

Investigating the Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Doogh

Amin Kiani¹,
Nabi Shariatifar²,
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 هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای در دوغ

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

چکیده

سابقه و هدف: هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) یکی از شایع ترین آلاینده های محیط زیست هستند که احتمال سرطان زایی و جهش زایی تعدادی از آن ها 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 هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای در انواع مختلف دوغ های ایرانی موجود در شهر تهران می باشد.

مواد و روش ها: 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 برند پر مصرف، 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 آماده سازی نمونه، غلظت هر کدام از ۱۶ PAHs از طریق دستگاه GC-MS اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که در تمامی نمونه ها میزان PAHs پایین تر از محدوده استاندارد بوده است و بیش ترین غلظت نیز مربوط به پیرن بود. همچنین میانگین مجموع PAHs برابر $1/96 \pm 0/39 \mu\text{g/kg}$ بوده است. در برند B و فصل زمستان و در زمان تاریخ انقضای نمونه ها، شاهد بالاترین میزان مجموع PAHs بودیم.

استنتاج: براساس یافته های این مطالعه، با توجه به پایین تر بودن میانگین کل هر کدام از هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای نسبت به استاندارد در انواع مختلف دوغ، می توان بیان نمود که خطری از این لحاظ مصرف کننده ها را تهدید نمی کند.

واژه های کلیدی: هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای، دوغ، کربن نانو تیوب چند جداره، استخراج مغناطیسی، کروماتوگرافی گازی

مقدمه

زیرزمینی و محیط های 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 جهش زا، سرطان زا یا هر دو آن ها هستند (۴-۸). این

هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای یا Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) یکی از شایع ترین آلاینده های محیط زیست در گروه ترکیبات آلی، می باشند. آلودگی هوا، خاک، آب های سطحی و

E-mail: moazzen.mojtaba@gmail.com

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

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

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

۳. مربی، گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات ایمنی محصولات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

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

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

ترکیبات به علت دارا بودن خصوصیتی همچون سمیت، جهش زایی، سرطان زایی و نیز قرار گرفتن در ردیف آلاینده های اولیه (Priority Pollutants) توسط آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (US EPA) از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند (۹-۱۱). این ترکیبات دارای دو یا چند حلقه بنزنی می باشند. این حلقه ها در آرایش های مختلف بوده و می توانند با و یا بدون گروه های جایگزین باشند. این ترکیبات خنثی، غیر قطبی و آب گریز هستند. هر کدام از ترکیبات با توجه به تعداد حلقه های بنزنی، وزن مولکولی، حلالیت در آب، ویژگی های جذب و واجذب، پایداری، فراریت، اکسید شدن و قابلیت تجزیه بیولوژیکی دارای خواص فیزیکی و شیمیایی مستقل می باشند (۱۱-۱۳). از میان هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای، ۱۶ ترکیب به دلایل عدم تجزیه بیولوژیکی سریع توسط میکروارگانیسم ها و در نتیجه ایجاد سمیت و خطر در محیط زیست بیش تر مطرح بوده و به عنوان شاخص آلودگی ترکیبات PAHs در نظر گرفته می شوند. این ۱۶ ترکیب شامل نفتالن، اسنفتلین، اسنفتن، فلورن، فناترن، آنتراسن، فلورانتن، پایرن، بنزو (a) آنتراسن، کرایسن، بنزو (b) فلورانتن، بنزو (k) فلورانتن، بنزو (a) پایرن، دی بنزو (a,h) آنتراسن، بنزو (g,h,i) پرین و ایندنو (1,2,3 cd) پایرن می باشند (۱۴-۱۶). منشا ورود ترکیبات PAHs به محیط شامل نیروگاه ها، سیستم های گرمایش، موتورهای گازوئیلی و دیزلی، سوزاندن زایدات، برخی از فعالیت های صنعتی و دود سیگار است. این ترکیبات می توانند از اتمسفر وارد خاک، آب و رسوبات شوند. منابع عمده ورود ترکیبات PAHs به محیط زیست و آب های سطحی را می توان نفت خام، محصولات حاصل از فرآیندهای پالایش ترکیبات نفتی از جمله احتراق، صنایع پتروشیمی، دودکش اتومبیل ها، آتش سوزی جنگل ها، فعالیت های آتشفشانی، تخلیه فاضلاب های شهری و رواناب ها ذکر نمود (۲۱-۱۷). مکانیسم های تولید PAHs در مواد غذایی مشابه آلودگی محیطی می باشد. ثابت شده است که گوشت های کباب

شده، ماهی، لبنیات و سایر غذاهایی که پخت آن ها با گرما می باشد و یا در طول تولید گرما می بینند، معمولاً حاوی PAHs می باشند. این مواد شیمیایی به غذا می چسبند و با افزایش دما، حضور آن ها در ماده غذایی بیش تر خواهد شد. دو مکانیسم اصلی تولید PAHs در مواد غذایی پیرولیز و پیروستز هستند. در دمای بالا مواد آلی به اجزای کوچک تری شکسته می شوند، که غالباً رادیکال آزاد می باشند. این رادیکال های آزاد با یکدیگر ترکیب شده و PAHs پایدار را تشکیل می دهند. در دمای کم تر از ۴۰۰ درجه سیلسیوس فقط تعداد اندکی از PAHs تشکیل می شوند و با افزایش دما تا ۱۰۰۰ درجه سیلسیوس تعداد آن ها در ماده غذایی افزایش می یابد (۲۶-۲۲). دوغ یک محصول لبنی تخمیری است و فرآورده جانبی ماست محسوب می شود (چون ماست تخمیر می شود بنابراین دوغ نیز محصولی تخمیری به حساب می آید) که از مقبولیت و مصرف بالا در ایران برخوردار بوده و میزان مصرف سرانه، تولید صنعتی و صادرات آن در سال های اخیر رشد قابل توجه داشته است. مقبولیت دوغ نه فقط به عنوان فرآورده ای با ویژگی های 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 این رو ایمنی و سلامت این فرآورده بسیار حائز اهمیت است. این محصول در ایران به شکل های گوناگونی همچون دوغ گرما دیده یا بدون فرآیند گرمایی، ترش یا شیرین، گازدار یا بدون گاز و طعم دار یا بدون طعم تولید و روانه بازار می شود (۲۷، ۲۸). در نهایت به نظر می رسد 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 همین طور خطرناک بودن سموم یاد شده به خصوص برای کودکان و قشر آسیب پذیر، امری ضروری می باشد. فرایند استخراج به وسیله جامدات از روش هایی است

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

مواد و روش‌ها

آماده سازی استاندارد ها

استاندارد های مرجع PAH میکس که محتوی ۱۶ PAH اصلی می باشد از شرکت زیگما-آلدریچ آلمان خریداری شد. محلول استاندارد حاوی PAH های نشانه دار ($1 \mu\text{g/ml}$) در دی کلرو متان تهیه شد. محلول استوک حاوی بنزو(a)پیرن، کریسن و پیرن به صورت جداگانه در غلظت $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ و در حلال 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 $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ برای هر ترکیب، رقیق شدند که این محلول استخراج کننده برای اندازه گیری کارایی استخراج در شرایط مختلف ساخته شد. بیفنل (ساخت شرکت مرک) به عنوان استاندارد داخلی با غلظت $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ 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 $0.5-3.0 \mu\text{m}$ و ضخامت $30-60 \text{ nm}$) 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 حلال‌ها با همان گرید یا بهتر بودند (۷).

نمونه ها

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

که اخیراً برای اندازه گیری غلظت‌های کم آلاینده‌ها مورد توجه بسیاری از محققان واقع شده است. به این منظور تاکنون جاذب‌های مختلفی مانند کربن فعال گرانوله، کیتوزان و کربن فعال مورد استفاده قرار گرفته‌اند. راندمان جذب و واجذب پایین، جداسازی مشکل، زمان طولانی جذب و هزینه‌های بالا از چالش‌های بزرگ استفاده از جاذب‌های فوق‌الذکر 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 شکننده‌ای توانایی جذب استرهای فتالات را دارا می باشد 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 کرد، که دقیق و کاملاً قابل استناد بین المللی نیز می باشد روش GC-MS است (۱۲، ۱۶، ۲۷، ۳۷-۲۹). 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 آنجایی که تاکنون مطالعه جامع و درخور توجهی برای اندازه گیری این ماده خطرناک در انواع مختلف دوغ‌های ایرانی با برندهای مختلف و در بازه‌های 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 دوغ‌های رایج در شهر تهران در سال

شد. در این مرحله بعد از خریداری هر نمونه آن را توسط میکسر مخلوط و سپس به میزان ۵ gr 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 (Agilant) مدل ۶۸۹۰ ساخت کشور امریکا) به علاوه شناساگر چند قطبی mass مدل ۵۹۷۳ بود. درون کروماتوگرافی گازی مذکور، ستون موئینه مدل DB-5 (با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ 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 ۹۹/۹۹۹۹ 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 سانی 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 ابقای 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

سنجش 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 دکتور به این عناصر حساس هستند و به راحتی می توان آن ها را تشخیص داد. برای هر ترکیب یک چند سنجی (Quantitation) و دو توصیف کننده (Qualifier) سنجش شد (جدول شماره ۱).

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

گروه یونی	آنالیت	مخفف الحصری	زمان بخره (دقیقه)	کمی کردن یون	تایید یون ها
۱	بنفل	Bp	۱۳-۸	۱۵۴	۱۵۳و۱۵۲
۱	نفتال	NA	۱۳-۸	۱۵۱	۱۵۴و۱۵۱
۱	استنالتین	Ace	۱۳-۸	۱۵۲	۱۵۳و۱۵۱
۱	استنتین	Ac	۱۳-۸	۱۵۳	۱۵۴و۱۵۲
۲	فلورین	F	۱۵-۱۳	۱۶۶	۱۶۷و۱۶۵
۳	فلترین	Pa	۱۷-۱۵	۱۷۸	۱۷۹و۱۷۶
۳	آتراسن	A	۱۷-۱۵	۱۷۸	۱۷۹و۱۷۶
۴	فلورانتین	Fl	۲۰-۱۷	۲۰۲	۲۰۳و۲۰۱
۴	پیرن	P	۲۰-۱۷	۲۰۲	۲۰۳و۲۰۱
۵	بنزو(a)آتراسن	BaA	۲۳-۲۰	۲۲۸	۲۲۹و۲۲۶
۵	کریسن	Ch	۲۳-۲۰	۲۲۸	۲۲۹و۲۲۶
۶	بنزو(b)فلورانتین	BbF	۲۸-۲۳	۲۵۲	۲۵۳و۲۴۶
۶	بنزو(k)فلورانتین	BkF	۲۸-۲۳	۲۵۲	۲۵۳و۲۴۶
۶	بنزو(a)پیرن	BaP	۲۸-۲۳	۲۵۲	۲۵۳و۲۴۶
۷	اینندو(1,2,3,cd)پیرن	IP	۳۱-۲۸	۲۷۶	۲۷۷و۲۳۸
۷	دینزو(a,h)آتراسن	DhA	۳۱-۲۸	۲۷۸	۲۷۹و۲۳۹
۷	بنزو(g,h,i)پیرن	BgP	۳۱-۲۸	۲۷۶	۲۷۷و۲۳۸

بهینه سازی روش

۵۰ گرم از نمونه شاهد با ۵ میلی لیتر از محلول استخراج کننده ترکیب شده با بنزو(a)پیرن، کریسن و پیرن (۰/۵ μg/ml) تثبیت 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 ست یا بهینه شده است. مطابق این پروتوکل، 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

مورد مطالعه برای تخمین اندازه‌های بهینه تنظیم شده است، تکرار می‌شود. در نهایت روشی که شامل تمامی موارد می‌باشد تکرار می‌شود 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 میکروگرم در لیتر بیفنیل 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 ۷/۵ میلی لیتر پتاسیم هیدروکسید (۱ مولار در آب) و ۷/۵ 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 سانتریفوژ 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 تغلیظ 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 تا ۶/۵ توسط افزودن اسید هیدروکلریک (۱ مولار) کاهش یافت. بعد

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 جمع‌آوری 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 جمع‌آوری شد. این مرحله برای چندین مرتبه تکرار و سپس محلول واجذبی جمع‌آوری و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در زیر جریان ملایم 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 و استخراج 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 متوسط استفاده شده برای کمی پذیر شدن، آنالیز شدند.

کمیّت پذیر شدن روش

برای کمیّت پذیر کردن PAHs در نمونه‌های آنالیز شده از روش نمودار کالیبراسیون تثبیت شده قدیمی، استفاده شد. برای ساخت نمودار کالیبراسیون تثبیت 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 Kg^{-1}) و 1000 ، 2500 ، 5000 ، 10000 و $25000 \mu\text{g/Kg}$) در سه نسخه

مستقل استفاده شد. سطح معنی داری ۵ درصد در نظر گرفته شد. در مواردی که ترکیبات PAH مشاهده (Detect) نشد، از نصف کم ترین 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 دوغ در جدول شماره ۲ لیست شده است.

جدول شماره ۲: غلظت PAHs در دوغ های مختلف ایرانی (µg/kg)

آنالیت	انحراف معیار ± میانگین	بیشینه	کمینه	تعداد	سطح معنی داری
NA	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
Ace	۰/۳۸ ± ۰/۱۰	۰/۵۴	۰/۲۱	۲۴	P < ۰/۰۰۱
Ac	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
F	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
Pa	۰/۵۱ ± ۰/۱۴	۰/۷۶	۰/۳۰	۲۴	P < ۰/۰۰۱
A	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
Fl	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
P	۰/۷۳ ± ۰/۰۸	۰/۹۰	۰/۶۲	۲۴	P < ۰/۰۰۱
BaA	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
Ch	۰/۰۵ ± ۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
BbF	۰/۰۷ ± ۰/۰۴	۰/۱۴	۰/۰۲	۲۴	P < ۰/۰۰۱
BkF	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
BaP	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۰۲	۲۴	۰/۰۳۷
IP	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
DhA	۰/۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۲	۰/۰۲	۲۴	۱/۰۰۰
BgP	۰/۰۳ ± ۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۰۲	۲۴	۰/۰۸۷
total	۱/۹۶ ± ۰/۳۹	۲/۷۳	۱/۳۹	۲۴	P < ۰/۰۰۱
PAH4	۰/۱۵ ± ۰/۰۷	۰/۳۱	۰/۰۸	۲۴	P < ۰/۰۰۱

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 (۰/۷۳ ± ۰/۰۸) و بیشترین میزان بیشینه بودند (۰/۹). از طرف دیگر آنالیت های NA, Ac, F, A, Fl, BaA, BkF, BaP, IP و DhA دارای کمترین میزان میانگین بودند (۰/۰۲ ± ۰/۰۰). میانگین PAH کل برابر ۱/۹۶ ± ۰/۳۹ و میانگین PAH4 برابر ۰/۱۵ ± ۰/۰۷ µg/Kg بود.

مقایسه 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 (۰/۲۵، ۰/۷۵، ۰/۰۵ و ۱۵۰/۰ µg/Kg) در سه نسخه تهیه و آماده سازی شد. برای استفاده از روش نمودار کالیبراسیون تثبیت شده، آماده سازی و کنترل کیفیت نمونه ها به همان مشابَهت نمونه های واقعی بسیار مهم است. وقتی PAHs واقعا به درون ماتریکس دوغ افزوده شد، آنالیزهای تثبیت شده به مانند نمونه های واقعی به درون ماتریکس باند نخواهند شد. این تفاوت در باند شدن سبب خطای معنی داری در کمی کردن داده ها می شود. بنابراین در این مطالعه ما از یک روش خاص برای آماده سازی نمونه های تثبیت شده استفاده کردیم. بعد از تثبیت کردن، نمونه های کنترل کیفیت و کالیبراسیون به خوبی نمونه های تثبیت نشده که برای اندازه گیری سطوح خط مبنا 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 حداکثر (استاندارد داخلی/آنالیت)، که بر مبنای سطوح ابتدایی و در خلاف غلظت های اسمی تثبیت 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 PAH4، total، BbF، Ch، P، Pa، Ace بین تاریخ تولید و انقضا در دوغ وجود داشت. در هر صورت میانگین تمام فاکتورهای PAH در دوغ در تاریخ انقضا ($2/20 \pm 0/37$) بالاتر از زمان تولید ($1/73 \pm 0/24$) بود. آنالیت P نیز در زمان تاریخ انقضا دارای بالاترین میانگین PAH بود ($0/78 \pm 0/09$).

یک طرفه برای محاسبه تاثیر نوع برند بر روی فاکتورهای PAH استفاده شد و انواع برندها A، B و C نام گذاری شد. اختلاف معنی داری در متغیرهای PAH وجود نداشت. اگرچه در دوغ میانگین همه متغیرها در برند B بالاترین ($2/04 \pm 0/41$) و در برند A پایین ترین بود ($1/96 \pm 0/39$). آنالیت P در برند B دارای بالاترین میانگین غلظت بود ($0/76 \pm 0/09$).

جدول شماره ۳: میانگین غلظت PAHها در برند های مختلف دوغ ($\mu\text{g/Kg}$)

جدول شماره ۴: میانگین غلظت PAHها در فصول مختلف ($\mu\text{g/Kg}$)

آنالیت	نوع برند			سطح معنی داری
	C	B	A	
NA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Ace	$0/36 \pm 0/10$	$0/40 \pm 0/10$	$0/38 \pm 0/01$	$0/718$
Ac	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
F	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Pa	$0/53 \pm 0/14$	$0/29 \pm 0/06$	$0/51 \pm 0/14$	$0/927$
A	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Fl	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
P	$0/73 \pm 0/08$	$0/76 \pm 0/09$	$0/73 \pm 0/08$	$0/666$
BaA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Ch	$0/4 \pm 0/03$	$0/5 \pm 0/04$	$0/5 \pm 0/03$	$0/837$
BbF	$0/6 \pm 0/04$	$0/8 \pm 0/04$	$0/6 \pm 0/03$	$0/706$
BkF	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
BaP	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/614$
IP	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
DhA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
BgP	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/322$
total	$1/9 \pm 0/39$	$2/04 \pm 0/41$	$1/96 \pm 0/39$	$0/786$
PAH4	$0/14 \pm 0/07$	$0/15 \pm 0/07$	$0/15 \pm 0/07$	$0/769$

مقایسه اثر فصول مختلف در غلظت PAHها

میانگین فاکتورهای PAH بر مبنای نوع محصول لبنی در فصول 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 AC، NA، F، A، AC، NA، BkF، BaA، FI، A، F، AC، NA، BaP، Ip و DhA. اگرچه در دوغ میانگین همه فاکتورها در زمستان بیشترین ($2/33 \pm 0/32$) و در بهار کمترین ($1/62 \pm 0/19$) بود. بالاترین میزان میانگین PAH نیز مربوط به آنالیت P در فصل زمستان بود ($0/81 \pm 0/07$).

مقایسه اثر تاریخ ها مختلف در غلظت PAHها

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

جدول شماره ۵: میانگین غلظت PAHها در مدت زمان نگه داری ($\mu\text{g/Kg}$)

آنالیت	زمان نگه داری		سطح معنی داری
	تاریخ تولید	تاریخ انقضا	
NA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Ace	$0/34 \pm 0/07$	$0/44 \pm 0/08$	$0/001$
Ac	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
F	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Pa	$0/44 \pm 0/09$	$0/60 \pm 0/12$	$0/001$
A	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Fl	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
P	$0/69 \pm 0/05$	$0/78 \pm 0/09$	$0/013$
BaA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
Ch	$0/3 \pm 0/01$	$0/3 \pm 0/01$	$0/001$
BbF	$0/5 \pm 0/02$	$0/9 \pm 0/04$	$0/002$
BkF	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
BaP	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$0/166$
IP	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
DhA	$0/2 \pm 0/0$	$0/2 \pm 0/0$	$1/000$
BgP	$0/2 \pm 0/0$	$0/3 \pm 0/01$	$0/105$
total	$1/73 \pm 0/24$	$2/20 \pm 0/37$	$0/002$
PAH4	$0/11 \pm 0/03$	$0/20 \pm 0/07$	$0/001$

بحث

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 ۲۰۱۱) برای PAH4 در شیر خشک و غذای کودک است که میزان استاندارد ۱ $\mu\text{g}/\text{kg}$ را تعیین نموده است (۱۴،۱۳،۵). اتحادیه اروپا نیز بالاترین میزان (MLs) مصرف $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ را برای benzo[a]pyrene در غذای نوزاد، کودک و بچه‌ها و همین‌طور در شیر مصرفی آن‌ها تعیین و تصویب نموده است (۲۵،۲۳،۱۹).

بنابراین نتایج ما نشان داده که میزان میانگین و ماکزیمم PAH4 در دوغ به ترتیب $0/15 \pm 0/07$ و $0/31 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است که از استاندارد پایین‌تر بوده است. در مورد BaP نیز به همین صورت بوده و میزان میانگین $0/02 \pm 0/00$ و ماکزیمم $0/03 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است که مجدداً پایین‌تر از استانداردهای تعریف شده برای این ماده در مواد غذایی مشابه بود. میزان میانگین کل PAH در دوغ برابر $0/39 \pm 1/96 \mu\text{g}/\text{kg}$ 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 PAH8 در شیر تازه را $10/8 \pm 26/7 \text{ ng}/\text{g}$ بیان نمود (۲۴).

در سال ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ Aguinaga و همکاران با بررسی ۱۶ و ۱۰ PAH در غذای کودک، نتایج را پایین‌تر از حد تشخیص دستگاه بیان نمودند (۱۰،۵).

Abou-Arab و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مصر با اندازه‌گیری ۱۵ PAH در شیر خام مزرعه، شیر خام صنعتی و شیر پاستوریزه، میانگین PAH ها را به ترتیب $0/198 \mu\text{g}/\text{kg}$ و $0/370$ ، $1/011$ بیان نمودند (۴). در سال ۲۰۱۵ Lee و همکاران در کره جنوبی PAH8 را در محصولات لبنی و غذای دریایی اندازه‌گیری نمودند و

نتایج آن‌ها بدین صورت بود که مجموع PAHs در مواد فوق به ترتیب $1/52$ و $1/06 \mu\text{g}/\text{kg}$ 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 $0/475 - 1/4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 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 $0/27 - 0/1 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است (۳۹).

Wegrzyn و همکاران در سال ۲۰۰۶ در کشور لهستان بر روی شیر خشک مطالعه‌ای انجام دادند که نتایج نشان داد مجموع PAH ۱۶ اندازه‌گیری شده برابر $1/83 \mu\text{g}/\text{kg}$ 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 $0/11 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است (۴۱).

Naccari و همکاران در سال ۲۰۱۱ با اندازه‌گیری PAH ۱۶ در شیر خام، شیر پاستوریزه و شیر کامل بیان نمودند که میانگین مجموع PAH ها به ترتیب $5/44$ ، $6/51$ و $7/75 \mu\text{g}/\text{kg}$ بوده است (۴۲). در سال ۲۰۱۲ در ایتالیا مطالعه‌ای توسط Cirillo و همکاران بر روی پنیر غیر دودی و دودی انجام شد که مجموع میانگین PAH به ترتیب برابر $160/05 - 59/11$ و $399/90 - 67/49 \mu\text{g}/\text{kg}$ بود (۴۳). اسحاقی گرجی و همکاران در سال ۲۰۱۶ با بررسی PAH ۱۵ در انواع کباب‌های شهر تهران مجموع میانگین آن‌ها را $7/37 - 17/94 \mu\text{g}/\text{kg}$ نشان دادند (۱۶). در سال ۲۰۱۰ فرهادیان و همکاران در ایران با اندازه‌گیری PAH3 در گوشت‌های گریل شده مجموع میانگین آن‌ها را $132 - 3/51 \text{ ng}/\text{g}$ بیان نمودند (۱۵).

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

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

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

مطالعه حاضر که با اندازه گیری 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 پایین تر است بنابراین از این بابت خطری مصرف کنندگان ایرانی را تهدید نمی کند، از طرفی نشان داد که فصل های سال و زمان تولید و همینطور نوع برند در میزان این سموم موثر می باشد ولی به دلیل پایین تر بودن از حدود استاندارد خطری ندارد ولی پیشنهاد می شود 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 (سستی 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 پروتئین های شیر براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۵۳، مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

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

References

1. 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;

۱۲/۳۷ $\mu\text{g/kg}$ اندازه گیری نمودند (۴۵). در سال ۲۰۱۰ در اسپانیا Martorell و همکاران با اندازه گیری PAH ۱۶ در گوشت و فراورده های گوشتی، ماهی و صدف ها، سبزیجات، میوه ها، شیر و روغن و چربی، مجموع میانگین آن ها را به ترتیب ۳۸/۹۹، ۲/۸۷، ۱/۲۲، ۰/۸۱، ۰/۴۷ و $18/75 \mu\text{g/kg}$ بیان نمودند (۳۰). Orecchio و همکاران در سال ۲۰۰۹ در ایتالیا با مطالعه ای که بر روی PAH ۲۲ در قهوه انجام دادند مجموع میانگین آن ها را $0/52-1/8 \mu\text{g/L}$ بیان نمودند (۴۶). بالاتر بودن میزان PAHs در مطالعات ذکر شده می تواند به دلایلی چون آلودگی اولیه آب و غذای دام، استفاده از سوخت های فسیلی برای گرمایش دامداری ها، قرار گرفتن دامداری ها در مناطق صنعتی، فرایندهای گرمایی زیاد روی مواد اولیه و آلودگی های ثانویه در مواد غذایی باشد (۳۰، ۳۲، ۳۸، ۴۷، ۴۸).

میانگین همه متغیرها در برند B بالاترین (۰/۴۱±۲/۰۴) و در برند A پایین ترین بوده است (۰/۳۹±۱/۹۶)، که بالاتر بودن آن به دلایلی چون نزدیکی به محیط صنعتی و شاید علوفه های کشت شده در نزدیکی محیط های صنعتی بوده باشد. میانگین همه فاکتورها در زمستان بیش ترین (۰/۳۲±۲/۳۳) و در بهار کم ترین (۰/۱۹±۱/۶۲) بوده است، که بالاتر بودن میزان آن ها در فصل زمستان به دلایلی همچون استفاده از سوخت های فسیلی در فصل زمستان و پایین تر بودن میزان آن ها به دلیل استفاده از علوفه تازه در فصل بهار بوده است. میانگین تمام فاکتورهای PAH در دوغ در تاریخ انقضا (۰/۳۷±۲/۲۰) بالاتر از زمان تولید (۰/۲۴±۱/۷۳) بود که بالاتر بودن آن به دلایلی چون

183(1): 149-156.

2. Ahmadkhaniha R, Rastkari N, Jeddi MZ, Yunesian M, Gorji MEh, Moazzen M. 950: Intake and potential cancer risk of polycyclic aromatic hydrocarbons associated with

- traditional grilled meat consumption in Iran. *Eur J Cancer* 2014; 50(5): S231-S2.
- 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - Shariatifar 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - Ahmadloo M, Shariatifar 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).
 - Ciecierska 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.
 - 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.
 - Farhadian A, Jinap S, Abas F, Sakar ZI. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control* 2010; 21(5): 606-610.
 - 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. Sub-acute 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, Bassefi 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, Khodae 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.