

Investigating the Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Doogh

Amin Kiani¹,
Nabi Sharififar²,
Saeed Shahsavari³,
Mahsa Ahmadloo⁴,
Mojtaba Moazzen⁵

¹ Lecturer, Department of Public Health, School of Public Health, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

² Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Lecturer, Department of Biostatistics, Health Products Safety Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁴ MSc Student in Food Safety and Hygiene, Department of Public Health, Faculty of Public Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁵ MSc in Food Safety and Hygiene, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received May 18, 2019 ; Accepted September 2, 2019)

Abstract

Background and purpose: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are one of the most common environmental pollutants that are proven to be carcinogenic and mutagenic. Doogh, is a widely consumed fermented yoghurt drink in Iran. The aim of this study was to determine the presence and concentration of PAHs in different brands of Doogh in Tehran, Iran.

Materials and methods: In this study, we synthesized multi-walled magnetic carbon nanotubes using iron oxide. Then synthesized magnetic nanotubes were used for absorption and extraction of PAHs from Doogh matrix. After sample preparation, concentrations of all PAHs were measured by GC-MS.

Materials and methods: In this study, we synthesized multi-walled magnetic carbon nanotubes using iron oxide. Then synthesized magnetic nanotubes were used for absorption and extraction of PAHs from 24 samples of Doogh matrix (3 high-consumption brands randomly selected in all four seasons and two dates) and one sample as a control. After sample preparation, concentrations of all 16 PAHs were measured by GC-MS.

Conclusion: In this study, the concentrations of PAHs in different brands of Doogh were lower than standard levels, so it would create no harmful effect to the consumers.

Keywords: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Doogh, multi-walled carbon nanotube, magnetic, GC-MS

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (178): 10-23 (Persian).

* Corresponding Author: Mojtaba Moazzen - Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
(E-mail: moazzen.mojtaba@gmail.com)

حضور هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای در دوغ

امین کیانی^۱ نبی شریعتی فر^۲ سعید شهسواری^۳ مهسا احمدلو^۴ مجتبی مودن^۵

چکیده

سابقه و هدف: هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs) یکی از شایع‌ترین آلاینده‌های محیط زیست هستند که احتمال سرطان زایی و جهش‌زایی تعدادی از آن‌ها به اثبات رسیده است. از طرفی دوغ، یک محصول لبنی تخمیری است که از مقبولیت و مصرف بالا در ایران برخوردار است. هدف از این مطالعه بررسی حضور و میزان هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای در انواع مختلف دوغ‌های ایرانی موجود در شهر تهران می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ابتدا کربن نانوتیوب چند جداره با استفاده از اکسید آهن مغناطیسی شد و سپس کامپوزیت سنتز شده جهت استخراج PAHs از ماتریکس ۲۴ عدد نمونه دوغ (۳ بrnd پرمصرف، در ۴ فصل سال و دو تاریخ به صورت تصادفی انتخاب گردید) و یک نمونه دوغ به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. پس از آماده‌سازی نمونه، غلظت هر کدام از ۱۶ PAHs از طریق دستگاه GC-MS اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که در تمامی نمونه‌ها میزان PAHs پایین‌تر از محدوده استاندارد بوده است و بیشترین غلظت نیز مربوط به پیرن بود. همچنین میانگین مجموع PAHs برابر $0.39 \pm 1.96 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است. در بrnd B و فصل زمستان و در زمان تاریخ انقضای نمونه‌ها، شاهد بالاترین میزان مجموع PAHs بودیم.

استنتاج: براساس یافته‌های این مطالعه، با توجه به پایین‌تر بودن میانگین کل هر کدام از هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای نسبت به استاندارد در انواع مختلف دوغ، می‌توان بیان نمود که خطری از این لحظه مصرف کننده‌ها را تهدید نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، دوغ، کربن نانوتیوب چند جداره، استخراج مغناطیسی، کروماتوگرافی گازی

مقدمه

زیرزمینی و محیط‌های دریایی توسط ترکیبات PAHs به طور وسیع گزارش شده است^(۱-۳). با توجه به مطالعات انجام شده، مشخص شده است که اکثر ترکیبات PAHs جهش‌زا، سرطان‌زا یا هر دو آن‌ها هستند^(۴-۸). این

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای یا Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) از شایع‌ترین آلاینده‌های محیط زیست در گروه ترکیبات آلی، می‌باشند. آلدگی هوا، خاک، آب‌های سطحی و

E-mail: moazzen.mojtaba@gmail.com

مؤلف مسئول: مجتبی مودن - تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت

۱. مری، گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی فسا، ایران

۲. داشتاری، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. مری، گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات اینمنی محصولات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴. داشتجوی کارشناسی ارشد، بهداشت و اینمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۵. کارشناس ارشد بهداشت و اینمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۲/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۸/۶/۱۱

شده، ماهی، لبیات و سایر غذاهایی که پخت آنها با گرمایی باشد و یا در طول تولید گرمایی بیند، معمولاً حاوی PAHs می‌باشند. این مواد شیمیایی به غذا می‌چسبند و با افزایش دما، حضور آنها در ماده غذایی بیشتر خواهد شد. دو مکانیسم اصلی تولید PAHs در مواد غذایی پیرولیز و پیروستز هستند. در دمای بالا آلی به اجزای کوچک‌تری شکسته می‌شوند، که غالباً رادیکال آزاد می‌باشند. این رادیکال‌های آزاد با یکدیگر ترکیب شده و PAHs پایدار را تشکیل می‌دهند. در دمای کمتر از ۴۰۰ درجه سیلسیوس فقط تعداد اندکی از PAHs تشکیل می‌شوند و با افزایش دمای تا ۱۰۰۰ درجه سیلسیوس تعداد آنها در ماده غذایی افزایش می‌یابد(۲۶). دوغ یک محصول لبنی تخمیری است و فرآورده جانبی ماست محسوب می‌شود (چون ماست تخمیر می‌شود بنابراین دوغ نیز محسوبی تخمیری به حساب می‌آید) که از مقبولیت و مصرف بالا در ایران برخوردار بوده و میزان مصرف سرانه، تولید صنعتی و صادرات آن در سال‌های اخیر رشد قابل توجه داشته است. مقبولیت دوغ نه فقط به عنوان فرآورده‌ای با ویژگی‌های حسی مطلوب است بلکه به عنوان یک نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش با مقدار تولید ۸۰۰،۰۰۰ تن در سال ۹۱، به عنوان نوشیدنی ملی ایران نیز پذیرفته شده است. از این‌رو اینمی و سلامت این فرآورده بسیار حائز اهمیت است. این محصول در ایران به شکل‌های گوناگونی همچون دوغ گرماییده یا بدون فرآیند گرمایی، ترش یا شیرین، گازدار یا بدون گاز و طعم‌دار یا بدون طعم تولید و روانه‌ی بازار می‌شود(۲۷). در نهایت به نظر می‌رسد اندازه گیری خانواده PAHs در دوغ (به عنوان نوشیدنی پر مصرف ملی) و با توجه به عدم بررسی همه جانبه این نوشیدنی از طرف پژوهشگران داخلی و نیز عدم شناخت این نوشیدنی در سایر کشورها و همین‌طور خطرناک بودن سموم یاد شده به خصوص برای کودکان و قشر آسیب‌پذیر، امری ضروری می‌باشد. فرایند استخراج به وسیله جامدات از روش‌هایی است

ترکیبات به علت دارا بودن خصوصیاتی همچون سمیت، جهش‌زاویه، سلطان‌زاویه و نیز قرار گرفتن در ردیف آلاینده‌های اولیه (Priority Pollutants) توسط آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (US EPA) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند(۱۱-۹). این ترکیبات دارای دو یا چند حلقه بنزنی می‌باشند. این حلقه‌ها در آرایش‌های مختلف بوده و می‌توانند با و یا بدون گروه‌های جایگزین باشند. این ترکیبات خنثی، غیرقطبی و آب گریز هستند. هر کدام از ترکیبات با توجه به تعداد حلقه‌های بنزنی، وزن مولکولی، حلالیت در آب، ویژگی‌های جذب و واجذب، پایداری، فاریت، اکسید شدن و قابلیت تجزیه بیولوژیکی دارای خواص فیزیکی و شیمیایی مستقل می‌باشند(۱۲-۱۱). از میان هیدروکربن‌های آروماتیک چند‌حلقه‌ای، ۱۶ ترکیب به دلایل عدم تجزیه بیولوژیکی سریع توسط میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه ایجاد سمیت و خطر در محیط زیست بیشتر مطرح بوده و به عنوان شاخص آلودگی ترکیبات PAHs در نظر گرفته می‌شوند. این ۱۶ ترکیب شامل نفتالن، استنفتلن، فلورون، فانترن، آنتراسن، فلورانتن، پایرن، بنزو(a) آنتراسن، کرايسن، بنزو(b) فلورانتن، بنزو(k) فلورانتن، بنزو(a) پایرن، دی بنزو(a,h) آنتراسن، بنزو(g,h,i) پریلن و ایندنو(cd) پایرن می‌باشند(۳-۱۶،۱۴). منشا ورود ترکیبات PAHs به محیط شامل نیروگاه‌ها، سیستم‌های گرمایش، موتورهای گازوئیلی و دیزلی، سوزاندن زایدات، برخی از فعالیت‌های صنعتی و دود سیگار است. این ترکیبات می‌توانند از اتمسفر وارد خاک، آب و رسوابات شوند. منابع عمده ورود ترکیبات PAHs به محیط زیست و آب‌های سطحی را می‌توان نفت خام، محصولات حاصل از فرآیندهای پالایش ترکیبات نفتی از جمله احتراق، صنایع پتروشیمی، دودکش اتومبیل‌ها، آتش‌سوزی جنگل‌ها، فعالیت‌های آتش‌نشانی، تخلیه فاضلاب‌های شهری و رواناب‌ها ذکر نمود(۲۱-۱۷). مکانیسم‌های تولید PAHs در مواد غذایی مشابه آلودگی محیطی می‌باشد. ثابت شده است که گوشت‌های کباب

۱۳۹۷ با استفاده از جاذب مذکور بررسی شود و میزان انواع گوناگون PAH در آنها مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روش ها

آماده سازی استاندارد ها

استاندارد های مرجع PAH میکس که محتوى ۱۶ PAH اصلی می باشد از شرکت زیگما-آلدریچ آلمان خریداری شد. محلول استاندارد حاوی PAH های نشانه دار ($1\text{ }\mu\text{g/ml}$) در دی کلرو متان تهیه شد. محلول استوک حاوی بنزو(a)پیرن، کریسن و پیرن به صورت جداگانه در غلظت $100\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ و در حال دی کلرو متان آماده سازی شد. این استوک های استاندارد با نسبت مساوی از دی کلرو متان و متانول (۵۰-۵۰) به منظور آماده سازی محلول استخراج کننده با غلظت $1\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ برای هر ترکیب، رقیق شدند که این محلول استخراج کننده برای اندازه گیری کارایی استخراج در شرایط مختلف ساخته شد. یفنل (ساخت شرکت مرک) به عنوان استاندارد داخلی با غلظت $0.5\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ در متانول آماده سازی شد. استوک و محلول کاری در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری می شدند و روزانه به صورت رقیق شده یا مستقیم استفاده می شدند. کربن نانو تیوب چند جداره (طول $5\text{ }\mu\text{m}$ و $30-40\text{ }\mu\text{m}$ از شرکت نانشل هندوستان تهیه شد. مخلوط کربن نانو تیوب چند جداره مغناطیسی شده مطابق مطالعه راستکاری و همکاران تهیه شد که همه مواد شیمیایی و حلال ها با همان گردید یا بهتر بودند.^(۷)

نمونه ها

۲۴ نمونه انواع مختلف دوغ (دوغ ساده که فاقد هر نوع افزودنی اضافی باشد که شرایط برای همه نمونه ها برابر باشد) که شامل سه برنده برمصرف (که تقریباً در تمامی مغازه های سطح شهر و همیشه وجود دارند) و در ۴ فصل سال و با دو تاریخ مصرف (تاریخ تولید و تاریخ انقضا) از سوپر مارکت های شهر تهران در سال ۹۷ تهیه

که اخیرا برای اندازه گیری غلظت های کم آلاینده ها مورد توجه بسیاری از محققان واقع شده است. به این منظور تاکنون جاذب های مختلفی مانند کربن فعال گرانوله، کیتوزان و کربن فعال مورد استفاده قرار گرفته اند. راندمان جذب و واجذب پایین، جداسازی مشکل، زمان طولانی جذب و هزینه های بالا از چالش های بزرگ استفاده از جاذب های فوق الذکر می باشد. به منظور استخراج مناسب و داشتن توانایی جذب و واجذب مناسب در مطالعه حاضر از کربن نانو تیوب چند جداره (MWCNT) که جاذبی شناخته شده دارای تخلخل و سطح بالا و قیمتی نسبتاً ارزان است استفاده شد. این درحالی است که کماکان جداسازی این ماده به دلیل اندازه کوچک آن به عنوان معضل باقی است. برای حل این مشکل از نانو ذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) برای مغناطیسی کردن کربن نانو تیوب استفاده شد. نانو ذرات اکسید آهن به کاررفته در کربن نانو تیوب علاوه بر القای خاصیت مغناطیسی به جاذب، با ایجاد پیوند شیمیایی شکننده ای توانایی جذب استرهای فنالات را دارا می باشند که سبب افزایش راندمان جذب و واجذب این آلاینده می شود و نکته دیگر این که برای PAHs تاکنون بهترین و دقیق ترین و البته یکی از مناسب ترین روش از نظر هزینه کرده، که دقیق و کاملا قبل استناد بین المللی نیز می باشد روش GC-MS^(۱۲، ۲۷، ۳۷). انتظار می رود MWCNT بهینه شده با نانو ذرات اکسید آهن سرعت و توانایی بالایی در جذب و اندازه گیری PAHs از خود نشان دهد. با این توصیف از آن جایی که تاکنون مطالعه جامع و درخور توجیهی برای اندازه گیری این ماده خطرناک در انواع مختلف دوغ های ایرانی با برندهای مختلف و در بازه های زمانی مختلف در شهر تهران صورت نگرفته است و از طرفی بعضی از سموم با عمل تخمیر و غیره تغییر نمی یابند و از بین نمی روند (همچون PAHs) که یک نوع آلاینده محیط زیست و پایدار در محیط زیست است، در این مطالعه سعی خواهد شد انواع مختلف دوغ های رایج در شهر تهران در سال

سنجهش یونی (SIM) تعیین شدند. قابل ذکر است که برای شناسایی سموم مذکور نیازی به مشتق سازی نیست چون PAHs دارای ترکیبات هالوژنه می باشند و به همین دلیل دتکتور به این عناصر حساس هستند و به راحتی می توان آنها را تشخیص داد. برای هر ترکیب یک چند سنجی (Quantifier) و دو توصیف کننده (Qualifier) سنجهش شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: آنالیت های PAH مورد کاربرد در مطالعه و مشخصات آن ها

گروه یونی	آنالیت	مخفف الحصاری	زمان پنجره (دققه)	کمی کردن یون	تایید یون ها
بنزو(a)پیرن	Bp	بنفل	۱۳-۸	۱۵۵	۱۵۵ و ۱۵۵
کریسن	NA	نفالان	۱۳-۸	۱۵۱	۱۵۴ و ۱۵۱
استفنین	Ace	استفالن	۱۳-۸	۱۵۲	۱۵۳ و ۱۵۱
استفنین	Ac	استفنین	۱۳-۸	۱۵۳	۱۵۴ و ۱۵۲
فلورین	F	فلورین	۱۵-۱۶	۱۶۶	۱۶۷ و ۱۶۵
فلاتن	Pa	فلاتن	۱۷-۱۵	۱۷۸	۱۷۹ و ۱۷۶
آتراسن	A	آتراسن	۱۷-۱۵	۱۷۸	۱۷۹ و ۱۷۶
فلوراتین	Fl	فلوراتین	۲۰-۱۷	۲۰۲	۲۰۳ و ۰۱۰
پیرن	P	پیرن	۲۰-۱۷	۲۰۲	۲۰۴ و ۰۱۰
بنزو(a)آتراسن	BaA	بنزو(a)	۲۳-۲۰	۲۲۸	۲۲۹ و ۲۶
کریسن	Ch	کریسن	۲۳-۲۰	۲۲۸	۲۲۹ و ۲۶
بنزو(a)فلوراتن	BbF	بنزو(a)	۲۸-۲۲	۲۵۱	۲۵۳ و ۱۶
بنزو(a)فلوراتن	BkF	بنزو(a)	۲۸-۲۲	۲۵۲	۲۵۳ و ۱۶
پیرن	BaP	بنزو(a)	۲۸-۲۲	۲۵۲	۲۵۳ و ۲۶
ایندنو(۱,۲,۳,cd)	IP	ایندنو(۱)	۳۱-۲۸	۲۷۶	۲۷۷ و ۳۲۸
آتراسن	DhA	آتراسن	۳۱-۲۸	۲۷۸	۲۷۹ و ۳۲۹
بنزو(h,i)	BgP	بنزو(h,i)	۳۱-۲۸	۲۷۸	۲۷۹ و ۳۲۸

بهینه سازی روش

۵۰۰ گرم از نمونه شاهد با ۵ میلی لیتر از محلول استخراج کننده ترکیب شده با بنزو(a)پیرن، کریسن و پیرن ($0.5 \mu\text{g/ml}$) ثبتیت می گردد. مخلوط یاد شده به صورت مکانیکی برای ۳۰ دقیقه هموژن شده و درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت نگه داری و سپس برای بهینه سازی روش استفاده شد. روش بر اساس یک عامل در یک زمان سنت یا بهینه شده است. مطابق این پروتوكل، شرایط بهینه توسط آزمایش هایی که تمامی فاکتورهای موثر را به جز یک مورد ثابت نگه داشته و یک عامل باقی مانده به صورت تدریجی تغییر می کند تا شرایط بهینه پیدا شود، تعیین می شود. بعد از بهینه کردن هر فاکتور، آزمایش برای پیدا کردن اندازه بهینه فاکتورهای دیگر در حالی که فاکتور

شد. در این مرحله بعد از خریداری هر نمونه آن را توسط میکسر مخلوط و سپس به میزان ۵ g از آن را جدا کرده و در ۷۰- درجه سانتی گراد درون ظروف غیر قابل نفوذ به هوا، جهت آنالیز نگه داری شد.

آماده سازی نمونه شاهد

یک بطری دوغ به منظور استفاده به عنوان نمونه شاهد از یکی از برندهای پرمصرف خریداری شد. مناسب بودن نمونه به عنوان ماتریکس شاهد به وسیله مطالعات مقدماتی تایید شده بود.

شرایط آنالیزی و دستگاهی

دستگاه استفاده شده برای آنالیز GC-MS (Agilent) مدل ۶۸۹۰ ساخت کشور امریکا) به علاوه شناساگر چند قطبی mass ۵۹۷۳ بود. درون کروماتوگرافی گازی مذکور، ستون موئینه مدل-5 DB-5 (با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۰۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۰۲۵ میکرومتر) گنجانده شده بود. دستورالعمل دمایی بدین شرح بود: دمای تزریق کننده ۲۹۰ درجه سانتی گراد، دمای آون اولیه ۷۰ درجه سانتی گراد، نگه داری برای ۱ دقیقه، افزایش تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد در یک بازه زمانی ۱۰ دقیقه ای و سپس نگه داری برای ۷ دقیقه در همان دما. راه ورودی در حالت کم ترین حد شکاف تنظیم و دمای خط انتقال در ۳۰۰ درجه سانتی گراد نگه داری می شد. گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد به عنوان گاز حامل با جریان مداوم و با سرعت ۱ ml/min استفاده شد. دمای منبع و چهارقطبی به ترتیب در دمای ۲۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد نگه داری می شد. انرژی شعاع الکتریکی کروماتوگرافی گازی در ۷۰ eV تنظیم شده بود. وضعیت اجرا شده توسط مقایسه طیف توده (Mass) حاصل شده و زمان ابقا برای طیف مرجع و زمان ابقاء حاصل شده به وسیله استانداردهای کالیبره شده تزریق کننده تحت شرایط همسان GC-MS به دست آمد. ترکیبات به صورت کمی با استفاده از حالت

از استخراج اولیه، فاز مایع به ظرف دیگر انتقال یافت. سپس ۱۰ میلی گرم کربن نانو تیوب چند جداره مگنت و از قبل آماده شده به همراه ۵۰۰ میلی گرم سدیم کلراید به درون مخلوط اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه به شدت توسط میکسر، مخلوط شد. سپس از یک آهن ربای خارجی جهت جمع آوری جاذب مغناطیسی در یک سمت از ویال، استفاده شد. مایع شناور دور ریخته شد و بعد از این مرحله میزان ۵ میلی لیتر دی کلرو متان به جهت شستشوی جاذب اضافه و به کمک میکسر با سرعت بالا به مدت ۳ دقیقه، هموژن شد. سپس جاذب مغناطیسی توسط یک آهن ربای خارجی در یک سوی ویال جمع آوری شد. این مرحله برای چندین مرتبه تکرار و سپس محلول واجذبی جمع آوری و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در زیر جریان ملاتیم نیتروژن خشک شد. قسمت باقی مانده مجدداً در محلول برابر متانول- استونیتریل (۵۰ میکرولیتر) حل شده و محلول به شدت به کمک میکسر و به مدت ۱ دقیقه، شیک شد. در نهایت، ۱ میکرولیتر از محلول حاصله به درون دستگاه GC-MS تزریق شد. نتایج مطالعات بهینه شده نشان داد که روش بالا برای قابلیت تولید مجدد واستخراج کمی PAHs از نمونه‌های گوشت قابل استفاده بود (۳۲،۲). نمونه‌های شاهد محتوی استاندارد داخلی و نمونه‌های کنترل کیفیت در ابتدا، میانه و در پایان نمونه‌ها آنالیز شدند. نمونه‌های آزمایشی به صورت دوتایی و پاسخ متعدد استفاده شده برای کمیت پذیر شدن، آنالیز شدند.

کمیت پذیر شدن روش

برای کمیت پذیر کردن PAHs در نمونه‌های آنالیز شده از روش نمودار کالیبراسیون ثبت شده قدیمی، استفاده شد. برای ساخت نمودار کالیبراسیون ثبت شده، ۵۰۰ گرم نمونه دوغ برداشت و نمونه‌های ۵ گرمی از آن جدا شد. سپس از ۳۰ نمونه برای آماده سازی ۱۰ نقطه‌ی کالیبراسیون (۱۰۰، ۱۲۵، ۱۷۵، ۲۲۵ و 500 ng و $1, 5/0, 25/0, 100/0$ و $250/0 \mu\text{g/Kg}$) در سه نسخه

مورد مطالعه برای تخمین اندازه‌های بهینه تنظیم شده است، تکرار می شود. در نهایت روشی که شامل تمامی موارد می‌باشد تکرار می شود در حالی که تمامی فاکتورها برای تخمین اندازه‌های بهینه تنظیم شده‌اند. وضعیت روش اگر پارامتر تعیین کننده (در این مورد نتیجه استخراج) در آخرین آزمایش در بین بهترین اندازه کسب شده باشد، در حالت بهینه یا نزدیک حالت بهینه می‌باشد.

روش استخراج

۵ گرم از هر نمونه فریز شده (شاهد، کنترل، کیفیت و آزمون‌ها) به وسیله خردکننده الکتریکی (مدل LabGrinder/Pulverizer WSG30E, WARINGS, CT, USA) با سرعت بالا (19000 rpm) در مدت ۱ دقیقه خرد شد. مخلوط به دست آمده به ظرف شیشه‌ای که محتوی محلول استاندارد داخلی (۰/۰۵ میکرو گرم در لیتر یوفنیل در محلول آب- متانول به نسبت ۵۰-۵۰) است، منتقل شد. مخلوط حاصله برای مدت ۲ دقیقه هموژن شده و به منظور خشک شدن برای مدت ۱ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد.

بعد از اضافه شدن $7/5$ میلی لیتر پتاسیم هیدروکسید (۱ مولار در آب) و $7/5$ میلی لیتر متانول که محتوی ۵ درصد استونیتریل است، نمونه برای مدت ۲ دقیقه هموژن و سپس به مدت ۷ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه اولتراسونیک (مدل Fisher Scientific FS30H) اولتراسوند شد. سپس مخلوط حاصله به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت $8944 \times g$ به منظور حذف محتویات چربی سانتریفیوژ شده و فاز مایع به قیف جداکننده منتقل و سپس در ۲۵- درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت نگهداری شد. قسمت چربی به عنوان یک لایه در بالای سطح فاز مایع و مانند یک توده تغليظ شده در سطح ظرف شیشه‌ای، قرار گرفت. چربی‌های فریز شده به سرعت توسط استخراج سرد در ۲۵- درجه سانتی گراد و به وسیله فیلتر کاغذی، فیلتر شد. سپس pH ۶/۵ توسط افزودن اسید هیدروکلریک (۱ مولار) کاهش یافت. بعد

مستقل استفاده شد. سطح معنی داری ۵ درصد در نظر گرفته شد. درمواردی که ترکیبات PAH مشاهده (Detect) نشد، از نصف کمترین حد تشخیص (Limit of Detection) به منظور محاسبه میانگین غلظت ها استفاده شد.

یافته ها

بررسی غلظت PAH ها در انواع مختلف دوغ های ایرانی شاخص میانگین فاکتورهای PAH در در دوغ در جدول شماره ۲ لیست شده است.

جدول شماره ۲: غلظت PAHs در دوغ های مختلف ایرانی ($\mu\text{g/kg}$)

	سطح معنی داری	تعداد	کیفیت	بیشینه	میانگین	انحراف معياره	آلت
	۱/۰۰۰	۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	NA
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۱	Ace
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	Ac
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	F
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۰	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۱۴	Pa
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	A
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	Fl
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۸	P
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	BaA
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۳	Ch
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴±۰/۰۴	BbF
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	BkF
۰/۷۳۷		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	BaP
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	IP
۱/۰۰۰		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۰	DhA
۰/۰۰۷		۲۴	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۳±۰/۰۱	BgP
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۹	۰/۰۷۳	۰/۰۶۹	۰/۰۶۹±۰/۰۹	total
P < ۰/۰۰۱		۲۴	۰/۰۸	۰/۰۳۱	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵±۰/۰۷	PAH4

برای محاسبه اثر دوغ بر روی فاکتورهای PAH از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین Ace, Pa, P, BbF, total و PAH4 در دوغ وجود داشت. آنالیت P دارای بالاترین میزان میانگین ($0/۰۸ \pm 0/۰۸$) و بیشترین میزان بیشینه بودند (۰/۰۹). از طرف دیگر آنالیت های NA, Ac, F, A, Fl, IP, Ac, A, F, BbF, BkF, BaA و DhA دارای کمترین میزان میانگین بودند ($0/۰۰۰ \pm 0/۰۰۲$). میانگین PAH کل برابر $0/۰۹ \pm 0/۰۹$ و میانگین PAH4 برابر $0/۰۱۵ \pm 0/۰۷$ $\mu\text{g/Kg}$ بود.

متایسه اثر برندهای مختلف در غلظت PAH ها میانگین فاکتورهای PAH بر مبنای نوع برند در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. از آنالیز واریانس

به وسیله اضافه کردن محلول هایی از مخلوط استاندارد نمونه ها، استفاده شد. برای ارزیابی کارایی روش و درست بودن نتایج، نمونه های کنترل کیفیت برای ۴ سطح از غلظت ($۰/۰۲۵$, $۰/۰۷۵$, $۰/۰۵۰$ و $۰/۰۱۵ \mu\text{g/Kg}$) در سه نسخه تهیه و آماده سازی شد. برای استفاده از روش نمودار کالیبراسیون ثبت شده، آماده سازی و کنترل کیفیت نمونه ها به همان مشابه نمونه های واقعی بسیار مهم است. وقتی PAHs واقع با درون ماتریکس دوغ افروده شد، آنالیز های ثبت شده به مانند نمونه های واقعی به درون ماتریکس باند نخواهد شد. این تفاوت در باند شدن سبب خطا معنی داری در کمی کردن داده ها می شود. بنابراین در این مطالعه ما از یک روش خاص برای آماده سازی نمونه های ثبت شده استفاده کردیم. بعد از ثبت کردن، نمونه های کنترل کیفیت و کالیبراسیون به خوبی نمونه های ثبت شده که برای اندازه گیری سطوح خط مبنای و معیار به مدت ۳۰ دقیقه درون ظروف حاوی ۱۰ میلی لیتر از محلول با نسبت ۵۰-۵۰ آب- متانول هموژن شد، استفاده گردید. سپس نمونه ها بعد از اینکه به مدت ۲۴ ساعت در یک محیط تاریک با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد، به مدت ۲ ساعت در درون دمای اتاق قرار داده شد. در نهایت نمونه ها در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت فریز شدند. بعد از استخراج در شرایط بهینه شده، نمودارهای کالیبراسیون توسط کشیدن نسبت های منطقه اوج یا حداقل (استاندارد داخلی/آنالیت)، که بر مبنای سطوح ابتدایی و در خلاف غلظت های اسمی ثبت شده PAHs تصحیح شده بود، ترسیم شدند.

تحلیل آماری

پس از انجام آزمایش ها، داده ها وارد نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ شد. جهت مقایسه میانگین شاخص های PAH بر مبنای متغیرهای کیفی همچون نوع محصولات، برند و فصل از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و برای مقایسه میانگین PAH در تاریخ تولید از آزمون تی

جدول شماره ۵ آمده است. برای تاثیر اثر زمان تولید، از تست تی مستقل استفاده شد. اختلاف معنی داری در فاکتورهای total، Bbf، Ch، P، Pa، Ace بین PAH4 و PAH5 نداشت. اگرچه در دوغ میانگین همه متغیرها در برند B بالاترین (0.41 ± 0.04) و در برند A پایین ترین بود (0.39 ± 0.06). آنالیت P در برند B دارای بالاترین میانگین غلظت بود (0.09 ± 0.06).

جدول شماره ۴: میانگین غلظت PAH ها در فضول مختلف ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

آنالیت	فصل					نوع برند
	سطح معنی داری	زمستان		پاییز	تابستان	
		حراف میار \pm میانگین				
NA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
Ace	/0.01	-0.07 ± 0.06	-0.04 ± 0.08	-0.03 ± 0.06	-0.04 ± 0.06	
Ac	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
F	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
Pa	/0.01	-0.04 ± 0.11	-0.05 ± 0.12	-0.04 ± 0.07	-0.04 ± 0.04	
A	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
Fl	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
P	$P < 0.001$	-0.01 ± 0.07	-0.01 ± 0.07	-0.01 ± 0.03	-0.01 ± 0.03	
BaA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
Ch	/0.03	-0.07 ± 0.04	-0.06 ± 0.04	-0.04 ± 0.02	-0.02 ± 0.01	
BbF	/0.02	-0.01 ± 0.03	-0.01 ± 0.04	-0.01 ± 0.03	-0.01 ± 0.01	
BkF	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
BaP	/0.08	-0.02 ± 0.01	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
IP	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
DhA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
BgP	/0.13	-0.04 ± 0.01	-0.03 ± 0.01	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	
total	/0.01	-0.08 ± 0.02	-0.07 ± 0.06	-0.05 ± 0.09	-0.04 ± 0.04	
PAH4	/0.07	-0.02 ± 0.07	-0.01 ± 0.07	-0.01 ± 0.04	-0.01 ± 0.02	

جدول شماره ۵: میانگین غلظت PAH ها در مدت زمان نگهداری ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

آنالیت	زمان نگهداری					نوع برند	
	سطح معنی داری	تاریخ انقضا		تاریخ تولید	حراف میار \pm میانگین		
		حراف میار \pm میانگین	حراف میار \pm میانگین				
NA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
Ace	/0.01	-0.04 ± 0.08	-0.03 ± 0.07	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
Ac	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
F	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
Pa	/0.01	-0.06 ± 0.12	-0.04 ± 0.09	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
A	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
Fl	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
P	/0.00	-0.01 ± 0.09	-0.01 ± 0.05	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
BaA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
Ch	/0.01	-0.03 ± 0.07	-0.03 ± 0.01	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
BbF	/0.02	-0.01 ± 0.04	-0.01 ± 0.02	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
BkF	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
BaP	/0.03	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
IP	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
DhA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
BgP	/0.00	-0.01 ± 0.01	-0.01 ± 0.01	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00		
total	/0.01	-0.08 ± 0.02	-0.07 ± 0.06	-0.05 ± 0.09	-0.04 ± 0.04		
PAH4	/0.07	-0.02 ± 0.07	-0.01 ± 0.07	-0.01 ± 0.04	-0.01 ± 0.02		

یک طرفه برای محاسبه تاثیر نوع برند بر روی فاکتورهای PAH استفاده شد و انواع برند A، B و C نامگذاری شد. اختلاف معنی داری در متغیرهای PAH وجود نداشت. اگرچه در دوغ میانگین همه متغیرها در برند B بالاترین (0.41 ± 0.04) و در برند A پایین ترین بود (0.39 ± 0.06). آنالیت P در برند B دارای بالاترین میانگین غلظت بود (0.09 ± 0.06).

جدول شماره ۶: میانگین غلظت PAH ها در برند های مختلف دوغ ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

آنالیت	نوع برند			
	سطح معنی داری	C	B	
		احرف میار \pm میانگین	احرف میار \pm میانگین	
NA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
Ace	/0.78	-0.03 ± 0.01	-0.03 ± 0.01	-0.03 ± 0.01
Ac	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
F	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
Pa	/0.97	-0.05 ± 0.04	-0.05 ± 0.04	-0.05 ± 0.04
Ch	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
BbF	/0.76	-0.06 ± 0.04	-0.06 ± 0.04	-0.06 ± 0.04
BkF	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
BaP	/0.61	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
Ip	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
DhA	/0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00	-0.02 ± 0.00
BgP	/0.32	-0.02 ± 0.01	-0.03 ± 0.01	-0.03 ± 0.01
total	/0.78	1.94 ± 0.79	2.04 ± 0.91	1.96 ± 0.79
PAH4	/0.79	0.12 ± 0.07	0.17 ± 0.08	0.15 ± 0.07

مقایسه اثر فضول مختلف در غلظت PAH ها

میانگین فاکتورهای PAH بر مبنای نوع محصول لبني در فضول مختلف در جدول شماره ۴ نشان داده شده است و از آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه استفاده شد. همه فاکتورهای PAH در سطح 0.05 معنی دار بودند به جز برای BbF، BaA، Fl، A، F، AC، NA، DhA، BaP، DhA و BgP. اگرچه در دوغ میانگین همه فاکتورها در زمستان بیشترین (0.32 ± 0.33) و در بهار کم ترین (0.19 ± 0.62) بود. بالاترین میزان میانگین PAH Nیز مربوط به آنالیت P در فصل زمستان بود (0.07 ± 0.01).

مقایسه اثر تاریخ ها مختلف در غلظت PAH ها

میانگین فاکتورهای PAH بر مبنای نوع محصولات لبني و زمان تولید (تاریخ تولید و تاریخ انقضا) در

بحث

نتایج آن ها بدین صورت بود که مجموع PAHs در مواد فوق به ترتیب $1/52$ و $1/06 \mu\text{g/kg}$ بوده است (۳۸). مطالعه دیگری در رومانی توسط Dobrinas و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی شیر خشک انجام گرفت که مجموع PAH ۱۵ برابر $1/4 - 1/475 \mu\text{g/kg}$ بود (۱۷). در سال ۱۹۸۴ در کانادا در مطالعه ای که Lawrence و همکاران انجام دادند بیان نمودند که مجموع میانگین PAH ۱۵ در شیر خامه گیری شده و غذای کودک به ترتیب $2/7$ و $8/1 \mu\text{g/kg}$ بوده است (۳۹).

Wegrzyn و همکاران در سال ۲۰۰۶ در کشور لهستان بر روی شیر خشک مطالعه ای انجام دادند که نتایج نشان داد مجموع PAH ۱۶ اندازه گیری شده برابر $1/83 \mu\text{g/kg}$ بوده است (۴۰). نتایج مطالعه دیگری که بر روی پنیر دودی صنعتی توسط Suchanov در سال ۲۰۰۸ انجام شد، نشان داد که مجموع میانگین PAH ۱۵ برابر $11 \mu\text{g/kg}$ بوده است (۴۱).

Naccari و همکاران در سال ۲۰۱۱ با اندازه گیری PAH ۱۶ در شیر خام، شیر پاستوریزه و شیر کامل بیان نمودند که میانگین مجموع PAH ها به ترتیب $5/44$ و $6/51 \mu\text{g/kg}$ بوده است (۴۲). در سال ۲۰۱۲ در ایتالیا مطالعه ای توسط Cirillo و همکاران بر روی پنیر غیر دودی و دودی انجام شد که مجموع میانگین PAH ۱۶ به ترتیب برابر $7/75 \mu\text{g/kg}$ بود (۴۳). اسحاقی گرجی و همکاران در سال ۲۰۱۶ با اندازه گیری PAH ۱۵ در انواع کباب های شهر تهران مجموع میانگین آن ها را $17/94 - 17/77 \mu\text{g/kg}$ نشان دادند (۱۶). در سال ۲۰۱۰ فرهادیان و همکاران در ایران با اندازه گیری PAH ۳ در گوشت های گریل شده مجموع میانگین آن ها را $3/51 - 3/132 \mu\text{g/g}$ بیان نمودند (۱۵).

Wretling و همکاران در سال ۲۰۰۹ با اندازه گیری BaP در گوشت دودی سوئدی میزان میانگین آن را $6/6 - 36/9 \mu\text{g/kg}$ بیان نمودند (۴۴).

Yurchenko و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه استونی بر روی ماهی دودی میانگین مجموع PAH ۶ را

از آن جایی که تاکنون استاندارد قانونی برای PAHs در دوغ و حتی در شیر در ایران و دنیا تعیین نشده به ناچار از قوانین مشابه (و در ماتریکس غذایی مشابه) برای مقایسه استفاده خواهد شد که این قوانین شامل قوانین انجمن اروپایی به شماره ۸۳۵/۲۰۱۱ (کمیسیون اروپایی a2011) برای PAH4 در شیر خشک و غذای کودک است که میزان استاندارد $1 \mu\text{g/kg}$ را تعیین نموده است (۱۴,۱۳,۵). اتحادیه اروپا نیز بالاترین میزان (MLs) مصرف $1 \mu\text{g/kg}$ برای benzo[a]pyrene در غذای نوزاد، کودک و بچه ها و همین طور در شیر مصرفی آن ها تعیین و تصویب نموده است (۲۵,۲۳,۱۹).

بنابراین نتایج ما نشان داده که میزان میانگین و ماسکریم PAH4 در دوغ به ترتیب $0/07 \pm 0/15 \mu\text{g/kg}$ بوده است که از استاندارد پایین تر بوده است. در مورد BaP نیز به همین صورت بوده و میزان میانگین $0/02 \pm 0/00 \mu\text{g/kg}$ و ماسکریم $0/03 \mu\text{g/kg}$ بوده است که مجددا پایین تر از استانداردهای تعریف شده برای این ماده در مواد غذایی مشابه بود. میزان میانگین کل PAH در دوغ برابر $1/96 \mu\text{g/kg} \pm 0/39$ بوده است که به دلیل بومی بودن این نوشیدنی، به مقایسه آن با سایر مواد غذایی در کشورهای مختلف خواهیم پرداخت. Grova و همکاران در سال ۲۰۰۲ در کشور فرانسه میانگین PAH ۸ در شیر تازه را $10/8 \pm 26/7 \mu\text{g/g}$ بیان نمود (۲۴).

در سال ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ Aguinaga و همکاران با بررسی ۱۶ و ۱۰ PAH در غذای کودک، نتایج را پایین تر از حد تشخیص دستگاه بیان نمودند (۵,۱۰). Abou-Arab و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مصر با اندازه گیری PAH ۱۵ در شیر خام مزرعه، شیر خام صنعتی و شیر پاستوریزه، میانگین PAH ها را به ترتیب $1/0/11 - 1/0/370 \mu\text{g/kg}$ و $1/0/198 \mu\text{g/kg}$ بیان نمودند (۴). در سال ۲۰۱۵ Lee و همکاران در کره جنوبی PAH ۸ را در محصولات لبنی و غذای دریایی اندازه گیری نمودند و

افزایش آزاد شدن و تجزیه شدن این ترکیبات در طول زمان بوده است.

مطالعه حاضر که با اندازه‌گیری ترکیبات سرطان‌زا و خطرناک موجود در دوغ که یک نوشیدنی بسیار پر مصرف و مفید در ایران است، نشان داد که ترکیبات PAH موجود در دوغ از حدود استانداردها پایین‌تر است بنابراین از این بابت خطری مصرف کنندگان ایرانی را تهدید نمی‌کند، از طرفی نشان داد که فصل‌های سال و زمان تولید و همینطور نوع برنده در میزان این سوموم موثر می‌باشد ولی به دلیل پایین‌تر بودن از حدود استاندارد خطری ندارد ولی پیشنهاد می‌شود که ارزیابی خطر این ترکیبات در دوغ و سایر ترکیبات انجام شود و میزان این ترکیبات در سایر مواد غذایی هم بررسی شود و در اسرع وقت برای این ترکیبات بسیار مضر، در ایران استانداردهای قانونی و لازم تدوین و مورد استفاده قرار گیرد. در ضمن ارتباط میزان آلاینده مورد بررسی با برخی عوامل نظیر مراکز تامین شیر (ستنی یا صنعتی بودن دامداری)، کیفیت شیر خام مورد استفاده (درجه کیفی طبق استاندارد ملی ایران)، وجود یا عدم وجود طعم دهنده و اسانس، پودر شیر یا پروتئین‌های شیر براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۵۳، مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از طرح پژوهشی دانشکده بهداشت IR.FUMS.REC.1397.029 به شماره ۹۶۲۵۳ و کد اخلاق ۱۷۸ بهداشت است که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی فسا انجام شد و بدین وسیله بخاطر تامین هزینه تشکر می‌شود.

References

- Amiri A, Baghayeri M, Kashmari M. Magnetic nanoparticles modified with polyfuran for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons prior to their determination by gas chromatography. *Microchimica Acta* 2016; 183(1): 149-156.
- Ahmadvaniha R, Rastkari N, Jeddi MZ, Yunesian M, Gorji MEh, Moazzen M. 950: Intake and potential cancer risk of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with

۲۰۱۰ $12/37 \mu\text{g/kg}$ در اسپانیا Martorell و همکاران با اندازه‌گیری PAH ۱۶ در گوشت و فراورده‌های گوشتی، ماهی و صدف‌ها، سبزیجات، میوه‌ها، شیر و روغن و چربی، مجموع میانگین آن‌ها را به ترتیب $1/22$, $2/87$, $3/8/99$, $1/22$, $0/47$ و $18/75 \mu\text{g/kg}$ بیان نمودند (۳۰). Orecchio و همکاران در سال ۲۰۰۹ در ایتالیا با مطالعه‌ای که بر روی ۲۲ PAH در قهوه انجام دادند مجموع میانگین آن‌ها را $1/8 \mu\text{g/L}$ - $52/0$ بیان نمودند (۴۶). بالاتر بودن میزان PAHs در مطالعات ذکر شده می‌تواند به دلایلی چون آلودگی اولیه آب و غذای دام، استفاده از سوخت‌های فسیلی برای گرمایش دامداری‌ها، قرار گرفتن دامداری‌ها در مناطق صنعتی، فرایندهای گرمایی زیاد روی مواد اولیه و آلودگی‌های ثانویه در مواد غذایی باشد (۴۸,۴۷,۳۸,۳۲,۳۰).

میانگین همه متغیرها در برنده B بالاترین ($0/41 \pm 2/04$) و در برنده A پایین‌ترین بوده است ($0/39 \pm 1/96$), که بالاتر بودن آن به دلایلی چون نزدیکی به محیط صنعتی و شاید علوفه‌های کشت شده در نزدیکی محیط‌های صنعتی بوده باشد. میانگین همه فاکتورها در زمستان بیشترین ($2/33 \pm 0/32$) و در بهار کمترین ($1/62 \pm 0/19$) بوده است، که بالاتر بودن میزان آن‌ها در فصل زمستان به دلایلی همچون استفاده از سوخت‌های فسیلی در فصل زمستان و پایین‌تر بودن میزان آن‌ها به دلیل استفاده از علوفه تازه در فصل بهار بوده است. میانگین تمام فاکتورهای PAH در دوغ در تاریخ انقضا ($2/20 \pm 0/37$) بالاتر از زمان تولید ($1/73 \pm 0/24$) بود که بالاتر بودن آن به دلایلی چون

- traditional grilled meat consumption in Iran. Eur J Cancer 2014; 50(5): S231-S2.
3. Bianchi F, Careri M ,Mangia A, Mattarozzi M, Musci M. Experimental design for the optimization of the extraction conditions of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk with a novel diethoxydiphenylsilane solid-phase microextraction fiber. *J Chromatogr A* 2008; 1196-1197: 41-45.
 4. Abou-Arab A, Abou-Donia M, El-Dars F, Ali O, Hossam A. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons levels in Egyptian meat and milk after heat treatment by Gas chromatography-mass spectrometry. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2014; 3(7): 294-305.
 5. Aguinaga N, Campillo N, Vinas P, Hernández-Córdoba M. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2007; 596(2): 285-290.
 6. Ahmadkhaniha R, Shafiee A, Rastkari N, Kobarfard F. Accurate quantification of endogenous androgenic steroids in cattle's meat by gas chromatography mass spectrometry using a surrogate analyte approach. *Anal Chim Acta* 2009; 631(1): 80-86.
 7. Rastkari N, Ahmadkhaniha R. Magnetic solid-phase extraction based on magnetic multi-walled carbon nanotubes for the determination of phthalate monoesters in urine samples. *J chromatogr A* 2013; 1286: 22-28.
 8. Sharifiar N, Dadgar M, Fakhri Y, Shahsavari S, Moazzen M, Ahmadloo M, et al. Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and milk powder samples and their likely risk assessment in Iranian population. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020; 85: 103331.
 9. Abdel-Shafy HI, Mansour MS. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt J Pet* 2016; 25(1): 107-123.
 10. Aguinaga N, Campillo N, Viñas P, Hernández-Córdoba M. A headspace solid-phase microextraction procedure coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples. *Anal Bioanal Chem* 2008; 391(3): 753-738.
 11. Chung T-L, Liao C-J, Chen M-F. Comparison of liquid-liquid extraction and solid-phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the milk of Taiwan. *J Taiwan Inst Chem Eng* 2010; 41(2): 178-183.
 12. Ahmadloo M, Sharifiar N, Mahmoudi R, Qajarbeygi P, Moazzen M, Akbarzadeh A, et al. Assessment of Polychlorinated Biphenyls Concentration in Egg Using GC-MS Method. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 28(168): 69-81 (Persian).
 13. Ciecielska M, Obiedziński M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in infant formulae, follow-on formulae and baby foods available in the Polish market. *Food Control* 2010; 21(8): 1166-1172.
 14. Cho HK, Shin HS. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbon contents and risk assessment for infant formula in Korea. *Food Sci Biotechnol* 2012; 21(5): 1329-1334.
 15. Farhadian A, Jinap S, Abas F, Sakar ZI. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control* 2010; 21(5): 606-610.
 16. Gorji MEh, Ahmadkhaniha R, Moazzen M, Yunesian M, Azari A, Rastkari N. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Iranian Kebabs. *Food Control* 2016; 60: 57-63.

17. Dobrinas S, Soceanu A, Popescu V, Coatu V. Polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in milk powder. *J Dairy Res* 2016; 83(2): 261-265.
18. Fasano E, Yebra-Pimentel I, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J. Profiling, distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. *Food Control* 2016; 59: 581-590.
19. Garcia Londoño VA, Garcia LP, Scussel VM, Resnik S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Argentina and Brazil. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2013; 30(9): 1573-1580.
20. Gutiérrez R, Vega S, Ortiz R, Pérez JJ, Schettino B. Presence of PAHs in milk of industrial farms from Tizayuca, Hidalgo, Mexico. *J Environ Sci Health B* 2015; 50(5): 317-321.
21. Howard JW, Fazio T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *Handbook of Naturally Occurring Food Toxicants*. Florida, CRC Press; 2018.
22. Falco G, Domingo JL, Llobet JM, Teixido A, Casas C, MÜLLER L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: human exposure through the diet in Catalonia, Spain. *J Food Prot* 2003; 66(12): 2325-2331.
23. Girelli A, Sperati D, Tarola AM. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Italian milk by HPLC with fluorescence detection. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2014; 31(4): 703-710.
24. Grova N, Feidt C, Crépineau C, Laurent C, Lafargue PE ,Hachimi A, et al. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon levels in milk collected near potential contamination sources. *J Agric Food Chem* 2002; 50(16): 4640-4642.
25. Grova N, Schroeder H, Farinelle S, Prodhomme E, Valley A, Muller CP. Subacute administration of benzo [a] pyrene (B [a] P) reduces anxiety-related behaviour in adult mice and modulates regional expression of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors genes in relevant brain regions. *Chemosphere* 2008; 73(1): S295-S302.
26. Han J-H, Kim M-J, Shin H-S. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbon contents and risk assessment for infant formula in Korea. *J Korean Soc Appl Bi* 2014; 57(2): 173-179.
27. Kiani A, Ahmadloo M, Shariatifar N, Moazzen M, Baghani AN, Khaniki GJ, et al. Method development for determination of migrated phthalate acid esters from polyethylene terephthalate (PET) packaging into traditional Iranian drinking beverage (Doogh) samples: a novel approach of MSPE-GC/MS technique. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018; 25(13): 12728-12738.
28. Kouhpayeh A, Moazzen M, Jahed Khaniki GR, Dobaradaran S, Shariatifar N, Ahmadloo M, et al. Extraction and determination of phthalate esters (PAEs) in Doogh. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 26(145): 257-267 (Persian).
29. Iwegbue CM, Edeme JN, Tesi GO, Bassey FI, Martincigh BS, Nwajei GE. Polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in commercially available infant formulae in Nigeria: Estimation of dietary intakes and risk assessment. *Food Chem Toxicol* 2014; 72: 221-227.
30. Kamankesh M, Mohammadi A, Hosseini H, Tehrani ZM. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled

- meat using microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Meat Science* 2015; 103: 61-67.
31. Lamichhane S, Krishna KB, Sarukkalige R. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by sorption: a review. *Chemosphere* 2016; 148: 336-353.
32. Martorell I, Perelló G, Martí-Cid R, Castell V, Llobet JM, Domingo JL. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: temporal trend. *Environ Int* 2010; 36(5): 424-432.
33. Mehdinia A, Khodaee N, Jabbari A. Fabrication of graphene/Fe₃O₄@ polythiophene nanocomposite and its application in the magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. *Anal Chim Acta* 2015; 868: 1-9.
34. Moazzen M, Ahmadkhaniha R, Gorji MEh, Yunesian M, Rastkari N. Magnetic solid-phase extraction based on magnetic multi-walled carbon nanotubes for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat samples. *Talanta* 2013; 115: 957-965.
35. Moazzen M, Khaneghah AM, Shariatifar N, Ahmadloo M, Eş I, Baghani AN, et al. Multi-walled carbon nanotubes modified with iron oxide and silver nanoparticles (MWCNT-Fe₃O₄/Ag) as a novel adsorbent for determining PAEs in carbonated soft drinks using magnetic SPE-GC/MS method. *Arab J Chem* 2019; 12(4): 476-488.
36. Moazzen M, Mahvi AH, Shariatifar N, Jahed Khaniki G, Nazmara S, Alimohammadi M, et al. Determination of phthalate acid esters (PAEs) in carbonated soft drinks with MSPE/GC-MS method. *Toxin Reviews* 2018; 37(4): 319-326.
37. Mohammadi M, Valizadeh-Kakhki F. Polycyclic aromatic hydrocarbons determination in grilled beef and chicken. *Polycyclic Aromatic Compounds* 2018; 38(5): 434-444.
38. Lee SY, Lee JY, Shin HS. Evaluation of chemical analysis method and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons content from seafood and dairy products. *Toxicol Res* 2015; 31(3): 265-271.
39. Lawrence JF, Weber DF. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. *J Agric Food Chem* 1984; 32(4): 794-797.
40. Wegrzyn E, Grzeskiewicz S, Poplawska W, Glod B. Modified analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons, using sec for sample preparation and RP-HPLC with fluorescence detection. Application to different food samples. *Acta Chromatographica* 2006; 17: 233-249.
41. Suchanová M, Hajšlová J, Tomaniová M, Kocourek V, Babička L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheese. *J Sci Food Agric* 2008; 88(8): 1307-1317.
42. Naccari C, Cristani M, Giofrè F, Ferrante M, Siracusa L, Trombetta D. PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Res Int* 2011; 44(3): 716-724.
43. Cirillo T, Milano N, Cocchieri RA. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditional smoked dairy products from Campania (Italy). *Ital J Public Health* 2004; 1(1-2): 51-53.
44. Wretling S, Eriksson A, Eskhult G, Larsson B. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

- in Swedish smoked meat and fish. *J Food Compos Anal* 2010; 23(3): 264-272.
45. Yurchenko S, Mölder U. The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish by gas chromatography mass spectrometry with positive-ion chemical ionization. *J Food Compos Anal* 2005; 18(8): 857-869.
46. Orecchio S, Ciotti VP, Culotta L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(4): 819-826.
47. Rafiei Nazari R, Noorian S, Arabameri M. Migration modelling of phthalate from non-alcoholic beer bottles by adaptive neuro-fuzzy inference system. *J Sci Food Agric* 2018; 98(6): 2113-2120.
48. Santonicola S, Albrizio S, Murru N, Ferrante MC, Mercogliano R. Study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and meat/fish based baby food available in Italy. *Chemosphere* 2017; 184: 467-472.