



ORIGINAL ARTICLE

Received:2018/05/18

Accepted:2018/12/24

**Aflatoxin M1 Contamination in Raw Cow Milk of Dairy Farms in Behbahan area, Khuzestan province, Iran**

Seyedeh Ommolbanin Ghasemian(Ph.D.)

Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan. Iran. Email:ghasemian1249@yahoo.com Tel: 09166711485

**Abstract**

**Introduction:** Mycotoxins are among the environmental chemical agents with toxic effects on animals and humans. Aflatoxins (AF) are a major group of mycotoxins produced following the growth of some species of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, particularly in agricultural products. Aflatoxin M1 (AFM1) is secreted to milk and remains there since the process of pasteurization and sterilization has little effect on this metabolite. The aim of this study was to investigate the natural occurrence of AFM1 in raw milk in Behbahan area, which is an area of high-density livestock production in southwest of Iran. The other aim was to compare these obtained levels with the accepted level recommended by the European community (50 ng/L).

**Methods:** In the present study, 90 samples of raw milk were collected from five dairy farms in Behbahan region, Khuzestan province, Iran. The AFM1 was analyzed using the Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) method by ELISA kits from Euro Clone, Italy.

Data were analyzed by ANOVA and the results were reported as mean  $\pm$  SE. The significant level was set at  $p \leq 0.05$ .

**Results:** The concentration of aflatoxin M1 in (15)16.54% of raw milk was higher than maximum tolerance limit accepted by European Union /Codex Alimentarius Commission (50 ng/l). The results of this study showed that all 90 investigated raw milk samples were contaminated with AFM1 (100%).

**Conclusion:** A significant difference was observed between concentration means of AFM1 in various studied farms at  $P < 0.05$ . Consequently, high occurrence of AFM1 in raw milk samples was considered as a possible hazard for human health. However, further longitudinal studies are required on milk samples and other dairy products in Behbahan as well as other regions of Iran to estimate the representative intake of AFM1 in Iran.

**Keywords:** Raw milk, Aflatoxin M1, Behbahan.

**Conflict of interest:** The authors declared that no Conflict of interest.



**This Paper Should be Cited as:**

Author : Seyedeh Ommolbanin Ghasemian. Aflatoxin M1 Contamination in Raw Cow Milk of Dairy Farms in Behbahan area, .....Tolooebehdasht Journal.2019;18(2):45-56.[Persian]



## بررسی میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای خام گاوداری‌های شهرستان بهبهان

نویسنده: سیده ام البنین قاسمیان

نویسنده مسئول: استادیار گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.

تلفن تماس: ۰۹۱۶۶۷۱۱۴۸۵ Email: ghasemian1249@yahoo.com

### طلوع بهداشت

#### چکیده

**مقدمه:** مایکوتوکسین‌ها جزء ترکیبات شیمیایی محیطی بوده که دارای اثرات سمی بر روی سلامت انسان‌ها و حیوانات هستند. آفلاتوکسین‌ها گروه مهمی از مایکوتوکسین‌ها هستند که در اثر رشد برخی از گونه‌های آسپرژیلوس به ویژه آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در محصولات کشاورزی تولید می‌شوند. آفلاتوکسین B<sub>1</sub> سمی ترین عضو خانواده‌ی آفلاتوکسین بوده و فراوانترین نوع آفلاتوکسین در مواد غذایی کپک زده دامی به شمار می‌آید. این مایکوتوکسین بعد از ورود به بدن پستانداران و انجام فرآیندهایی روی آن، متابولیت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> را ایجاد می‌نماید. هدف از این مطالعه بررسی میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای خام منطقه بهبهان و مقایسه آن با محدوده قابل پذیرش کمیته اروپایی (۵۰ ng/l) می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه، ۹۰ نمونه شیر خام از ۵ مزرعه گاو شیری ناحیه بهبهان جمع آوری شد. میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> نمونه‌ها با کمک روش الیزا و کیت شرکت Euro Clone ساخت کشور ایتالیا اندازه گیری شد. آنالیز داده‌ها در سطح معنی دار  $p < 0.05$  با کمک روش آماری ANOVA صورت گرفت.

**یافته‌ها:** در این مطالعه ۱۵ نمونه (۱۶/۵۴٪) دارای میزان آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز قابل قبول کمیته اروپایی / کدکس (۵۰ ng/L) بوده‌اند. تمامی نمونه‌ها (۱۰۰٪) به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> آلوده بودند.

**نتیجه گیری:** تفاوت معنی داری بین مقادیر آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در گاوداری‌های مورد بررسی وجود دارد ( $P < 0.05$ ). بنابراین نتیجه گیری می‌شود که وقوع بالای AFM<sub>1</sub> در نمونه‌های شیر خام، امکان تهدید سلامتی انسان وجود دارد. بنابراین انجام مطالعات بیشتر در زمینه بررسی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بر روی شیر و سایر فرآورده‌های آن در بهبهان و سایر نقاط ضروری می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** شیر خام، آفلاتوکسین M<sub>1</sub>، بهبهان

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال هیجدهم

شماره دوم

خرداد و تیر ۱۳۹۸

شماره مسلسل: ۷۴

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۰۴



## مقدمه

آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از مایکوتوکسین‌ها هستند که به دنبال رشد سه گونه قارچ آسپرژیلوس فلاووس (*A.flavus*)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*A.parasiticus*) و آسپرژیلوس نومیوس (*A.nomius*) در مواد غذایی به ویژه حبوبات، غلات و علوفه دام تحت شرایط نامطلوب نگهداری (رطوبت نسبی بالا و دمای بالا) تولید می‌شوند (۱-۳). گونه‌های آسپرژیلوس انواع آفلاتوکسین‌های  $G_2$ ,  $G_1$ ,  $B_2$ ,  $B_1$  را تولید می‌کنند که در بین آنها  $B_1$  از سمیت بیشتری برخوردار است و دام‌ها با مصرف علوفه‌ی آلوده به این سم و هیدروکسیلاسیون سم در کبد به صورت آفلاتوکسین  $M_1$ ، در شیر ترشح می‌گردد (۱-۳).

این سموم که بیماری آفلاتوکسیکوزیس را در حیوانات اهلی و انسان ایجاد می‌کنند از عوامل مهم ایجاد کننده‌ی ناهنجاری‌های جنینی و کارسینوژنی (تأثیر بر روی ژن سرکوب گر P53، اثرات متقابل با DNA و RNA، کاهش ترشح و تولید پروتئین‌ها و چربی‌ها و تغییرات ساختاری هسته) محسوب می‌شوند (۴، ۲). سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۰۲، سم آفلاتوکسین  $M_1$  را از رده دوم مواد کارسینوژن به رده اول از لحاظ اهمیت و توان کارسینوژنیستی انتقال داد (۵). متأسفانه سموم آفلاتوکسین بویژه آفلاتوکسین  $M_1$  طی پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون از بین نمی‌رود، به همین دلیل به منظور جلوگیری از حضور بیش از حد مجازسم در شیر (طبق دستورالعمل کدکس ۰/۰۵ng/ml) باید شرایط رشد قارچ و تولید سموم آفلاتوکسین در علوفه از بین برود (۶-۸).

هژیر و همکاران میزان آلودگی به آفلاتوکسین  $M_1$  را در شیر خام تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه سنندج در ۹۱/۶۵٪

گزارش کردند و بیان کردند که در ۲۰/۲۳٪ نمونه‌ها میزان آفلاتوکسین بیش از حد مجاز استاندارد اروپایی (۵۰ نانوگرم در لیتر) می‌باشد. میانگین آلودگی کمتر از یک بیستم حداکثر مجاز استانداردهای کدکس بوده است (۹).

در مطالعه‌ای تاج کریمی و همکاران که بر روی ۹۸ نمونه‌ی شیر خام از کارخانه‌های شیر استان‌های گلستان، گیلان، فارس، تهران و همدان با میانگین فاصله‌ی ۴۰۰ کیلومتر و با شرایط اکولوژیکی و تغذیه دام متفاوت انجام شده است، میانگین غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  از ۶۵-۴۱ نانوگرم در کیلوگرم متغیر و در همه موارد از استاندارد استاندارد ایالات متحده آمریکا و استاندارد قدیم ایران (۵۰۰ نانوگرم در کیلوگرم) کمتر بوده است (۱۰).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ با از فاکتورهای بسیار مهم در تعیین میزان سموم آفلاتوکسین در علوفه و شیر، شرایط آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی منطقه می‌باشد. مطالعات غربالگری در کشور به تفکیک استان باید به طور منظم انجام گیرد تا مناطق پرخطری که در آنها شرایط تولید سم آفلاتوکسین  $B_1$  در علوفه بیش از سایر مناطق مهیا است، مشخص گردد و برنامه‌های مؤثری جهت پیشگیری از آن به کار گرفته شود. عنوان شیوع و آلودگی مقادیر مختلف به آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های لبنی انجام گرفت، نتایج نشان داده شد که ایران با مشکل جدی در جهت سلامت عمومی به خصوص کودکان که بیش‌ترین شیر را مصرف می‌کنند، مواجه است (۱۱).

در یک بررسی میزان آفلاتوکسین  $M_1$  در ۲۱۶۰ نمونه شیر خام متعلق گاوداری شیری استان قزوین در طی فصول مختلف سال با کمک روش الایزای رقابتی، ۱۰۰ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی



ضروری است. به علت اهمیت فراوان این سم و نقش آن در سلامت انسان و تعیین دقیق مقدار آن در مواد غذایی مورد مصرف و نیز استفاده از نان کپک زده در تغذیه دام در چند سال اخیر و با توجه به این مسئله که تاکنون چنین مطالعه‌ای در شهرستان بهبهان در این زمینه صورت نگرفته است، تعیین مقدار آفلاتوکسین M1 با استفاده از روشی حساس و با قدرت آشکار سازی بالا از جمله الیزا در شیرهای گاو مصرفی شهرستان بهبهان و مقایسه میزان آفلاتوکسین M1 در شیرهای مصرفی با توجه به شرایط آب و هوایی و علوفه مصرفی دامها بسیار مهم و ضروری است.

#### روش بررسی

۹۰ نمونه شیر خام از مناطق ۴ گانه (شمال، جنوب، شرق و غرب) از گاوداری های شیری صنعتی شهرستان بهبهان بطور هفتگی در فصل بهار، جمع آوری و پس از برچسب گذاری و نوشتن مشخصات مربوطه در محفظه های حاوی یخ به سرعت به آزمایشگاه منتقل شد.

نمونه‌های شیر توسط دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس لایه چربی رویی جدا و توسط پی پت پاستور دور ریخته و نمونه مایع زیرین (Skimmed milk) جهت اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 به روش الیزا تا زمان انجام آزمایش در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

کیت های الیزای ۹۶ تایی شرکت Euro Clone ساخت کشور ایتالیا Aflatoxin M1, Cod. EEM005095.LOT. AM 11110V (Quantitative Euro Clone) جهت تعیین میزان آفلاتوکسین M1 مورد استفاده قرار گرفت. الیزا یک روش

بودند. ۳۳/۴٪ نمونه دارای آلودگی بیش از حد مجاز قابل قبول (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود. فصول تابستان و پاییز به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان آلودگی بودند (۱۲).

صادقی و همکاران از ۳۲۰ نمونه شیر خام جمع آوری شده برای تحویل به کارخانجات شیر پاستوریزه کرمانشاه دریافتند که در ۲۹۵ نمونه (۹۲/۱۸ درصد) میزان آفلاتوکسین M1، از استاندارد کدکس (۰/۵ میکروگرم در لیتر) بالاتر می‌باشد. با میانگین کل ۱/۲۱ در طول سال، میزان آفلاتوکسین M1 بیش از دو برابر میزان استاندارد کدکس بود. تفاوت معنی دار حضور سم آفلاتوکسین در فصول زمستان و بهار با فصول تابستان و پاییز را نشان دهنده ارتباط سم با تغذیه دام دانستند (۱۳).

رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی بر روی ۷۵ نمونه شیر خام گاو جمع آوری شده از نقاط مختلف استان خوزستان از جمله اهواز، میزان آلودگی ۳۶٪ نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز یعنی ۵۰ نانوگرم در لیتر گزارش کردند (۱۴). محمودی و همکاران (۲۰۱۴) طی بررسی حضور و تعیین آفلاتوکسین M1 و B1 در مواد غذایی با منشأ دامی در ایران بیان کردند که در اغلب نقاط کشور شیرهای مصرفی، آلودگی ۱۰۰٪ به آفلاتوکسین M1 را نشان دادند ولی میزان آلودگی در شیرهای پاستوریزه مصرفی شهر تهران نسبت به سایر شهرها کمتر می‌باشد. ولی میزان آفلاتوکسین B1 گزارش شده در گوشت و سایر فرآورده های با منشأ دامی در حد جزئی می‌باشد (۱).

شیر گاو یک منبع غذایی مفید و غنی از کلسیم و دیگر املاح مورد نیاز بدن می‌باشد که تمام اقشار جامعه از شیر یا از فرآورده‌های لبنی شیر (پنیر، ماست و...) استفاده می‌کنند. به همین جهت عاری بودن این ماده غذایی از هرگونه آلودگی



### یافته‌ها

۹۰ نمونه شیر خام از گاوداری‌های شهرستان بهبهان جهت اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 به روش الایزا (با کمترین حد مجاز قابل تشخیص ۵ نانوگرم در لیتر در شیر) بصورت تصادفی در فصل بهار جمع آوری شد. از ۹۰ نمونه شیر خام، تعداد ۱۵ نمونه (۱۶/۵۴٪) دارای آلودگی بالای ۵۰ ng/L و بیش از حد مجاز استاندارد رسمی اتحادیه اروپا و کدکس (۵۰ ng/L) و غیر قابل قبول بودند که تعداد بیشتر این نمونه‌ها مربوط به گاوداری شماره ۱ و ۵ می‌باشد. ۹ نمونه (۱۰/۹٪) بین ۳۰-۵۰ ng/L، ۲۳ نمونه (۲۴/۵٪) بین ۱۰-۳۰ ng/L و ۴۳ نمونه (۴۷/۷٪) دارای ۱۰-۱۰۰ ng/L آفلاتوکسین M1 بودند (جدول ۱).

بطور کلی میزان میانگین و انحراف معیار سم آفلاتوکسین M1 در کل شیرهای خام در فصل بهار با ۹۵ درصد دامنه اطمینان  $32/18 \pm 4/07$  ng/l می‌باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد تمامی ۹۰ نمونه شیر خام مورد بررسی بطور تقریبی ۱۰۰٪ آلودگی به آفلاتوکسین M1 بود. بر اساس استاندارد غذایی جدید ایران میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر خام شهرستان بهبهان کمتر از محدوده قابل پذیرش (۱۰۰ ng/L) می‌باشد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین ۵ گاوداری از نظر مقدار آفلاتوکسین M1 تفاوت آماری معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ). بین میزان آفلاتوکسین M1 بین گاوداری ۴ و ۵ تفاوت زیادی وجود دارد ( $P < 0/05$ )، اما سایر گاوداری‌ها از نظر مقدار آفلاتوکسین M1 تفاوت معنی داری نشان ندادند ( $P > 0/05$ ) (جدول ۱).

ایمونواسی آنزیم رقابتی و بر پایه آنتی ژن- آنتی بادی است. با توجه به اینکه کیت دارای پنج استاندارد با غلظت های (۰، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ نانوگرم در لیتر) است. نمونه‌ها و استانداردها با اندازه ۲۰۰ میکرولیتر در گوده‌های حاوی آنتی بادی پوشش داده شده به آفلاتوکسین M1 ریخته شد و پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد در تاریکی قرار داده و انکوبه شد.

سپس مایع از چاهک‌ها خارج و ۳ بار با ۲۵۰ میکرولیتر محلول بافر شستشو داده شد. در مرحله بعدی، ۲۰۰ میکرولیتر از آنزیم کوئزوگه اضافه و بلافاصله با شیکر تکان داده شده و ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق در تاریکی قرار داده شد. سپس مراحل شستشو مانند قبل تکرار گردید. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر محلول سوپسترا / کروموژن اضافه گردید. مخلوط حاصله بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق در تاریکی قرار داده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده اضافه و جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر در مقابل بلانک هوا در طی ۱۵ دقیقه قرائت گردید. کمترین حد مجاز قابل تشخیص در شیر ۵ نانوگرم در لیتر می‌باشد. نتایج حاصل از الایزا با استفاده از روش‌های آماری، آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA)، T-test، مستقل و آزمون‌های آمار توصیفی در سطح معنی دار ۰/۰۵ در بسته نرم افزاری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با شماره مجوز اجرای شماره: ۷۰۹۶۸ مورخ ۱۳۹۳/۱۲/۰۲ شورای پژوهشی و روند داوری در حوزه پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهبهان بوده است.



جدول ۱: مقایسه میزان و درصد آلودگی آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر خام گاوداری های شهرستان بهبهان

میانگین مقدار آفلاتوکسین در هر مزرعه ± انحراف معیار (ng/L)	بین ۱۰-۱ ng/l	بین ۱۰-۳۰ ng/l	بین ۳۰-۵۰ ng/l	بالای ۵۰ ng/l	نمونه های جمع آوری شده از ۵ مزرعه
	AFM1	AFM1	AFM1	AFM1	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
۳۳/۰۲±۱۴/۱۲	۱۰ (۱۱/۴۴)	۲ (۲/۲۵)	۰ (۰)	۵ (۵/۵۵)	مزرعه ۱
۳۹/۲۴±۲۱/۰۸	۲ (۲/۲۵)	۲ (۲/۲۵)	۳ (۳/۳۳)	۴ (۴/۴۴)	مزرعه ۲
۱۹/۹۲±۲/۱۰	۱۴ (۱۵/۶۰)	۱۲ (۱۳/۳۳)	۵ (۵/۵۵)	۱ (۱/۱۰)	مزرعه ۳
۱۲/۸۳±۳/۲۱	۱۱ (۱۲/۲)	۳ (۳/۳۳)	۰ (۰)	۰ (۰)	مزرعه ۴
۵۲/۴۲±۱۴/۵۲	۶ (۷/۴۴)	۴ (۴/۴۵۵)	۱ (۱/۱۰)	۵ (۵/۵۵)	مزرعه ۵
۳۲/۱۸±۴/۰۷	۴۳ (۴۷/۷)	۲۳ (۲۴/۵)	۹ (۱۰/۹)	۱۵ (۱۶/۵۴)	جمع

### بحث و نتیجه گیری

و دمای ۲۷ تا ۳۸ درجه سانتی گراد است که تابع شرایط آب و هوای منطقه می باشد (۱۷).

با توجه به آب و هوای مناسب رشد قارچ در استان خوزستان و اینکه اکثر شیرهای تولیدی در منطقه بهبهان توسط دامداری های سنتی و نیمه صنعتی صورت می گیرد، بررسی دائمی میزان آلودگی شیرهای خام جمع آوری شده از محل دامداری می-تواند ضمن مشخص کردن نقاط پرخطر، توجه مسئولان را جهت اقدام لازم بدنبال داشته باشد. نمونه برداری در فصل بهار ۹۴ صورت گرفت. شرایط آب و هوایی خوزستان و بهبهان در این زمان، معتدل و نیمه گرم می باشد که شرایط مناسبی جهت رشد انواع قارچ ها است. بررسی های قبلی در این خصوص اختلاف معنی داری بین دو فصل تابستان و زمستان را به طور وضوح مشخص نکرده است (۱۸).

نتایج نشان داد که از ۹۰ نمونه شیر برداشت شده از ۵ گاوداری مختلف، ۱۵ مورد (۱۶/۵۴٪) میزان آفلاتوکسین بالاتر از حد

اهمیت مصرف مواد لبنی در رژیم غذایی انسان از یک سو و آلودگی منابع مورد استفاده در تغذیه دام از سوی دیگر، نیاز به بررسی آلودگی و تعیین میزان آفلاتوکسین M1 در شیر را موجب می شود. بر اساس مطالعات صورت گرفته ارتباط خطی بین میزان AFB1 در جیره دام و AFM1 در شیر حیوان وجود دارد (۱۵).

محققین از روش های متفاوتی جهت اندازه گیری آفلاتوکسین M1 در شیر استفاده کرده اند. بررسی ها نشان می دهد که استفاده از تکنیک الیزا روشی بسیار حساس و مناسب برای اندازه گیری آفلاتوکسین ها حتی در مقادیر اندک است (۱۶). بنابراین در مطالعه حاضر نیز از روش الیزا استفاده شد. حضور سموم آفلاتوکسین در مواد لبنی عمدتاً تابع شرایط نگهداری علوفه در دامداری ها می باشد. شرایط اپتیمم رشد گونه های قارچ آسپرژیلوس (مولد سموم آفلاتوکسین)، رطوبت نسبی ۸۵ درصد



متعددی دال بر شیوع آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 وجود دارد. مطالعات فراوانی در ایران نیز درصد بالایی از آلودگی را نشان داده اند. که با نتایج ما همخوانی دارد. برای مثال کریم و همکاران، در مطالعه ای ۸۲/۲ درصد از نمونه‌های شیر تهران را آلوده گزارش کردند و نشان دادند که همه نمونه‌های شیر گرفته شده از ۵ اکوسیستم متفاوت، به آفلاتوکسین آلوده بودند (۲۱).

اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 با روش الیزا در شیرخام دامداری‌های شهر بابل نشان داد که میزان آفلاتوکسین ۱/۵ تا ۲ برابر بیش از حد مجاز کمیته اروپایی و غذایی کدکس بود و در تمام نمونه‌ها گزارش شده است (۱۳). کامکار (۲۰۱۰) نیز در اردبیل با بررسی میزان آفلاتوکسین بر روی ۱۲۲ نمونه شیر خام به روش الیزا دریافتند که ۱۴/۷۵٪ نمونه‌ها مقادیر بیش از حد استاندارد بود و ۱۰۰ درصد نمونه‌ها آلوده بودند (۲۲).

مکتبی و همکاران نیز با بررسی میزان سطح آفلاتوکسین M1 در شیرخام گاوداری‌های سنتی منطقه اهواز به روش الیزا دریافتند که به طور تقریبی ۱۰۰٪ نمونه‌ها درجاتی از آلودگی داشتند (۱۷). (۲۳-۲۴). مطالعه‌ای در زمینه میزان سم آفلاتوکسین M1 در استان خوزستان به صورت مقطعی و با تعداد نمونه کم (۸ نمونه) توسط تاج کریمی انجام شد نتایج حاکی از آن است که میانگین آلودگی مراکز جمع آوری و دامداری‌های صنعتی استان ۰/۰۱۶ ppb بود (۱۴). (۲۰). طی بررسی انجام گرفته توسط نوروزی و همکاران در سه شهرستان استان خوزستان (اهواز، شوشتر و آبادان) ۳۳/۳٪ شیرهای خام مراکز جمع آوری شیر و ۸۴٪ شیرهای پاستوریزه در فصل تابستان و تمامی

مجاز قابل قبول کمیته اروپا و کدکس (۵۰ ng/L) داشته اند. آفلاتوکسین M1 شیر در کشورهای مختلف متفاوت و به ملاحظات اقتصادی و عوامل دیگر وابسته می‌باشد. استاندارد ملی ایران در سال ۱۳۸۹ بازبینی شد و از ۵۰۰ ng/L به ۱۰۰ ng/L کاهش یافت (۲۰، ۱۹).

اگرچه بر اساس آخرین اصلاحیه استاندارد ملی ایران حداکثر میزان مجاز آفلاتوکسین در شیر ۱۰۰ ng/L تعیین شده است، اما عموماً محققین ایرانی و خارجی همانند مطالعه حاضر میزان آفلاتوکسین شیر را با معیار استاندارد پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا و بسیاری از کشورهای دیگر (۵۰ ng/L) مقایسه می‌نمایند. نکته قابل توجه دیگر اینکه میزان آفلاتوکسین شیر گاوداری‌های ۳ و ۴ در حد مجاز بوده است. اما میزان آفلاتوکسین شیر گاوداری شماره ۴ حتی کمتر از ۳۰ نانوگرم در لیتر بوده است که بیانگر آلودگی اندک خوراک دام مصرفی این گاوداری به قارچ‌های توکسین‌زا می‌باشد. گاوداری شماره ۱ و ۵ آلودگی شدید بالاتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر داشته‌اند (هر کدام ۵ مورد). اعداد فوق زمانی اهمیت خود را بیشتر نشان می‌دهد که به نقش تغذیه‌ای شیر برای همه سنین بخصوص کودکان و نوجوانان و تبلیغ مصرف شیر توجه شود. به طور کلی اختلاف در میانگین آفلاتوکسین M1 و معنی دار بودن تفاوت آنها در گاوداری‌های مختلف شهرستان در درجه اول می‌تواند به نوع دامداری، نوع و کیفیت علوفه مورد استفاده و شرایط آب و هوایی (دما و رطوبت) ارتباط داشته باشد و نیاز به بررسی دارد. غلظت آفلاتوکسین M1 در شهرستان بهبهان از استاندارد حال حاضر ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) کمتر می‌باشد. گزارشات



نمونه های شیر خام و پاستوریزه به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند. در یک نمونه شیر پاستوریزه در زمستان بیش از حد مجاز بود (۲۴). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ توسط کامکار و همکاران در شهر شوش (جنوب غرب ایران) انجام گرفت، میزان آفلاتوکسین M1 در ۶۰ نمونه شیر خام گاو و ۶۰ نمونه شیرگاو میش، ۶۹٪ (۴۴ نمونه) نمونه‌های شیر گاو و (۴۶ نمونه) ۷۹٪ شیر گاو میش دارای AFM<sub>1</sub> بودند. طبق محدوده قابل پذیرش کمیته غذایی اروپا و کدکس (۱۸ نمونه) ۲۸٪ و (۳۲ نمونه) ۵۲٪ نمونه‌های شیر گاو و گاو میش بالاتر از ۵۰ نانو گرم در لیتر بودند (۲۵). در این مطالعه میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 شیرخام شهرستان بهبهان نسبت به بررسی رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در اهواز با ۳۶٪ و کامکار و همکاران (۲۰۱۴) در شهر شوش با ۲۸٪ آلودگی بیش از حد مجاز کمتر می باشد (۱۴، ۲۵).

هم چنین در مطالعه حسین وانوار که در پاکستان و در ۱۴ منطقه ایالت پنجاب انجام شده است، در ۹۹/۴ درصد از نمونه‌ها، غلظت آفلاتوکسین M1 از حد مجاز اتحادیه اروپا بیشتر بوده است (۲۷). (۲۶). در مطالعه حاضر ۱۰۰ درصد نمونه‌های شیر خام مورد بررسی در شهرستان بهبهان آفلاتوکسین M1 یافت شده و حدود ۱۶/۵۴ درصد نمونه‌ها (۱۵ نمونه) بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا به دست آمد که به مطالعه مربوط به پاکستان (۱۹) (۲۷) و معینان در سمنان نزدیک و از مطالعه هژیر و همکاران ۲۳/۲۰٪ (۱۷ نمونه) کمتر است (۲۷، ۹).

بنابراین با توجه به این که شیر آلوده به آفلاتوکسین، بیماری های تهدید کننده زندگی را ایجاد می کند و نیز به علت ایجاد

بعضی بیماری‌های مزمن، اهمیت آن به خوبی قابل درک است. میزان خطر آفلاتوکسین برای انسان تاکنون توسط عده کثیری از پژوهشگران به اثبات رسیده است و خطرات آن در سلامت انسان به خصوص در سرطان کبد از طریق محصولات شیری بسیار حائز اهمیت می باشد. از طرفی هزینه های هنگفت درمان که اقتصاد جامعه متحمل آن می شود نکته دیگری است که نمی توان از آن چشم پوشی کرد. بر اساس مشاهدات صورت گرفته حین نمونه برداری طی مطالعه حاضر خوراک مصرفی دام دامداری های اطراف بهبهان عمدتاً از کاه، سبوس، آرد جو یا ذرت و گاهی مواد سیلویی می باشد. در این فصل در این شهرستان دسترسی به علوفه تازه امکان پذیر نیست و به جای چرای آزاد توسط غذاهای انبار شده که عموماً به دلیل رطوبت بالا کپک زده هستند، تغذیه می شوند. رطوبت هوا و هوای گرم و معتدل حاکم بر این منطقه، شرایط را برای رشد و تولید سم آفلاتوکسین در علوفه و نان خشک کپک زده فراهم می آورد. متأسفانه مصرف نان خشک به عنوان خوراک دام هنوز در بعضی گاوداری های اطراف بهبهان رواج و دامداران محلی از نان خشک جهت تغذیه دام های خود استفاده می کنند. کپک زدگی نان های مصرفی می تواند عامل مهمی در افزایش سطح آفلاتوکسین در شیرهای تولیدی باشد. نکته دیگر اینکه اکثر دامداری های بازدید شده فاقد فضای کافی جهت انبار و ذخیره خوراک های مصرفی بودند به نحوی که بسیاری از خوراک های خریداری شده از جمله کاه، سبوس در فضای باز و یا در مکان هایی قرار داشتند که به سهولت از طریق جوی آب یا فاضلاب خانه ها آلوده می شدند و این مسئله می تواند در افزایش



وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از حوزه پژوهش و همکاری‌های دکتر علی بهزادی جهت انجام نمونه‌گیری و دکتر شهاب‌الدین صافی و خانم دکتر اکرمی مهاجری در زمینه نظارت بر مراحل اجرای تحقیق اعلام می‌نمایند.

میزان آلودگی تأثیر بسزایی داشته باشد. با توجه به نتایج بدست آمده پایش دائمی واحدهای تولید شیر از نظر میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 و ارائه خدمات مشاوره‌ای و آموزشی به دامداران جهت کاهش آلودگی شیرهای تولیدی به آفلاتوکسین توصیه می‌گردد.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی

### References

- 1-Mahmoudi R, Golchin A, Hosseinzadeh N, Ghajarbeygi P. Aflatoxin M1 and B1 contaminations in products of animal origin in Iran. *J Qazvin Univ Med Sci*.2014;18(4):49-59.
- 2-Nakajima M, Tabata S, Akiyama H, Itoh Y, Tanaka T, Sunagawa H, et al. Occurrence of aflatoxin M1 in domestic milk in Japan during the winter season. *Food additives and contaminants*. 2004;21(5):472-8.
- 3-Bhat Ramesh V, Vasanthi S. Mycotoxin food safety risk in developing countries. *International Food Policy Research Institute (IFPRI)*.2003.
- 4-Abou-Bakr S. Effect of some plant extracts on fungal and aflatoxin production. *International Journal of Academic Research*.2011;3(4):116-20.
- 5-Commissions CA. Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk. *Codex Committee on foog Addites and Contaminant 33rd sessions, Hauge, the Netherlands* <ftp://ftpfao.org/codex/ccfac33/fao120e.pdf>. 2001.
- 6-Kamkar A, Khaniki GRJ, Alavi S. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*.2011;8(2):123-8.
- 7-D'mello J, Placinta C, Macdonald A. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal feed science and technology*.1999;80(3):183-205.
- 8-Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food control*.2005;16(7):593-9.
- 9-Hazhir M, Sanoubar Tahaiee N, Rashidi K, Rezaie R, Shaykhi H. Determination of the amount of aflatoxin in milk samples delivered to Sanandaj pasteurized Milk Corporation. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*.2008;13(1):44-50.



- 10-Tajkarimi M, Ghaemmaghani SS, Motalebi A, Poursoltani H, Salahnejad A, Shojaee F. Seasonal survey in content M1 aflatoxin in raw milk taken from 15 dairy factory. *Pajouhesh va Sazandegi*.2007; 75(2): 2- 9.[Persian]
- 11-Kazemi Darsanaki R, Mohammad Doost Chakoosari, M, and Azizollahi Aliabadi M.. Aflatoxin M1 Contamination in Milk and Milk Products in Iran: A Review. *Journal of Chemical Health Risks*.2013; 3(3):13-2.
- 12- Khosravi A R, Shokri H, Eshghi S, Darvishi S. Global occurrence of aflatoxin M1 in milk with particular reference to Iran. *Food security*.2013; 5(4): 533-9.
- 13-Sadeghi E, Almasi A, Bohloli-Oskoi S, Mohamadi M. The Evaluation of Aflatoxin M1 Level in Collected Raw Milk for Pasteurized Dairy Factories of Kermanshah. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*.2013;15(3):26-9.
- 14-Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food and Chemical Toxicology*.2010; 48(1): 129-31.
- 15- Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology letters*.2002;127(1):19-28.
- 16-Markaki P, Melissari E. Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Additives & Contaminants*.1997;14(5):451-6.
- 17-Lopez C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L. Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food control*.2003;14(1):31-4.
- 18-Tajkarimi M, Aliabadi FS, Nejad MS, Pursoltani H, Motallebi A, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M 1 contamination in milk in five regions in Iran. *International journal of food microbiology*.2007;116(3):346-9.
- 19-Tajkarimi M, Ghaemmaghani S, Motalebi A, Poursoltani H, Salahnejad A, Shojaee F. Seasonal Survey In Content M1 Aflatoxin In Raw Milk Taken From 15 Dairy Factory. *Pajouhesh And Sazandegi*.2008;20(2):2-10.
- 20-(ISIRI) IoSaIRoI. Mycotoxins maximum permissible level in food and feed. First revised of standard number 5925. Tehran-Iran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran. 2009.
- 21-Karim G, Bokaiee S, Khorasani A. Study on the contamination of raw bulk milk with aflatoxin M1 in Tehran area using ELISA method. *Journal of Pajooohesh and Sazandeghi*.1998;40(42):163-5.



- 22-Kamkar A A, Jahed Khaniki GR, Alavi SA. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 2011; 8(2):133-40.
- 23-Maktabi S, Haji hajkalayi M, Gorbanpour Najafabadi M. Study of milk aflatoxin M1 in traditional farms around Ahvaz by EIISA technique. *Veterinary Journal of Iran*. 2011;7(2):44-9.
- 24-Nowrozi H, Kazemi A. Determination of Aflatoxin M1 in Fresh (Raw and Pasteurized) Cow Milk in Khuzestan Province [Persian]. *Jundishapur Science Medical*. 2014;13(3): 327-33.
- 25-Kamkar A, Yazdankhah S, Mohammadi Nafchi A, and Mozaffari Nejad A S. Aflatoxin M1 in raw cow and buffalo milk in Shush city of Iran. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 2014; 7(1); 21-24.
- 26-Hussain I, Anwar J. A study on contamination of aflatoxin M 1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control*. 2008;19(4):393-5.
- 27-Moeenian K, Yaghmaeian K, Ghorbani R. Aflatoxin M1 concentration in raw milk produced in the cities of Semnan province-Iran. *Koomesh*. 2014;15(2): 176-81.