1 (AFM1) is one of the most common mycotoxins that can often be found in dairy products and has some serious complications. The aim of this study is to assess AFM1 contamination of pasteurized cheese produced by two dairy factories in Tehran.

Methods: In this cross-sectional study, 100 samples of pasteurized cheese produced by two factories were gathered in both winter and summer seasons and examined by ELISA technique for AFM1 contamination. Data were analyzed by SPSS using T-test and Man-withney statistical tests.

Results: AFM1 was found in 62% of examined samples. The average contamination level was 53.39 (± 51.90) ng/kg. AFM1 contamination of six samples (9.3% of positive cases) exceeded Iran's standard level (200 ng/kg). Mean contamination of AFM1 in summer cheese samples was significantly lower than winter samples ($p < 0.03$).

Conclusion: The finding of this study showed that produced cheese in Iran have high contamination of AFM1 which can threaten public health. Better control of animal feeding and dairy factories can reduce AFM1 contamination in dairy products.

Key words: Aflatoxin M1; Pasteurized Cheese; Dairy Products; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Hakim Research Journal 2011; 13(4): 219- 225.

*Corresponding Author: Therapeutic Microbial Toxins Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Mollasadra St, Tehran, Iran. Tel: +98- 912- 3845823, Email: mriazipour@yahoo.com

زمستان ۸۹ دوره سیزدهم، شماره چهارم