



## اثر فرایند کشک سازی صنعتی بر روی باقیمانده آفلاتوکسین<sub>1</sub>

نویسنده‌گان: بهادر حاجی محمدی<sup>۱</sup>، اسدالله خسروی<sup>۲</sup>، غلامرضا جاهد<sup>۳</sup>، علی دهقانی<sup>۴</sup>، سید علی یاسینی<sup>۵</sup>، اردکانی<sup>۶</sup>، مهدی بهبود<sup>۷</sup>

۱. استادیار گروه بهداشت و اینمی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی شهید صدوقی یزد  
۲. نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و اینمی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی شهید صدوقی یزد

تلفن تماس: ۰۹۱۷۳۰۲۹۲۴۸

Email: asad.khosravi@Gmail.com

۳. دانشیار گروه بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران

۴. استادیار گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی شهید صدوقی یزد

۵. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات یزد

۶. کارشناس و مسئول فنی کارخانه رامک شیراز

## طلوع بهداشت

### چکیده

**مقدمه:** آفلاتوکسین<sub>1</sub> ترکیبی بسیار سمی بوده که طی فرایند نگهداری شیر پایدار است. از این رو در زمرة یک آلاینده شیر و فراورده های لبنی است که می تواند عوارض خطرناک برای انسان را به دنبال داشته باشد. در این زمینه مطالعات متعددی کارایی اثر فرایند در فراورده های لبنیاتی بر روی حذف آفلاتوکسین<sub>1</sub> را نشان داده اند. بنابراین هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثر فرایند تهیه کشک صنعتی بر روی کاهش آفلاتوکسین<sub>1</sub> اضافه شده بطور مصنوعی در فرایند طبیعی کشک سازی می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه کشک صنعتی از شیر گاو(شیر بدون چربی) که در یک سطح به مقدار ۰/۰۲۵ میکرو گرم در لیتر آفلاتوکسین<sub>1</sub> به صورت مصنوعی آلوده شده بود در ۳ تکرار، تهیه شد و تاثیر فرایند کشک سازی صنعتی بر روی آفلاتوکسین<sub>1</sub> مورد مطالعه قرار گرفت. برای اندازه گیری مقدار آفلاتوکسین<sub>1</sub> از روش کراماتو گرافی مایع با فشار بالا استفاده شد.

**یافته ها:** در تولید کشک صنعتی در غلظت های مساوی بین شیر اولیه و کشک صنعتی مقدار کاهش آفلاتوکسین<sub>1</sub> به میزان ۹۱ درصد بود. و این مقدار کاهش آفلاتوکسین<sub>1</sub> بین شیر اولیه و کشک صنعتی از لحظه آماری در سطح ( $P < 0/052$ ) معنی دار بود.

**نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه نشان میدهد که فرایند کشک سازی صنعتی میتواند خطرات سم آفلاتوکسین<sub>1</sub> که انسان به وسیله مصرف لبنیات یا شیر با آن مواجه است را کاهش بدهد.

**واژه های کلیدی:** شیر، آفلاتوکسین<sub>1</sub>، کشک صنعتی، کراماتو گرافی مایع با فشار بالا

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال چهاردهم

شماره: ششم

ویژه نامه ۱۳۹۴

شماره مسلسل: ۵۴

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۹/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴

**مقدمه**

سرطان آفلاتوکسین  $B_1$  و  $M_1$  را به ترتیب در گروه ۱(سرطان زا برای انسان) و گروه ۲B (احتمالاً سرطان زا برای انسان) تقسیم‌بندی کرده است<sup>(۵)</sup>. با توجه به امکان وجود سم آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های لبنی، جهت کاهش ریسک آفلاتوکسین‌ها و کنترل این سم کشورهای مختلف حد مجاز تعیین نموده‌اند. حد مجاز این سم در شیر در اتحادیه اروپا، آمریکا و ایران به ترتیب ۵۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰ نانوگرم در لیتر و در کشک طبق استاندارد ملی ایران ۱۰۰ نانوگرم در لیتر تعیین شده است<sup>(۶-۹)</sup>. مطالعات مختلف حاکی از آلودگی نسبتاً بالای شیر و محصولات لبنی ایران به آفلاتوکسین  $M_1$  دارد. تحقیقات انجام‌شده توسط فلاخ و همکاران (۱۱) رحیمی و همکاران (۲۰۱۱)، نعمتی و همکاران (۲۰۱۰) و سفید گر و همکاران (۲۰۱۱) مؤید این موضوع است<sup>(۱۰-۱۲)</sup>. لذا محققین در کشورهای مختلف تلاش گسترده‌ای را در جهت کاهش یا حذف آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های آن مبذول نموده‌اند. تاکنون مطالعات اولیه‌ای در مورد راه‌های حذف و خنثی‌سازی این سم در مواد غذایی به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی انجام گرفته است<sup>(۱۳-۱۵)</sup>. ترکیبات شیمیایی قادرند به میزان زیادی آفلاتوکسین‌ها را از محصولات غذایی حذف نمایند ولی به دلیل جنبه‌های ایمنی و نیز هزینه‌های اقتصادی قابل کاربرد در صنایع غذایی نیستند. همچنین اگرچه برخی روش‌های مورداستفاده تا حدودی موفقیت‌آمیز بوده‌اند لکن مضرات زیادی مانند کارایی محدود، امکان کاهش ارزش تغذیه‌ای و هزینه زیاد برای استفاده از این روش‌ها متصور است. به همین علت تابه‌حال محققان مختلف اثر

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های شدیداً سمی بوده که در بسیاری محصولات گیاهی و نیز خوراک‌های دامی و کنستانتره‌های مورد مصرف دام‌های شیرده یافت می‌شوند و عمده‌تاً توسط قارچ‌های آسپرژیلوس پارازیتیکوس Aspergillus parasiticus، آسپرژیلوس flavous Aspergillus flavus و آسپرژیلوس نومیوس Aspergillus nomius تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌های  $M_1$  و  $M_2$  ترکیباتی سرطان‌زا کبدی هستند و مشتق مونوهیدروکسید آفلاتوکسین  $B_1$  و  $B_2$  بوده که توسط آنزیم سیتوکروم P450 در کبد دام‌های شیرده نظیر گاو تولید می‌شود. آفلاتوکسین  $M_1$  در تا ۲۴ ساعت پس از تغذیه با اولین خوراک آلوده به آفلاتوکسین  $B_1$  در شیر قابل شناسایی است و بعد ۴۸ ساعت به بالاترین سطح خود در شیر می‌رسد. آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های لبنی به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای بهداشتی مهم برای سلامتی انسان در نظر گرفته شده است. تابه‌حال در مطالعات مختلف خطرات آفلاتوکسین  $M_1$  بر روی انسان در اثر مواجهه انسان با شیر و محصولات لبنی مورد مطالعه قرار گرفته است<sup>(۱-۴)</sup>. آفلاتوکسین  $M_1$  قدرت جهش‌زای در ژنوم انسان را دارد و مصرف شیر و فرآورده‌های لبنی آلوده به آفلاتوکسین  $M_1$  زمینه‌ساز سرطان‌زا بیوژه سرطان کبد در انسان می‌شود. در سلول پستانداران، حشرات و یوکاریوت‌ها باعث تخریب DNA، جهش ژن، آنومالی‌های کروموزومی و تغییر شکل سلولی می‌شود. با این حال آفلاتوکسین  $M_1$  نسبت به آفلاتوکسین  $B_1$  دارای اثرات موتاژنی و ژنو توکسیک کمتری است همچنین آژانس بین‌المللی



از شیری که به طور مصنوعی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> آلوده شده بود با حمام آب در شرایط کنترل شده تا دمای ۴۲ درجه گرم شد، استارت را با نسبت ۱ به ۱ (لاکتو باسیلوس بولگاریکوس و استرپتو کوکوس ترموفیلوس) (V1-Hansen, Denmark) به ۲۵۰ pH=۳/۸ ادامه یافت. میلی لیتر شیر پس چرخ استریلیزه شده در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد اضافه شد سپس ۸ میلی لیتر مایه کشته ۲ لیتر شیر حاوی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> اضافه و تخمیر تا رسیدن به ۸/۳ pH مدت یک ساعت از تخمیر، ماست در دمای ۲ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت سرد شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (۵). ماست مخصوص کشک سازی صنعتی در شرایط کنترل شده در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد در حمام آب داغ به مدت ۴ ساعت حرارت داده شد سپس کشک مایع تا دمای ۴ درجه سانتی گراد سرد شد (۱۵).

از انتهای مراحل ذکر شده نمونه برداری شد و تا انجام آزمایش های تعیین مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در جای تاریک و در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تهیه کشک صنعتی در ۳ تکرار انجام شد.

## ۲- تعیین مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub>:

۱۰ گرم نمونه (کشک مایع و ماست) ۱۰ گرم سلیت Sigma (St. Louis, MO, USA) HPLC (grade, Merck) را درون یک ظرف در پیچ دار ریخته، توسط دستگاه اولتراتوراکس Junke and Kunkel, GmbH, Germany) به مدت ۲۰ دقیقه در ۹۰۰۰ دور در دقیقه به خوبی مخلوط گردید. مخلوط از کاغذ صافی Whatman شماره ۱ عبور

فراوری مواد لبنی باهدف کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> را مورد بررسی قرار داده اند که در این زمینه مطالعاتی در مدل های مواد غذایی شامل ماست، پنیر و شیر پاستوریزه توسط استولوف و همکاران (۱۹۷۵)، بکیری و همکاران (۲۰۰۱)، کامکارو و همکاران (۲۰۰۸)، ایه او همکاران (۲۰۱۳) و نیز گواریس و همکاران (۲۰۰۲) انجام شده است (۵، ۱۳-۱۵). لذا با توجه به اینکه کشک یکی از محصولات لبنی پر مصرف در کشور ما است در این مطالعه برای اولین بار اثر فرایند کشک سازی صنعتی بر روی باقیمانده آفلاتوکسین M<sub>1</sub> مورد مطالعه قرار گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه از انواع مطالعات نیمه تجربی semi experimental study است.

### ۱- ساختن کشک:

#### ۱-۱- تهیه شیر و افروzen آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به طور مصنوعی:

شیر گاو از دامداری های اطراف شیراز تهیه شد. شیر مصرفی دارای حداقل یا غیر قابل اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بودند. سپس چربی گیری و شیر پس چرخ با ۹ درصد ماده خشک بدون چربی جهت انجام آزمایش های مورد استفاده قرار گرفت. آفلاتوکسین ۱۰۰ M<sub>1</sub> Sigma (St. Louis, MO, USA) میکرو گرم در میلی لیتر حلal در است و نیتریل به ۳/۰ ظرف حاوی ۲ لیتر شیر اضافه شد و میزان غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر به غلظت ۲۵۰ نانو گرم در لیتر تنظیم شد. شیر تلقیح مصنوعی شده آفلاتوکسین M<sub>1</sub> تا موقع مصرف در محل تاریک و دمای ۷ درجه نگهداری شد (۱۶).



عصاره حل شده در فاز متحرک به دستگاه HPLC با سرنگ مخصوص تزریق گردید. (۱۶) ۲۰۰ میکرو لیتر از نمونه و استاندارد آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با غلظت های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۲، ۰/۵، ۰/۵، ۰/۵، ۰/۵، ۰/۵ و ۱۰ میکرو گرم به دستگاه HPLC تزریق شد و پیک های مربوطه گرفته شد و غلظت نمونه های مجھول با استفاده از منحنی کالیبراسیون در برنامه اکسل محاسبه شد. (۲۶)

**۳-آفالیز آماری:** فرایند کشک سازی صنعتی در ۳ تکرار انجام گرفت و برای اندازه گیری میانگین و انحراف معیار هر مرحله و مقایسه هر مرحله با آزمون Student\_s t-test استفاده شد.

#### یافته ها

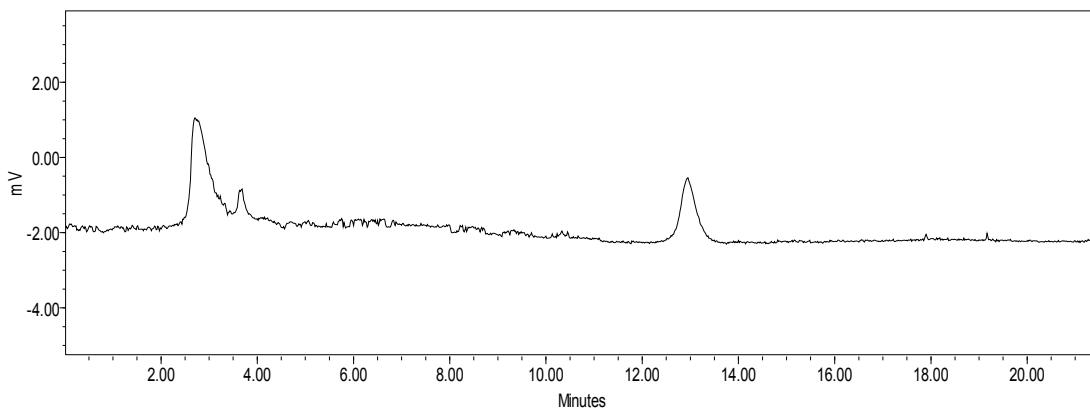
در فرایند ماست سازی از شیر اولیه (که در سطح ۲۵۰ میکرو گرم به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> لود شده بود) در pH = ۳/۸ مقدار کاهش آفلاتوکسین ۴۷ درصد بود که در سطح ( $P < 0.006$ ) معنی دار بود. همچنین در فرایند کشک سازی صنعتی که از ماست مرحله قبل تهیه شده بود، مقدار کاهش آفلاتوکسین ۵۵ درصد بود که در سطح ( $P < 0.052$ ) معنی دار بود (جدول ۱). از طرف دیگر میانگین ماده خشک بدون چربی در شیر اولیه و کشک صنعتی به ترتیب ۹ و ۲۴ درصد بوده است که با توجه به فاکتور غلظت مقدار کاهش آفلاتوکسین در کشک صنعتی ۹۱ درصد بود.

داده شد. ۴۵ میلی لیتر از عصاره صاف شده در تبخیر کننده دوار تحت خلا ۲۰۰۰ (Heidolph Rotary Evaporator VV - 2000) در دمای ۴۵-۳۵ درجه سانتی گراد خشک گردید (HPLC grade, Merck) از هگزانو آب (extra pure, Merck) ان هگزانو آب (۳۰:۵۰:۲۰ v/v) دوباره حل گردید. فاز آبی عصاره از فاز آلی توسط دکانتور از یکدیگر جهت خالص سازی جدا گردید. ۳۵ میلی لیتر از فاز آبی حاصل از مرحله قبل (استخراج) از ستون (Puri-Fast AFLA M<sub>1</sub> IAC Libios Ltd, France) که حاوی آنتی بادی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بود عبور داده شد تا ترکیب آنتی ژن و آنتی بادی تشکیل بشود. برای جدا کردن ترکیبات باقی مانده، ستون ۲ بار با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر شسته شد. ۰/۵ میلی لیتر استونیتریل (HPLC grade, Merck) را در دو مرحله از ستون ایمونو افینیتی عبور داده شد تا آنتی ژن متصل به آنتی بادی از ستون جدا شود محلول حاصل درون یکویال جمع آوری شد. محتویات ویال توسط گاز نیتروژن که گازی خنثی است خشک شد و پس از آن ۱ میلی لیتر فاز متحرک به HPLC ویال اضافه گردید سپس با استفاده از ورتسکس محتوى خیال باهم به خوبی در فاز متحرک HPLC حل شد و سپس ۲۰ میکرو لیتر از



جدول ۱ : مقایسه مقدار کاهش آفلاتوکسین در فرایند کشک سازی صنعتی

P	میانگین درصد کاهش	مقدار کاهش نانوگرم در لیتر	میانگین ± انحراف	نمونه
۰/۰۰۶	۱۱۸	%۴۷	۰/۲۵۰±۰/۰۰۰	شیر اولیه
۰/۰۵۲	۷۳	%۵۵	۰/۱۳۲±۰/۰۱۷	ماست
			۰/۰۵۹±۰/۰۲۴	کشک صنعتی

تصویر ۱: کروماتوگرام شیر اولیه جهت تهیه کشک (بدون آفلاتوکسین M<sub>1</sub>) ریتنشین تایم ۱۹ دقیقه (مقدار آفلاتوکسین = ۰)

کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در pH = ۴/۴ و ۴ در ساخت ماست به

ترتیب برابر با ۱۳ و ۲۲ درصد بود و همچنین در انتهای نگهداری

به مدت ۴ هفته کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به ترتیب برابر با ۱۶ و ۳۴

درصد بوده است که مقدار کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در pH = ۴ در

سطح ( $P < 0.01$ ) معنی دار بوده است و در pH = ۴/۴ در سطح

( $P < 0.01$ ) معنی دار نبوده است. مطالعه حاضر در

Govaris و همکاران همخوانی دارد و در pH = ۴/۴ همخوانی

ندار (۵). El Khoury و همکاران در سال ۲۰۱۱ در لبنان کاهش

## بحث و نتیجه گیری

۱- تغییر غلظت آفلاتوکسین در فرایند تخمیر ماست:

در تحقیق انجام شده مشخص گردید که کاهش آفلاتوکسین

M<sub>1</sub> در فرایند تخمیر ماست از لحاظ آماری در سطح ( $P < 0.006$ )

تفاوت معنی داری داشته و میانگین کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> برابر با

۴ درصد بوده است. در مطالعه ای مشابه با تحقیق حاضر که توسط

Govaris و همکاران در سال ۲۰۰۲ در یونان بر روی اثر فرایند

ماست سازی بر کاهش آفلاتوکسین M<sub>1</sub> انجام گرفت مقدار



کردند. میزان آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های ماست پس از ۱۲ ساعت گرمخانه گذاری فقط  $6/4$  درصد کاهش پیدا کرد که با مطالعه حاضر همخوانی نداشت. همچنین در این مطالعه میزان باقیمانده آفلاتوکسین در فرایند پنیر سازی در ۳ تیمار مختلف آفلاتوکسین  $M_1$  بررسی شده است و غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  در لخته  $1/86$ ،  $2/3$  و  $1/44$  مرتبه افزایش یافته است. با توجه به افزایش غلظت در پنیر، میزان آفلاتوکسین  $M_1$  در لخته  $28/9$  و  $13/5$  درصد کاهش یافته است. همچنین این محققان عنوان کردند به میزان  $39$  درصد از آفلاتوکسین  $M_1$  در فرایند پنیر سازی، همراه با آب‌پنیر خارج می‌شود(۲۰). مکانیزم کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  در تخمیر ماست به عوامل مختلفی بستگی دارد. میزان کاهش در آفلاتوکسین  $M_1$  در فرایند ماست سازی ممکن است در اثر فاکتورهایی مانند pH کم، تشکیل اسیدهای آلی یا تولید محصولات دیگر حاصل از تخمیر یا حتی حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک باشد. pH کم در تخمیر ماست باعث تغییر پروتئین‌های ماست به خصوص کافئین‌ها می‌شود و باعث تشکیل لخته ماست می‌شود. تغییر ساختار کافئین در طول تولید ماست سازی بر روی آفلاتوکسین  $M_1$  تأثیر دارد و ممکن است باعث جذب سم یا رسوب سم بر روی کازئین‌ها شود(۵، ۲۱). اسیدیته تولید شده در فرایند ماست سازی به علت تولید مقدار زیادی اسیدلاکتیک در تخمیر ماست استواسید لاکتیک بر روی کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  مؤثر است. Rasic و همکاران (۱۹۹۱) بیان کردند که اسیدلاکتیک، اسیداستیک، اسیدسیتریک در شیر اسیدی بر روی کاهش آفلاتوکسین  $B_1$  مؤثر است. چندین

آفلاتوکسین  $M_1$  توسط باکتری‌های لاکتوپاسیلوس بولگاریکوس و استرپتوكوس ترموفیلوس در فرایند ساخت ماست و محیط کشت را مورد بررسی قراردادند نتایج آن‌ها نشان داد که در فرایند ساخت ماست، آفلاتوکسین  $M_1$  درصد کاهش می‌یابد. همچنین نتایج آن‌ها در کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  توسط باکتری‌های لاکتوپاسیلوس بولگاریکوس و استرپتوكوس ترموفیلوس در محیط کشت به ترتیب برابر با  $87/6$  و  $70$  درصد بود که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد(۱۷).

El-Nezami و همکاران در سال ۱۹۹۸ کاهش آفلاتوکسین  $B_1$  را توسط باکتری‌های لاکتوپاسیلوس گونه Lb. rhamnosus strains GG and Lc 705 در این مطالعه گونه Lb. rhamnosus strains GG and Lc 705  $80$  درصد آفلاتوکسین  $B_1$  را در صفر ساعت کاهش داد Bakirci.(۲۰۰۱) در مطالعه خود اعلام نمود میزان آفلاتوکسین  $M_1$  موجود در شیر پس از انجام فرایند و تبدیل شدن به ماست، به میزان  $13$  درصد افزایش می‌یابد. این محقق این گونه نتیجه‌گیری کرد که هرچند این میزان افزایش، معنی‌دار نبوده ولی از مهم‌ترین دلایل احتمالی آن تغییل شیر خام در جریان تبدیل شدن به ماست بوده است(۱۹).

در حالی که در مطالعه حاضر میزان آفلاتوکسین در شیر اولیه به میزان  $25/0$  میکروگرم بوده است که پس از تبدیل به ماست  $132/0$  میکروگرم. تغییر و  $47$  درصد کاهش پیدا کرد. Ihha و همکاران (۲۰۱۳) میزان باقیمانده آفلاتوکسین در فرایند ماست سازی را در ۳ تیمار مختلف آفلاتوکسین  $M_1$  بررسی



آفلاتوکسین  $B_1$  در این غذاهای بخارپز شده ، به میزان بسیار زیادی بیشتر از غذاهای پخته شده با حرارت خشک بود . دلیل کاهش آفلاتوکسین در حرارت مرطوب می تواند باز شدن حلقه لاکتون در آفلاتوکسین باشد (۲۵).

در استاندارد ایران به شماره ۶۱۲۷ (کشک مایع صنعتی - ویژگی ها) حداقل ماده خشک در کشک مایع، ۱۸ درصد است در مطالعه حاضر مقدار ماده خشک بدون چربی در شیر اولیه  $9$  و در کشک مایع  $24$  درصد بود که نشان دهنده افزایش غلظت کشک مایع  $2/6$  برابر است و با توجه به فاکتور غلظت میزان کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  در کشک صنعتی برابر با  $91$  درصد است. که در مقایسه با مطالعات مشابه میزان کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  در کشک سازی صنعتی بیشتر از فرایند پنیر سازی ، ماست سازی است (۲۷).

بررسی تأثیر سطوح مختلف آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر اولیه ، pH های مختلف و دماهای متفاوت گرمخانه گذاری در ماست تهیه شده و دما و زمان های مختلف در فرایند ساخت کشک صنعتی می توانست بر غنای این مطالعه بیفزاید که به دلیل محدودیت های موجود مطالعه نگردید، همچنین سایر جنبه های تولید کشک ، مثل کشک سنتی و پروپیوتیک و زمان نگهداری می تواند زمینه های مناسب جهت تحقیقات آینده در این مبحث باشد. این مطالعه نشان داد که استفاده از فرایند کشک سازی صنعتی یک روش ایمن، سالم و مؤثر در کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  است که صنعت غذا برای کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  می تواند از آن استفاده کند تا گامی مؤثر در ارتقا ایمنی و سلامت عمومی جامعه باشد، چراکه در اکثر مناطق کشور ما، بیش از  $۳۰\%$  شیرهای خام تولیدی آلووده به مقادیر

محصول جانبی دیگر در حین تخمیر ماست که به مقدار کم تولید می شود ، مانند اسیدهای چرب فرار، آمینواسید، پپتید و آل دهید، آفلاتوکسین  $M_1$  را کاهش می دهد (۲۲، ۵).

تاکنون مکانیزم کاهش آفلاتوکسین توسط لاکتو باسیلوسها به روشنی مشخص نشده است. در مطالعاتی که El-Nezami و همکاران (۱۹۹۸)، Lahtinen و همکاران (۲۰۰۴)، Haskard و همکاران (۲۰۰۱) انجام شده است منتج شد که ملکول آفلاتوکسین در دیواره سلولی باکتری ها جذب می شوند. آفلاتوکسین  $M_1$  با پیوندهای ضعیف غیر کوولانی در دیواره سلولی جذب شده که این پیوندها می توانند از نوع پیوندهای هیدروژنی در سطح سلول باشد. تفاوت در مقدار جذب شدن آفلاتوکسین  $M_1$  در دیواره سلولی می تواند به علت تفاوت در دیواره سلولی باکتری ها و ساختار پوشش سلولی باشد (۲۴، ۲۳، ۲۲، ۱۸).

## ۲- تغییر غلظت آفلاتوکسین در فرایند حرارت دهی:

در تحقیق حاضر مشخص گردید که کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  در فرایند کشک سازی صنعتی از لحاظ آماری در سطح ( $P < 0.052$ ) تفاوت معنی داری داشته و میانگین کاهش آفلاتوکسین  $M_1$  در غلظت های مساوی بین شیر اولیه و کشک صنعتی برابر با  $91$  درصد بوده است. همچنین در کره جنوبی مطالعه ای مشابه با تحقیق حاضر توسط Hwang و همکاران (۲۰۰۶) بر روی اثر فرایند حرارت دادن و پختن در کاهش آفلاتوکسین  $B_1$  در نان و سوچی (یک نوع سوپ کره ای) انجام گرفت. در این مطالعه میزان کاهش آفلاتوکسین  $B_1$  در دمای  $100$  درجه در سوچی و نان که بخارپز شده بودند به ترتیب  $71$  و  $43$  درصد بود که میزان کاهش



پزشکی شهید صدوقی یزد است. پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند صمیمانه از همکاری مسؤولین محترم دانشگاه و خصوصاً جناب آقای دکتر احرام پوش ریاست دانشکده بهداشت به دلیل مساعدت در حمایت مالی از این پایان‌نامه کمال تشكر و قدردانی به

عمل آورند.

بالاتر از حد مجاز آفلاتوکسین M<sub>1</sub> هستند و می‌توان مقادیر زیادی از شیرهای آلوده را جهت تولید کشک صنعتی مورداستفاده قرارداد و بدین‌وسیله از زیان‌های بهداشتی و اقتصادی ناشی از سم آفلاتوکسین M<sub>1</sub> تا حدودی کاسته شود.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد در دانشگاه علوم

## References

- 1-Scott P, Egmond Hv. Mycotoxicogenic fungal contaminants of cheese and other dairy products. *Mycotoxins in dairy products*. 1989;193-259.
- 2-Galvano F, Galofaro V, De Angelis A, Galvano M, Bognanno M, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy. *Journal of Food Protection®*. 1998;61(6):738-41.
- 3-Gürbay A, Sabuncuoğlu SA, Girgin G, Şahin G, Yiğit Ş, Yurdakök M, et al. Exposure of newborns to aflatoxin M1 and B1 from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(1):314-9.
- 4-James MJ. *Modern food microbiology*. An Aspen Publication. 2000.
- 5-Govaris A, Roussi V, Koidis P, Botsoglou N. Distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt. *Food Additives&Contaminants*. 2002;19(11):1043-50.
- 6-Alla AE-SA, Neamat-Allah A, Aly SE. Situation of mycotoxins in milk, dairy products and human milk in Egypt. *Mycotoxin research*. 2000;16(2):91-100.
- 7-Ghiasian SA, Maghsoud AH, Neyestani TR, Mirhendi SH. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. *Journal of food safety*. 2007;27(2):188-98.
- 8-Fallah AA, Rahnama M, Jafari T, Saei-Dehkordi SS. Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control*. 2011;22(10):1653-6.
- 9-Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 2001;167(2):101-34.
- 10-Rahimi E, Nilchian Z, Behzadnia A. Presence of Aflatoxin M1 in Pasteurized and UHT Milk Commercialized in Shiraz, Khuzestan and Yazd, Iran. *JCHR*. 2012;1(1).



- 11-Nemati M, Mehran MA, Hamed PK, Masoud A. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food Control*. 2010;21(7):1022-4.
- 12-Sefidgar S, Mirzae M, Assmar M, Naddaf S. Aflatoxin M1 in Pasteurized Milk in Babol city, Mazandaran Province, Iran. *Iranian journal of public health*. 2011;40(1).
- 13-Stoloff L, Trucksess M, Hardin N, Francis OJ, Hayes J, Polan C, et al. Stability of aflatoxin M in milk. *Journal of dairy science*. 1975;58(12):1789-93.
- 14-Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food control*. 2001;12(1):47-51.
- 15-Kamkar A, Karim G, Aliabadi FS, Khaksar R. Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(6):2236-8.
- 16-Kamkar A, Karim G, Aliabadi FS, Khaksar R. Fate of aflatoxin M<sub>1</sub> in Iranian white cheese processing. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(6):2236-8.
- 17-El Khoury A, Atoui A, Yaghi J. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control*. 2011;22(10):1695-9.
- 18-El-Nezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. *Food and Chemical Toxicology*. 1998;36(4):321-6.
- 19-Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*. 2001;12(1):47-51.
- 20-Iha MH, Barbosa CB, Okada IA, Trucksess MW. Aflatoxin M1 in milk and distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt and cheese. *Food Control*. 2013;29(1):1-6.
- 21-Brackett RE, Marth EH. Association of aflatoxin M1 with casein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1982;174(6):439-41.
- 22-Rašić JL, Škrinjar M, Markov S. Decrease of aflatoxin B1 in yoghurt and acidified milks. *Mycopathologia*. 1991;113(2):117-9
- 23-Lahtinen S, Haskard C, Ouwehand A, Salminen S, Ahokas J. Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Food additives and contaminants*. 2004;21(2):158-64.



- 24-Haskard CA, El-Nezami HS ,Kankaanpää PE, Salminen S, Ahokas JT. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001;67(7):3086-91.
- 25-Hwang J-H, Lee K-G. Reduction of aflatoxin B1 contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chemistry*. 2006;98(1):71-5.
- 26-ISIRI, Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Food & Feed - Mycotoxins- Maximum Tolerated level (2002), Available from: <http://www.isiri.org/std/a-5925.pdf>[Persian]
- 27-ISIRI, Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Industrial liquid kashk specification(2002).Available from:<http://www.isiri.org/portal/files/std/6127.PDF>[Persian]



## Study the Effect of Processing of Commercial Kashk Making on Aflatoxin M<sub>1</sub> Residue

Hajimohammadi B (PhD)<sup>1</sup>, Khosravi Arsenjani A (MSc)<sup>2</sup>, Jahed GR(PhD)<sup>3</sup>, Dehghani A (PhD)<sup>4</sup>, Yasini Ardakani A (PhD)<sup>5</sup>, Behbod M(BSc)<sup>6</sup>

1. Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

2. Corresponding Author : MSc student in food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3. Associate Professor , Department of Environmental Health Engineering Medical Sciences,University of Tehran, Tehran, Iran

4. Assistant Professor , Department of Epidemiology and Biostatistics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences Yazd, Iran

5. Assistant Professor, Department of Food Science and Industry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

6.BSc,Plant Technical Officer Ramak, shiraz , Iran

### Abstract

**Introduction:** Aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) is a highly toxic compound which is stable during milk processing, and Storage. Hence, it may be found as contaminant in milk and dairy products with hazardous effects for human beings. In this regard, several studies have demonstrated the potential of process to remove Aflatoxin M<sub>1</sub> from dairy product. Therefore, the aims of this study were to assess the ability commercial kashk making to reduce Aflatoxin M<sub>1</sub> artificially contaminated milk using a natural process of kashk making.

**Methods:** In this study the commercial cheese from cow's milk (skim milk) which was contaminated artificially at a level of 0.25 micrograms per liter of aflatoxin M1 was produced at three replications, and the effects of kashk making process on the AFM<sub>1</sub> contents were investigated. The HPLC method was used to determine the presence and levels of AFM<sub>1</sub>.

**Results:** In the commercial kashk production in same concentration between initial milk and commercial kashk caused losses of AFM<sub>1</sub> about 91%. These losses were found to be statistically significant ( $P < 0.052$ ) in same concentration between initial milk and commercial kashk.

**Conclusion:** The results of this work demonstrate that the processing of commercial kashk could help to reduce harmful effects of AFM<sub>1</sub> humans through consumption of contaminated milk or dairy products.

**Key words:** Milk, aflatoxinM<sub>1</sub>, commercial Kashk, Residue