دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

# سنجش آفلاتوکسین *M1* در شیر گاوداری‌های سنتی منطقه زنجان در طول یک سال

**حمیدرضا میرزایی الموتی[۱]، بهنام رستمی[۲]، بهمن فرجمند[۳]، مینا وزیری گهر[۴]، عباس بهاری[۵] و کامیلا ولی‌پور[۶]**

۱- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان، (نویسنده مسوول: alamoutih@znu.ac.ir)
۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان
۳- دانشیار شیمی تجزیه، گروه شیمی دانشگاه زنجان
۴- محقق ارشد شرکت آتی زیست دام، مرکز رشد دانشگاه زنجان
۵- استادیار بیوتکنولوژی، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان
۶- دامپزشک، اداره کل دامپزشکی استان زنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۰
صفحه: ۱۳۴ تا ۱۴۰

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** نگرانی‌ها در ارتباط با سموم قارچی در شیر و فرآورده‌های آن جهانی است و مراکز کنترل کیفی محصولات دامی به طور مداوم آن‌ها را کنترل و پایش می‌کنند و در صورت وجود مقادیر بیش از حد مجاز، عرضه‌کنندگان اخطار دریافت می‌کنند. آفلاتوکسین‌ها مواد سمی تولید شده روی فرآورده‌های کشاورزی هستند که برخی از آنها اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارند. این مواد ترکیبات ثانویه قارچ‌ها هستند که از نظر ساختمان شیمیایی و منشاء تولید و اثرات بیولوژیکی متفاوت هستند. بازده انتقال آفلاتوکسین B1 از خوراک به M1 در شیر در گاوهای کم تولید ۱ تا ۲ درصد و در گاوهای پرتولید، تا ۶ درصد گزارش شده است که با توجه به افزایش تولید شیر گاوهای امروزی اهمیت آن بیشتر نیز خواهد شد. لزوم توجه به این سموم و پایش مداوم آنها بایستی از برنامه‌های اصلی بخش نظارت و کنترل کیفی فرآوردهای کشاورزی و دامی باشد. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی و پایش سم آفلاتوکسینM1 در شیر ارسالی به سکوهای جمع‌آوری شیر در شهرستان زنجان طی چهار فصل سال انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** نمونه‌گیری شیر از سکوهای جمع آوری به طور تصادفی در یکی از روزهای هر فصل انجام شد. نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند و لایه چربی رویی برداشته شد و شیر باقیمانده در فریزر نگهداری شد. پس از یخ گشایی غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر باقی مانده با روش الایزای رقابتی تعیین شد. داده‌های به دست آمده در فصول مختلف در قالب طرح کاملا تصادفی آنالیز آماری شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که همه نمونه‌ها به سم آلوده بودند، ولی میزان آلودگی از حد مجاز جهانی (۵۰۰ ng/L) کمتر بود. ۱۸/۵ درصد از نمونه‌ها، غلظتی بیشتر از حد مجاز اروپا (۵۰ ng/L) داشتند که کمترین میزان آلودگی در فصل بهار (صفر درصد) و بیشترین میزان در فصل زمستان (۳۵/۳ درصد) ثبت شد. هیچ یک از نمونه ها غلظتی بالاتر از حد مجاز جهانی و ایران را نداشتند. میانگین غلظت سم در کل نمونه‌ها ۴۴ (۱۶ تا ۱۲۹) و در بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب ۲۵، ۵۲، ۳۴ و ۶۴ نانوگرم در لیتر بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که میانگین غلظت سم آفلاتوکسین M1 در شیر نمونه‌های ارزیابی شده کمتر از حد مجاز جهانی بود ولی به دلیل آلودگی تعدادی از نمونه‌ها به ویژه در فصل زمستان توجه به کنترل و پایش مداوم شیر و توصیه‌های ویژه به عرضه‌کنندگان ضرورت دارد.

**واژه‌های کلیدی:** آفلاتوکسین شیر، گاوداری سنتی، پایش شیر، کنترل کیفی شیر

## مقدمه

حدود ۵ میلیارد نفر در کشورهای در حال توسعه در خطر آلودگی به سموم قارچی هستند که حدود ۳۰ درصد از کل موارد سرطان کبد ناشی از این آلودگی می‌باشد و هر ساله حدود ۶۰۰ هزار نفر به این سموم آلوده می شوند. طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل متحد (۸) از کل شیر تولیدی در دنیا، سهم شیر گاو ۸۳ درصد، گاومیش ۱۳ درصد، بز ۲ درصد، گوسفند ۱ درصد، شتر ۰/۳ درصد بوده و بقیه متعلق به دام‌های دیگر است. مروری بر غلظت مایکوتوکسین‌ها در شیر و فرآورده‌های آن نشان می‌دهد که غلظت آنها بر حسب شرایط مختلف و تعیین حد مجازها و قوانین در کشورهای مختلف به شدت متفاوت است (۳). عمده کشورها، حد مجاز تعیین شده در آمریکا (۰/۵ µg/kg) را برای شیر و فرآورده‌های آن پذیرفته‌اند (۳). کمیسیون اروپا مقادیر حداکثری سخت‌گیرانه‌تری (۰/۰۵ µg/kg) را اعلام نموده است (۲۷).

آفلاتوکسین‌ها مواد سمی تولید شده روی فرآورده‌های کشاورزی هستند که برخی از آنها اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارند. این مواد ترکیبات ثانویه قارچ‌ها هستند که از نظر ساختمان شیمیایی و منشاء تولید و اثرات بیولوژیکی متفاوت هستند. از ۲۰ نوع آفلاتوکسین متعلق به گروه بزرگ دی-فورانوکومارین‌ها به طور معمول ۴ تا از آنها (B1, B2, G1, G2) خوراک دام را آلوده می‌کنند (۴). بخشی از آفلاتوکسین B1 (AFB1) خورده شده توسط حیوان نشخوارکننده در شکمبه تجزیه می‌شود و بخشی از آن نیز جذب شده و وارد کبد شده و به آفلاتوکسین M1 تبدیل می‌شود که بسیار سمی بوده و از طریق شیر و ادرار دفع می‌شود (۲۲). آفلاتوکسین M1 درمقابل حرارت مقاوم است و با فرآیندهای حرارتی از بین نمی‌رود. این ماده خطرناک وارد زنجیره غذایی انسان به ویژه اطفال می‌شود که از حساسیت بالاتری برخوردارند. بازده انتقال آفلاتوکسین B1 از خوراک به M1 در شیر در گاوهای کم تولید ۱ – ۲ درصد و در گاوهای پرتولید، تا ۶ درصد گزارش شده است (۲) که با توجه به افزایش تولید شیر گاوهای امروزی اهمیت آن بیشتر نیز خواهد شد. میزان این آلودگی از حیوانی به حیوان دیگر فرق کرده و همچنین در روزهای مختلف شیردهی نیز متفاوت است. حدود ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از مصرف AFB1، مقدار AFM1 در شیر افزایش می‌یابد و ۷۲ ساعت پس از قطع مصرف آن غلظت AFM1 به سطح غیرقابل تشخیص می‌رسد. رابطه‌ای خطی بین غلظت آفلاتوکسین شیر و خوراک وجود دارد (۲). آفلاتوکسین B1 و M1 به‌ترتیب در کلاس یک و دو سرطانزایی برای انسان قرار دارند. حیوانات

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

مختلف پاسخ‌های متفاوتی به غلظت سم در بدن نشان می‌دهند. علاوه بر تفاوت‌های بین گونه‌ای، تفاوت‌های داخل گونه‌ای و حتی بین جنس نر و ماده نیز وجود دارد (۲).
گزارش‌ها از ایران نشان می‌دهد که بیش از ۷۰ درصد نمونه‌های شیر آلوده به آفلاتوکسین M1 است (۶). آلودگی به آفلاتوکسین در شیر خام ۰/۰۱۵ تا ۰/۲۸، شیر پاستوریزه ۰/۰۰۶ تا ۰/۵۲۸ (۶) و در شیر پاستوریزه شده با دمای بالا ۰/۰۰۶ µg/kg تا ۰/۵۱۶ بوده است. رحیمی (۲۴) با جمع آوری ۲۰۰ نمونه شیر از سوپرمارکت‌های ایران از سال ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۲ نشان داد که ۷۵ درصد نمونه ها به سم آفلاتوکسین آلوده بودند و میزان آلودگی در دامنه ۱۴/۳ ng/L تا ۵۷۲/۲ قرار داشت. تاج کریمی و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۲۶) میزان آلودگی در شیر را در ۳۹ و ۷۷ درصد از نمونه‌ها کمتر از حد مجاز (µg/kg ۰/۰۵ تا ۰/۰۱) و نعمتی و همکاران (۲۰) به طور متوسط µg/kg ۰/۰۳۹ گزارش کردند. محققین دیگر (۲۲، ۲۵) ۱۰۰ درصد نمونه‌ها را آلوده و بیش از حد مجاز اروپا گزارش کردند. این در حالیست که آلودگی‌های کمتری از حد مجاز اروپا (کمتر از ۱۵ درصد) نیز گزارش شده است (۱۵). برخی از گزارش‌ها نیز تغییرات غلظتی را در فصول مختلف سال گزارش کرده‌اند (۱۰). با توجه به مطالب ذکر شده، لزوم توجه به این سموم و پایش مداوم آنها بایستی از برنامه‌های اصلی بخش نظارت و کنترل کیفی فرآوردهای کشاورزی و دامی باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در گروه علوم دامی دانشگاه زنجان با همکاری اداره کل دامپزشکی استان زنجان از اول بهار ۱۳۹۷ تا پایان زمستان ۱۳۹۷ انجام شده است.

### جمع‌آوری نمونه‌های شیر

اطلاعات مربوط به تعداد و پراکنش مراکز جمع‌آوری شیر در شهرستان زنجان از اداره کل دامپزشکی استان تهیه شد. از تعداد ۵۲ سکو، تعداد ۲۷ مورد به عنوان سکوی فعال شناخته شدند که در فصل‌های بهار و زمستان ۱۷ سکو و در تابستان و پاییز ۱۸ سکو فعال بودند. نمونه‌های حاصل از سکوهایی که فقط در یک فصل فعال بودند حذف شد. نمونه‌گیری در چهار مرحله در تاریخ‌های ۹۷/۲/۱۵، ۹۷/۵/۱، ۹۷/۸/۱ و ۹۷/۱۰/۱۵ در محل سکوها انجام شد. برای نمونه‌گیری از ظروف مخصوص استریل شده ۲۰ میلی‌لیتری استفاده شد. نمونه‌های شیر از مخزن اصلی هر مرکز جمع آوری شیر برداشته شد و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. در ادامه و پس از سانتریفیوژ نمونه‌های شیر (۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) لایه چربی روی شیر برداشته شد و شیر باقیمانده در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد، نگهداری شد. در ادامه، نمونه‌های فریز شده در کنار یخ خشک و در محفظه‌های یونولیتی به آزمایشگاه مرجع و مورد تایید منتقل شدند تا غلظت آفلاتوکسین M1 آنها تعیین شود.

### اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1

برای آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه‌های شیر در یخچال معمولی قرار گرفت تا دمای آن به کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و لایه رویی حاوی چربی با استفاده از پیپت پاستور حذف شد. مایع زیرینِ باقیمانده برای انجام آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 موجود در نمونه‌ها از روش الایزای رقابتی استفاده شد. برای این کار از RIDASCREEN® Aflatoxin M1 (Art. No.: R1121) Biopharm آلمان که یک ایمیونواسی آنزیم رقابتی برای تعیین آفلاتوکسین M1 در شیر و شیر خشک می باشد استفاده شد. مراحل طبق دستورالعمل کیت تجاری انجام شد. به طور خلاصه: یک‌صد میکرولیتر از نمونه‌های شیرِ چربی‌زدایی شده در چاهک‌های جداگانه قرار گرفت. از استانداردهای شماره یک تا شش به مقدار µL ۱۰۰ داخل چاهک‌ها ریخته شد. پلیت به آرامی با چرخاندن، مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) در تاریکی قرار گرفت. مایع موجود در حفرات، تخلیه و داخل آنها سه بار با بافر شست‌وشوی تعبیه شده در کیت، شسته شد. µL ۱۰۰ کونژوگه آنزیمی که به نسبت ۱ به ۱۱ در بافر شماره دو رقیق شده بود، به هر حفره اضافه و بعد از مخلوط شدن به آرامی، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. سپس مایع موجود در حفرات، تخلیه شده و داخل آنها سه بار با بافرِ شست‌وشو، شسته شد. µL ۱۰۰ از سوبسترای کروموژن، اضافه شده و پس از مخلوط‌کردن به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی در دمای محیط انکوبه شد. برای ختم واکنش، µL ۱۰۰ محلول متوقف کننده افزوده شد و حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد، جذب حفرات در طول موج nm ۴۵۰ در مقابل بلانک هوا قرائت شد. برای محاسبه غلظت توکسین در نمونه‌ها از منحنی استاندارد لگاریتمی استفاده شد. حد پایین تشخیص آفلاتوکسین M1 از کیت ۵ نانوگرم در کیلوگرم بود و ضریب تغییرات اینتراسی و اینترااسی به ترتیب ۴/۸ و ۵/۳ درصد بود. پس از قرائت نتیجه الایزا، با تقسیمِ جذب استانداردهای دو تا شش تعبیه شده در کیت، بر میزان جذب استاندارد شماره یک (کنترل منفی، فاقد آفلاتوکسین M1) و ضربِ آن در عدد ۱۰۰، درصد جذب استانداردها مشخص شد. سپس با قراردادن لگاریتمِ غلظت استانداردها روی محور افقی و درصد جذب آنها در طول موج ۴۵۰ ناتومتر روی محور عمودی، منحنی استاندارد در نرم افزار اکسل رسم و غلظت سم در نمونه‌های مجهول با اعمال ضرایب رقت محاسبه شد.

داده‌های به دست‌آمده در فصل‌های مختلف با نرم‌افزار SAS و با دستورات Univariate, Means و GLM آنالیز شدند. فصل سال به عنوان اثر ثابت در قالب طرح کاملا تصادفی لحاظ شد . آمار توصیفی از داده‌ها به دست آمد. فراوانی‌ها گزارش شد و مقایسه میانگین فصل‌ها با آزمون توکی انجام شد. سطح احتمال معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

آمار توصیفی از سکوهای جمع‌آوری شیر نشان داد (جدول ۱) که از ۵۰ متقاضی سکوداری ۲۵ سکو فعال بود که برخی

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

از این تعداد فاقد پروانه تاسیس یا بهره برداری بودند. از ظرفیت اسمی ۴۰۱۰۰ لیتر شیر در روز به طور متوسط روزانه ۱۸۱۷۵ لیتر به سکوها عرضه شده و به مقاصد نهایی عرضه می‌شد. به‌طور کلی ۱۲ سکو، شیر را به مغازه‌های لبنیاتی سنتی در شهر عرضه می‌کردند، دو سکو به اتحادیه‌ها تحویل می‌دادند و سه سکو به صنایع پنیر سازی و یک سکو نیز به کارخانه پگاه زنجان تحویل می‌دادند. کل اعضای هر سکو در طول سال متغیر بود ولی در فصل تابستان تعداد عرضه کنندگان شیر به سکوها کمتر بودند. در فصل تابستان حدود ۱۵۰ نفر کمتر از فصل بهار بودند که احتمالا به دلیل افزایش مصرف و تبدیل خانگی توسط تولیدکنندگان کوچک و یا اهتمام به فعالیت‌های دیگر کشاورزی و نداشتن وقت و نیروی انسانی کافی برای ارسال به سکوها باشد. علی رغم تعداد عرضه کنندگان مشابه در فصول بهار و پاییز و زمستان، مقدار شیر عرضه شده به سکوها در پاییز، ۹ تن کمتر از بهار می‌باشد که به نظر می‌رسد با توجه به روش پرورش سنتی، زایش‌ها عمدتا در فصل زمستان اتفاق افتاده و اوج تولید شیر در فصل بهار است. این نحوه پرورش در سیستم‌های مزرعه‌ای به زنده‌مانی گوساله و افزایش تولید و کاهش هزینه کمک می‌کند. به علاوه این‌که آبستنی مجدد را تسهیل می‌کند و تعداد گاوهای بیشتری در بهار در اوج تولید شیر هستند و تعداد گاوهای بیشتری در پاییز در اواخر دوره شیردهی هستند و میانگین تولید عرضه‌کنندگان در این فصل پایین است. آمار توصیفی از غلظت آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر جمع آوری شده از سکوهای شهرستان زنجان نشان داد (جدول ۲) که میانگین غلظت این سم در کل نمونه‌ها ۴۴/۱۲ ng/L بود که حداقل آن ۱۶ ng/L و حداکثر آن ۱۲۹ ng/L و میانه ۳۴ ng/L بود. تمام نمونه‌های مورد ارزیابی به آفلاتوکسین آلوده بودند ولی فقط ۱۸/۵ درصد از نمونه‌ها غلظتی بیشتر از حد مجاز اروپا (۵۰ ng/L) داشتند و هیچ یک از نمونه‌ها غلظتی بیشتر از حد مجاز آمریکا و ایران (۵۰۰ ng/L) نداشتند. از ۱۳ نمونه بیشتر از حد مجاز، ۳ نمونه غلظتی برابر با ۵۲ ng/L و ۱۰ نمونه غلظتی بین ۱۰۰ ng/L تا ۱۲۹ داشتند. غلظت سم در هیچ یک از نمونه‌های فصل بهار بیشتر از حد مجاز نبود. ۵/۵ درصد از نمونه‌های فصل پاییز و ۲۷/۷ درصد از نمونه‌های فصل تابستان و ۳۵/۳ درصد از نمونه‌های فصل زمستان از حد مجاز اروپا بیشتر بودند. متوسط غلظت آفلاتوکسین در فصل‌های بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب ۲۵/۱۱ ng/L، ۵۲/۶۱، ۳۴/۲۲ و ۶۴/۶۴ بود که کمترین در فصل بهار و بیشترین در فصل زمستان بود (جدول ۳). این میانگین‌ها در فصول مختلف تفاوت معنی‌داری داشتند ($p<0/01$).

مایکوتوکسین‌ها مواد بیولوژیکی هستند که به دنبال رشد قارچ‌های توکسین‌زا در مواد غذایی تولید شده و کیفیت بهداشتی آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۴). بنابراین برای تامین سلامت مصرف‌کنندگان لازم است وجود و مقدار مایکوتوکسین‌های مختلف در مواد غذایی به طور مداوم اندازه‌گیری شده و برای به حداقل رساندن آنها در زنجیره غذایی برنامه‌ریزی شود . نتایج ما نشان داد که ۱۰۰ درصد از نمونه‌های شیر مورد بررسی در این مطالعه به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند. گزارشات مختلفی در مورد شیوع آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین M1 وجود دارد و مطالعات قبلی در ایران نیز در بیشتر موارد، درصد بالایی از آلودگی را نشان داده‌اند. به طوری که کریم و کامکار در مطالعه‌ای (۱۷) ۸۲/۲ درصد و در مطالعه‌ای دیگر (۱۶) ۹۲/۳ درصد نمونه‌های شیر تهران را آلوده به آفلاتوکسین M1 گزارش کردند و مطالعه کامکار (۱۴) نشان داد که ۷۶ درصد از نمونه‌های شیر آزمایش شده به این آفلاتوکسین آلوده بودند.

در مطالعه غیاثیان (۱۰)، شیوع آلودگی ۶۴ درصد گزارش شد و تاج کریمی و همکاران (۲۶) نشان دادند که همه نمونه‌های شیر که از پنج ناحیه جغرافیایی مختلف تهیه شده بودند به این مایکوتوکسین آلوده بودند. همچنین البرزی و همکاران در سال ۲۰۰۶، با مطالعه ۶۲۴ نمونه شیر پاستوریزه در شیراز (۱)، اویسی و همکاران با مطالعه ۱۲۸ نمونه شیر پاستوریزه در تهران (۲۱)، موثق غازانی (۹) با مطالعه ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه در تبریز و نعمتی و همکاران (۲۰) با بررسی ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه در اردبیل نشان دادند که ۱۰۰ درصد نمونه ها به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند.

شیر کاملاً عاری از آفلاتوکسین مطلوب است اما رسیدن به این شاخص مطلوب به آسانی امکان‌پذیر نیست. بنابراین تمام کشورها (بستگی به شرایط خاص خود)، آلودگی شیر با مقادیری از این سم را می‌پذیرند (۲۰). در برخی از مطالعات انجام شده در ایران، استاندارد ایران را ۵۰۰ ng/L (۶،۲۳) و در برخی نیز ۵۰ ng/L (۱۲) و یا فاقد استاندارد ملی معرفی نموده‌اند (۲۰). در بسیاری از مطالعات نیز استاندارد اروپا (۱،۹،۱۰،۱۶،۲۱،۲۶)، یا استاندارد آمریکا (۲۳) به عنوان ملاک عمل ارزیابی در نظر گرفته شده است. بر اساس حد مجاز ۵۰۰ ng/L، هیچ یک از نمونه‌های مورد ارزیابی در این پژوهش به مایکوتوکسین در مقادیر بیشتر از حد مجاز آلوده نبودند.

جدول ۱- آمار توصیفی از سکوهای جمع‌آوری شیر شهرستان زنجان

Table 1. Descriptive statistics of the milk collection stations in Zanjan's areas

| | تعداد اعضا (نفر) | | | ظرفیت اسمی (لیتر) | | ظرفیت فعلی (لیتر) | | | محل تحویل (تعداد سکو) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | کل | میانگین (انحراف معیار) | دامنه | کل | دامنه | کل | میانگین (انحراف معیار) | دامنه | لبنیاتی | اتحادیه | پنیرسازی | کارخانه |
| کل سال | | ۶۲ ± ۴۵ | ۵- ۳۰۰ | ۴۰۱۰۰ | ۳۰۰-۵۰۰ | ۱۸۱۷۵ | ۹۹۳ ± ۱۰۰۹ | ۲۰۰- ۵۰۰۰ | ۱۲ | ۲ | ۳ | ۱ |
| بهار | ۸۵۸ | ۶۶ ± ۴۷ | ۱۳- ۳۰۰ | | | ۲۳۶۰۰ | ۱۲۱۶ ± ۱۳۱۱ | ۵۰۰- ۵۰۰۰ | ۱۱ | ۲ | ۳ | ۱ |
| تابستان | ۷۱۰ | ۴۶ ± ۳۹ | ۱۳- ۳۰۰ | | | ۱۸۱۰۰ | ۱۰۳۱ ± ۱۰۰۵ | ۳۰۰- ۴۰۰۰ | ۱۲ | ۲ | ۳ | ۱ |
| پاییز | ۸۳۸ | ۶۶ ± ۴۶ | ۵- ۳۰۰ | | | ۱۴۵۰۰ | ۷۸۶ ± ۸۰۵ | ۲۰۰- ۳۵۰۰ | ۱۲ | ۲ | ۳ | ۱ |
| زمستان | ۸۳۸ | ۶۷ ± ۴۶ | ۵- ۳۰۰ | | | ۱۶۵۰۰ | ۸۰۱ ± ۹۱۶ | ۲۰۰- ۳۰۰۰ | ۱۱ | ۲ | ۳ | ۱ |

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

جدول ۲- آمار توصیفی از بررسی غلظت آفلاتوکسین M1 (نانوگرم در لیتر) در شیر جمع‌آوری شده از سکوهای شهرستان زنجان
Table 2. Descriptive statistics of aflatoxin concentration (ng/L) in milk samples collected from Zanjan's areas stations

| فصل | تعداد نمونه (تعداد سکوی شیر) | میانگین | انحراف معیار | ضریب تغییرات | میانه | کمینه | بیشینه | فراوانی مثبت (درصد) | فراوانی بالاتر از استاندارد اروپای (درصد) | فراوانی بالاتر از استاندارد جهانی و ایران (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کل | ۷۰ | ۴۴/۱۲ | ۳۰/۳۳ | | ۳۴ | ۱۶ | ۱۲۹ | ۱۰۰ | ۱۸/۵ | ۰ |
| بهار | ۱۷ | ۲۵/۱۱ | ۸/۳۰ | ۳۳/۰۶ | ۲۲/۰ | ۱۶ | ۴۹ | ۱۰۰ | ۰ | ۰ |
| تابستان | ۱۸ | ۵۲/۶۱ | ۳۲/۸۰ | ۶۲/۳۴ | ۴۰/۰ | ۲۴ | ۱۲۹ | ۱۰۰ | ۲۷/۷ | ۰ |
| پاییز | ۱۸ | ۳۴/۲۲ | ۸/۶۷ | ۲۵/۳۴ | ۳۴/۵ | ۱۸ | ۵۲ | ۱۰۰ | ۵/۵ | ۰ |
| زمستان | ۱۷ | ۶۴/۶۴ | ۴۱/۳۶ | ۶۳/۹۷ | ۳۷/۰ | ۲۲ | ۱۲۱ | ۱۰۰ | ۳۵/۳ | ۰ |

جدول ۳- میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 شیر جمع‌آوری شده از سکوهای شهرستان زنجان در طول سال
Table 3. Concentration of aflatoxin M1 in milk samples collected from Zanjan's areas stations throughout the year

| اقلام | فصل | | | | انحراف استاندارد میانگین | احتمال معنی‌داری |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | بهار | تابستان | پاییز | زمستان | | |
| آفلاتوکسین M1 (ng/L) | b۲۵/۱۱ | a۵۲/۶۱ | b۳۴/۲۲ | a۶۴/۶۴ | ۶/۴۷ | ۰/۰۰۱ |

حروف متفاوت در یک سطر بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

در مطالعات مشابه انجام شده در ایران، نسبت نمونه‌های بیشتر از مقادیر غیرمجاز دامنه وسیعی را نشان می دهند. همه نمونه‌های آلوده به آفلاتوکسین M1 در مطالعه کریم و کامکار در سال ۲۰۰۰ (۱۷) به مقادیر بیشتر از حد مجاز ایران آلودگی داشتند. در حالی که در مطالعه تاج کریمی و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۲۶) مشابه پژوهش حاضر، علیرغم آلودگی همه نمونه‌ها به این مایکوتوکسین، غلظت سم در هیچ یک از آنها فراتر از حد مجاز نبود. در سایر مطالعات نتایجی مابین این دو مطالعه به دست آمده است، به‌طوری که نسبت نمونه‌های غیرمجاز در مطالعه کامکار در سال ۲۰۰۵ به میزان ۴۰ درصد (۱۳)، البرزی و همکاران ۱۷/۸ درصد (۱)، اویسی و همکاران ۷۸ درصد (۲۱)، غیاثیان و همکاران ۱۱/۸ درصد (۱۰)، موثق غازانی ۶۲ درصد (۹) و نعمتی و همکاران ۳۳/۳ درصد (۲۰) گزارش شده است. رحیمی و همکاران هیچ یک از نمونه های خود را با آلودگی بیشتر از حد مجاز گزارش نکرده‌اند، اما ملاک ارزیابی در مطالعه آنها، استاندارد ایالات متحده (۵۰۰ ng/L) بوده است (۲۳) که اگر استاندارد ۵۰ ng/L را به عنوان ملاک در نظر بگیریم، ۲۹/۸ درصد از نمونه‌های مثبت آن مطالعه دارای آلودگی بیشتر از حد مجاز بوده‌اند.

میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های زمستانی و تابستانی به طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های شیر تهیه شده در بهار و پاییز بود. در برخی از مطالعات، تاثیر فصل بر آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 مورد بررسی قرارگرفته است. در مطالعه‌ای اختلاف آلودگی نمونه‌های شیر در فصول مختلف معنی‌دار نبود (۲۶). اما در مطالعه کامکار در سال ۲۰۰۵، آلودگی نمونه‌های شیر پاییز و زمستان بیشتر از نمونه‌های بهار و تابستان گزارش شد (۱۳). در مطالعه غیاثیان و همکاران در سال ۲۰۰۷ آلودگی نمونه‌های زمستان بیشتر از تابستان بود (۱۰) و بررسی نعمتی و همکاران در سال ۲۰۱۰، آلودگی بیشترِ شیرهای زمستان و بهار نسبت به شیرهای تابستان و پاییز را نشان داد (۲۰). این اختلافات به تفاوت تغذیه دام‌های شیری در فصول سرد و گرم نسبت داده شده است (۲۰). در برخی موارد میزان آلودگی در زمستان بیش از ماه‌های دیگر بود. بطور مثال در سال ۱۳۸۶ در بابل میزان آلودگی در زمستان بیش از چهار برابر استاندارد (۱۷) و در زمستان ۱۳۸۷ بیش از دو برابر میزان استاندارد بود (۱۱). در اردبیل (۱۵)، سراب (۵) و گناباد (۱۴) و این مطالعه نیز بیشترین غلظت در فصل زمستان گزارش شده است. در حالی که در تهران (۲۶) بیشترین غلظت آلودگی در تابستان بدست آمده است. در شهر سراب نیز مانند این مطالعه کمترین غلطت آفلاتوکسین (۵) در بهار مشاهده شده است. آلودگی غذای دام به آفلاتوکسین B1 (پیش ساز M1) مهمترین عامل آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 محسوب می‌شود و حضور آفلاتوکسین B1 در علوفه خود نشانگر فراهم بودن شرایط برای رشد قارچ‌ها و تولید این مایکوتوکسین است. در فصولِ سرد برای تغذیه دام‌های شیری به جای علوفه تازه معمولاً از علوفه و خوراک کنسانتره ای انبارشده استفاده می شود که احتمال رشد قارچ‌ها و ایجاد آفلاتوکسین‌ها از جمله آفلاتوکسین B1 در آنها بیشتر است و حضور آفلاتوکسین M1 در شیر را به دنبال دارد. هر چند به درستی اشاره شده است که به طور کلی خوراک‌های انباری باعث افزایش آلودگی شیر به آفلاتوکسین می‌شوند و از آنجا که این خوراک‌های انباری بیشتر در فصل سرما مورد استفاده قرار می‌گیرند غلظت آفلاتوکسین در شیر بیشتر است اما در مطالعه حاضر غیر از فصل سرما، نمونه‌های شیر در تابستان نیز غلظتی بالاتر از بهار و پاییز دارند. به نظر می‌رسد زمان استفاده از خوراک‌های ذخیره شده در پیرامون شهر زنجان با قاعده کلی استفاده از این مواد کمی متفاوت است. در این منطقه گله‌داران کوچک در کنار مراحل کاشت و داشت و برداشت علوفه گاوها را به چرا می‌برند و در فصل بهار در اوایل اردیبهشت یونجه را برای کاهش آفتها توسط گاو و گوسفند می‌چرانند و همچنین در پاییز نیز برداشت‌های پایانی را انجام داده و گاوها از علوفه پس‌چر استفاده می کنند و از آنجا که در این زمان‌ها گاوها متکی به این منابع علوفه‌ای تازه هستند لذا غلظت سم در بهار و پاییز کمتر است. اما در تابستان به دلیل اینکه چین‌های دوم و سوم یونجه را برداشت می‌کنند و کشاورزان نمی‌توانند گاوها را به زمین‌های یونجه برای چرا ببرند و از منابع ذخیره‌ای استفاده می‌کنند غلظت سم کمی افزایش داشته است هر چند به میزان غلظت آن در زمستان نیست. فلاح و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۷) نشان دادند که غلظت آفلاتوکسین در دام‌های چراگر (بز و گوسفند)

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

در استان یزد کمتر از حدمجاز و کمتر از شیر گاوهای پرورش یافته در جایگاه‌های صنعتی است. نکته قابل ذکر اینکه نمونه‌های مورد ارزیابی در این مطالعه از گاوهای کم تولید به دست آمده است و در گاوهای کم تولید ۱تا ۲ درصد از آفلاتوکسین خوراک در مقایسه با گاوهای پرتولید (۵ تا ۶ درصد) می تواند به شیر منتقل شود (۲)، لذا چراگر بودن گاوها در این فصول و میزان انتقال کم سم از خوراک به شیر می‌تواند از دلایل پایین بودن غلظت آفلاتوکسین در شیر ارسال شده به سکوهای جمع آوری در شهرستان زنجان باشد.

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج اندازه‌گیری‌های آفلاتوکسین M1 در شیر ارسال شده به سکوهای شیر شهرستان زنجان در کل سال ۱۳۹۷ نشان داد که کلیه نمونه های مورد ارزیابی به این سم آلوده بودند اما میزان آلودگی در تمام موارد از حد مجاز تعریف شده جهانی (۵۰۰ ng/L) کمتر بود. میانگین و انحراف معیار میزان سم ۳۰ ± ۴۴ و دامنه آن از ۱۶ ng/L – ۱۲۹ بود. ۱۳ نمونه از ۷۰ نمونه اندازه گیری شده از حد مجاز اروپا (۵۰ ng/L) بالاتر بودند که سه مورد آن نزدیک به حد مجاز (۵۲ ng/L) بود و ۱۰ مورد دیگر بین ۱۰۰ ng/L – ۱۲۹ بود. بیشترین غلظت سم در فصل زمستان (۴۱ ng/L ± ۶۴) و کمترین غلظت در فصل بهار (۸ ng/L ± ۲۵) مشاهده شد. علی‌رغم اینکه مقادیر اندازه‌گیری شده در سطوح خطرناک نیست ولی با توجه به تغییرات بسیار زیاد این سم در طول سال و شرایط تغذیه دام و انتقال شیر به محل‌های عرضه سنتی، توجه و پایش مداوم این سم در شیر ضرورت دارد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و بخش ارتباط با صنعت دانشگاه زنجان و اداره کل دامپزشکی استان زنجان جهت حمایت مالی اجرای پژوهش تشکر می‌نمایند.

## منابع

1. Alborzi, S., B. Pourabbas, M. Rashidi and B. Astaneh. 2006. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz. Food Control, 17: 582-4.
2. Applebaum, R.S., R.E. Brackett, D.W. Wiseman and E.H. Marth. 1982. Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: Feed intake and yield, toxin content, and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin. Journal Dairy Science, 65: 1503-1508.
3. Becker-Algeri, T.A., D. Castagnaro, K. de Bortoli, C. de Souza, D.A. Drunkler and E. Badiale-Furlong. 2016. Mycotoxins in bovine milk and dairy products: A review. Journal of Food Science 81: 544-552.
4. Bezerra da Rocha, M.E., F. da Chagas Oliveira Freire, F. Erlan Feitosa Maia, F. Florindo Guedes and M.I. Rondina. 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health. Food Control, 36: 159-165.
5. Davoudi, Y. and Y. Garedaghi. 2011. Survey on contamination raw milks with Aflatoxin M1 in the Sarab region, Iran. Research Journal Biology Science, 6: 89-91.
6. Fallah, A.A. 2010. Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. Food and Chemical Toxicology, 48: 988-991.
7. Fallah, A.A., R. Fazlollahi and A. Emami. 2016. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. Food Control, 68: 77-82.
8. FAO. Dairy Animals. 2015. Available from: http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milkproduction/dairy-animals/en/#.VS6myfB5JOY.
9. Ghazani, M.H. 2009. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz. Food Chemical Toxicology, 47: 1624-5.
10. Ghiasian, S.A., A.H. Maghsood, T. Neyestani and S.H. Mirhendi. 2007. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. Journal Food Safety, 27: 188-98.
11. Habibipour, R., A.R. Khosravi, A. Amirkhani and S. Bayat. 2010. A study on contamination of raw milk with Aflatoxin M1 at the Hamedan province, Iran. Global Veterinaria, 4: 789-94.
12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2001. Maximum validity Maycotoxins in human food. Tehran: Iran National Standard (In Persian).
13. Kamkar, A. 2005. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Control, 16: 593-9.
14. Kamkar, A. 2008. Detection of aflatoxin M1 in powdered milk samples by ELISA. Pajouhesh-va-Sazandegi, 79: 174-80 (In Persian).
15. Kamkar, G.H., R. Jahed Khaniki and A. Alavi. 2011. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produce in Ardebil of Iran. Iran. Journal Environment Health Science Engineering, 2: 123-8.
16. Karim, G., S. Bokaei and A. Khorasani. 1982. Study on the contamination of milk with aflatoxin in Tehran. Journal of Iran Public Health, 11: 19-23 (In Persian).
17. Karim, G. and A. Kamkar. 2000. A study on the effect of lactoperoxidase system (LPS) and LPS plus riboflavin on the aflatoxin M1 in milk. Veterinary Journal of Tehran University, 55: 5-7 (In Persian).
18. Liu, Y., and F. Wu. 2010. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. Environment Health Perspective, 118: 818-824.
19. Martins, M.L. and H.M. Martins. 2000. Aflatoxin M1 in raw and ultra-high temperature-treated milk commercialized in Portugal. Food Additive Contamination, 17: 871-4.

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

20. Nemati, M., M. Mesgari Abbasi, H. Parsa Khankandi and M. Ansarin. 2010. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. Food Control, 21: 1022-4.
21. Oveisi, M.R., B. Jannat and N. Sadeghi. 2007. Presence of aflatoxin M1 in milk and infant milk products in Tehran, Iran. Food Control, 18: 1216-8.
22. Panahi, P., S. Kasaee and A. Mokhtari. 2011. Assessment of aflatoxin M1 contamination in raw milk by ELISA in Urmia, Iran. American Eurasian Journal Toxicology Science, 3: 231-3.
23. Rahimi, E., M. Bonyadian, M. Rafei and H.R. Kazemeini. 2010. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. Food Chemical Toxicology 48: 129-31.
24. Rahimi, E. 2014. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Iran. Toxicology and Industrial Health, 30: 750-754.
25. Sefidgar, S.A.A., M. Mirzae, M. Assmar and S.R. Naddaf. 2011. Aflatoxin M1in pasteurized milk in Babol city, Mazandaran Province, Iran. Iranian Journal Public Health, 40: 115-18.
26. Tajkarimi, M., S.S. Ghaemmaghami, A. Motalebi, H. Poursoltani, A. Salahnejad and F. Shojaee. 2007. Seasonal survey in content M1 aflatoxin in raw milk taken from 15 dairy factories. Pajouhesh & Sazandegi, 75: 2-9 (In Persian).
27. The Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, 364: 1-24.

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]

# Aflatoxin *M1* Assay in Milk Samples Collected from Zanjan Area's Conventional Dairy Farms throughout the Year

**Hamidreza Mirzaei-Alamouti[1], Behnam Rostami[2], Bahman Farajmand[3], Mina Vazirigohar[4], Abbas Bahar[5] and Camila Valipour[6]**

1- Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Zanjan, Iran, (Corresponding Author: alamoutih@znu.ac.ir)
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Zanjan, Iran
3- Associate Professor of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, University of Zanjan, Iran
4- Senior Researcher at Ati Zist Dam Company, University Incubator Center, University of Zanjan, Iran
5- Assistant Professor, Research Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Iran
6- Veterinarian, Veterinary Administration Office of Zanjan, Iran
Received: 3 November, 2020 Accepted: 11 September, 2021

## Extended Abstract

**Introduction and Objective**: There is a global concern about presence of mycotoxins in milk and dairy products and governmental quality control centers continuously qualify and monitor these products, and milk producers might charge bill if their products are contaminated with aflatoxins. The current project was conducted to qualify and monitor aflatoxin M1 in milk supplied to milk-collecting- stations in Zanjan's area during all seasons of the year.

**Material and Methods**: Milk samples were randomly collected a day in each season. Milk sample tubes were centrifuged, and top layer of fat was harvested, and aflatoxin M1 of milk was determined by ELISA method.

**Results**: All samples had contamination with aflatoxin M1; however, contamination was lower than that of global standard (500 ng/L). 18.5 percent of the samples had contamination with aflatoxin M1 based on European limits (50 ng/L), with 0 percent in spring and 35.3 percent in winter. The mean concentration of aflatoxin M1 in samples was 44ng/L (16 to 129) and its content was 25, 52, 34, and 64 ng/L in spring, summer, fall, and winter respectively.

**Conclusions**: Although aflatoxin M1 concentration of collected milk samples was lower than the limit, but continuous qualifying and monitoring of milk supplied to dairy factories or traditional market must be done and producers should try to keep a low level of toxins in their products.

**Keywords:** Aflatoxin M1, Milk monitoring, Milk quality control, Traditional dairy farming

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-10-12 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.8.5 ]
[ DOI: 10.52547/rap.12.34.134 ]