

# بررسی آلودگی به آفلاتوکسین $M_1$ در پنیر سفید ایرانی

ابراهیم رحیمی<sup>a\*</sup>، محسن جعفریان دهکردی<sup>b</sup>، علی ایران پور<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد

<sup>b</sup> استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد

<sup>c</sup> دانش آموخته رشته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۷/۱۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۲۳

## چکیده

**مقدمه:** آفلاتوکسین  $M_1$  یک عامل سرطانزای کبدی است که در شیر دام های تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B1 یافت می شود. این مطالعه با هدف تعیین حضور و میزان آفلاتوکسین  $M_1$  در پنیر سفید ایرانی مصرف شده در شهرهای اصفهان و شهرکرد در ایران انجام شد.

**مواد و روش ها:** در مجموع ۷۰ نمونه پنیر به طور تصادفی ساده از خرده فروشی ها و سوپرمارکت های این دو شهر جمع آوری شد و حضور و سطوح آفلاتوکسین  $M_1$  در آنها با استفاده از روش الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته ها:** آلودگی به آفلاتوکسین  $M_1$  در ۴۵ نمونه از ۷۰ نمونه پنیر (۶۴/۳ درصد) بررسی شده در غلظتی ما بین ۴۴ تا ۷۱۹ نانوگرم در کیلوگرم مشاهده شد. میانگین سطح آفلاتوکسین در نمونه های آلوده ۲۱۸/۸ نانوگرم در کیلوگرم بود. غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  در ۱۰ نمونه (۱۴/۳ درصد) بیش از حداکثر حد تعیین شده (۲۵۰ نانوگرم در کیلوگرم) در کشورهای اروپایی بدست آمد. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد هیچ اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) مابین میانگین غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه های پنیر بررسی شده در فصول بهار و تابستان نبوده است.

**نتیجه گیری:** وقوع بالای آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه های پنیر سفید ایرانی ممکن است خطر بالقوه ای برای سلامت عمومی جامعه خصوصا کودکان باشد.

**واژه های کلیدی:** آفلاتوکسین  $M_1$ ، الیزا، پنیر سفید ایرانی

## مقدمه

قارچ‌های *Aspergillus flavus* و *A. parasiticus* از مهم‌ترین گونه‌های مولد آفاتوکسین‌های B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> در مواد غذایی و خوراک دام می‌باشند. آفاتوکسین‌های M<sub>1</sub> و M<sub>2</sub> متابولیت‌های هیدروکسیله شده آفاتوکسین-های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> هستند که از شیر، صغرا و ادرار دام‌های تغذیه شده با خوراک آلوده به آفاتوکسین B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> دفع می‌گردد (Lopez et al., 2001; Cavalieri, 2006). از بین تمام آفاتوکسین‌ها، آفاتوکسین B<sub>1</sub> سمی‌ترین متابولیت و از طرف آژانس بین‌المللی تحقیق روی سرطان به عنوان ترکیبی سرطانزا در گروه A عوامل سرطانزا قرار گرفته است (International Agency for Research on Cancer, 1993). سمیت و خاصیت سرطانزایی آفاتوکسین M<sub>1</sub> به مراتب کمتر از آفاتوکسین B<sub>1</sub> است و در گروه B عوامل سرطانزا قرار می‌گیرد (International Agency for Research on Cancer, 1993).

ارتباط مستقیمی مابین حضور آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر و آفاتوکسین B<sub>1</sub> در خوراک دام وجود دارد، بین ۰/۳ تا ۶/۲ درصد از آفاتوکسین B<sub>1</sub> خورده شده توسط دام به صورت آفاتوکسین M<sub>1</sub> از طریق شیر دفع می‌شود (Creppy, 2002). اما این میزان از دامی به دام دیگر، روزی به روز دیگر، و از یک شیردوشی تا شیردوشی بعد متغیر است (Galvano et al., 1996). آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر خام و فرآورده‌های شیری نسبتاً با ثبات است، بنابراین اگر شیر خام به آفاتوکسین M<sub>1</sub> آلوده باشد پنیر تولید شده از این شیر همچنان حامل آفاتوکسین M<sub>1</sub> باقی خواهد ماند (Galvano et al., 1996; Lopez et al., 2001). میزان حضور آفاتوکسین M<sub>1</sub> در پنیر حدود ۴ برابر بیشتر از ماده اولیه آن یعنی شیر می‌باشد (Van Egmond, 1989). میزان توزیع آفاتوکسین در پنیر، آب پنیر به عوامل زیادی از جمله درجه آلودگی شیر، کیفیت شیر و پروسه تولید پنیر بستگی دارد (Blanco et al., 1988; Kamkar et al., 2008).

با توجه به اهمیت شیر و فرآورده‌های شیری در تغذیه انسان خصوصاً نوزادان و کودکان و خطرات بالقوه آفاتوکسین‌ها در مواد غذایی محدودیت‌هایی به وسیله

بسیاری از کشورها در خصوص حضور آفاتوکسین‌ها در خوراک دام و غذاهای انسان اعمال شده است. براساس استاندارد اتحادیه اروپا و کدکس حداکثر حد مجاز میزان آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر مایع ۵۰ نانوگرم در کیلوگرم تعیین شده است (Codex Alimentarius Commission, 2001; European Commission Regulations, 2006) و مطابق استاندارد FAO آمریکا سطح آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر مایع نبایستی بیش از ۵۰۰ نانوگرم در کیلوگرم باشد (Food and Agriculture Organization, 1997). حداکثر حد مجاز غلظت آفاتوکسین M<sub>1</sub> در پنیر در بسیاری از کشورهای اروپائی ۲۵۰ نانوگرم در کیلوگرم یعنی ۴ برابر شیر در نظر گرفته شده است (European Commission Regulations, 2006). گزارشات فراوانی در خصوص بررسی حضور آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر و فرآورده‌های آن از بسیاری از کشورها از جمله ایران وجود دارد. در جدول ۱ خلاصه‌ای از وضعیت آلودگی پنیر به آفاتوکسین M<sub>1</sub> در برخی از کشورها آورده شده است. با توجه به اهمیت فرآورده‌های لبنی در سبد غذایی خانواده‌های ایرانی، خطرات بالقوه حضور آفاتوکسین M<sub>1</sub> در این فرآورده‌ها و عدم گزارش ثبت شده‌ای از وضعیت آلودگی پنیرهای مصرفی شهرستان‌های اصفهان و شهرکرد مطالعه حاضر با هدف بررسی وضعیت آلودگی پنیر سفید ایرانی عرضه شده در بازار مصرفی این دو شهرستان به آفاتوکسین M<sub>1</sub> با روش الایزا انجام شد.

## مواد و روش‌ها

## - جمع‌آوری نمونه

در مجموع ۷۰ نمونه پنیر سفید ارائه شده به بازار مصرف شهرستان‌های اصفهان و شهرکرد طی فصول بهار و تابستان ۱۳۸۸ جمع‌آوری و از نظر حضور آفاتوکسین M<sub>1</sub> با استفاده از روش الایزا مورد آزمایش قرار گرفتند. کیت الایزا مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Ridascreen® (R-Biopharm) آلمان R1101, R- Aflatoxin M<sub>1</sub>, Art. No. (Biopharm AG, Germany) تهیه گردید. براساس ادعای شرکت سازنده کیت حساسیت آن برابر با ۵ نانوگرم در لیتر می‌باشد. واکنش متقاطع با آفاتوکسین M<sub>1</sub> در این تست ۱۰۰ درصد و هیچ واکنش متقاطعی با آفاتوکسین B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> ندارد. میزان بازیافت

جدول ۱- وضعیت آلودگی نمونه های پنیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (نانوگرم در کیلوگرم) در کشورهای مختلف

کشور	تعداد نمونه	درصد وقوع	محدوده آلودگی	منبع
آمریکا	۱۱۸	۰	۱۰۰-۱۰۰۰	Trucks & Page, 1986
آفریقا شمالی	۲۰	۷۵	۱۱۰-۵۲۰	Elgerbi, et al., 2004
اسپانیا	۳۵	۴۴	۲۰-۲۰۰	Barrios, et al., 1996
ایتالیا	۶	۸۳	۵۰-۴۰۰	Castelli & Riberzani., 1981
ایران	۸	۹۷/۵	۱۰۰۰-۲۵۰۰۰۰	Parvaneh, et al., 1982
	۸۰	۸۴	۱۷۷-۲۹۱۷	Kamkar, et al., 2006
برزیل	۳۶	۰	۰	Taniwaki & Van Dender., 1992
	۶۳	۴۴	۷-۲۰۲	Sarimehmetoglu, et al., 2004
ترکیه	۱۹۳	۸۲/۴	۵۲-۸۶۰	Ardic, et al., 2009
	۱۰۰	۸۲	۵۱-۸۰۰	Gurses, et al., 2004
ژاپن	۳۰۳	۱۴	۲۰۰-۱۲۰۰	Blanco, et al., 1988
یونان	۵۴	۰	۰	Kaniou-Grigoiadou, et al., 2005

آفلاتوکسین در این روش ۹۵ درصد (p.i.=۹۵) با ضریب خطای ۱۵ درصد (C.V.=۱۵) گزارش شده است.

#### - آماده سازی نمونه ها

دو گرم از هر نمونه پنیر به دقت وزن و به بالن ژوژه ۵۰ میلی لیتری حاوی ۴۰ میلی لیتر دی کلرومتان اضافه و برای مدت ۱۵ دقیقه به هم زده شد. در ادامه سوسپانسیون حاصله با استفاده از سرنگ های فیلتردار، فیلتر و ۱۰ میلی لیتر از عصاره حاصله در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تبخیر شد. باقی مانده در ترکیبی شامل ۰/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات (۰/۵۵) گرم  $Na_2HPO_4H_2$ ، ۲/۸۵ گرم  $Na_2HP_42H_2O$  و ۹ گرم  $NaCl$  که با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد، (pH=۷/۲) و ۱ میلی لیتر هیپتان حل شد. ترکیبات به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه و حداکثر در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد و با دور ۲۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس فاز رویی (لایه هیپتان) به طول کامل تخلیه شد. در پایان ۱۰۰ میکرولیتر از فاز زیری (لایه متانول) با ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات رقیق شد.

#### - تعیین آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با روش الیزا

۱۰۰ میکرولیتر از محلول های استاندارد (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ قسمت در تریلیون) و نمونه های پنیر آماده سازی شده به کمک سمپلر ۱۰ میکرولیتری به حفره های میکروپلیت اضافه شده و سپس به مدت ۱ ساعت به دور از نور و در درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس مایع موجود در میکروپلیت خارج شده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قرار دادن آن شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب الرطوبه مایع موجود در حفره ها به

طور کامل تخلیه شد، سپس همه حفره ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد (عمل شستشو دوبار تکرار گردید) و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می گرفت تا کاملاً باقیمانده آب شستشو خارج شود به این ترتیب موادی که بعد از این مدت در واکنش شرکت نکرده اند خارج شدند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین کونژوگه شده با آنزیم به حفره ها اضافه شد و میکروپلیت به مدت یک ساعت دیگر در گرم خانه ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از این زمان مایع موجود در حفره ها به طول کامل تخلیه شد، سپس همه حفره ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد (عمل شستشو دوبار تکرار گردید). سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر کروموژن به هر حفره اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد در تاریکی گرم خانه گذاری شد. در نهایت برای توقف واکنش محلول قطع واکنش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره ها اضافه شد و میزان جذب هر نمونه با قرائت کننده الیزا (Stat Fax 2000, England) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت و اطلاعات مربوط به میزان جذب (OD) هر حفره به تفکیک ثبت شد. با کسر میزان جذب نمونه ها و استانداردها (۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ قسمت بر تریلیون) بر میزان جذب استاندارد صفر، ضرب در ۱۰۰، درصد جذب بدست آمد. بر اساس درصد جذب نمونه های استاندارد و میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> موجود در نمونه ها استاندارد منحنی کالیبراسیون رسم شد و به دنبال آن براساس درصد جذب هر نمونه و انطباق با منحنی کالیبراسیون میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (ppt) هر نمونه به دست آمد.

## تجزیه و تحلیل آماری

یافته‌های به دست آمده از آزمایش و اطلاعات جمع-آوری شده با نرم‌افزار SPSS/16 و آزمون‌های ضریب همبستگی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## یافته‌ها

در مطالعه حاضر، آفلاتوکسین  $M_1$  در پنیر سفید ایرانی که معمولی‌ترین نوع پنیر مصرف شده در ایران می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت. بر پایه نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر از بین ۷۰ نمونه پنیر مورد آزمایش ۴۵ نمونه (۶۴/۳ درصد) به آفلاتوکسین  $M_1$  آلوده بودند. به‌طورکلی، میانگین غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های آلوده ۲۱۸/۸ نانوگرم در کیلوگرم و در محدوده بین ۴۴ تا ۷۱۹ نانوگرم در کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۲). درصد آلودگی در نمونه پنیرهای جمع‌آوری شده در شهرستان‌های اصفهان و شهرکرد به ترتیب ۴۸/۶ و ۵۱/۴ بود و تفاوت آماری معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) بین درصد آلودگی نمونه‌ها در دو شهرستان مورد مطالعه مشاهده نشد. همانطور که نتایج این مطالعه نشان داد بیش از ۴۰ درصد از نمونه‌های بررسی شده حاوی آفلاتوکسین  $M_1$  بوده‌اند.

## بحث

پنیر یکی از مهمترین منابع آفلاتوکسین در میان انواع محصولات لبنی محسوب می‌شود چرا که آفلاتوکسین  $M_1$  همراه با کازئین شیر در پنیر تغلیظ می‌گردد (Tekinsen, & Galvano *et al.*, 1996; Tekinsen, 2005). مطالعات نشان می‌دهد غلظت آفلاتوکسین  $M_1$  در حدود ۳ برابر در پنیرهای نرم و حدود ۵ برابر در پنیرهای سخت بیشتر از شیر می‌باشد (Prandini *et al.*, 2009).

نتایج نشان می‌دهد درصد زیادی از پنیرهای تولیدی از شیر تولیدی مزارع پرورش دامی بوده است که دام‌ها با جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین‌ها و یا آلوده با اسپور گونه‌های آسپرژیلوس تغذیه شده‌اند (Ardic *et al.*, 2009). در مطالعات قبلی از ایران که بسیار محدود می‌باشند، مقایسه نتایج حاکی از آن است که درصد شیوع و میزان آلودگی پنیرهای سفید ایرانی به طور قابل توجهی

طی ۲-۳ دهه اخیر کاهش یافته است. بر اساس این مطالعات در سال ۱۳۶۰ میزان آلودگی نمونه‌های پنیر سفید ایرانی، ۹۷/۵ درصد گزارش شده است و محدوده آلودگی بین ۱۰۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰۰ نانوگرم در کیلوگرم بوده است (Parvaneh *et al.*, 1982). در مطالعات مشابهی توسط توسط کامکار و همکاران در سال ۱۳۸۵، از میان ۸۰ نمونه پنیر صنعتی آزمایش شده حدود ۸۴ درصد آلوده به آفلاتوکسین  $M_1$  و محدوده آلودگی در این نمونه‌ها مابین ۱۷۷ تا ۲۹۱۷ نانوگرم در کیلوگرم بوده است (Kamkar *et al.*, 2006).

مقایسه نتایج مطالعه حاضر با بسیاری از گزارشات ثبت شده در برخی کشورها از جمله آفریقای جنوبی (Elgerbi *et al.*, 2004)، اسپانیا (Barrios *et al.*, 1996)، ترکیه (Ardic *et al.*, 2009; Gurses *et al.*, 2004)، ایتالیا (Sarimehmetoglu *et al.*, 2004)، ایتالیا (Castelli & Riberzani, 1981) مشابه می‌باشد. هرچند که در حدود سطح آلودگی پنیرهای بررسی شده در مطالعه حاضر با مطالعات مشابهی از کشورهایی چون برزیل (Taniwaki & Van Dender, 1992)، فنلاند، دانمارک، فرانسه (Kokkonen *et al.*, 2005)، یونان (Kaniou-Grigoiadou *et al.*, 2005)، ژاپن (Tabata *et al.*, 1987) و آمریکا (Truckses & Page, 1986) به مراتب بالاتر بوده است. نتایج مطالعات مشابه از سایر کشورها در جدول ۱ خلاصه شده است.

معمولاً اختلافاتی که در ارائه نتایج توسط محققین کشورهای مختلف مشاهده می‌گردد می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد که از جمله آنها می‌توان به نحوه ساخت انواع پنیر، میزان آلودگی شیرهای مورد استفاده برای تهیه پنیر، شرایط موجود در طی دوره رسیدن پنیر و روش مورد استفاده جهت آنالیز نمونه‌های پنیر اشاره نمود (Galvano *et al.*, 1996; Kamkar *et al.*, 2004; Sarimehmetoglu *et al.*, 2008). علاوه بر موارد ذکر شده میزان آفلاتوکسین  $M_1$  شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در نقاط مختلف تحت تاثیر عواملی نظیر شرایط جغرافیایی و فصلی قرار می‌گیرد (Galvano *et al.*, 1996).

جدول ۲- وضعیت آلودگی نمونه‌های پنیر سفید ایرانی به آفلاتوکسین  $M_1$  (نانوگرم در کیلوگرم)

تعداد نمونه	تعداد نمونه‌های آلوده	درصد وقوع	محدوده آلودگی	میانگین آلودگی	انحراف معیار	میان
۷۰	۴۵	۶۴/۳	۷۱۹-۴۴	۲۱۸/۸	۱۷۱	۱۶۳

می‌توان نتیجه گرفت که کنترل آلودگی مواد مصرفی دام‌های شیری و دادن غذای سالم و فاقد آلودگی، می‌تواند ما را در تولید شیرهای فاقد سم و یا شیرهایی که دارای حداقل آلودگی هستند یاری نماید. علاوه بر آن تلاشی در جهت هماهنگ کردن هر چه بیشتر مقررات مربوط به حدود مجاز آفاتوکسین‌ها در مواد غذایی مورد مصرف انسان و دام، و تحقیق در مورد روش‌های سالم‌سازی خوراک دام و یا حذف سموم قارچی از آن لازم به نظر می‌رسد.

### منابع

Ardic, M., Karakaya, Y., Atasever, M. & Adiguzel, G. (2009). Aflatoxin  $M_1$  levels of Turkish white brined cheese. *Food Control*, 20, 196-199.

Barrios, M. J., Gualda, M. J., Cabanas, J. M., Medina, L. M. & Jordano, R. (1996). Occurrence of aflatoxin  $M_1$  in Cheeses from the south of Spain. *Journal of Food Protection*, 59, 898-900.

Blanco, J. L., Domingues, L., Gomez-Lucia, E., Garayzabal, J. E. E., Goyache, J. & Suarez, G. (1988). Behavior of aflatoxin during the manufacture, ripening and storage of Manchego-type cheese. *Journal of Food Science*, 53, 1373-1376.

Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. & Lagana, A. (2006). Liquid chromatography/tandem mass spectrometric confirmatory method for determining aflatoxin  $M_1$  in cow milk comparison between electrospray and atmospheric pressure photoionization sources. *Journal of Chromatography A*, 1101, 69-78.

Castelli, S. & Riberzani, A. (1981). Aflatoossina  $M_1$  nel latte e derivate. Aspetti igienico-sanitari e problemi analitici. *Att Society Italian Science of Veterinary*, 35, 671-672.

Codex Alimentarius Commission. (2001). Comment submitted on the draft maximum level for aflatoxin  $M_1$  in milk. In Codex committee on food additives and contaminants 33rd session. Hauge, The Netherlands.

Creppy, E. E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127, 19-28.

حداکثر قابل قبول وجود آفاتوکسین  $M_1$  در شیر و محصولات لبنی در سراسر جهان بسته به شرایط و قوانین هر کشور تنظیم و اجرا می‌شود و این میزان ممکن است از کشوری به کشور دیگر متغیر باشد. از آنجائی که در حال حاضر استاندارد ملی در مورد حد مجاز آلودگی به آفاتوکسین‌ها در پنیر در ایران وجود ندارند لذا در این بررسی شاخص آلودگی، استاندارد اتحادیه اروپا (۲۵۰ نانوگرم در کیلوگرم) منظور گردید که بر این اساس ۱۴/۳ درصد از نمونه‌های بررسی شده حامل بیش از ۲۵۰ نانوگرم در کیلوگرم آفاتوکسین  $M_1$  می‌باشد.

آلودگی نمونه‌ها در فصل بهار و تابستان به ترتیب ۶۷/۹ و ۶۱/۹ درصد و محدوده آلودگی ۵۴-۶۳۲ و ۴۴-۷۱۹ نانوگرم در کیلوگرم بود. بررسی آماری تفاوت معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) بین میانگین آفاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های پنیر جمع‌آوری شده در فصول بهار و تابستان نشان نداد. گزارشات و نتایج مطالعات متعدد در ایران و سایر کشورها نشان می‌دهد که میانگین سطح آفاتوکسین  $M_1$  در شیر در خلال فصول پاییز و زمستان بیشتر از فصول بهار و تابستان است (Kaniou-Grigoiadou *et al.*, 2005; Galvano *et al.*, 1996). از آنجائیکه مطالعه حاضر در فصل بهار و تابستان انجام شد، لذا احتمالاً درصد و سطح آفاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های پنیر تولید شده در طول فصل پاییز و زمستان بالاتر از میزان به دست آمده می‌باشد. از مهمترین علل پائین بودن سطح آفاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در فصول بهار و تابستان تغذیه دام‌ها با علوفه تازه گزارش شده است (Galvano *et al.*, 1996; Hussain & Anwar, 2008).

### نتیجه‌گیری

مصرف فرآورده‌های شیری که دارای آلودگی به آفاتوکسین بالاتر از حد مجاز هستند می‌تواند بالقوه برای مصرف کنندگان خطرساز باشد لذا بایستی به فکر چاره و کنترل آلودگی شیر و فرآورده‌های آن بود. از جمله موثرترین و مهمترین راههای کنترل آلودگی شیر و فرآورده‌های آن، تولید شیر سالم، که یا فاقد آفاتوکسین  $M_1$  و یا میزان آفاتوکسین  $M_1$  آن پائین باشد، است. با عنایت به اینکه ظهور آفاتوکسین  $M_1$  از طریق مواد خوراکی توسط دام‌های تولید کننده است، بنابراین

- Elgerbi, A. M., Aidoo, K. E., Candish, A. A. & Tester, R. F. (2004). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in randomly selected North African milk and cheese sample. *Food Additives and Contaminants*, 21, 592-597.
- European Commission Regulations. (2006). No 1881/2006/EC of December, 12th setting maximum levels of certain contaminants in foods. *Official Journal of European Communities L 364/5*.
- Food and Agriculture Organization. (1997). *Worldwide regulations for mycotoxins, 1955. A compendium*. FAO, Food and Nut. Paper 64, Rome.
- Galvano, F., Galofaro, V. & Galovano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products, A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59, 1079-1090.
- Gurses, M., Erdongan, A. & Cetin, B. (2004). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 28, 527-530.
- Hussain, I. & Anwar, J. (2008). A study on contamination of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control*, 19, 393-395.
- International Agency for Research on Cancer. (1993). *Some Naturally Occurring Substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 56, 245-395* (Lyon: IARC).
- Kamkar, A., Jahed Khaniki, G., Bokaie, S. & Hosseiny, H. (2006). Aflatoxin M<sub>1</sub> and Iranian white cheese. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran*, 61, 201-206.
- Kamkar, A., Karim, G., Shojaee, Aliabadi, F. & Khaksar, R. (2008). Fate of aflatoxin M<sub>1</sub> in Iranian white cheese processing. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2236-2238.
- Kaniou-Grigoiadou, I., Eleftheriadou, A., Mouratidou, T. & Katikou, P. (2005). Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in ewe's milk samples and the produced curd and feta cheese. *Food Control*, 16, 257-261.
- Kokkonen, M., Jestoi, M. & Rizzo, A. M. (2005). Determination of selected mycotoxins mould cheeses with liquid chromatography coupled to tandem with mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, 22, 449-456.
- Lopez, C., Ramos, L., Ramadan, S., Bulacio, L. & Perez, J. (2001). Distribution of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheese obtained from milk artificially contaminated. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 211-215.
- Parvaneh, V., Shahin, M., Karim, G. & Kordi, J. (1982). Survey of whit cheese contamination to aflatoxin. *Journal of Iranian Public Health*, 10, 1-4.
- Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M. & Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 984-991.
- Sarimehmetoglu, B., Kuplulu, O. & Celik, T. H. (2004). Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 15, 45-49.
- Tabata, S., Kamimuro, H., Tamura, Y., Yasuda, K., Oshiyama, H., Hashimoto, H., Nishisima, M. & Nishisima, T. (1987). Aflatoxin contamination in foods and foodstuff. *Journal of Food Hygiene and Society Japanese*, 28, 395-401.
- Taniwaki, M. H. & Van Dender, A. G. F. (1992). Occurrence of toxigenic molds in Brazilian cheese. *Journal of Food Protection*, 55, 187-191.
- Tekinsen, K. K., & Tekinsen, O. C. (2005). Aflatoxin M<sub>1</sub> in white pickle and Van otlu (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. *Food Control*, 16, 565-568.
- Truckses, M. V. & Page, S. W. (1986). Examination of imported cheeses for aflatoxin M<sub>1</sub>. *Journal of Food Protection*, 49, 632-633.
- Van Egmond, H. P. (1989). Introduction. In: Van Egmond, H.P. (ed.), *Mycotoxins in Dairy Products*. Elsevier Applied Science, London, pp. 1-9.

# A Survey of Aflatoxin M<sub>1</sub> Contamination in Iranian White Cheese

E. Rahimi <sup>a\*</sup>, M. Jafarian Dehkordi <sup>b</sup>, A. Iranpoor <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Associate Professor of the Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Sharekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, Iran.

<sup>b</sup> Assistant Professor of the Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Sharekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, Iran.

<sup>c</sup> Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Sharekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, Iran.

Received: 5 October 2009

Accepted: 13 January 2010

## Abstract

**Introduction:** Aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) is a hepatocarcinogen found in milk of animals that have consumed feeds contaminated with aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>). This study was undertaken to determine the presence and levels of aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) in Iranian white cheese consumed in Isfahan and Shahr-e Kord, Iran.

**Materials and Methods:** A total of 70 cheese samples were randomly obtained from retail outlets. Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) technique was used to determine the presence and the level of AFM<sub>1</sub>.

**Results:** In 45 of the 70 cheese samples examined (64.3%), the presence of AFM<sub>1</sub> was detected in concentrations between 44ng/kg and 719ng/kg. The mean level of AFM<sub>1</sub> of positive samples was 218.8 ng/kg. AFM<sub>1</sub> in 10 samples (14.3%) were higher than the maximum tolerance limit (250 ng/kg) accepted by the European countries. Statistical analysis showed that there were no significant differences ( $p>0.05$ ) between the mean concentrations of AFM<sub>1</sub> in cheese samples produced in spring and summer.

**Conclusion:** It was concluded that widespread occurrence of AFM<sub>1</sub> in Iranian white cheese samples were considered to be possible hazards for public health especially children.

**Keywords:** Aflatoxin M<sub>1</sub>, ELISA, Iranian White Cheese.

\* Corresponding Author: ebrahimrahimi55@yahoo.com