

Occurrence of Aflatoxin M1 in Ruminants Milk Offerd in Karaj County with ELISA method

Somayeh Parvizifara¹, Ebrahim Rahimi^{2*}

¹ Graduated in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran,
Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received: 2024-4-26
Revised: 2024-7-30
Accepted: 2024-7-30

Keywords:

aflatoxin M1
food safety
ruminants
Karaj

ABSTRACT

Background and Objectives: Molds naturally produce mycotoxins, secondary metabolites that contaminate human and livestock food. Aflatoxins are toxic substances that can cause acute and chronic human poisoning with teratogenic effects. These are poisonous chemicals made by the secondary metabolism of a number of fungi, including *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, and *Aspergillus nomius*. These fungi grow on major food crops in a wide range of climates. Aflatoxin M1 contamination in milk is a growing concern. Aflatoxin M1 contamination in milk, a food rich in protein, fat, micronutrients, and water, is a growing concern. Considering the high toxicity of aflatoxin M1 and its harmful effects on human health, its measurement in milk is of great importance. This study aimed to investigate the presence of aflatoxin M1 in ruminant milk supplied in Karaj County.

Materials and Methods: 60 raw milk samples were randomly sampled in the summer and autumn seasons, which included 20 cow milk samples, 10 buffalo milk samples, 10 camel milk samples, 10 sheep milk samples, and 10 goat milk samples, from the supply centers of these products in Karaj County. The AFM1 ELISA kit (Biopharm-R, Germany) was used to measure the amount of aflatoxin M1 in milk. The samples were transferred to the food hygiene and quality control laboratory of Shahrekord Islamic Azad University. There were differences in the amount of AFM in milk samples from different ruminants. Duncan's test was used with a 95% confidence level to find them, and a significance level of $p < 0.05$ was used to find the mean difference. We used Excel software to draw the graphs.

Results: All raw milk samples, including those from cows, sheep, goats, buffaloes, and camels, tested positive for aflatoxin M1. Aflatoxin M1 contaminated 29 samples (48.3%) with less than 5 ng/L, 27 samples (45%) with 20–5 ng/L, and 4 samples (6.70%) with 20–50 ng/L. Furthermore, in this study, none of the ruminant raw milk samples had contamination beyond 50 ng/l.

Conclusion: The results showed that the concentration of aflatoxin M1 in none of the studied milks was beyond the standard. The

contamination levels were lower than Iranian standards. European and American In the present study, the use of ruminant milk sold in Karaj County does not pose any risk to consumers' health.

Cite this article: Parvizifara, S., Rahimi, E. 2024. Occurence of Aflatoxin M1 in Ruminants Milk Offerd in Karaj County with ELISA method. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(1), 67-80.



"Authors retain the copyright and full publishing rights"

DOI: 10.22069/fppj.2024.22386.1810

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

رخداد آفاتوکسین M1 در شیر نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج به روش الایزا

سمیه پرویزی فرا^۱، ابراهیم رحیمی^{۲*}

۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲ استاد تمام، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران، رایانامه: ebrahimrahimi55@yahoo.com

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۹

واژه‌های کلیدی:

آفاتوکسین M1

ایمنی غذایی

نشخوارکنندگان

کرج

سابقه و هدف: مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به طور طبیعی توسط کپک‌ها تولید می‌شوند و سبب آلودگی مواد غذایی انسان و دام می‌شوند. آفاتوکسین‌ها مواد سمی هستند که می‌توانند باعث مسمومیت حاد و مزمن انسان با اثرات تراتوژن شوند. آنها مواد سمی هستند که توسط متابولیسم ثانویه چندین گونه قارچی مانند *Aspergillus flavus*، *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus nomius* تولید می‌شوند که در محصولات غذایی عمده تحت طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی رشد می‌کنند. آلودگی به آفاتوکسین M1 در شیر یک نگرانی رو به رشد است. شیر یک غذای بسیار مغذی است که دارای پروتئین، چربی، ریزمغذی و آب در ترکیبات خود است و آلودگی آن به آفاتوکسین دور از انتظار نیست. با توجه به سمیت بالای آفاتوکسین M1، و تأثیرات مخرب بر سلامتی انسان، اندازه‌گیری آن در شیر از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف از مطالعه حاضر بررسی رخداد آفاتوکسین M1 در شیر نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۶۰ نمونه شیر خام در دو فصل تابستان و پائیز (شامل ۲۰ نمونه شیر گاو، ۱۰ نمونه شیر گاو میش، ۱۰ نمونه شیر شتر، ۱۰ نمونه شیر گوسفند، ۱۰ نمونه شیر بز) از مراکز عرضه این محصولات در شهرستان کرج به صورت تصادفی نمونه‌گیری و جهت ارزیابی میزان آفاتوکسین M1 به روش الایزا مطابق دستورالعمل کیت الایزای AFM1 (Biopharm-R, Germany) برای سنجش آفاتوکسین M1 در شیر استفاده شد. به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انتقال داده شدند. تجزیه و تحلیل آماری برای تعیین تفاوت‌های موجود در میزان AFM بین نمونه‌های شیر در نشخوارکنندگان مختلف، از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و تفاوت میانگین در سطح معناداری $p < 0.05$ اندازه‌گیری شد. از نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در تمامی نمونه‌های شیر خام، شامل شیر گاو، گوسفند، بز، گاو میش و شتر آلودگی به آفاتوکسین M1 ردیابی شد. تعداد ۲۹ نمونه (۴۸/۳ درصد) دارای آلودگی

کمتر از ۵ نانوگرم بر کیلوگرم، ۲۷ نمونه (۴۵ درصد) دارای آلودگی در محدوده ۵-۲۰ نانوگرم بر لیتر، و ۴ نمونه (۶/۷۰ درصد) در محدوده ۵۰-۲۰ نانوگرم بر لیتر به آفلاتوکسین آلوده بودند. همچنین در این مطالعه هیچ کدام از نمونه های شیر خام نشخوارکنندگان، آلودگی فراتر از ۵۰ نانوگرم بر لیتر را نداشتند.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که غلظت آفلاتوکسین M1 در هیچ کدام از شیرهای مورد مطالعه، فراتر از استاندارد نبودند. با توجه به آلودگی پائین تر از استاندارد ایران؛ اروپا و آمریکا در مطالعه حاضر، استفاده از شیرهای نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج نمی تواند برای سلامت مصرف کنندگان مخاطره ای داشته باشد.

استناد: پرویزی فرا، سمیه؛ رحیمی، ابراهیم. (۱۴۰۳). رخداد آفلاتوکسین M1 در شیر نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج به روش الایزا. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۶(۱)، ۸۰-۶۷.



DOI: 10.22069/fppj.2024.22386.1810

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان "حق نشر و حقوق کامل انتشار برای نویسندگان محفوظ است"

مقدمه

ایمنی مواد غذایی توسط میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت‌های غذایی تهدید می‌شوند و عوارض متعددی مانند اثرات تراژیک، ایمونوتوکسیک، نفروتوکسیک و استروژنی را پدید می‌آورند (۱). یکی از مواد غذایی که می‌تواند توسط آلاینده‌ها دستخوش تغییراتی گردد، شیر خام است. کیفیت شیر خام یک موضوع حیاتی در سراسر دنیا می‌باشد. امروزه میزان مصرف شیر و فرآورده‌های آن در هر جامعه یکی از مهم‌ترین شاخص‌های توسعه فرهنگی به شمار می‌آید (۲). شیر یک غذای کامل و با ارزش غذایی فراوان است که در هر یک از گروه‌های سنی، در برگیرنده بخشی از جیره غذایی بوده و از اهمیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. شیر خام غنی از پروتئین‌های سهل‌الهضم، ویتامین‌های گروه A، B1، B2، B6 و پانتوتینک اسید، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و املاح فراوان می‌باشد (۳). شیر از لحاظ فراوانی ویتامین‌های K و B12 فقیر است. این ماده غذایی، یک محیط رشد مطلوب به جهت فعالیت میکروارگانیسم‌های مختلف بیماری‌زا می‌باشد. رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های پاتوژن بر روی طعم و دیگر ویژگی‌های ارگانولپتیکی شیر، از جمله بو، رنگ و مزه آن نیز، تأثیرات نامطلوبی داشته که علاوه بر فساد در شیر، سبب رخداد بیماری‌های کشنده می‌گردد. از میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند سبب کاهش کیفیت و آلودگی در شیر شوند، قارچ‌ها و کپک‌ها هستند (۴ و ۵). طبق محاسبات سازمان غذا و خوار و بار جهانی (FAO)^۱، ۷۰ درصد از محصولات کشاورزی در جهان به کپک و مایکوتوکسین‌ها آلوده هستند. برداشت نامناسب محصولات کشاورزی، خشک کردن نامناسب، دستکاری زیاد محصول، شرایط نامناسب بسته‌بندی، ذخیره و انتقال محصولات کشاورزی،

باعث افزایش آلودگی قارچی این محصولات و احتمال تولید مایکوتوکسین می‌شود. رطوبت و گرمای هوا و فقدان شرایط مناسب نگهداری و عدم رعایت بهداشت محیط دامداری‌ها، استفاده زیاد از نان خشک و ذرت کپک‌زده در خوراک دام، از جمله عوامل قابل توجه در افزایش میزان این توکسین در شیر است (۶). مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه خطرناکی هستند که توسط گونه‌های مختلف کپکی تولید می‌شوند و خطرات جدی برای سلامت انسان و حیوان ایجاد می‌کنند. از جمله این مخاطرات در انسان، می‌توان به توانایی ایجاد سرطان کبد اشاره کرد. در بین مایکوتوکسین‌ها، آفاتوکسین‌ها مهم‌ترین نوع سموم کپکی هستند که عمدتاً از اسپرتریلوس‌ها تولید می‌گردند (۵). قارچ‌ها به میزان زیاد در هوا، خاک و محیط اطراف ما وجود دارند. هرگاه شرایط نگهداری مناسب نباشد وجود رطوبت، هوا و گرمای مناسب رشد و تکثیر قارچ‌ها را سبب می‌شود. از مهم‌ترین قارچ‌های آلوده کننده اغذیه، که در بروز مسمومیت‌ها نقش مهم‌تری دارند اسپرتریلوس فلاووس، اسپرتریلوس نومیوس و اسپرتریلوس پارازیتیکوس می‌باشند. سموم مترشحه از این قارچ‌ها آفاتوکسین^۲ نام دارد (۷). آفاتوکسین‌ها گروهی از تقریباً ۲۰ متابولیت قارچی مرتبط تشکیل شده‌اند و می‌توانند در طیف گسترده‌ای از مواد غذایی و از همه مهم‌تر در جیره و علوفه دام‌ها وجود داشته باشند (۸)، آفاتوکسین M1 (AFM1) متابولیت هیدروکسیله آفاتوکسین B1 (AFB1) است و در شیر و متعاقباً در سایر محصولات لبنی هنگامی که حیوانات شیرده با مواد غذایی آلوده تغذیه می‌شوند یافت می‌شود. آفاتوکسین M1 و آفاتوکسین M2 متابولیت‌های هتروسکللیک از آفاتوکسین B1 و آفاتوکسین B2 هستند که به وسیله آنزیم P450 در انسان شکل

¹ Food and Agriculture Organization of the United Nations

² Aflatoxin

آفلاتوکسین M1 استفاده شد. هدف از این مطالعه بررسی رخدادهای آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر نشخوارکنندگان در شهرستان کرج می باشد.

مواد و روش ها

نمونه گیری: در گام نخست تعداد ۶۰ نمونه شیر خام (۳۰ نمونه در فصل تابستان و ۳۰ نمونه در فصل پائیز) شامل ۲۰ نمونه شیر گاو، ۱۰ نمونه شیر گاو میش، ۱۰ نمونه شیر شتر، ۱۰ نمونه شیر گوسفند، ۱۰ نمونه شیر بز به صورت تصادفی از مراکز عرضه این محصولات از شهرستان کرج نمونه گیری و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

تشخیص آفلاتوکسین M1 به روش الایزا: در این آزمایش کیت الایزای AFM1 (Biopharm-R, Germany) برای سنجش آفلاتوکسین M1 در شیر استفاده شد. آزمایش طبق دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. به طور خلاصه، ۵۰ میکرولیتر از هر کدام از استانداردها (۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ نانوگرم بر لیتر) به ۵۰ میکرولیتر از نمونه شیر بدون چربی در درون چاهک اضافه شد. سپس به ترتیب میزان ۵۰ میکرولیتر کنژوکه و ۵۰ آنتی بادی هم به هر چاهک اضافه شد. کیت به صورت دستی چندین بار در جهات مختلف حرکت داده شد تا تمام محتویات هر چاهک کاملاً با هم مخلوط شوند. کیت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از ۱۰ دقیقه، محتویات کیت خارج و کیت سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد. به کیت به صورت وارونه ضربه زده تا تمام آب مقطر موجود در چاهک ها خارج و چاهک ها کامل خشک شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کروموژن به هر چاهک اضافه و سپس کیت به صورت دستی چندین بار در جهات مختلف حرکت داده تا تمام محتویات چاهک با هم مخلوط شوند. سپس کیت به مدت ۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. پس از ۵ دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول

گرفته اند (۷). آفلاتوکسین می تواند توسط سه گونه قارچ آسپرژیلوس تولید شوند که شامل: آسپرژیلوس فلاووس^۱، آسپرژیلوس پارازیتیکوس^۲ و آسپرژیلوس نومیوس^۳ که گیاهان و محصولات گیاهی را آلوده می کنند. دامنه رشد دمایی این قارچ ها ۱۲ تا ۴۸ درجه سانتی گراد است، اما شرایط مطلوب در دمای ۳۶ تا ۳۸ درجه سانتی گراد رخ می دهد. تولید آفلاتوکسین در دمای بین ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی گراد اتفاق می افتد که در میان انواع مختلف سموم آفلاتوکسین، شایع ترین آن ها که به عنوان آلودگی طبیعی در مواد غذایی یافت می شوند، آفلاتوکسین های (AFB1)، (AFM1)، (AFG2)، (AFG1)، (B2)، (B1) و (AFM2) هستند (۹).

آفلاتوکسین M1 می تواند ۲۴-۱۲ ساعت بعد از ورود آفلاتوکسین B1 به بدن دام، در شیر تشخیص داده شود و پس از چند روز به سطح بالایی می رسد. هنگامی که جذب آفلاتوکسین B1 به اتمام رسید، غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر بعد از ۷۲ ساعت به شدت کاهش می یابد. محققین تخمین زده اند که نسبت بین آفلاتوکسین B1 خورده شده توسط دام به آفلاتوکسین M1 دفع شده (از طریق مایعات) بین ۱-۳ درصد است. به جهت شناسایی، جداسازی و اندازه گیری آفلاتوکسین موجود در شیر گاوداری ها، شیوه های متفاوتی وجود دارد از جمله: کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)^۴، کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC)^۵، کروماتوگرافی گازی (GC)^۶ و الایزا (ELISA)^۷ که امروزه روش الایزا به علت سرعت بالا بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد (۱۰)، اما در این مطالعه از روش الایزا جهت ردیابی

¹ *Aspergillus flavus*

² *Aspergillus parasiticus*

³ *Aspergillus nomius*

⁴ thin-layer chromatography

⁵ High Performance Liquid Chromatography

⁶ Gas Chromatography

⁷ ELISA

متوقف کننده به هر چاهک اضافه و غلظت آفاتوکسین M1 محاسبه شد و سپس با دستگاه الایزایدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر میزان جذب نوری اندازه گیری و پس از رسم منحنی، غلظت آفاتوکسین محاسبه شد (۱۱).

آنالیزهای آماری

تجزیه و تحلیل آماری جهت تعیین تفاوت های موجود در میزان آفاتوکسین M1 بین نمونه های شیر در نشخوارکنندگان مختلف، از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و تفاوت میانگین در سطح معناداری $p < 0.05$ اندازه گیری شد. از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج آنالیزهای آماری نشان داد که تمام نمونه های شیر

خام، شامل شیر گاو، گوسفند، بز، گاومیش و شتر به آفاتوکسین M1 آلوده بودند. تعداد ۲۹ نمونه (۴۸/۳ درصد) دارای آلودگی کمتر از ۵ نانوگرم بر کیلوگرم، ۲۷ نمونه (۴۵ درصد) دارای آلودگی در محدوده ۵-۲۰ نانوگرم بر لیتر، و ۴ نمونه (۶/۷۰ درصد) در محدوده ۲۰-۵۰ نانوگرم بر لیتر به آفاتوکسین M1 آلوده بودند. همچنین هیچ کدام از نمونه های آفاتوکسین در شیر خام نشخوارکنندگان آلودگی فراتر از ۵۰ نانوگرم بر لیتر را نداشتند (شکل و جدول ۱). نتایج آنالیزها نشان داد که غلظت آفاتوکسین در هیچ کدام از شیرهای آلوده در مطالعه حاضر، فراتر از استاندارد ایران (۱۰۰ نانوگرم بر لیتر) نبود. در این مطالعه، آلودگی شیر خام گاو ۱۷/۸۰، شیر گاومیش ۷/۹، شیر شتر ۶/۴۰، شیر گوسفند ۴/۹۲ و شیر بز ۳/۰۳ نانوگرم بر لیتر بود.

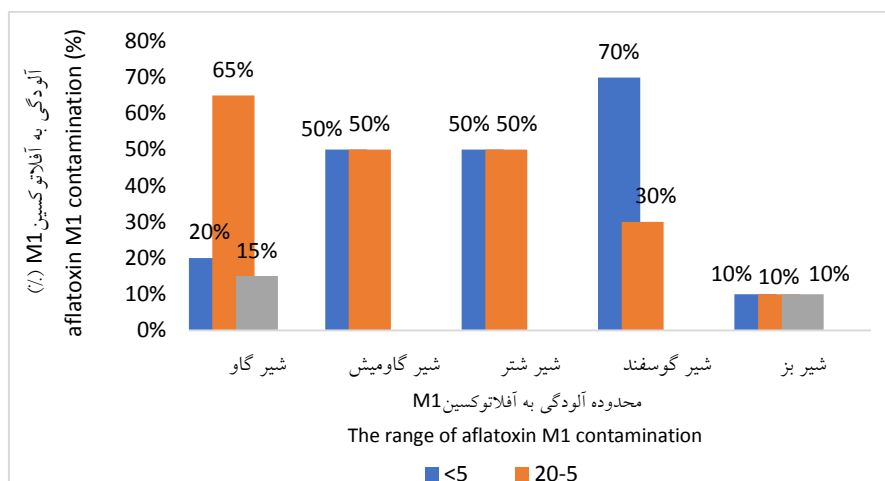
جدول ۱. وضعیت آلودگی به آفاتوکسین M1 در شیر خام نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج (ng/l).

Table 1. Aflatoxin M1 contamination status in ruminant raw milk supplied in Karaj County (ng/l).

نوع شیر Type of Milk	تعداد نمونه (N)	نمونه های مثبت (%) Positive samples (%)	محدوده آلودگی Contamination Range				میانگین و انحراف معیار SD
			>50	20-50	5-20	<5	
شیر گاو cow milk	20	100%	-	3 (15%)	13 (65%)	4 (20%)	17/80±3/60
شیر گاومیش buffalo milk	10	100%	-	-	5 (50%)	5 (50%)	7/9±1/40
شیر شتر camel milk	10	100%	-	-	5 (50%)	5 (50%)	6/40±1/01
شیر گوسفند sheep's milk	10	100%	-	-	3 (30%)	7 (70%)	4/92±0/8
شیر بز goat milk	10	100%	-	1 (10%)	1 (10%)	8 (80%)	3/03±0/04
جمع کل Total	60	100%	-	4 (6/70%)	27 (45%)	29 (48/3%)	8/82±1/03
سطح معنی داری The significance level	-	-	0/03*	0/001**	0/001**	-	-

*: تفاوت آلودگی محصولات مختلف با احتمال ۹۵٪ معنی دار است ($p < 0.05$). **: تفاوت آلودگی محصولات مختلف با احتمال ۹۹٪ معنی دار است ($p < 0.01$).

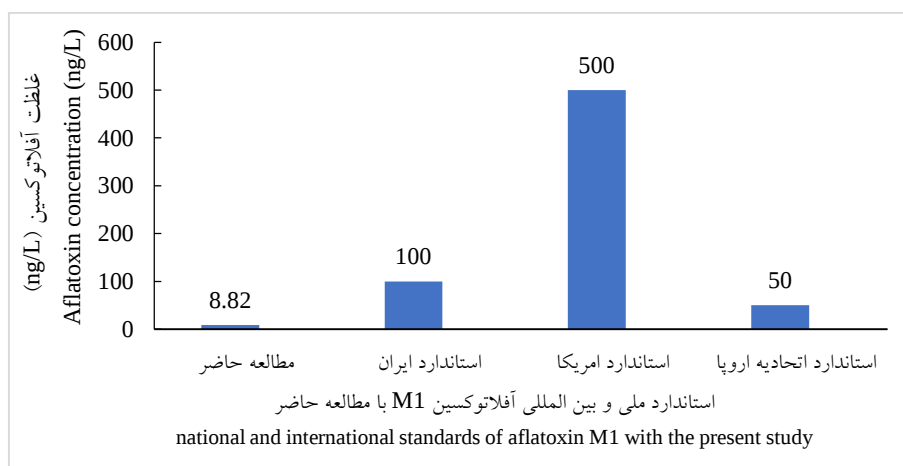
*: The difference in the contamination of different products is significant with a probability of 95% ($p > 0.05$). **: The difference in contamination of different products is significant with 99% probability ($p > 0.01$)



شکل ۱. میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج
Figure 1. Average aflatoxin M1 contamination in ruminant milk supplied in Karaj county

دهنده تفاوت استانداردهای ملی و بین‌المللی با میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 مطالعه حاضر می‌باشد.

مطابق جدول ۲، نمونه‌ها در دو فصل تابستان و پاییز نمونه‌گیری شدند. آنالیزها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین فصل تابستان و پاییز در خصوص میزان آفلاتوکسین وجود نداشت. شکل ۲ نشان



شکل ۲. تفاوت غلظت آفلاتوکسین M1 استانداردهای ملی و بین‌المللی با مطالعه حاضر.
Figure 2. The difference in aflatoxin M1 concentration of national and international standards with the present study.

جمله مایکوتوکسین‌ها باشد. با این حال، شیر و محصولات مبتنی بر شیر می‌توانند حاوی آفلاتوکسین M1، متابولیت آفلاتوکسین B1، یک سرطان‌زای قوی برای انسان باشند. در مطالعه حاضر، آلودگی هیچ‌کدام از نمونه‌های شیر خام نشخوارکنندگان به آفلاتوکسین

شیر یک غذای مهم است زیرا عناصر ضروری برای رشد و حفظ سلامت انسان را فراهم می‌کند. از آنجایی که شیر و فرآورده‌های آن توسط تمام گروه‌های سنی از جمله کودکان خردسال مصرف می‌شود، بنابراین لبنیات باید عاری از ترکیبات سمی از

M1، فراتر از استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم بر لیتر) (۱۲)، اروپا، آمریکا و FAO (۱۳) نبودند. در همین راستا، مطالعه هژیر و همکاران (۲۰۰۸)، بر روی غلظت آفلاتوکسین M1، در شیر دریافتند که تعداد ۷۷ نمونه (۹۱/۶۵ درصد) از نمونه‌ها به آفلاتوکسین M1

و ۷ نمونه فاقد آلودگی بودند. نتایج آن‌ها نشان داد که در ۶۷ نمونه ۷۹/۷۷ درصد از شیرهای آزمایش شده استاندارد و ۱۷ نمونه بالاتر از استاندارد اروپا بود (۱۴)، که با پژوهش حاضر مطابقت ندارد.

جدول ۲. نشان دهنده مقایسه میانگین آفلاتوکسین M1 در فصول مختلف با استانداردهای ملی و بین‌المللی (ng/l).

Table 2. Showing the comparison of average aflatoxin M1 in different seasons with national and international standards (ng/l)..

استاندارد اتحادیه اروپا	استاندارد FAO	استاندارد ایران	میانگین آفلاتوکسین Aflatoxin Range	تعداد نمونه (N)	فصل نمونه‌گیری Sampling season
			13/15±2/10	30	تابستان Summer
50	50	100	4/49±0/4	30	پائیز Autumn
			8/82±1/03	60	جمع کل Total

اعداد عبارتند از میانگین ± انحراف معیار

The numbers are mean ± standard deviation

که از ۱۴۱ نمونه محصول لبنی نمونه‌گیری شده، ۵۴/۶ درصد از شیر و محصولات لبنی آلوده به آفلاتوکسین M1 بودند (۱۶)، در مطالعه حاضر تمام نمونه‌ها آلوده بودند، در نتیجه مطابقتی وجود ندارد. ستوده و همکاران (۲۰۲۱) بر روی تشخیص آفلاتوکسین M1، در شیر گزارش دادند که در ۱۰۰ درصد شیر پاستوریزه از محدوده ۵/۴۱ تا ۱۲۵/۳۷ نانوگرم در لیتر شناسایی شد. سطح سم در ۲/۶ درصد (۱ نمونه) و ۱۷/۹ درصد (۷ نمونه) از نمونه‌های شیر پاستوریزه به ترتیب از حد استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) و اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) فراتر رفت (p<۰/۰۵) (۱۷)، در مطالعه حاضر میانگین غلظت آفلاتوکسین M1، ۸/۸۲ نانوگرم در لیتر بود که پائین‌تر از مطالعه نامبرده می‌باشد. تاجیک و همکاران (۲۰۰۷)، بر روی میزان آفلاتوکسین M1، در شهرستان ارومیه نشان دادند که از ۷۲ نمونه انتخاب شده، تمامی نمونه‌ها آلوده هستند که ۶/۲۵ درصد نمونه‌ها فراتر از

در این مطالعه تمام نمونه‌های شیر خام آلوده به آفلاتوکسین بودند اما هیچ‌یک از نمونه‌ها فراتر از استاندارد ملی ایران نبودند. واقف و محمدی (۲۰۱۳)، گزارش دادند که از مجموع ۱۴۴ نمونه شیر (۱۰۲ نمونه شیر خام و ۴۲ نمونه شیر پاستوریزه) آفلاتوکسین M1، در ۴۷/۹۱ درصد نمونه‌ها با غلظت متوسط ۳۹/۴۵ نانوگرم در لیتر یافت شد. بالاترین میانگین غلظت آفلاتوکسین M1، در نمونه‌های گاوداری سنتی ۴۳/۹ ثبت شد. غلظت آفلاتوکسین M1 در ۲۱/۵ درصد شیر خام گاو و ۱۱/۹ درصد شیرهای پاستوریزه بالاتر از حداکثر حد پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا/کمیسسیون Codex Alimentarius (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود. میزان آلودگی در زمستان به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) بیشتر از تابستان بود (۱۵)، که فراتر از مطالعه حاضر است.

ایوب و همکاران (۲۰۱۱)، در پژوهشی با هدف بررسی و تعیین رخداد آفلاتوکسین M1، گزارش دادند

استانداردهای ملی بودند (۱۸) که با مطالعه حاضر در خصوص آلودگی تمامی نمونه‌ها مطابقت داشته اما از لحاظ استاندارد متفاوت‌تر از مطالعه حاضر است. در این تحقیق غلظت آفلاتوکسین M1 در هیچ‌کدام از نمونه‌ها فراتر از استاندارد ایران و اروپا نبود.

کامکار و همکاران (۲۰۰۶)، از مجموع ۱۱۱ نمونه شیرخام گزارش دادند که ۷۶/۶ درصد به آفلاتوکسین M1 آلوده بوده که از این میزان آلودگی، همه آن‌ها در محدوده مجاز بودند (۱۹)، که با مطالعه حاضر در خصوص مجاز بودن محدوده آلودگی مطابقت دارد. مطالعه فلاح و همکاران (۲۰۱۱)، بر روی رخدادهای آفلاتوکسین M1، در شیر گزارش دادند که از مجموع ۶۸۲ نمونه، بیشترین آلودگی را شیرگاو داشته است که غلظت آن پائین‌تر از استاندارد ایران و اروپا بوده است (۲۰)، که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد.

Xiong و همکاران (۲۰۱۸)، بر روی رخدادهای آفلاتوکسین M1، در شیرخام گزارش دادند که از مجموع ۱۱۱ نمونه، ۷۳/۶ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی با میانگین ۱۰۰ نانوگرم در لیتر مثبت بودند. محتوای آفلاتوکسین M1، در ۱/۸ درصد از نمونه‌های شیر UHT و در ۵۹/۵ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه، بالاتر از حد قانونی اتحادیه اروپا بود، در حالی که تمام نمونه‌های شیر در چین کمتر از حد قانونی این کشور (۵۰۰ نانوگرم در لیتر) گزارش شد (۲۱)، که متفاوت‌تر از مطالعه حاضر است. برای استاندارد ملی ایران حداکثر مجاز آفلاتوکسین در شیر ۱۰۰ نانوگرم در لیتر می‌باشد که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر تفاوت بالایی دارد. فلاح و همکاران (۲۰۱۶)، بر روی بررسی رخدادهای آفلاتوکسین M1 در شیرهای خام عرضه‌شده در شهرستان یزد، دریافتند که بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر گاو با ۴۶/۵ درصد بود. سپس به ترتیب گوسفند، بز و شتر با

درصدهای ۲۱/۶ درصد، ۲۰/۱ درصد و ۴/۰۳ درصد به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند (۲۲)، که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر همسو نیست. در این مطالعه تمام نمونه‌ها به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند.

Hossein و همکاران (۲۰۱۰)، بر روی آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1، نشان دادند که از مجموع ۱۶۹ نمونه، درصد آلودگی در شیر گاو، شتر، بز و شیر گوسفند به ترتیب ۳۴/۵ درصد، ۳۷/۵ درصد، ۲۰ درصد و ۱۶/۷ درصد بود؛ اما در شیر شتر آلودگی به آفلاتوکسین M1، شناسایی نشد (۲۳)، که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همسو نیست، در این تحقیق در تمام نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند، بز، گاو میش و شتر به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند. رحیمی و همکاران (۲۰۱۰)، بر روی رخدادهای آفلاتوکسین M1، در شیر خام نشخوارکنندگان گزارش دادند که آفلاتوکسین M1، در ۴۲/۱ درصد نمونه‌ها با غلظت متوسط ۴۳/۳ نانوگرم بر لیتر یافت شد. میزان بروز AFM1 در شیر خام گاو، گاو میش آبی، شتر، گوسفند و بز به ترتیب ۷۸/۷، ۳۸/۷، ۱۲/۵، ۳۷/۳ و ۲۷/۱ درصد بود. غلظت آفلاتوکسین M1، در همه نمونه‌ها کمتر از استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) و حد مجاز اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود (۲۴)، که در خصوص رعایت استانداردهای ملی و بین‌المللی با مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

Asy و همکاران (۲۰۱۲) بر روی اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1، نشان دادند که ۵۵، ۵۶، ۳۲، ۵۸ و ۲۷ درصد از نمونه‌های شیر زمستانه گاو، شتر، بز، گوسفند و شتر از حداکثر حد مجاز اتحادیه اروپا فراتر بودند، که با مطالعه حاضر مطابقتی ندارد. در مطالعه‌ای در مصر (۲۰۰۹) بر روی غلظت آفلاتوکسین M1، در شیرخام دریافتند که شیر شتر کمترین میزان آفلاتوکسین M1 را در بین نمونه‌ها داشته است. اکثر نمونه‌های شیر (به ترتیب ۸۰، ۷۴،

نمونه مورد بررسی، تمام نمونه‌ها، غلظتی کمتر از استاندارد اروپا داشتند (۲۹)، که مطابق یافته‌های حاضر است. مطالعه Kotteri و همکاران (۲۰۲۲) بر روی تعیین میزان آفاتوکسین در شیرخام عرضه شده در غنا گزارش دادند که از ۱۲۰ نمونه، ۶۷ نمونه (۵۵/۸ درصد)، غلظتی فراتر از حد استاندارد اروپا داشتند (۳۰)، که متفاوت‌تر از نتایج حاصل از مطالعه حاضر است.

از آنجایی که آلودگی به آفاتوکسین M1، متعاقب آلودگی خوراک دام و علوفه به آفاتوکسین B1 است؛ لذا کاهش آلودگی به آفاتوکسین M1، تنها در صورت کاهش آلودگی به آفاتوکسین B1 امکان‌پذیر است. در همین راستا ضروری است که از تغذیه دام با علوفه کپک‌زده جلوگیری شود، در انبارهای ذخیره‌سازی علوفه پس از هر بار برداشت علوفه سطح آن به خوبی پوشانده شود تا از گسترده‌ی آلودگی قارچی جلوگیری شود، مداومت در بازرسی علوفه و خوراک دام انبارشده جهت بررسی آلودگی کپکی، بررسی مداوم دما و رطوبت انبار می‌تواند از آلودگی خوراک به آفاتوکسین B1 و متعاقب آن آلودگی به آفاتوکسین M1، جلوگیری کند. با توجه به میزان آلودگی پائین‌تر از استاندارد ایران؛ اروپا و آمریکا در مطالعه حاضر، استفاده از شیر نشخوارکنندگان عرضه شده در شهرستان کرج نمی‌تواند برای سلامت مصرف‌کنندگان مخاطره‌ای داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع: نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

۶۶ و ۵۲ درصد شیرهای شتر، بز، گاو و گاومیش کمتر از میزان تعریف شده اتحادیه اروپا بودند (۲۶)، در این مطالعه، آلودگی شیر خام گاو ۱۷/۸۰، شیر گاومیش ۷/۹، شیر شتر ۶/۴۰، شیر گوسفند ۴/۹۲ و شیر بز ۳/۰۳ نانوگرم بر لیتر بود که در نتیجه مطابقتی وجود ندارد.

Nile و همکاران (۲۰۱۶)، در هندوستان بر روی تعیین غلظت آفاتوکسین M1، از مجموع ۶۰۰ نمونه شیر از گونه‌های مختلف شامل بوفالو (۱۵۰)، گاو (۱۵۰)، بز (۱۵۰) و گوسفند (۱۵۰) گزارش دادند که آلودگی در شیر گاومیش (۳۸/۶ درصد)، گاو (۴۵/۳ درصد)، بز (۳۳/۳ درصد) و گوسفند (۳۶/۶ درصد) بود. میانگین مقدار آفاتوکسین M1، در گاومیش ۰/۲۶ نانوگرم در لیتر، در گاو ۰/۱۸ نانوگرم در لیتر، در بز ۰/۱۴ نانوگرم در لیتر و در شیر گوسفند ۰/۱۷ نانوگرم در لیتر بود. مقدار آفاتوکسین M1، در ۱۶ درصد از نمونه‌های گاومیش، ۴۴ درصد گاو، ۱۰ درصد بز و ۱۲ درصد از نمونه‌های شیر گوسفند بالاتر از حداکثر توصیه شده توسط اتحادیه اروپا بود (۲۷)، که متفاوت‌تر از مطالعه حاضر است. در این مطالعه، آلودگی شیر خام گاو ۱۷/۸۰، شیر گاومیش ۷/۹، شیر شتر ۶/۴۰، شیر گوسفند ۴/۹۲ و شیر بز ۳/۰۳ نانوگرم بر لیتر بود که در نتیجه مطابقتی وجود ندارد.

محمودی (۲۰۱۴) بر روی غلظت آفاتوکسین M1، در شیرخام بوفالو گزارش داد که در تمامی نمونه‌ها میزان آلودگی کمتر از استاندارد ملی ایران بود، اما در ۱۶/۳ درصد از نمونه‌های شیر بالاتر از حداکثر حد تحمل پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا/کمسیون کدکس (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود (۲۸) که در خصوص محدوده آلودگی متفاوت‌تر از مطالعه حاضر، اما در خصوص استاندارد، همسو با مطالعه حاضر است. هپسین و همکاران (۲۰۲۲)، بر روی غلظت آفاتوکسین M1، در شیر بوفالو نشان دادند که از ۱۷۵

References

1. Borchers A, Teuber SS, Keen CL, Gershwin ME. Food safety. (2010). Clinical reviews in allergy & immunology, 39(2): 95-141.
2. Brar S, Haugh C, Robertson N, Owuor PM, Waterman C, Fuchs III GJ, et al. (2022). The impact of Moringa oleifera leaf supplementation on human and animal nutrition, growth, and milk production: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 36(4):1600-1615.
3. Jaiswal L, Worku M. Recent perspective on cow's milk allergy and dairy nutrition. (2022). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 62(27): 7503-7517.
4. Webbe J, Uthaya S, Modi N, editors. (2022). *Nutrition for the micro preemie: beyond milk*. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 27 (3): 110-118.
5. Afshar S, Sheikhoie H. (2022). Survey of Aflatoxin M1 in Pasteurized Milks of East Azarbaijan Province by HPLC Method. *Journal of Health*, 12(4): 478-487.
6. Armand R, Asghari M, Armand M, Rigi G. (2020). Investigation of aflatoxin M1 in bovine raw milk samples and its relation with aflatoxin B1 (Case study: Islamshahr). *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 27(3): 314-319.
7. Abi Haidar M, Kiwan C, Abboud M, Todorov T. (2022). A Review of aflatoxin M1 in raw milk: impottance on human helth and ruminants. *Tradition & Modernity in Veterinary Medicine*, 7(2): 417-429.
8. Shakeri Z, Rahimi E, Shakerian A. (2019). Evaluation of aflatoxin content in pistachio, almond, hazelnut and walnut in Isfahan. *Food Hygiene*, 9(2 (34)): 61-69.
9. Bilandžić N, Varga I, Varenina I, Solomun Kolanović B, Božić Luburić Đ, Đokić M, et al. (2022). Seasonal occurrence of Aflatoxin M1 in raw milk during a five-year period in Croatia: Dietary exposure and risk assessment. *Foods*, 11(13):1959- 1967.
10. Wang L, He K, Wang X, Wang Q, Quan H, Wang P, et al. (2022). Recent progress in visual methods for aflatoxin detection. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(28): 7849-7865.
11. Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi A, Torabi S. Evaluation of the contamination of aflatoxin M1 level in raw milk samples by ELISA method in Yazd province. *Journal of Veterinary Research*, 72(3): 110-118.
12. ISIRI. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Maximum validity Maycotoxins in human food. -. 2020;5925:15-1.
13. Petersen AB. (2018). "Expert Advice on Appropriate Criteria and Limits for Contaminants in Ready to Use Therapeutic Foods.". *World Food Programme and United Nations Children's Fund*: New York, NY, USA, 1-15.
14. Hazhir M, Sanoubar Tahaiee N, Rashidi K, Rezaie R, Shaykhi H. (2008). Determination of the amount of aflatoxin in milk samples delivered to Sanandaj pasteurized Milk Corporation. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*,.
15. Vagef R, Mahmoudi R. (2013). Occurrence of Aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk produced in west region of Iran (during summer and winter). *International Food Research Journal*, 20(3):1421.
16. Ayoub M, Sobeih A, Raslan AA. (2011). Evaluation of aflatoxin M1 in raw, processed milk and some milk products in Cairo with special reference to its recovery. *Researcher*, 3(5): 215-227.

17. Sotoodeh L, Dini A, Rezaeian M, Esmaeili A, Asgaryan A. (2021). Evaluation of aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Kerman and Rafsanjan cities in 2019: A descriptive study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 19(11):1163-1178.
18. Tajik H, Rohani SMR, Moradi M. Milk in Urmia, Iran. (2007). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(22):4103-4107.
19. Kamkar A. (2006). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in Iranian Feta cheese. *Food control*, 17(10): 768-775.
20. Fallah AA, Rahnema M, Jafari T, Saei-Dehkordi SS. (2011). Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control*, 22(10):1653-1656.
21. Xiong J, Xiong L, Zhou H, Liu Y, Wu L. (2018). Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M1 in UHT and pasteurized milk in central China. *Food Control*, 92:386-90.
22. Fallah AA, Fazlollahi R, Emami A. (2016). Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*, 68:77-82.
23. Hussain I, Anwar J, Asi MR, Munawar MA, Kashif M. (2010). Aflatoxin M1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food control*, 21(2):122-134.
24. Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini H. (2010). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1): 129-131.
25. Asi MR, Iqbal SZ, Ariño A, Hussain A. (2012). Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M1 contamination in milk of different species from Punjab, Pakistan. *Food control*, 25(1): 34-38.
26. Motawee MM, Bauer J, McMahon DJ. (2009). Survey of aflatoxin M 1 in cow, goat, buffalo and camel milks in Ismailia-Egypt. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83:766-769.
27. Nile SH, Park SW, Khobragade C. (2016). Occurrence and analysis of aflatoxin M1 in milk produced by Indian dairy species. *Food and Agricultural Immunology*, 27(3): 358-66.
28. Mahmoudi R. (2014). Seasonal pattern of aflatoxin M1 contamination in buffalo milk. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 20(1): 9-13.
29. Hepçin S, Gücükoğlu A. (2022). Determination of Aflatoxin M1 in Buffalo Milk and Products. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(12): 2354-2357.
30. Kortei NK, Annan T, Kyei-Baffour V, Essuman EK, Boakye AA, Tettey CO, et al. (2022). Exposure assessment and cancer risk characterization of aflatoxin M1 (AFM1) through ingestion of raw cow milk in southern Ghana. *Toxicology Reports*, 9:1189-97.

