مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۸۹
۳۱-۴۲
http://ejfpp.gau.ac.ir

بررسی آلودگی شیر استان‌های اصفهان و یزد به آفلاتوکسین M_1

*امیر دارائی‌گرمه‌خانی[۱]، حمید ضیغمیان[۲]، محسن راستی‌اردکانی[۳]، رضا سرهنگ‌پور کفرانی[۲] و سیدسهیل امیری[۴]

[۱]مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، [۲]مدیر کنترل کیفی و مدیر فنی آزمایشگاه کنترل مواد غذایی ابن‌سینا، اصفهان، [۳]مربی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان اصفهان، [۴]مربی گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی و غیرانتفاعی بهاران، گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای جمع‌آوری شده از استان‌های اصفهان و یزد انجام شد. در این پژوهش ۲۶ نمونه شیر (شامل ۱ نمونه شیر استریلیزه، ۸ نمونه شیر خام و ۱۷ نمونه شیر پاستوریزه) از استان یزد و ۳۷ نمونه شیر خام از استان اصفهان جمع‌آوری و مقدار آفلاتوکسین M_1 به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) با استفاده از ستون ایمونوآفینیتی اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که میزان آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در شیرهای استان یزد بالاتر از استان اصفهان می‌باشد، به‌طوری‌که ۹۴/۶ درصد از نمونه شیرهای خام استان اصفهان میزان آلودگی کم‌تری از حداکثر مقدار قابل تحمل (MTL) توصیه شده برای مصرف بزرگسالان (۰/۰۵ µg/l) و ۷۶/۹ درصد شیرهای استان یزد آلودگی کم‌تری از (۰/۰۵ µg/l) MTL را دارا بودند ($P<0/05$). در حالی‌که در صورت مصرف برای تغذیه نوزادان با توجه به MTL پایین‌تر آن (۰/۰۲ µg/l) ۸۴/۶ درصد از شیرهای استان یزد و ۴۳ درصد شیرهای استان اصفهان دارای آلودگی بالاتری از MTL می‌باشند. نتایج شیرهای استان یزد نشان داد که شیرهای پاستوریزه و استریلیزه نیز آلودگی بالا دارند که می‌تواند نشان‌دهنده مقاومت این سم به فرآیندهای حرارتی باشد.

واژهای کلیدی: آفلاتوکسین M_1، شیر، HPLC

* مسئول مکاتبه: amirdaraey@yahoo.com

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها هستند که ممکن است دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی، جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی باشند. در حال حاضر حدود ۱۵۰ نوع مختلف از مایکوتوکسین‌ها شناسایی شده‌اند که از نظر ساختمان تفاوت‌هایی در آن‌ها مشاهده می‌شود [۲۷]. آفلاتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات بسیار سمی از دسته مایکوتوکسین‌ها هستند که در بیش‌تر محصولات گیاهی مانند بادام‌زمینی، پسته، نارگیل، سویا، ذرت، برنج، پنبه دانه و گندم یافت می‌شوند و به راحتی در خلال انبارداری و شرایط مناسب دمایی و رطوبت و با وجود سوبسترای مناسب توسط قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس*[1]، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[2] و *آسپرژیلوس نومینوس*[3] در خوراک انسان و دام به‌وجود آمده و ایجاد آلودگی می‌کنند [۷، ۸، ۲۷]. مایکوتوکسین‌ها و به‌خصوص آفلاتوکسین در انسان و حیوان ایجاد بیماری‌های حاد و مزمن می‌نمایند [۹، ۱۸]. عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسین‌ها ممکن است به دو صورت ظاهر گردند. اول عوارض سریع مربوط به پدیده مسمومیت و دوم عوارض کند مربوط به خاصیت سرطان‌زایی [۲۷]. حداقل ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته شده که در بین آن‌ها آفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1 و G_2 مهم‌تر هستند [۲۵]. اندکی پس از کشف آفلاتوکسین‌های جدا شده از مواد غذایی محققان پیشنهاد کردند که احتمال وقوع باقی‌مانده‌های آفلاتوکسینی در شیر و دیگر فرآورده‌های حیوانی تهیه شده از دام‌هایی که از مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه کرده‌اند نیز وجود دارد [۲۶]. آلودگی خوراک دام به آفلاتوکسین B_1 می‌تواند باقی‌مانده نامطلوبی را تحت عنوان آفلاتوکسین M_1 در شیر به‌جا بگذارد که متابولیت ثانویه آفلاتوکسین B_1 در بدن نشخوارکنندگان است (٤، ٥). زمانی‌که حیوانات جیره غذایی[4] آلوده به آفلاتوکسین B_1 (AFB_1) مصرف نمایند، این توکسین در کبد متابولیزه شده و به‌صورت آفلاتوکسین M_1 از شیر و ادرار و مدفوع ترشح می‌شود [١٦]. این سم در شیر آفلاتوکسین M نام گرفت که انتخاب این نام مشخص‌کننده منبع جداسازی آن یعنی شیر بود [٢٦]. بیش‌تر پژوهش‌ها میزان تبدیل آفلاتوکسین B_1 موجود در جیره به آفلاتوکسین M_1 را بین ٤-١ درصد [٣] و ١-٣ درصد [١٢] اعلام کرده‌اند ولی نسبت‌های تبدیل حتی تا ٦ درصد نیز در مصارف بالا روزانه سم آفلاتوکسین B_1 گزارش شده است [٢٥] به‌طور خلاصه می‌توان گفت

1- Aspergilus felavus
2- Aspergilus paraziticus
3- Aspergilus numinus
4- Feed stuff

خطرناک‌ترین آفلاتوکسین که همان نوع B_1 است در میکروزومال‌های کبدی و با دخالت اکسیدازهای چندکاره [۱۷] توسط گاوهای شیری به‌طور عمده به مشتق ٤- هیدروکسی خود تبدیل و آفلاتوکسین M_1 را به‌وجود می‌آورد [۳ و ۱۱].

در زمینه کاهش سم آفلاتوکسین M_1 نیز روش‌های مختلفی به‌کار برده شده است، که این پژوهش‌ها نشان می‌دهد سم آفلاتوکسین M_1 نسبت به حرارت پاستوریزاسیون، اتوکلاو و دیگر روش‌های فرآوری مواد غذایی مقاومت نشان می‌دهد و این اقدامات در کاهش آن بی‌تأثیر می‌باشند [۱، ٤، ۱۹، ۲٦].

کمیته اروپایی و غذایی کودکس، ماکزیمم میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر خام مایع و سایر محصولات شیری را ۵۰ نانوگرم در کیلوگرم (۰/۰۵ µg/l) تعیین کرد و نباید از این میزان تجاوز کند [۲۱،٦]. برای سنجش آفلاتوکسین M_1 از روش‌های متعددی مانند کروماتوگرافی لایه نازک [۱۳،۱٤]، کروماتوگرافی مایع [۲، ۲۳، ۲۱، ۲۹]، ELISA و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [۲۲،۲] می‌توان استفاده نمود. از آن‌جا که شیر و محصولات لبنی غذا اصلی انسان به‌خصوص کودکان است و کودکان نسبت به عوارض آفلاتوکسین حساس‌تر بوده و توانایی آن‌ها برای تغییر زیستی ترکیبات سرطان‌زا کندتر از بزرگسالان است، باید مراقبت‌های لازم به‌عمل آید. به هر حال این محصولات ممکن است آلوده شوند و برای انسان مخاطره‌انگیز گردند. به‌همین دلیل بیش‌تر کشورها قوانینی برای کنترل میزان آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی دام‌ها و حد مجاز آفلاتوکسین در شیر برای کاهش این خطرات دارند [۲۱]. با توجه به اهمیت موضوع و تولید و مصرف زیاد شیر در استان‌های اصفهان و یزد این مطالعه به‌منظور تعیین میزان آلودگی شیرهای تولیدی در این استان‌ها به آفلاتوکسین M_1 انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تعداد ٦۳ نمونه شیر (شامل ۳۷ نمونه شیر خام از استان اصفهان، ۲٦ نمونه از استان یزد که شامل یک نمونه شیر استریلیزه، ۸ نمونه شیر خام و ۱۷ نمونه شیر پاستوریزه بود) از کارخانجات شیر استان اصفهان و یزد جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای و پلی‌اتیلنی ۲۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌لیتر و دما ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری و حداکثر ۲٤ ساعت بعد به آزمایشگاه منتقل و در همان زمان مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش اندازه‌گیری: برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌ها از روش HPLC [۲۰] با استفاده از ستون ایمونوآفینیتی استفاده گردید. روش انجام آزمایش به شرح زیر بود:

سیستم HPLC مورد استفاده:

ستون: فازمعکوس ODS با قطر ذرات ۵ میکرومتر، ابعاد $C18mm250\times4/6$ و نوع column TSK-Gel(Toso Has)

ستون محافظ: *Guard Column Nevapak C18Waters*، فاز متحرک: استونیتریل: متانول: آب (۲۰: ۲۰: ٦۰)

سرعت جریان: یک میلی‌لیتر در دقیقه، حجم تزریق: ۱۰۰ میکرولیتر و شناساگر فلورسانس با مشخصات زیر:

Waters 2475 fluorescence detector, excitation 360 nm, Emission 440 nm, Gain: 1,EUFS: 1000

Waters Breeze 1525 HPLC: Pump: HPLC سیستم

همه مواد مورد استفاده در این مطالعه از شرکت مرک آلمان تهیه شد. برای انجام آزمون روی نمونه‌ها ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر از شیر مایع به لوله مناسب آزمایش منتقل و سپس با دور g ٤٥۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه در دما ٤ درجه سانتی‌گراد و دو بار متوالی سانتریفوژ گردید. آنگاه لایه چربی از روی شیر جدا، و از شیر بدون چربی به‌دست آمده برای انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده شد.

در مرحله بعدی ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر از محلول PBS[1] به‌طور کامل از ستون ایمونوافینیتی آفلاتوکسین M_1 عبور داده شده و سپس ۲۰ میلی‌لیتر از شیر بدون چربی، از ستون عبور داده شده و محلول به‌دست آمده از این ستون را با سرعت ۱ تا ۲ قطره در هر ثانیه تا هنگام خروج هوا از ستون جمع‌آوری نموده سپس بالا ستون را از آب پر نموده و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول PBS با سرعت یک تا دو قطره در ثانیه از ستون عبور داده شد. این عمل برای بار دوم نیز تکرار گردید. سپس از ستون جریان ملایم هوا برای خشک شدن ستون عبور داده شد. پس از آن ۱ میلی‌لیتر استونیتریل به ستون منتقل و با سرعت یک قطره در هر ۲ تا ۳ ثانیه عبور داده شد و در ظرف ٤ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید. دوباره ۱/۵ میلی‌لیتر استونیتریل از ستون عبور داده و در ظرف جمع‌آوری گردید. این ظرف در سانتریفیوژ تحت خلاء در دما ٤۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و به ماده خشک شده یک میلی‌لیتر فاز متحرک افزوده شد.

1- Phosphate buffer saline

محتوی ظرف به‌مدت یک دقیقه توسط مخلوط‌کن مخلوط گردید و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شد و پس از آن مجدداً به‌مدت یک دقیقه توسط مخلوط‌کن مخلوط گردید. از این محلول مقداری به ظرف مخصوص تزریق منتقل و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به دستگاه تزریق گردید.

تهیه محلول‌های استاندارد: با استفاده از بلورهای خالص آفلاتوکسین M_1 یک محلول با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر تهیه و غلظت دقیق آن با استفاده از طیف نورسنج تعیین گردید. سپس با استفاده از این محلول ۹ محلول استاندارد با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر، تهیه و به دستگاه تزریق شد و شدت فلورسانس هر یک از آن‌ها در طول موج ٦٢٥ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از سطح زیر منحنی نمودارهای به‌دست آمده غلظت هر یک از محلول‌های استاندارد (عددی که دستگاه نشان می‌دهد) تعیین و منحنی درجه‌بندی با استفاده از برنامه Excel (۲۰۰۳) ترسیم شد.

آزمایش تعیین درصد بازیافت[1]: مقدار ۸ گرم پودر شیر خشک بدون چربی با نام تجاری FAPAS با ٦٤/٦ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین M_1 با غلظت ng/ml ۱۰ آلوده شده و سپس با استفاده از آب مقطر تا حجم ٤٠ میلی‌لیتر رقیق گردید و پس از آن همه مراحل استخراج و آماده‌سازی همانند نمونه‌های اصلی بر روی ۲۰ میلی‌لیتر از این محلول اعمال گردید. سپس غلظت آفلاتوکسین M_1 این نمونه با مقایسه نمودار به‌دست آمده از آن با منحنی درجه‌بندی محاسبه و با مقدار واقعی مقایسه و درصد بازیافت[2] مشخص گردید.

نتایج و بحث

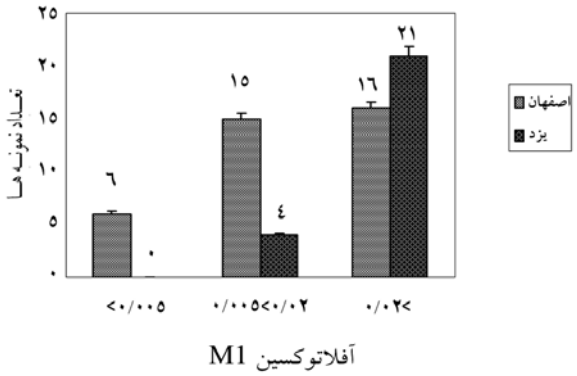
نتایج این پژوهش نشان داد که در شیرهای جمع‌آوری شده از استان اصفهان تعداد ٦ نمونه شیر دارای آفلاتوکسین کم‌تری از حد تشخیص (۰/۰۵ µg/l) بودند و در ۲۹ نمونه شیر به‌رغم این‌که وجود آفلاتوکسین در آن‌ها تشخیص داده شد ولی میزان آلودگی کم‌تر از حد مجاز MTL[3] (۰/۰۵µg/l) بود. در صورت استفاده از شیر برای مصرف بزرگسالان ۲ نمونه دارای میزان آلودگی بالاتر از حد مجاز MTL (۰/۰۵ µg/l) که حد تعیین شده توسط اتحادیه اروپا است می‌باشد. در صورتی‌که این شیر برای مصرف کودکان اختصاص یابد ٦ نمونه دارای آلودگی پایین‌تر از حد تشخیص (۰/۰۵ µg/l) بوده و

1- Spiking Sample
2- Recovery
3- Maximum tolerance limit

۱۵ نمونه نیز آلودگی بین µg/l ۰/۰۲و µg/l ۰/۰۵ دارند و ۱٦ نمونه از شیرهای اصفهان دارای آلودگی بالاتر از MTL برای کودکان (µg/l ۰/۰۲) می‌باشند. همان‌طورکه مشاهده می‌شود میزان آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در شیر استان اصفهان پایین است و شیرهای جمع‌آوری شده در اصفهان از نظر عدم آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در وضعیت مطلوبی قرار دارند.

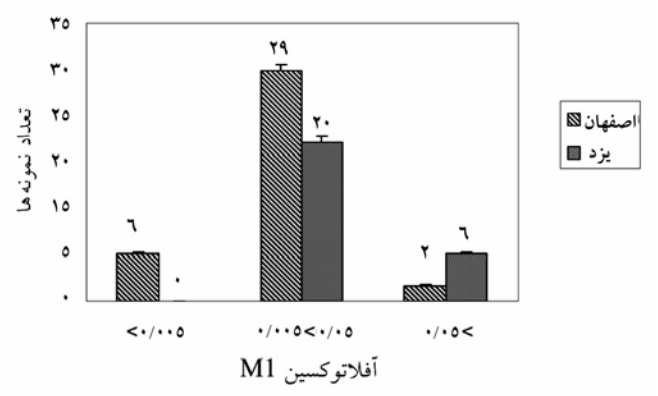
نتایج بررسی شیرهای استان یزد نشان می‌دهد که آفلاتوکسین M_1 در همه نمونه‌های شیرهای استان یزد وجود داشته است. در نمونه‌های آزمایش شده ۲۰ نمونه دارای آفلاتوکسین کم‌تری از MLT بزرگسالان و ٦ نمونه نیز دارای آلودگی بالاتری از MLT بزرگسالان (µg/l ۰/۰۵) براساس استاندارد اروپا بوده‌اند. در صورت استفاده از شیرهای یزد به‌عنوان غذای کودک، ۲۲ نمونه آلودگی بالاتری از µg/l ۰/۰۲ داشتند و تنها ٤ نمونه دارای آلودگی کم‌تری از حد مجاز µg/l ۰/۰۲ بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که بین میزان آلودگی در استان‌های اصفهان و یزد اختلاف معنی‌داری وجود دارد به‌طوری‌که مشاهده می‌شود آلودگی شیرهای یزد بیش‌تر از شیرهای اصفهان می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

همان‌طورکه از شکل ۱ مشاهده می‌شود شیرهای استان یزد دارای میزان آلودگی بالاتری از استان اصفهان هستند. به‌طوری‌که ۸٤/٦ درصد از شیرهای استان یزد آلودگی بالاتری از MTL توصیه شده برای مصرف برای کودکان (µg/l ۰/۰۲) را دارا می‌باشند، در حالی‌که ٤۳ درصد از شیرهای استان اصفهان آلودگی بالاتری از MTL را دارا بودند. همان‌طورکه مشاهده می‌شود میزان آلودگی شیرهای استان اصفهان از شیرهای استان یزد پایین‌تر بوده و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نیز وجود دارد ($P<۰/۰۵$).



شکل ۱- میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در شیرهای جمع‌آوری شده از استان‌های اصفهان و یزد به روش HPLC در سال ۱۳۸۷ برای تغذیه نوزادان.

همان‌طوری‌که از شکل ۲ مشاهده می‌شود شیرهای استان اصفهان از نظر قابلیت مصرف برای بزرگسالان وضعیت مناسب‌تری نسبت به استان یزد دارند به‌طوری‌که ۹٤/٦ درصد از شیرهای استان اصفهان میزان آلودگی کم‌تری از MTL (۰/۰۵ µg/l) را دارا بودند در حالی‌که این عدد برای شیرهای استان اصفهان ۷٦/۹ می‌باشد.



شکل ۲- میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام جمع‌آوری شده از استان‌های اصفهان و یزد به روش HPLC در سال ۱۳۸۷ برای تغذیه بزرگسالان.

همان‌طور که از جدول ۱ مشاهده می‌شود میزان آلودگی شیرهای خام و پاستوریزه به‌ترتیب ۱۲/۵ و ۲۳/۵ درصد می‌باشد. در حالی‌که ۱ نمونه شیر استریلیزه مورد آزمایش آلوده بود. بالا بودن میزان درصد آلودگی شیرهای پاستوریزه و استریلیزه ناشی از اختلاط شیرهای آلوده با یکدیگر است و چون آفلاتوکسین M_1 به فرآیند حرارتی مقاوم است در اثر فرآیند پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون تجزیه نشده و نمونه‌های پاستوریزه و استریلیزه تعداد آلودگی بالاتری را نشان می‌دهد.

جدول ۱- فراوانی نمونه‌های آلوده به آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام، پاستوریزه و استریلیزه استان یزد.

نوع شیر / میزان آلودگی (µg/l)	خام	پاستوریزه	استریلیزه
< ۰/۰۰۵	۰	۰	۰
۰/۰۰۵<۰/۰۵	۷	۱۳	۰
۰/۰۵<	۱	٤	۱

نتیجه‌گیری

یکی از مهم‌ترین راه‌های ورود آفلاتوکسین‌ها به رژیم غذایی انسان از طریق شیر و سایر فرآورده‌های لبنی است [۱۰]. از آنجا که شیر جزء مهم‌ترین و ضروری‌ترین مواد غذایی در بین خانواده‌هاست و مصرف آن برای کودکان و سنین مختلف ضروری است باید یک برنامه‌ریزی منسجم ایجاد شود که بتوان امکان کاهش میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین را فراهم نمود.

آلودگی علوفه دام به افلاتوکسین B_1 یکی از مشکلات عمده صنعت دامپروری دنیاست. آلودگی می‌تواند در مراحل مختلف کاشت، داشت و برداشت و در نهایت هنگام انبارداری رخ دهد. حدود ۰/۱۷ تا ۳/۳ درصد از آفلاتوکسینی که روزانه از طریق علوفه وارد بدن گاو می‌گردد، وارد شیر می‌شود. به‌منظور جلوگیری از آلودگی علوفه به آفلاتوکسین رعایت اصول کاشت، سم‌پاشی بذور با قارچ‌کش‌ها هنگام کاشت و همچنین رعایت تناوب زراعی و فاصله کشت ضروری است. رعایت زمان مناسب برداشت که رطوبت محصول در حداقل ممکن باشد و نیز جلوگیری از آسیب به دانه‌ها و نگهداری و حمل آن‌ها در شرایط و وسایل مناسب آلودگی علوفه به آفلاتوکسین را به حداقل کاهش می‌دهد [۵].

گذشته از میزان آفلاتوکسین جیره، شرایط اکولوژیکی و اقتصادی و مدیریت مزرعه نیز از جمله عواملی هستند که روی میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 اثر می‌گذارند. طبق مطالعات انجام شده منطقه گاوداری دارای اثر معنی‌دار در میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین می‌باشد. ولی آلودگی جیره به آفلاتوکسین مهم‌ترین عامل در افزایش میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین است [۲٤، ۲۸].

استان اصفهان با تولید سالانه ۸۰۰ هزار تن شیر دومین مرکز عمده تولید شیر کشور می‌باشد. طی اطلاعات به‌دست آمده تقریباً تمامی گاوداران صنعتی اصفهان با آفلاتوکسین آشنایی داشته و در هنگام خرید علوفه مسایلی مانند میزان رطوبت نسبی علوفه و شرایط نگهداری آن را رعایت می‌نمایند، به‌رغم آن‌که در بعضی از سال‌ها مانند ۱۳۸۷ به‌علت خشکسالی و کمبود شدید و گرانی علوفه عملاً قدرت انتخاب از گاودار گرفته شده بود به ناچار از هر منبعی برای تامین علوفه اقدام می‌کردند. بسیاری از گاوداران نیز در سال‌های اخیر از ترکیبات آلی و یا معدنی ضدقارچ در جیره استفاده می‌کنند که به‌طور محسوس با جذب آفلاتوکسین در دستگاه گوارش مانع از ورود آن به گردش خون گاو می‌گردد، هر چند در خصوص عوارض احتمالی این مواد در عملکرد گاو مطالعات بیش‌تری مورد نیاز است. استان یزد با تولید حدود ۸۰ هزار تن شیر در سال نیز از استان‌های تولیدکننده مهم شیر در کشور در میان استان‌های هم ردیف خود می‌باشد. بالاتر بودن میزان آلودگی آفلاتوکسین در شیر استان

یزد را می‌توان به‌طور عمده ناشی از مشکلات تامین علوفه در این استان دانست. ضمن آن‌که از نظر شرایط آب و هوایی (درجه حرارت، رطوبت نسبی هوا و...) و منابع تامین علوفه، نوع جیره بین دو استان اختلاف زیادی وجود دارد [۱۵].

با توجه به آن‌که طرح‌های مربوط به اندازه‌گیری آفلاتوکسین در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته و آزمایشگاه‌هایی که بتوانند با دقت و صحت بالا این سم را مشخص نمایند نیز محدود می‌باشند، انجام این مطالعه ضرورت توجه بیش‌تر به کیفیت علوفه و مراحل کاشت، داشت و برداشت علوفه و روش‌های مناسب حمل و انبارش آن‌ها را بیش‌تر نمایان سازد. در حال حاضر سرانه مصرف شیر در کشور حدود ۹۰ کیلوگرم می‌باشد که با مقدار متوسط دنیا حدود ۱۵۵ کیلوگرم فاصله دارد، وزرات جهاد کشاورزی در حال برنامه‌ریزی برای افزایش تولید شیر کشور می‌باشد که طبیعتاً به‌دنبال پژوهش‌گر شدن این امر مصرف سرانه شیر نیز افزایش خواهد یافت و چنان‌چه آلودگی شیر با آفلاتوکسین کنترل نگردد جامعه بیش‌تر در معرض خطرات انواع سرطان‌های ناشی از آفلاتوکسین موجود در شیر خواهند بود. در این راستا ضمن افزایش تولید کمی شیر توجه به کیفیت شیر نیز دارای اهمیت است.

منابع

1. AOAC. Official methods of analysis, 18 ed., Washington, DC: Association of Official Analytic Chemists. 2005.
2. Aycicek, H., Aksoy, A., and Saygi, S. 2005. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16, 263-6.
3. Chopra, R.C., Chhabra, A., Parsad, K.S.N., Dudhe, A., Hurthy, T.N., and Pprasad, T. 1999. Carryover of aflatoxin M_1 in milk of cows fed aflatoxin B_1 contaminated ration. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 16, 103-106.
4. Choudhary, P.L., Sharma, R.S., and Borkhartria, V.N. 1998. Effect of chilling and heating on aflatoxin M_1 content of contaminated Indian cow's milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26, 223-229.
5. Code of practice for the reduction of aflatoxin B_1 in raw materials and supplemental feeding stuffs for milk producing animals CAC/RCP. 45-1997.
6. Codex Alimentarius Commissions. Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M_1 in milk. Codex committee on food additives and contaminants. 33 rd sessions, Hauge, The Netherlands. 2001. Available from: [http: // www.ecolomicsinternational. org/cad codex alimentarius evaluation report 2002. htm].

7.D'Mello, J.P.F, and MacDonald A.M.C. 1997. Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 69, 155-66.
8.Deshpande, S.S. 2002. Fungal toxins. Handbook of food toxicology. New York: Marcel Decker. 387-456.
9.European Community Comments for the Codex Committee of food additives and contaminants. 2000. Draft maximum level for aflatoxin M_l in milk. CL 1999/13-GENCX0016 FAC-Agenda item 16a. Beijing, People's Republic of China. 20-24 March 2000.
10.Galvano, F., Glofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A., and Galvano, G. 2001. Survey of the occurrence of aflatoxin M_1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Additive Contamination*, 18, 644-6.
11.Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Fusconi, G., and Galvano, M. 1996. Reduction of carry over of aflatoxin from cow feed to milk by addition of activated carbon. *Journal of Food Protection*, 59, 551-554.
12.Holzaphel, C.W., and Steyn, P.S. 1996. Isolation and structure of aflatoxins M_1 and M_2. *Tetrahedron Letters*, 25, 2799-2803.
13.Kamkar, A. 2005. A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in Iranian Feta cheese. *Food Control*, 16, 257-61.
14.Kamkar, A. 2005. A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control*, 16, 593-9.
15.Kim, E.K., Shon, D.H., Ryu, D., Park, J.W., Hwang, H.J., and Kim, Y.B. 2000. Occurrence of aflatoxin M_1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Additive and Contaminants*, 17, 59-64.
16.Lopez, C., Ramos, L., Ramadan, S., Bulacio, L., and Perez, J. 2001. Distribution of aflatoxin M_1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 211-215.
17.Manahan, S.E. 1992. Toxicological chemistry. 2nd edition. Lewis publishers. Inc.
18.Markaki, P., and Melissari, E. 1997. Occurrence of aflatoxin M_l in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC *Food Additive and Contaminant Journal*, 14 (5), 451-456.
19.Martins, M.L., and Martins, H.M. 2000. Aflatoxin M_1 in raw and ultra high temperature treated milk commercialized in Portugal. *Food Additives and Contaminants*, 17, 871-874.
20.Milk and milk powder-Determination of aflatoxin M1content- Clean up by immunoaffinity chromatography and determination by high- performance liquid chromatography- Test method. ISIRI. 7133. 1st Revision. (In Persian)
21.Rastogi, S., Dwivedi, D.P., Khanna, K.S., and Das, M. 2004. Detection of aflatoxin M_1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 15, 287-90.

22.Rodriguesz, M.L., Velasco, M.M., Calonge, D., and Ordonez Escudero, D. 2003. ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M_1 in raw milk. *Food Additive Contamination*, 20, 276-80.
23.Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., and Botsoglou, NA. 2002. Occurrence of aflatoxin M_1 in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Additive Contamination*, 19, 863-68.
24.Tajkarimi, M., Shojaee Aliabadi, F., Salah Nejad, M., Pursoltani, H., Motallebi, A.A., and Mahdavi, H. 2007. Seasonal study of aflatoxin M_1 contamination in milk in five regions in Iran. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 346-349.
25.Trucksess, M.W., and Pohland, A.E. 2000; Mycotoxin protocols, Series: Methods in molecular biology, 157. Humana press.
26.Van Egmond, H.P. 1983. Mycotoxins in dairy products. *Food Chemistry*, 11, 289-307.
27.Van Egmond, H.P. 1995. Mycotoxins, Regulations, quality assurance and reference materials. *Foods Additives and Contaminants*, 12, 321-330.
28.Veldman, A., Meijs, J.A.C., Borggreve, G.J., and Heeres-van der Tol, J.J. 1992. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Animal Production*, 55, 163-168.
29.Yaroglu, T., Oruc, H.H., and Tayar, M. 2005. Aflatoxin M_1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control*, 16, 883-5.

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

EJFPP, Vol. 2 (3): 31-42
http://ejfpp.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Investigation of Aflatoxin M_1 contamination in milk samples collected from Esfahan and Yazd provinces

***A. Daraei Garmakhany[1], H. Zighamian[2], M. Rasti Ardakani[3], R. Sarhangpour[2] and S.S. Amiri[4]**

[1]Instructor, Dept. of Food Sciences and Technology, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, [2]Master, Food Quality Control Laboratory of EbneSina, Esfahan, [3]Instructor, Scientific Board of Isfahan Natural Resources and Agricultural Research, Isfahan, [4]Instructor, Dept. of Food Sciences and Technology, Baharan University, Gorgan

Received: 2010-10; Accepted: 2011-06

Abstract

Aflatoxin M_1 contamination of collected milks from Esfahan and Yazd provinces has been studied. Twenty six milk samples (1 UHT milk, 8 raw and 17 pasteurized) from Yazd province and 37 raw milk samples from Esfahan province were analyzed by using HPLC and Immunoaffinity column determination. Results showed that milk samples of Yazd province had higher amount of aflatoxin M_1 contamination than Esfahan. In Esfahan, 94.6% of milk samples had lower aflatoxin M_1 than recommended amount for adult's consumption (0.05 $\mu g/l$) while 76.9% of Yazd samples had lower amount than MTL (0.05 $\mu g/l$). According to lower amount of MTL for infant food (0.02 $\mu g/l$), 84/6 % of Yazd samples had higher contamination than infant MTL (0.02 $\mu g/l$) while 43% of Esfahan samples were higher than (0.02 $\mu g/l$). Since aflatoxin M_1 is a heat resistance toxin, results of Yazd samples showed that pasteurized and UHT milk samples also had higher aflatoxin M_1 contamination. Differences between afalatoxin M_1 contaminant samples in Yazd and Esfahan provinces were significant ($P<0.05$)

Keywords: Aflatoxin M_1; Milk; HPLC

* Corresponding Author; Email: amirdaraey@yahoo.com