

## ORIGINAL ARTICLE

# **Determination of Aflatoxin M1 in Milk Processed in Mazandaran Dairy Factories, 2011**

Mohammad Gholi pour<sup>1</sup>,  
Laleh Karimzadeh<sup>1</sup>,  
Faramarz Ali Nia<sup>2</sup>,  
ZeinolAbedin Babaee<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Iranian Researches Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

(Received October 31, 2011 ; Accepted September 18, 2012)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Aflatoxin B1 is the most important poison of aflatoxins that contaminates animal foods by mold and is transformed to type M1 in kidney and liver. After some chemical reactions they are transmitted to human body by consuming the contaminated milk.

**Materials and methods:** In this study, 75 samples of pasteurized milk were collected from Mazandaran dairy factories during spring and summer in 2011 and amount of aflatoxin M1 was measured by ELISA method. Statistical tests were used to analyze the data.

**Results:** Aflatoxin M1 in 4% of the samples (3.75) was very low to be detected and in 37.3% of the samples (27.75) concentration of aflatoxin M1 was less than the limits permitted by Codex. However, 62.67% samples (47.75) had a contamination of aflatoxin M1 higher than Codex threshold level, among which 12% (9.75) had even higher concentrations permitted by The Institute of Standards & Industrial Research of Iran. The mean concentration of aflatoxin was 63.84 ng.L. The highest amount was observed in factory NO.21 (97.55 ng/l). No significant relation was seen between seasons and the amount of aflatoxin.

**Conclusion:** Due to high level of contamination observed in samples, regular monitoring of contamination in milk samples and controlling of most contaminating causes are necessary

**Keywords:** Aflatoxin M1, milk, ELISA

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(93): 39-46 (Persian).

## اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات استان مازندران در نیمه اول سال ۱۳۹۰

محمد قلی پور<sup>۱</sup>  
لاله کریم زاده<sup>۱</sup>  
فرامرز علی نیا<sup>۲</sup>  
زین العابدین بابائی<sup>۱</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** آفلاتوکسین B1 سمی ترین نوع آفلاتوکسین می‌باشد که در خوراک دام در اثر رشد قارچ‌ها تولید می‌شود و از طریق خوراک دام وارد بدن دام شده، در کبد و کلیه پس از فعل و انفعالات شیمیایی و هیدروکسیلasiون به آفلاتوکسین M1 تبدیل و از طریق شیر وارد بدن انسان می‌شود.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه حاضر ۷۵ نمونه شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات استان مازندران در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ از نظر آفلاتوکسین M1 به روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری استفاده شد.

**یافته‌ها:** از ۷۵ نمونه مورد بررسی، در ۴ درصد نمونه‌ها (۳/۷۵) میزان آفلاتوکسین پایین‌تر از حد شناسایی دستگاه بود. در حالی که در ۳/۳۷ درصد نمونه‌ها (۲۷/۷۵) غلظت آفلاتوکسین M1 در حد مجاز تعیین شده کمیته اروپایی و غذایی کودکس بود. از طرفی ۶۲/۶۷ درصد نمونه‌ها (۴۷/۷۵) دارای غلظت آفلاتوکسین M1 بالاتر از حد تعیین شده توسط کمیته اروپایی و غذایی کودکس بودند و ۱۲ درصد نمونه‌ها (۹/۷۵) دارای غلظت آفلاتوکسین M1 بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بوده‌اند. بالاترین میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده مربوط به کارخانه شماره ۲۱ می‌باشد (۹۷/۵۵ نانوگرم در لیتر). همچنین میانگین آفلاتوکسین در کل نمونه‌های مثبت ۶۳/۸۴ نانوگرم در لیتر بود. تفاوت معنی داری بین میانگین آفلاتوکسین M1 در فصل بهار و تابستان وجود نداشت.

**استنتاج:** با توجه به شیوع بالای آلودگی، پایش منظم شیر تولیدی و کنترل علل اصلی آلودگی ضروری به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** شیر پاستوریزه، آفلاتوکسین M1، الایزا

### مقدمه

فلاؤوس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می‌شود<sup>(۱)</sup>.  
مطالعات مختلف ارتباط خطی بین مقدار آفلاتوکسین M1 موجود در شیر گاو و میزان

آفلاتوکسین M1 عامل سرطان کبد می‌باشد و در شیر حیواناتی که با خوراک دام آلوده به آفلاتوکسین B1 تغذیه می‌شوند، دیده می‌شود آفلاتوکسین B1 توسط قارچ جنس آسپرژیلوس، خصوصاً آسپرژیلوس

**مؤلف مسئول: لاله کریم زاده** - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران معاونت غذا و دارو، آزمایشگاه کنترل مواد غذایی

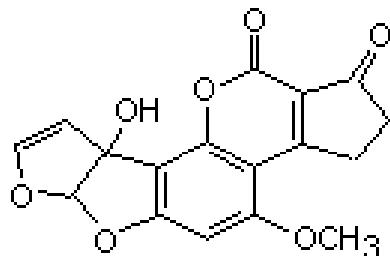
۱. دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دکرای حشره شناسی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۲/۳ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۶/۲۸

روزانه بیش از ۱۸۰۰ تن اعلام می‌کنند که ما به التفاوت این دو به صورت سنتی مصرف می‌شود و یا این که به مصرف صنایع خارج از استان می‌رسد<sup>(۱۰)</sup> لازم به ذکر است که آفلاتوکسین M1 می‌تواند درجه حرارت پاستوریزاسیون تا دمای ۶۴ درجه سانتی گراد را تحمل کند و حتی به مدت ۲ ساعت در شرایط اتوکلاو دوام آورد<sup>(۱۱)</sup>. به منظور حفاظت مصرف کنندگان خصوصاً بچه‌ها از فرآورده‌های لبنی آلوده به آن، کشورهای مختلف قوانینی را برای کنترل میزان آفلاتوکسین M1 در شیر تعیین کرده‌اند<sup>(۶)</sup>. به عنوان نمونه کمیته اروپایی و غذایی کودکس و استاندارد ملی ایران بالاترین حد مجاز میزان آفلاتوکسین M1 در شیر خام و سایر محصولات لبنی را به ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم در لیتر تعیین کرده‌اند<sup>(۱۲، ۱۳)</sup>. در مطالعه‌ایی که در تایوان انجام شد، ۱۱۳ نمونه شیر خام و پودر شیر و شیر خشک مورد آزمون قرار گرفتند و در هیچ‌کدام از نمونه‌ها آفلاتوکسین M1 بالاتر از حدود مجاز کشور تایوان نبود<sup>(۶)</sup> از طرفی اندازه گیری‌هایی که در برخی نقاط کشور صورت گرفت، بیانگر وجود آفلاتوکسین M1 در شیر می‌باشد. از جمله مطالعه‌ایی که در اسفند ۱۳۸۵ در کردستان انجام شد ۹۱/۶۵ درصد نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین بودند<sup>(۱۴)</sup> و مطالعه دیگری که در بابل انجام شد، ۱۰۰ درصد نمونه‌های شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین M1 بودند و میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده ۲۳۰/۵ نانوگرم در لیتر بود که بسیار بالاتر از مقادیر مجاز استاندارد ایران و جهانی می‌باشد<sup>(۱۵)</sup>. با توجه به این که استان مازندران دارای ۲۲ واحد فعال صنایع لبنی است و با توجه به این که بررسی میزان آفلاتوکسین M1 در استان مازندران به صورت محدودی صورت گرفته است و همچنین با توجه به اهمیت پایش آفلاتوکسین M1 در شیر و فرآورده‌های آن در جهان، این پژوهش با هدف ارزیابی میزان آفلاتوکسین M1 در شیر تولیدی کارخانجات استان مازندران در نیمه اول ۱۳۹۰ انجام شد.

آفلاتوکسین B1 موجود در خوراک این حیوانات نشان داده‌اند. همچنین مطالعات پیشین به روشنی بیانگر اثرات سمی و سرطان‌زاگی آفلاتوکسین M1 می‌باشند، از این‌رو این سم توسط آژانس تحقیقات بر روی سرطان در WHO به عنوان گروه ۲ سرطان‌زاگی انسانی طبقه‌بندی شده است<sup>(۱)</sup>. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که آفلاتوکسین M1 در حیوانات نیز سرطان‌زا است<sup>(۲)</sup>. تا وقتی که سطح آلودگی آفلاتوکسین B1 در خوراک دام در حد ۲۰ ppb باشد، می‌توان انتظار داشت میزان آفلاتوکسین M1 شیر آن دام در حد مجاز باشد ولی اگر آفلاتوکسین B1 در خوراک دام بین ۲۰ - ۳۰۰ ppb باشد، از آن خوراک دام، برای خوراک خوک یا گاو‌های گوشته می‌توان استفاده کرد<sup>(۳)</sup>. تحقیقات نشان می‌دهد سمیت حاد آفلاتوکسین M1 به دلیل تأثیر آن در ممانعت از کد برداری RNA و سنتز پروتئین‌ها درست به اندازه آفلاتوکسین B1 است ولی تأثیر آن بر کمتر از آفلاتوکسین B1 می‌باشد<sup>(۴، ۵)</sup>.



تصویر شماره ۱: ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین M1

میزان آفلاتوکسین M1 در شیر و فرآورده‌های شیری در کشورهای مختلف در سراسر دنیا به طور مکرر پایش می‌شود<sup>(۶)</sup>. مطالعات مختلف، خطر این که انسان از راه دریافت شیر و فرآورده‌های شیری آفلاتوکسین M1 دریافت کند را نشان داده‌اند<sup>(۷-۹)</sup>. بر اساس بررسی‌های به عمل آمده روزانه ۷۵۰ تن شیر تحویل صنایع لبنی استان مازندران می‌شود. این در حالی است که آمارهای رسمی میزان تولید شیر را

ساخت کشور امریکا بود. کیت الایزا ۹۶ عددی آفلاتوکسین M1 از شرکت B.V Europroxima، Amhem، ۵۱۲۱ Afm، هلند) تهیه شد. کمترین حد قابل شناسایی برای این روش ۶ نانوگرم بر لیتر بوده است. اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M1 با روش الایزا و بر اساس واکنش ایمینو آفینیتی رقابتی بین آنتی بادی ویژه آفلاتوکسین M1 (که با تزریق به موش و از سرم به دست آمده) و آنتی ژن (آفلاتوکسین M1 موجود در نمونه یا استاندارد) سنجیده می شود، که آنتی بادی ویژه به دست آمده از سرم موش در چاهک ثبت گشته است. در واقع آفلاتوکسین M1 موجود در نمونه یا استاندارد با جایگاه ویژه خود بر روی آنتی بادی ویژه خود در طی مرحله اول انکوباسیون پیوند می یابد، بعد از یک مرحله شستشو و قبل از انکوباسیون دوم آنتی ژن نشاندار شده (آنزیم کانثرو گه) به درون چاهک ها اضافه می شود که طی انکوباسیون با جایگاه های خالی آنتی بادی ها باند می گردد در شستشوی مرحله دوم نیز آنتی ژن نشاندار اضافی حذف می گردد. با افزودن یک ترکیب سوبسترات آنزیم و رنگ ساز (Tetramethylbenzidine) یک محصول رنگی به دست می آید که با اضافه کردن عوامل متوقف کننده رنگ آبی به محلول زرد تبدیل می شود. به وسیله اسپکترو فوتومتر الایزا ریدر و در طول موج ۴۵۰ نانومتر، جذب استاندارد و نمونه ها اندازه گیری گردید. ماکریم جذب برای استاندارد صفر می باشد و با تقسیم جذب استانداردها و نمونه ها بر جذب صفر، مقدار درصد ماکریم جذب محاسبه شد.

درصد ماکریم جذب =  $\frac{(\text{جذب استاندارد صفر} / \text{جذب استاندارد}) - 1}{(\text{جذب استاندارد صفر} / \text{جذب استاندارد})}$

برای رسم منحنی استاندارد مقادیر ماکریم جذب محاسبه شده برای استانداردها روی محور Y در برابر غلظت آفلاتوکسین M1 بر حسب نانوگرم در لیتر (ng/l) روی محور X رسم شد و با قرار دادن جذب نمونه ها در این منحنی غلظت آن ها محاسبه گشت. دامنه خطی در

## مواد و روش ها

با توجه به مطالعه مشابهی که در سنتدج صورت گرفت، میزان آلدگی به آفلاتوکسین ۸۰ درصد بود ( $p=0.8$ )، با توجه به این که Z طبق جدول سطح احتمال آماری برابر ۱/۹۶ برای سطح اطمینان ۹۵ درصد است و p میزان درصد آلدگی به آفلاتوکسین و d مقدار اشتباه مورد قبول در برآورد نسبت جامعه است بنابراین نمونه ای به حجم ۷۵ برای اعتماد ۹۵ درصد و اشتباه ۹ درصد در نظر گرفته شد (۱۴).

۷۵ نمونه شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات استان مازندران با تاریخ تولید مختلف، به صورت تصادفی و در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ جمع آوری گردید تا از نظر آفلاتوکسین M1 مورد سنجش قرار گیرند. از هر کارخانه ۳ تا ۵ نمونه بر اساس حجم نمونه در دسترس تهیه شد. برخی کارخانه های شهر های سواد کوه، محمود آباد، آمل، بابل، تنکابن، بهشهر، قائم شهر، نور و ساری مورد بررسی قرار گرفتند. سنجش آفلاتوکسین M1 از روش های متعددی میسر است مانند کروماتو گرافی لایه نازک (TLC)، کروماتو گرافی مایع ELISA (Enzyme Link Immuno sorbant Assay)، (LC) و کروماتو گرافی مایع با کارایی بالا (HPLC). در این پژوهش نمونه ها به روش الایزا با سه تکرار مورد آزمون قرار گرفتند. میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده با حدود مجاز استاندارد ملی ایران ( $p \leq 0.05$ ) مقایسه شد.

آماده سازی نمونه ها:

نمونه ها در بسته بندی نایلونی، در حجم های ۰/۶ تا ۰/۵ درصد چربی بودند. با توجه به این که، ۱۰۰ میکرولیتر از لایه میانی بدون چربی برای آنالیز لازم است، ۵ میلی لیتر از هر نمونه شیر با سانتریفوژ یخچال دار، در دمای  $5^{\circ}\text{C}$ ، با دور  $2500\text{g}$  و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد (نمونه های آماده شده را می توان تا زمان آنالیز در فریزر  $-40^{\circ}\text{C}$  نگهداری کرد) (۱۷).

دستگاه الایزا مورد استفاده Biotech-ELX 800

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی مطلق و فراوانی نسبی سطح آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات مازندران در نیمه اول ۱۳۹۰

فراوانی (درصد)	آفلاتوکسین M1 (نانوگرم بر لیتر)
(۴) ۳	۶-
(۳۳/۳۳) ۲۴	۵۰-۱
(۵۰/۶۷) ۳۹	۱۰۰-۵۰
(۱۲) ۹	بالاتر از ۱۰۰

جدول شماره ۲: میانگین و انحراف معیار میزان آفلاتوکسین M1 بر حسب نانوگرم در لیتر در شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات مازندران در نیمه اول به تفکیک کارخانه

کد کارخانه	انحراف معیار $\pm$ میانگین
۱	۱۷/۷ $\pm$ ۵۶/۶۶
۲	۳/۲۶ $\pm$ ۴۲/۱۲
۳	۸/۹۶ $\pm$ ۶۷/۷۸
۴	۲۴/۸۷ $\pm$ ۶۶/۴۱
۵	۲۷/۴۸ $\pm$ ۸۰/۳۷
۶	۲۳/۰۱ $\pm$ ۶۰/۸۴
۷	۸/۸۶ $\pm$ ۲۲/۱
۸	ND*
۹	۱۰/۸۱ $\pm$ ۷۸/۴۲
۱۰	۳۵/۷۸ $\pm$ ۵۵/۳۶
۱۱	۱۹/۱ $\pm$ ۷۱/۹۷
۱۲	۱۳/۲۸ $\pm$ ۴۹/۹
۱۳	۱۰/۲۳ $\pm$ ۶۱/۷۷
۱۴	۳/۲۶ $\pm$ ۳۳/۴۸
۱۵	۱۹/۲۱ $\pm$ ۵۳/۰۷
۱۶	۱/۸۶ $\pm$ ۶۸/۵۴
۱۷	۲/۹۹ $\pm$ ۵۵/۵
۱۸	۳۸/۰۸ $\pm$ ۹۳/۸۹
۱۹	۵۶/۳۳ $\pm$ ۸۰/۴۷
۲۰	۱۹/۷۶ $\pm$ ۵۳/۵۷
۲۱	۲۱/۳۶ $\pm$ ۹۷/۵۵
۲۲	۳۰/۴۸ $\pm$ ۷۱/۶۲
کل نتایج مثبت	۶۳/۸۴ $\pm$ ۲۸/۱۹

\*ND: Not detected

جدول شماره ۳: فراوانی نمونه ها در هر فصل، میانگین و انحراف معیار میزان آفلاتوکسین M1 بر حسب نانوگرم در لیتر در شیر پاستوریزه تولیدی کارخانجات مازندران در نیمه اول ۱۳۹۰ به تفکیک فصل

فصل	فراوانی (درصد)	انحراف معیار $\pm$ میانگین
بهار	(۴۱/۳) ۳۱	۶۰/۳۷ $\pm$ ۳۴/۶۶
تابستان	(۵۸/۷) ۴۴	۶۱/۶۸ $\pm$ ۲۷/۵۷

محدوده بین ۱ ng/l - ۲۰۰ بوده است (۱۳، ۱۷، ۱۸).

### آنالیز آماری

به منظور تحلیل داده ها نرم افزار SPSS 16 مورد استفاده قرار گرفت و میانگین و انحراف معیار داده ها محاسبه شد. مقایسه میانگین محاسبه شده با مقدار استاندارد و مقایسه میانگین ۲ نمونه مستقل (فصل ها) به ترتیب با استفاده از آزمون های One-Samplet-test و independent-sample t test انجام شد ( $p < 0.05$ ).

### یافته ها

به منظور حفظ حقوق تولید کنندگان، برای هر کارخانه یک شماره به عنوان کد در نظر گرفته شد. یافته های مربوط به توزیع فراوانی مطلق و فراوانی نسبی سطح آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. از ۷۵ نمونه مورد بررسی، در ۴ درصد نمونه ها (۳/۷۵) میزان آفلاتوکسین کمتر از ۳۷/۳ ng/l بود. در حالی که در ۳۷/۳ درصد نمونه ها (۲۷/۷۵) غلظت آفلاتوکسین M1 در حد مجاز تعیین شده کمیته اروپایی و غذایی کودکس (۵۰) نانوگرم در لیتر) بود. از طرفی ۶۲/۶۷ درصد نمونه ها (۴۸/۷۵) دارای غلظت آفلاتوکسین M1 بالاتر از حد تعیین شده توسط کمیته اروپایی و غذایی کودکس بودند و ۱۲ درصد نمونه ها (۹/۷۵) دارای غلظت آفلاتوکسین M1 بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) بوده اند. براساس جدول شماره ۲ که میانگین و انحراف معیار میزان آفلاتوکسین M1 به تفکیک کارخانه بر حسب نانوگرم در لیتر را نشان می دهد بالاترین میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده مربوط به کارخانه شماره ۲۱ می باشد (۹۷/۵۵). میانگین آفلاتوکسین در نمونه های مثبت ۶۳/۸۴ نانوگرم در لیتر بود که به طور معنی داری از حد مجاز توصیه شده توسط کد کس بالاتر بود ( $p < 0.002$ ). تفاوت معنی داری بین میانگین آفلاتوکسین M1 در فصل بهار و تابستان وجود نداشت (جدول شماره ۳).

## بحث

نتایج مطالعه حاضر که بر روی شیرهای پاستوریزه تولیدی مازندران انجام گرفت، نشان می‌دهند که ۹۶ درصد نمونه‌ها دارای آفلاتوکسین بودند و در ۶۲/۶۷ درصد نمونه‌ها غلظت آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط کمیته اروپایی و غذایی کودکس بود. از طرفی پایین‌ترین میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده بر حسب نانوگرم در لیتر مربوط به کارخانه شماره ۷/۲۲/۱) و بالاترین میزان محاسبه شده مربوط به کارخانه شماره ۲۱ (۹۷/۵۵) بود. میانگین آفلاتوکسین کارخانه‌های ۲، ۵ و ۷ پایین‌تر از حد مجاز بود در حالی که میانگین آفلاتوکسین محاسبه شده در کلیه نمونه‌های مورد بررسی کارخانه شماره ۸ پایین‌تر از حد شناسایی دستگاه (۶ ng/l) بود.

در یک مطالعه که در بر روی ۵۴ نمونه شیر پاستوریزه تولیدی ۵ کارخانه مختلف مراکش که با استفاده از روش الیزا برای اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1 اجرا شد نتایج آنالیز نشان داد که ۸۸/۸ درصد از نمونه‌ها به آفلاتوکسین M1 آلوود بودند (۱۹). در مطالعه‌ایی که در سال ۲۰۰۲ به روش HPLC بر روی ۴۴ نمونه شیرتازه در تایوان صورت گرفت، ۹۰/۹ درصد نمونه‌ها آلوود به آفلاتوکسین M1 بودند و ۹/۱ درصد نمونه‌ها فاقد آفلاتوکسین M1 بودند، در ۴۰ نمونه از نمونه‌های مورد بررسی میزان آفلاتوکسین بسیار پایین بود (۰/۰۰۲ تا ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر) و در هیچ کدام از نمونه‌ها میزان آفلاتوکسین M1 بالای حد مجاز (۵۰ نانوگرم در لیتر) نبود که بیانگر این امر است که میزان آلوودگی پایین در شیر تجاری می‌تواند به علت ورود یک حجم کوچک شیر آلوود به یک منبع بزرگ شیر باشد (۶). در مطالعه‌ای که به منظور اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1 بر روی ۱۵۲ شیر استریلیزه و ۲۶ نمونه شیر پاستوریزه در سال ۲۰۱۰ در چین به روش الیزا انجام شد، ۵۴/۹ درصد نمونه‌های شیر استریلیزه و ۹۶/۲ درصد نمونه‌های شیر پاستوریزه دارای آفلاتوکسین M1

با غلظت به ترتیب ۰/۰۳ و ۰/۰۲۳ و ۰/۱۶۰-۰/۰۰۶ و ۰/۱۵۴-۰/۰۰۶ میکروگرم در لیتر بودند. ۲۰/۳ درصد نمونه‌های شیر استریلیزه و ۶۵/۴ درصد نمونه‌های شیر پاستوریزه حاوی آفلاتوکسین به مقدار بالاتر از حد مجاز ۵۰ نانوگرم در لیتر بودند (۲۰).

در مطالعه‌ای که در زمستان ۱۳۸۴ با نمونه‌برداری از سطح سوپر مارکت‌های شهر بابل بر روی ۳۳ نمونه شیر استریلیزه و ۷۸ نمونه شیر پاستوریزه (جمعاً ۱۱۱ نمونه) به روش الیزا به عمل آمد مشخص شد که میزان آلوودگی صد درصد و میانگین آن ۲۳۰/۵ نانوگرم در لیتر (چهار برابر حد مجاز کدکس) بوده است که بسیار بالاتر از میانگین کل محاسبه شده در پژوهش حاضر ۶۳/۸۴ نانوگرم در لیتر) می‌باشد. در بررسی شیرهای خام جمع‌آوری شده مناطق مختلف گردستان و تهران به طور تصادفی ۸۴ نمونه انتخاب شد بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 با روش الیزا انجام شد. مشخص گردید که ۷۷ نمونه ۹۱/۶۵ درصد از کل نمونه‌ها به آفلاتوکسین M1 آلوود بوده‌اند (۱۴). در مطالعه‌ای که به همین منظور در تهران بر روی ۲۱۰ نمونه شیر استریلیزه در ماههای اردیبهشت و خرداد مرداد و شهریور، آبان و آذر و بهمن و اسفند به روش الیزا انجام شد، ۵۵/۲ درصد نمونه‌ها حاوی آفلاتوکسین بودند و در ۳۳/۳ درصد نمونه‌ها میزان آفلاتوکسین محاسبه شده بالاتر از حد مجاز (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود. بالاترین غلظت در بهمن و اسفند (۸۷ نانوگرم در لیتر) و پایین‌ترین غلظت محاسبه شده مربوط به ماه مرداد و شهریور (۲۰ نانوگرم در لیتر) بود. تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های مربوط به ماههای بهمن- اسفند با اردیبهشت- خرداد و مرداد- شهریور دیده شد (۲۱). شیوع آلوودگی به آفلاتوکسین M1 در مطالعه حاضر (۹۶ درصد) همانند مطالعه انجام شده در چین (۹۶ درصد) و بالاتر از مطالعه‌های مراکش (۸۸/۸ درصد)، تایوان (۹۰/۹ درصد)، کردستان (۹۱/۶۵ درصد)، تهران (۵۵/۲ درصد) و پایین‌تر از مطالعه بابل

شهرهای مختلف خارج از استان تهیه می شود. از این رو بررسی شیر خام استان های دیگر و شرایط تغذیه دام و نگهداری علوفه در تمامی مراکز فروش شیر خام ضروری به نظر می رسد. با توجه به این که شیر خام مورد نیاز کارخانجات از دامداری های کوچک هم تهیه می شود، توجه به آموزش کشاورزان برای توجه به فرایند مناسب کشاورزی برای ذخیره سازی علوفه تازه یکی از مهم ترین روش های کاهش آلدگی به آفلاتوکسین می باشد. همچنین بررسی های به عمل آمده نشان می دهد که در دامداری های صنعتی سطح آلدگی بسیار کمتر از واحد های سنتی می باشد بنابراین توسعه واحد های صنعتی می تواند کمک مؤثری برای کاهش سطح آفلاتوکسین M1 باشد. در مناطق شمالی بیش از ۸۰ درصد شیر به صورت سنتی تولید می شود(۱۰). از نکات قابل توجه این پژوهش این است که تمام نمونه های تهیه شده از کارخانه شماره ۸ میزان آفلاتوکسین پایین تر از حد شناسایی دستگاه بود. توجه به محل تهیه شیر مورد نیاز این کارخانه می تواند کمک نماید تا راهی برای کاهش میزان آفلاتوکسین در شیر یافت شود. با توجه به این که پژوهش های مختلفی در زمینه بررسی آفلاتوکسین در شیر در ایران و دنیا انجام شده است و همین طور آلدگی به آفلاتوکسین در شیر شیوع بالایی دارد، لزوم بررسی علل و منابع آلدگی باید در اولویت قرار گیرد.

(۱۰۰ درصد) بود. با توجه به این که مطالعات پیشین بیانگر آلدگی خوراک دام به آفلاتوکسین B1 بودند(۲۰) و از آن جایی که آلدگی شیر به آفلاتوکسین M1 به دنبال تغذیه دام از علوفه آلدود به آفلاتوکسین B1 رخ می دهد، می توان نتیجه گرفت که علت شیوع بالای آفلاتوکسین در نمونه های مورد بررسی می تواند آلدگی غذای دام باشد. اگرچه در این مطالعه ارتباط معنی داری بین فصل نمونه برداری و میزان آفلاتوکسین دیده نشد اما مطالعات مختلفی هم وجود دارد که بیانگر تأثیر فصل بر میزان آفلاتوکسین می باشد که احتمالاً علت اثر گذاری فصول، تأثیری است که بر نوع و کیفیت خوراکی که دام با آن تغذیه می شود، می گذارد. در پاییز و اوایل زمستان از خوراک ذخیره شده همانند غلات، محصولات فرعی و علف تازه مانده استفاده می شود(۲) همچنین در مطالعه تاج کریمی و همکاران (۱۳۸۶) که در ایران انجام شد بین آلدگی به آفلاتوکسین M1 و منطقه ای که علوفه تازه مانده تولید می شود ارتباط دیده شد(۲۲). آلدگی به آفلاتوکسین تحت تأثیر شرایط آب و هوایی فصل درو و شرایط ذخیره سازی خوراک دام قرار می گیرد. آلدگی به آفلاتوکسین در فصل گرم و مرطوب شایع است(۲۳). شرایط مرطوب و نسبتاً گرم مازندران احتمال رشد کپک ها و تولید آفلاتوکسین را افزایش می دهد. از طرفی شیر خام مصرفی کارخانجات مازندران از

## References

- Tekinsen KK, Eken HS. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food and Chem Toxicol* 2008; 46(10): 3287-3289.
- Marnissi B, Belkhou R, Morgavi DP, Bennani L, Boudra H. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk collected from traditional dairies in Morocco. *Food Chem Toxicol* 2012; 50(8): 2819-2821.
- Chopra RC, Chhabra A, Parsad KSN, Dudhe A, Hurthy TN, Prasad T. Carryover of aflatoxin M1 in milk of cows fed aflatoxin B1 contaminated ration. *Indian Journal of Animal Nutrition* 1999; 16(2):103-106.
- D'Mello JPF, MacDonald AMC. Mycotoxins. *Anim Feed Sci Tech* 1997; 69(1-3): 155-166.
- Lopez CE, Ramos LL, Ramadan SS, Bulacio LC. Presence of aflatoxin M1 in milk for



- human consumption in Argentina. Food control 2003; 14 (1): 31-34.
6. Lin LC, Liu FM, FU YM, Shih DYC. Survey of Aflatoxin M1 Contamination of Dairy Products in Taiwan. J Food Drug Analy 2004; 12(2): 154-160.
  7. Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. Food Addit Contam 2000; 17(1): 59-64.
  8. Laleh rokhi M, Kazemi Darsanaki M, Mohammadi M, Hassani Kolavani M, Issazadeh KH, Azizollahi Aliabadi M. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Raw Milk Samples in Gilan, Iran. Advanced Studies in Biology 2013; 5(4): 151-156.
  9. Galvano F, Galofaro V, Galvano G. Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products. A worldwide review. Journal of Food Protection 1996; 59(12): 1079-1090.
  10. Quality engineering of food technology. Research about quantity and quality of raw milk delivered to dairy industries in Mazandaran province. 1<sup>th</sup> ed. Sari; Quality Engineering of food technology; 2009 (Persian).
  11. Soha A, Borji M. Reductions of aflatoxin M1 in milk utilizing some chemisorption compounds and study their effects on milk composition. Pajouhesh & Sazandegi 2005; 20(74): 19-26 (Persian).
  12. Codex Alimentarius Commissions. Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk. Codex committee on food additives and contaminants. 33rd sessions, Hauge, The Netherlands: 2001. Available at: [[http://www.ecolomics.international.org/cad\\_](http://www.ecolomics.international.org/cad_) codex\_alimentarius\_evaluation\_report\_2002. Accessed: June 2, 2011.
  13. Institute of standards and Industrial Research of Iran. Food & Feed-Mycotoxins-Maximum tolerated level; NO.5925. 1<sup>th</sup> ed. Tehran: ISIRI, 2002. (Persian).
  14. Hazhir MS, Sanoubar Tahaeie N, Rashidi K, Rezaie R, Shaykhi H. Determination of the amount of aflatoxin in milk samples delivered to Sanandaj pasteurized Milk Corporation. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2008; 13(1): 44-50 (Persian).
  15. Gholampour Azizi I, Khoushnevis SH, Hashemi SJ. Aflatoxin M1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran Univ Med J 2007; 65(1): 20-24 (Persian).
  16. Rastogi S, Dwivedi DP, Khanna KS, Das M. Detection of aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. Food Control 2004; 15(4): 287-290.
  17. A competitive enzyme immunoassay for quantitative analysis of Aflatoxin M1 in sample of milk and milk products. Available at: <http://europroxima.com/products/contaminants-and-residues/mycotoxins-elisa/aflatoxin-M1-elisa/>.
  18. Institute of standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products-Guidelines for a standardized description of competitive enzyme immunoassays-Determination of aflatoxin M1 content; NO.14675. 1<sup>th</sup> ed. Tehran: ISIRI; 2003 (Persian).
  19. Zinedine A, Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Molto JC, Idrissi L, Manes J. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. International Journal of food Microbiology 2007; 114(1): 25-29.

20. Zheng N, Sun P, Wang JQ, Zhen YP, Han RW, Xu XM. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk and pasteurized milk in China market. *Food Control* 2013; 29(1): 198-201.
21. Heshmati A, Milani JM. Contamination of UHT milk by aflatoxin M1 in Iran. *Food Control* 2010; 21(1): 19-22.
22. 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): 346-349.
23. Cotty PJ, Jaime-Garcia R. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology* 2007; 119(1-2): 109-115.