

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۹، بهمن ۱۳۹۹، ۱۱۷۸-۱۱۶۳

ارزیابی میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه شهرستان‌های کرمان و رفسنجان در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷: یک مطالعه توصیفی

لاله ستوده^۱، علی دینی^۲، محسن رضائیان^۳، عباس اسماعیلی^۴، آمنه عسگریان^۵

دریافت مقاله: ۹۹/۰۵/۱۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۹/۰۶/۰۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۰۹/۰۹ پذیرش مقاله: ۹۹/۰۹/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین‌ها ترکیبات بسیار جهش‌زا، سمی و سرطان‌زا هستند. آفلاتوکسین B1 از طریق خوراک دام آلوده وارد بدن حیوانات شده و پس از متابولیزه شدن در کبد به صورت آفلاتوکسین M1 وارد شیر می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین میزان آفلاتوکسین M1 جهت بررسی وضعیت کیفی شیر پاستوریزه انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، تعداد ۳۹ نمونه شیر پاستوریزه از سطح عرضه شهرستان رفسنجان و کرمان در زمستان سال ۱۳۹۷ و تابستان سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. میزان آفلاتوکسین با روش کروماتوگرافی مایع اندازه‌گیری شد. تفاوت بین فصل و محل تولید و عرضه متفاوت در این مطالعه براساس آزمون‌های ناپارامتری Mann-Whitney و Kruskal-Wallis ارزیابی شد.

یافته‌ها: آفلاتوکسین M1 در کلیه نمونه‌های شیر پاستوریزه در محدوده ۵/۴۱-۱۲۵/۳۷ ng/L تشخیص داده شد. میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در ۲/۶ درصد (۱ نمونه) و ۱۷/۹ درصد (۷ نمونه) از نمونه‌ها به ترتیب بالاتر از استاندارد ملی ایران (۱۰۰ ng/L) و اروپا (۵۰ ng/L) بود. میانگین آلودگی در نمونه‌های شیر تولید شده در مناطق مختلف به طور معنی‌داری متفاوت بودند ($p < 0.05$). ارزیابی ریسک خطر سرطان‌زایی آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه نشان داد که خطری در خصوص مصرف شیر، سلامت بزرگسالان را تهدید نمی‌کند ($HI < 1$) که این موضوع در خصوص کودکان صادق نبود ($HI < 10$).

نتیجه‌گیری: مقادیر بالای آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر می‌تواند یک خطر بالقوه برای سلامت عمومی باشد. لذا پایش و کاهش سطح آفلاتوکسین در خوراک دام و شیر خام تحویل شده توسط کارخانجات لبنی را می‌توان به عنوان اولین قدم برای کنترل انتقال آفلاتوکسین M1 در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M1، شیر، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، ارزیابی ریسک سرطان‌زایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فناوری‌های غذایی، دانشگاه غیر انتفاعی کار واحد رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲- (نویسنده مسئول) استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات سلامت پسته، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تلفن: ۰۳۴-۳۴۲۸۲۷۰۳، دورنگار: ۰۳۴-۳۴۲۸۲۷۰۶، پست الکترونیکی: a.dini@rums.ac.ir

۳- استاد گروه آموزشی اپیدمیولوژی و آمار زیستی، مرکز تحقیقات محیط کار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۴- دانشیار مرکز تحقیقات محیط کار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۵- کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

مقدمه

آفلاتوکسین M1 از متابولیت‌های حاصل از هیدروکسیله شدن آفلاتوکسین B1 است که به عنوان فرآورده‌ای متابولیکی در شیر، ادرار و مدفوع حیوان ظاهر می‌گردد [۱]. چنانچه دام با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 تغذیه شود آنزیم‌های موجود در کبد آن را هیدروکسیله کرده و به آفلاتوکسین M1 تبدیل می‌نمایند. مطالعات نشان داده‌اند که تغذیه دام‌ها با استفاده از خوراک‌های آلوده به کپک نه تنها باعث مسمومیت و تلفات دام‌ها می‌شود، بلکه در محصولات جانبی مانند گوشت دام نیز ذخیره شده و وارد زنجیره غذای انسان می‌شوند. بخش اعظمی از آفلاتوکسین M1 پس از سنتز از طریق ادرار دفع می‌گردد. اما ۱ تا ۳ درصد از مقدار آفلاتوکسین B1 در خوراک دام پس از هیدروکسیله شدن به کاربند متصل شده و به داخل شیر ترشح می‌گردد [۲-۴]. در تحقیقات گذشته مشخص شده است که شیر بزرگ‌ترین منبع ورود آفلاتوکسین M1 به بدن انسان می‌باشد [۵]. بنابراین با توصیه به مصرف شیر و لبنیات خطر مواجهه با آفلاتوکسین M1 در صورت عدم رعایت اصولی بهداشتی در تولید، افزایش می‌یابد [۶].

مداخله جدی نهادهای دولتی در بهبود فرآوری و تولید بهداشتی محصولات کشاورزی، سلامت مصرف کنندگان و حمایت از تولید کنندگان دو موضوع مهمی است که بایستی در جهت بهبود امنیت و سلامت مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد. عدم توجه به هر مورد باعث اتلاف سرمایه و کاهش

دسترسی مصرف کنندگان به منابع غنی غذایی و یا صدمه به سلامت مصرف کننده می‌گردد. از این‌رو بسیاری از کشورها جهت ممانعت از تأثیر سرطان‌زایی و جهش‌زایی میکوتوکسین‌ها برای انسان و حیوانات اقدام به تعیین حداکثر حد قابل تحمل برای آن‌ها نموده‌اند [۷]. در ایران، اتحادیه اروپا و وزارت غذا و داروی آمریکا به ترتیب حداکثر حد قابل قبول آفلاتوکسین M1، ۱۰۰، ۵۰ و ۵۰۰ نانوگرم به کیلوگرم تعیین شده است [۸-۹].

مطالعات متعددی در خصوص ارزیابی میزان آفلاتوکسین M1 در شیرهای خام و فرآوری شده در ایران انجام شده است. Rasti-Ardakany و همکاران تعداد ۸۹ نمونه از شیر پاستوریزه موجود در سطح عرضه شهر اصفهان را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاکی از آن بود که میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M1، ۳۰ نانوگرم بر لیتر بوده و شیرهای تولید شده در خارج از استان اصفهان (۳۷/۵ درصد بیش از حد استاندارد اروپا) آلودگی بیش‌تری نسبت به شیرهای پاستوریزه تولید داخل استان (۳/۶۳ درصد بیش از حد استاندارد اروپا) داشتند [۱۰]. Ali Nia و Babaei در ارزیابی ۷۵ نمونه شیر پاستوریزه در استان مازندران میانگین آلودگی را ۶۳/۸۴ نانوگرم بر لیتر ارزیابی نمودند که ۱۳ درصد از نمونه‌ها آلودگی بیش از حد استاندارد ایران را داشتند [۱۱]. به‌طور کلی در مطالعاتی که طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۱ بر روی شیرهای پاستوریزه اهواز صورت گرفته نشان می‌دهد که وضعیت شیر پاستوریزه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین بهبود یافته است [۱۵-۲۱].

آزمایشگاه منتقل شده و تا زمان انجام آزمون‌ها (حداکثر ۷ روز) در فریزر ۲۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به شماره ثبتی IR.RUMS.REC.1398.014 می‌باشد.

استاندارد اولیه آفلاتوکسین M1 (STOCK) با غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر محصول شرکت سیگما آمریکا، متانول و استونیتریل کلدون کانادا (HPLC grade) و آب دیونیزه مورد استفاده قرار گرفت. سدیم کلرید، برومات-پتاسیم، نیتریک اسید (مرک آلمان) استفاده شد. جهت تخلیص و تغلیط از ستون ایمینوافینیتری M1 محصول شرکت وایاکم آمریکا استفاده شد.

آنالیز کروماتوگرافی مایع با استفاده از دستگاه HPLC فاز معکوس (Waters, USA) مجهز به ورک‌استیشن (GX-271 Aspec Gilson, USA)، پمپ Binary مدل ۱۵۲۵، دستگاه گاززدایی (DG2, USA)، کنترل‌کننده حرارت (Waters, 5CH, USA) و آشکارساز فلورسانس (Blue, 2475) انجام شد. ستون مورد استفاده ستون کربن ۱۸ (ODS Nova Pak) ۲۵۰ میلی‌متر، ۴/۶ میلی‌متر و ۵ میکرومتر بود. از سیستم‌کننده تحت خلأ (Manifold) ساخت شرکت Vac Master کانادا، سانتریفیوژ سیگما مدل ۲-۱۶ ساخت شرکت سیگمای آلمان (Sigma, 2.16, Sigma Co. Germany)، دیونایزر Direct-Q5 ساخت شرکت میلی‌پور آمریکا، ورتکس IKA مدل MS3B آمریکا استفاده شد.

جهت پایش آفلاتوکسین M1 کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با سرعت جریان فاز متحرک ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه

از آن جایی که حضور آفلاتوکسین M1 در شیر متداول بوده و آثار زیان‌بار آن نیز نشان داده شده است، لذا ضرورت ارزیابی میزان آفلاتوکسین در شیر و مقایسه وضعیت موجود با مطالعات گذشته که در شهرستان‌های استان کرمان انجام شده است [۱۸-۶۱]، پژوهش‌گران را بر آن داشت تا این مطالعه را با هدف اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین M1 شیر پاستوریزه عرضه شده در شهرستان کرمان و رفسنجان در دو فصل زمستان سال ۱۳۹۷ (دی و بهمن ماه) و تابستان سال ۱۳۹۸ (تیر و مرداد ماه) را به منظور بررسی وضعیت بهداشتی شیر توزیع شده در استان کرمان، محقق سازند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، شیر پاستوریزه در سطح عرضه شهرستان رفسنجان (۲۳ نمونه نهایی) و کرمان (۱۶ نمونه نهایی) طی دو مرحله (فصل زمستان سال ۱۳۹۷ و فصل تابستان سال ۱۳۹۸) از سوپرمارکت‌های سطح عرضه براساس طرح (PMS) post marketing surveillance سازمان غذا و دارو نمونه‌برداری شدند. برندهای پر مصرف شیر پاستوریزه (نام برندها در مطالعه ذکر نشده است) با استفاده از پرسش‌نامه توزیع شده در بین توزیع‌کنندگان شیر پاستوریزه، عمده فروشان و سوپرمارکت‌ها مشخص گردیدند. به‌دلیل محدودیت در برندهای شیر پاستوریزه موجود در سطح عرضه، اکثر برندهای در سطح عرضه طی چهار نوبت (دو نوبت در زمستان و دو نوبت در تابستان) نمونه‌برداری شدند و نمونه‌های تکراری با سری ساخت مشابه (ماده اولیه و شرایط تولید مشابه) از مطالعه حذف گردیدند و نمونه‌ها به

و آشکارساز فلورسانس با طول موج ۳۶۵ و ۴۳۵ نانومتر استفاده شد به طوری که دمای ستون ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. فاز متحرک استفاده شده شامل آب، استونیتریل به نسبت‌های ۷۵ و ۲۵ حجمی بود [۱۹]. جهت پایش‌ها و کنترل نتایج آزمایشگاهی نمونه‌ها، میزان معینی از آفلاتوکسین M1 به نمونه بلانک اضافه شده و درصد بازیافت تعیین گردید. با استفاده از درصد بازیافت نتایج به دست آمده اصلاح گردید و کلیه نتایج ارائه شده پس از تصحیح گزارش شده است. حد تعیین مقدار (Limit of Quantification; LOQ) با روش کم‌ترین مقدار اسپایک با صحت و دقت قابل قبول به دست آمد. با توجه به منحنی کالیبراسیون کمترین غلظتی که قابل تعیین مقدار بود، مقدار ۰/۰۰۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد و در ۳ روز متوالی هر روز ۶ نمونه بلانک در سطح ۰/۰۰۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر اسپایک شد. پس از انجام کلیه مراحل آزمون، میانگین، انحراف استاندارد و انحراف استاندارد نسبی (Relative Standard Deviation %) نتایج محاسبه شده و در جدول ۱ درج شده است.

نمونه‌های شیر با بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد (Memert, WBU45, Germany) گرم و سپس چربی آن‌ها به وسیله سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد و شیر بدون چربی جهت جداسازی هرگونه مواد خارجی احتمالی از کاغذ صافی (MN 619, Macherey-Nagel GmbH & co.KG, Germany) عبور داده شد. برای تخلیص از ستون‌های ایمینوآفینیتی M1

استفاده شد. سرنگ مخزن‌دار ۵۰ سی‌سی را به انتهای ستون متصل و مقدار ۵۰ میلی‌لیتر شیر صاف شده را به سرنگ منتقل کرده و اجازه داده شد به آهستگی (۲ تا ۳ میلی‌لیتر در دقیقه) از ستون عبور کند. این عمل توسط سیستم مکنده تحت خلأ (Manifold, Vac Master, Canada) کنترل شد. سپس ستون با ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه تولید شده با دستگاه دیونایزر Direct-Q5 ساخت شرکت میلی‌پور آمریکا شستشو داده شد و با ایجاد فشار مثبت، ستون خشک گردید [۲۰]. پس از خشک شدن ستون، ۱/۲۵ میلی‌لیتر استونیتریل از ستون ایمینوآفینیتی عبور داده شد و در ویال جمع‌آوری شد. محتویات ویال با ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه رقیق شد و با هم‌زن IKA مدل MS3B آمریکا هم‌گن گردید و عصاره نمونه محتوی ویال به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق شد.

ارزیابی ریسک مصرف آفلاتوکسین M1 از طریق شیر بر سلامتی با استفاده از شاخص خطرآفرینی (Hazard Index; HI) برآورد شد [۲۲-۱۲]. این شاخص، به‌منظور مقایسه شدت اثرات سرطان‌زای آفلاتوکسین M1 به علت مصرف شیر و لبنیات براساس رابطه (۱) محاسبه شد. HI با تقسیم شاخص‌های میزان مصرف روزانه (Estimated Daily Intake; EDI) بر TD₅₀ (میزان دوزی دریافتی روزانه برای یک طول عمر استاندارد، ۲۴ ماه در جوندگان که انتظار می‌رود، ۵۰ درصد از حیوانات مورد آزمون را مبتلا به یک تومور خاص یا ترکیبی از تومورها کند) تقسیم بر فاکتور ایمنی ۵۰۰۰۰ محاسبه گردید. مقادیر بیش از ۱ و کم‌تر از ۱۰ برای این

نتایج

حد تعیین مقدار با روش کم‌ترین مقدار اسپایک با صحت و دقت قابل قبول به‌دست آمد. میانگین، انحراف استاندارد و انحراف استاندارد نسبی (% Relative Standard Deviation) نتایج در جدول ۱ درج شده است. درصد بازیافت محاسبه شده در محدوده قابل قبول استاندارد بود و انحراف استاندارد نسبی از ده درصد تجاوز نکرد. مقدار LOQ، ۰/۰۰۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. و مقدار حد تشخیص (Limit of Detection)، ۰/۰۰۰۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر (یک سوم مقدار LOQ) محاسبه شد که نشان دهنده حد تشخیص مطلوب برای آزمون می‌باشد [۲۵].

نتایج آلودگی نمونه شیر در جدول ۲ نشان داده شده است. آلودگی در کلیه نمونه‌ها مثبت ارزیابی شد به‌طوری‌که آلودگی به آفلاتوکسین در تعداد ۳۲ نمونه (۸۲ درصد) کمتر از حد قابل قبول اتحادیه اروپا ارزیابی شد. تعداد ۶ نمونه (۱۵/۴) دارای آلودگی بیش از ۵۰ نانوگرم و کمتر از ۱۰۰ نانوگرم بر لیتر بودند و آلودگی به آفلاتوکسین در ۲/۵ درصد از نمونه‌ها (۱ نمونه) بیش از ۱۰۰ نانوگرم بر لیتر ارزیابی شد که بالاتر از حد قابل قبول استاندارد ایران بوده و قابل مصرف نبود. میزان آفلاتوکسین در هیچ یک از نمونه‌ها بیش از استاندارد ایالات متحده و کدکس (۵۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم) ارزیابی نشد. به طور کلی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در محدوده ۵/۵۰-۱۲۵/۴۰ نانوگرم بر لیتر و میانگین و انحراف معیار آلودگی به آفلاتوکسین M1 $33/28 \pm 27/40$ نانوگرم بر لیتر تعیین شد.

شاخص نشان‌دهنده خطر آفرینی متوسط و مقادیر بیش از ۱۰ نشان دهنده خطر آفرینی قابل توجهی در ابتلاء به سرطان کبد برای مصرف کنندگان است [۲۳].

$$HI = \frac{EDI/TD_{50}}{50000} \quad (1)$$

میزان مصرف روزانه آفلاتوکسین M1 از طریق شیر با استفاده از رابطه (۲) تخمین زده می‌شود. برای تخمین این مقدار حجم شیر مصرفی روزانه (Daily Milk Intake)، میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه (C) و میانگین وزن بدن مصرف کنندگان (Body Weight) محاسبه شد.

$$EDI = \frac{DMI * C}{BW} \quad (2)$$

مصرف سرانه برای هر ایرانی در این بخش ۷۰ کیلوگرم در سال معادل مصرف روزانه تقریباً ۰/۱۹۲ کیلوگرم برای هر ایرانی در نظر گرفته شد [۲۲]. وزن بر طبق نظر آژانس حفاظت از محیط زیست (Environmental Protection Agency; EPA) برای بزرگسالان ۷۰ کیلوگرم و کودکان ۱۵ کیلوگرم در نظر گرفته شد [۲۴].

با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام شد. با توجه به مطالعات گذشته و غیر نرمال بودن توزیع داده‌های آلودگی به آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر، اختلاف بین نمونه‌های فصول و شهرهای مختلف با استفاده از آزمون‌های ناپارامتری Mann-Whitney و Kruskal-Wallis ارزیابی گردید. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- محاسبه حد کیفی سازی و کمی سازی و درصد بازیافت نمونه بلاتک با میزان تزریق ۰/۰۰۲ ng/l آفلاتوکسین M1

ردیف	غلظت آفلاتوکسین M1 (۰/۰۰۲ ng/l) در نمونه صفر	درصد بازیافت (%Recovery)
۱	۰/۰۰۲	۱۰۱/۹
۲	۰/۰۰۲۳	۱۱۲/۶
۳	۰/۰۰۲	۱۰۰/۱
۴	۰/۰۰۱۸	۹۲/۵
۵	۰/۰۰۲	۱۰۲/۰
۶	۰/۰۰۲۱	۱۰۶/۹
۷	۰/۰۰۲۱	۱۰۲/۹
۸	۰/۰۰۲	۱۰۱/۳
۹	۰/۰۰۲	۹۸/۳
۱۰	۰/۰۰۱۸	۹۲/۳
۱۱	۰/۰۰۲	۹۸/۹
۱۲	۰/۰۰۲	۱۰۰/۶
۱۳	۰/۰۰۱۸	۸۹/۷
۱۴	۰/۰۰۲۱	۱۰۳/۷
۱۵	۰/۰۰۲۱	۱۰۴/۲
۱۶	۰/۰۰۱۹	۹۳/۱
۱۷	۰/۰۰۲۱	۱۰۴/۱
۱۸	۰/۰۰۲۱	۱۰۶/۵
	میانگین	۱۰۰/۶۵۶
	انحراف معیار (SD)	۵/۸۴
	انحراف معیار نسبی (RSD%)	۵/۸ %
	حد تعیین مقدار (LOQ)	-
	حد تشخیص (LOD)	۰/۰۰۰۶۷۱ ng/l

جدول ۲- میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه جمع‌آوری شده از سطح عرضه در شهرستان کرمان و رفسنجان در سال ۹۸-۱۳۹۷

مقدار p	میانگین	انحراف معیار ± میانگین	توزیع آلودگی آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه			تعداد نمونه	شهر	منطقه
			LOD < x < ۵۰	۵۰ ≤ x < ۱۰۰	۱۰۰ ≤ x < ۵۰۰			
۰/۷۵۹*	۲۴/۲۴	۳۶/۹۳ ± ۳۱/۶۱	۱ (۳/۸%)	۶ (۲۳/۱%)	۱۹ (۷۳/۱%)	۲۶	تابستان	فصل تولید شیر
	۲۶/۰۷	۲۶/۱۵ ± ۱۴/۳۲	۰	۰	۱۳ (۱۰۰%)	۱۳	زمستان	
	۳۱/۶۲	۳۱/۳۶ ± ۲۰/۳۵	۰	۱ (۶/۳%)	۱۵ (۹۳/۸%)	۱۶	کرمان	
۰/۶۴۳*	۱۹/۳۴	۳۴/۷۰ ± ۳۱/۷۱	۱ (۴/۳%)	۵ (۲۱/۷%)	۱۷ (۷۳/۹%)	۲۳	رفسنجان	نمونه‌برداری
	۳۷/۵۲ ^{bc}	۳۹/۹۳ ± ۲۲/۳۴	۰	۲ (۲۲/۳%)	۷ (۷۷/۸%)	۹	کرمان	
	۲۴/۹۱ ^{abc}	۲۶/۳۰ ± ۹/۷۸	۰	۰	۳ (۱۰۰%)	۳	رفسنجان	
۰/۰۰۷**	۱۳/۶۸ ^{ab}	۱۷/۹۲ ± ۱۱/۶۵	۰	۰	۱۲ (۱۰۰%)	۱۲	تهران	شهر تولید کننده شیر
	۸۱/۸۴ ^c	۷۴/۳۷ ± ۳۷/۱۲	۱ (۱۶/۷%)	۴ (۶۶/۷%)	۱ (۱۶/۷%)	۶	مشهد	
	۲۳/۵۲ ^{ab}	۲۱/۶۲ ± ۱۳/۴۳	۰	۰	۳ (۱۰۰%)	۳	شیراز	
۰/۰۰۷**	۶/۹۰ ^a	۱۵/۲۱ ± ۱۵/۷۰	۰	۰	۳ (۱۰۰%)	۳	قزوین	آمل
	۳۰/۵۳ ^{bc}	۲۹/۶۱ ± ۹/۳۹	۰	۰	۳ (۱۰۰%)	۳	آمل	

* آزمون Mann-Whitney، ** آزمون Kruskal-Wallis، p < ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار

($p=0/007$). کم‌ترین میزان آلودگی مربوط به شیر پاستوریزه تولید شده در شهر قزوین و تهران با میانگین ۱۵ و ۱۷ نانوگرم به لیتر و بیش‌ترین آلودگی مربوط به شیر پاستوریزه تولید شده در شهر مشهد با میانگین ۷۴/۳ نانوگرم بر لیتر ارزیابی شد. اگرچه میانگین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه تولید شده در شهرستان رفسنجان (۲۶/۳ نانوگرم بر لیتر) کم‌تر از شهرستان کرمان (۳۹/۹ نانوگرم بر لیتر) بود اما این تفاوت معنی‌داری نبود ($p=0/140$).

ریسک سلامتی مصرف شیر پاستوریزه در شهرهای کرمان و رفسنجان با فاکتورهای EDI و HI محاسبه شد و نتایج در جدول ۳ آورده شده است. مصرف روزانه آفلاتوکسین M1 از طریق شیر پاستوریزه در بزرگسالان در محدوده ۰/۴۴ - ۰/۰۸ قرار دارد. و شاخص خطرآفرینی در شهرستان کرمان و رفسنجان به ترتیب ۰/۴۳ و ۰/۴۷ در بزرگسالان و در کودکان ۲ و ۲/۲۲ ارزیابی شد.

همان‌گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، تأثیر فصل بر میزان آفلاتوکسین M1 شیر پاستوریزه معنی‌دار ارزیابی نشد ($p=0/306$) و اختلاف معنی‌داری در توزیع آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه نمونه‌برداری شده در شهرهای کرمان و رفسنجان مشاهده نشد. میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه عرضه شده در شهرستان رفسنجان ۳۴/۷ نانوگرم بر لیتر است که بیش از میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه عرضه شده در شهرستان کرمان (۳۱/۳۹۷ نانوگرم بر لیتر) ارزیابی شد ($p=0/643$).

با توجه به محدودیت در کارخانه‌جات تولید شیر پاستوریزه در شهر رفسنجان و کرمان و وجود برندهای کارخانه‌جات تولیدی، با منشأ تولید در شهرهای خارج از استان کرمان، پس از تفکیک نمونه‌های شهرهای تولید کننده شیر پاستوریزه نتایج در جدول ۲ آورده شده است. تفاوت در میزان آلودگی شیر پاستوریزه ما بین شهرهای تولید کننده شیر پاستوریزه معنی‌دار ارزیابی شد

جدول ۳- ارزیابی ریسک سلامتی شیر آلوده به آفلاتوکسین M1 مصرف شده در دو گروه بزرگسالان و کودکان

شاخص‌های ارزیابی ریسک سلامتی شیر پاستوریزه						
شهرستان رفسنجان			شهرستان کرمان			گروه سنی
HI	EDI	میانگین آلودگی	HI	EDI	میانگین آلودگی	
۰/۴۷	۰/۰۹	۳۴/۶۹	۰/۴۳	۰/۰۸	۳۱/۲۶	سالان بزرگ
۲/۲۲	۰/۴۴		۲	۰/۴۰		کودکان

آلودگی در ۳/۷ درصد از نمونه‌ها بیش از استاندارد ایران بود. در تحقیقی که توسط Tajkarimi و همکاران به مدت یک سال بر روی ۳۱۹ نمونه از ۱۵ کارخانه تحت پوشش شرکت پگاه

بحث
نتایج حاصل از بررسی میزان آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه عرضه شده در استان کرمان نشان داد که میزان

در سراسر کشور با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شد، ۵۴ درصد نمونه‌ها از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 مثبت گزارش شدند که میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M1 در ۱۱ نمونه پایش‌شده کارخانه پگاه کرمان، ۱۴ نانوگرم بر کیلوگرم و در محدوده ۶ تا ۶۸ نانوگرم بر کیلوگرم گزارش شده است [۲۶] که کم‌تر از میانگین نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر است. در پژوهشی دیگر Pour noormohammadi و همکاران ۲۴ نمونه شیر پاستوریزه کارخانه شیر پاستوریزه کرمان در فصل زمستان را مورد بررسی قرار دادند، که میانگین آلودگی در فصل زمستان ۶۴/۳ نانوگرم بر لیتر گزارش شده است و آلودگی در بیش از ۴۴/۷ درصد از نمونه‌ها بیش از ۵۰ نانوگرم بر کیلوگرم بود. که میزان آلودگی بیش از نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر است [۲۷]. نتایج پژوهش Mohajeri و همکاران بر روی ۴۷ نمونه شیر پاستوریزه در شهرستان رفسنجان نشان داد که میزان آفلاتوکسین M1 در ۹۵/۷ درصد از نمونه‌ها مثبت و در محدوده ۵۸/۱۳-۰/۸ نانوگرم بر کیلوگرم است که آلودگی به آفلاتوکسین در ۱/۲ درصد از نمونه شیر پاستوریزه بیش از حد مجاز در استاندارد ایران مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه ۱۳/۴۷ نانوگرم بر کیلوگرم ارزیابی شده است [۱۷]، که در مقایسه با نتایج به‌دست آمده نشان دهنده افزایش میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه شهر رفسنجان است.

اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر در فصل‌های تابستان و زمستان و در شهرستان‌های

کرمان و رفسنجان مشاهده نشد و علی‌رغم این‌که میانه آلودگی به آفلاتوکسین M1 در فصل زمستان بیش از فصل تابستان بود اما میانگین آلودگی در فصل زمستان کمتر از فصل تابستان ارزیابی شد که مشابه نتایج Nazari و همکاران در سنجش آلودگی شیر پاستوریزه شهرستان خرم‌آباد است [۲۸]. وجود شیر پاستوریزه تولید شده در استان‌های دیگر در سطح عرضه شهرستان رفسنجان و کرمان به دلیل محدود بودن کارخانه‌جات لبنی در این شهرها موجب شده تا تفاوت در عوامل جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و استراتژی‌های تغذیه‌ای متفاوت در هر منطقه باعث عدم معنی‌داری اثر فصل بر میزان آلودگی شیر پاستوریزه به آفلاتوکسین M1 گردد. پس از تفکیک منبع تولید شیر پاستوریزه تفاوت معنی‌داری در میزان آلودگی در شیر پاستوریزه تولید شده در مناطق مختلف مشاهده شد ($p=0/007$).

سطح بالای آلودگی به آفلاتوکسین (در شیر مناطق مختلف در ایران را) در تمام فصل‌های سال ممکن است به علت شرایط آب و هوایی و اقتصادی باشد. عوامل متعددی در آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 دخیل هستند [۲۹]. شرایط تغذیه و نگهداری متفاوت نهاده‌های دامی در مناطق مختلف کشور، به علاوه وضعیت آب و هوایی (دما و رطوبت منطقه) متفاوت در هر منطقه بر میزان تولید آفلاتوکسین B1 در خوراک دام تأثیر می‌گذارد [۳۳-۰۳]، که موجب می‌گردد تا میزان آلودگی به آفلاتوکسین در شیر در مناطق جغرافیایی مختلف، تغییر کند. مهم‌ترین عامل در مقدار آفلاتوکسین B1 در خوراک دام، دما و رطوبت هوا در فصل‌های مختلف سال است که در مناطق مختلف متفاوت است،

دانه‌های آلوده در ایران با توجه به نیمه صنعتی بودن اغلب واحدهای تولیدی، پیگیری نمی‌شود و در مناطق روستایی، کشاورزان خوراک خود را رشد و تهیه کرده و به مدت طولانی ذخیره می‌کنند و اکثر خوراک دام در انبارهای کوچک و سنتی ذخیره می‌شوند و سرمایه‌گذاری کم در کنترل آلودگی وجود دارد [۳۷]. با توجه به کنترل ضعیف میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌ها در خصوص شیر جمع-آوری شده؛ بنابراین، امکان شناسایی منبع آلودگی و اجرای سیاست‌های کنترل در سطح مزرعه امکان پذیر نمی‌باشد.

در مطالعات متعددی بیان شده است با وجودی که تفاوت دما و رطوبت در فصل‌های مختلف به‌خصوص در فصل زمستان مهم و مؤثر است، به نظر می‌رسد که کیفیت مواد اولیه مورد استفاده برای فرمولاسیون خوراک حیوانات اهمیت بیش‌تری داشته باشد که یکی از مهم‌ترین دلایل ایجاد شرایط نامناسب و بد برای تغذیه دام در مزرعه است. به عبارت دیگر، کیفیت بالا و تضمین ایمنی مواد غذایی که در فرمول خوراک دام به‌کار برده می‌شود، می‌تواند موجب تولید شیر با میزان کم آفلاتوکسین گردد [۳۶].

EDI محاسبه شده در این مطالعه از مقادیر به‌دست آمده در شهرهای اهواز (۰/۱۲) نانوگرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز)، بابل (۰/۲۸)، کرمانشاه (۳/۳۱) و ارومیه (۰/۲۱) کم‌تر است و از مقادیر به‌دست آمده در مطالعات پیشین برای شهرهای تهران (۰/۰۵)، میاندوآب (۰/۰۱) و همدان (۰/۰۳) بیش‌تر است [۲۲]. ارتباط بین خطر ابتلاء به سرطان کبد و قرار گرفتن در معرض آفلاتوکسین M1 به‌دلیل مصرف شیر و لبنیات توسط Kuiper-Goodman نشان داده شده است

دمای بالا (کپک‌ها در دمای کم‌تر از ۷/۵ درجه سانتی‌گراد و بیش‌تر از ۴۹ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد نمی‌باشد)، رطوبت (در اجزای جیره نباید بیش از ۱۴/۵ درصد باشد) و باران‌های غیر فصلی، برخی از فاکتورهایی هستند که باعث رشد قارچ و تولید سم آفلاتوکسین می‌شوند [۳۴]. افزایش میزان رطوبت از ۸ به ۱۲ درصد در غلات ممکن است منجر به تقویت رشد و نمو قارچی شود [۳۵]. زیرا برخی از گونه کپک‌ها مانند *Aspergillus* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* می‌توانند به راحتی در خوراک‌هایی با رطوبت بین ۱۳ تا ۱۸ درصد و رطوبت محیطی بین ۵۰ تا ۶۰ درصد رشد کنند [۳۴].

در دهه‌های اخیر ایران با تغییرات آب و هوایی مانند افزایش دمای حداقل و کاهش بارش سالانه مواجه است. در چنین وضعیتی، نیاز به تغذیه ذخیره شده، محدود به فصل خاصی نیست، زیرا ممکن است علوفه تازه حتی در فصل بهار نیز در دسترس نباشد. ایران هم‌چنین تحت تحریم اقتصادی شدید قرار گرفته است که باعث گردیده که از دهه گذشته ارزش مبادله ارز ایرانی را به میزان قابل توجهی کاهش دهد و با توجه به این‌که اکثر مواد تشکیل دهنده خوراک از کشورهای دیگر وارد می‌شوند؛ بنابراین، کشاورزان با محدودیت‌هایی در تأمین غذایی با کیفیت بالا برای حیوانات خود مانند علوفه و غلات مواجه هستند و حتی نان دور ریز را که اغلب به‌صورت نامناسبی در خانه‌ها خشک شده‌اند در دامداری‌های سنتی به دام می‌خوراند [۳۶]. پس از همه این موارد، سیاست‌های کنترل سطح آفلاتوکسین مانند خشک-کردن و فرآوری مناسب، حذف فعالیت حشرات و جدا سازی

[۲۳]. شاخص HI برای بزرگسالان در شهرستان کرمان و رفسنجان به ترتیب ۰/۴۳ و ۰/۴۷ و کم‌تر از یک ارزیابی شد. این نتایج حاکی از ریسک پایین در ابتلاء به سرطان کبد در نتیجه، مصرف شیر پاستوریزه در بزرگسالان در شهرستان‌های کرمان و رفسنجان است. این شاخص برای کودکان به ترتیب ۲ و ۲/۲۲ است هر چند که شاخص خطر آفرینی برای کودکان کم‌تر از عدد ۱۰ و نشان دهنده عدم وجود خطر آفرینی بالا و قابل توجه ناشی از مصرف شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین است. اما مقادیر بالاتر از ۱ محاسبه شده، نشان دهنده ریسک بالاتر از ۱ به ۱۰۰۰۰۰ را در ابتلاء به سرطان کبد در نتیجه مصرف شیر پاستوریزه در کودکان در شهرستان‌های کرمان و رفسنجان است. با توجه به محدودیت‌های مطالعه در خصوص تعداد نمونه‌ها، دوره زمانی نمونه‌برداری و برندهای بررسی شده در سطح عرضه، بررسی احتمال ابتلاء به سرطان کبد ناشی از مصرف آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه، نیاز به مطالعات مستمر و جامع‌تر دارد.

افزایش مصرف سرانه شیر به دلیل خصوصیات تغذیه‌ای مطلوب، در برنامه توسعه کشورهای مختلف گنجانده شده است. براساس گزارش سازمان جهانی خوار و بار و کشاورزی (FAO)، می‌توان ۱۵۰ کیلوگرم شیر در سال را به عنوان میانگین سرانه مصرف شیر در جهان ذکر کرد که این مقدار در کشورها و مناطق مختلف متغیر است. به‌عنوان مثال، در اروپای غربی، سرانه مصرف، بیش از ۳۰۰ کیلوگرم شیر در سال است در حالی‌که این مقدار در برخی کشورهای آفریقایی و آسیایی به کم‌تر از ۳۰ کیلوگرم (و حتی گاهی اوقات کم‌تر از ۱۰ کیلوگرم) می‌رسد [۳۸]. در این راستا، در

کشورهای اروپایی تقریباً روزانه ۱۵ درصد از مواد غذایی دریافتی حاوی شیر یا حداقل یکی از فرآورده‌های شیر هستند. مصرف شیر به واسطه خصوصیات تغذیه‌ای مفید آن برای کلیه گروه‌های سنی توصیه شده است اما نوزادان و افراد مسن به دلیل ضعف سیستم ایمنی و استعداد ابتلاء به عفونت‌ها به‌عنوان دو گروه اصلی مصرف‌کننده شیر ذکر شده‌اند [۳۹]. از طرف دیگر، وجود هر عنصر سمی مانند میکوتوکسین‌ها در شیر مصرفی توسط این دو گروه، نگرانی قابل توجهی را در بین همه محققان ایجاد کرده است [۴۰].

مصرف شیر در ایران در سال‌های گذشته کم‌تر از سرانه جهانی آن یعنی ۱۵۰ کیلوگرم بود که سیاست‌های تعیین‌شده در برنامه پنجم توسعه جهت افزایش سرانه شیر ایران تا ۱۵۰ کیلوگرم در سال باعث شد تا روند افزایشی در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ تا مرز ۹۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم ایجاد شود. پس از اجرایی شدن طرح هدفمند یارانه‌ها، یارانه اختصاص یافته به مصرف‌کنندگان حذف شده و این یارانه به تولیدکنندگان اختصاص نیافته و افزایش قیمت در این محصول استراتژیک رخ داد. به‌طوری‌که مصرف سرانه به میزان ۶۶ کیلوگرم کاهش یافته است. در برنامه توسعه ششم نیز افزایش سرانه تا ۱۶۰ کیلوگرم در نظر گرفته شده است. افزایش مصرف سرانه شیر و تحقق این برنامه مستلزم بهبود شرایط بهداشتی تولید و کاهش میانگین آلودگی به آفلاتوکسین در شیر است، زیرا اگر چه افزایش میزان مصرف سرانه، باعث افزایش این شاخص به بیش از عدد ۱۰ و ایجاد احتمال خطر آفرینی بالا و قابل توجه ناشی از مصرف شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین نمی‌گردد. اما موجب

خطراًفرینی مصرف شیر پاستوریزه برای کودکان در حد متوسط ارزیابی شد. اگر چه افزایش سرانه مصرف شیر در کشورمان باعث افزایش شاخص خطر آفرینی به بیش از عدد ۱۰ و ایجاد احتمال خطراًفرینی بالا و قابل توجه ناشی از مصرف شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین نمی‌گردد. اما موجب می‌شود تا شاخص خطراًفرینی ناشی از مصرف شیر پاستوریزه به بیش از یک (حد ایده آل) در بزرگسالان و کودکان افزایش یابد. که در نتیجه آن می‌تواند یک عامل خطر برای سلامت عمومی باشد. لذا سیاست‌گذاری در تأمین خوراک دام مطلوب و سالم و کنترل و پایش میزان آفلاتوکسین در خوراک دام و همچنین الزام کارخانجات لبنی در انجام آزمون آلودگی شیر دریافتی به آفلاتوکسین با روش‌های سریع، می‌تواند راه‌کارهایی جهت بهبود سلامت عمومی مصرف کنندگان باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با کد مصوب ۹۷۳۰۴ دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می‌باشد و به این وسیله از تمامی حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان نهایت تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

می‌گردد تا شاخص خطراًفرینی ناشی از مصرف شیر پاستوریزه به بیش از یک (حد ایده آل) در بزرگسالان و کودکان افزایش یابد. لذا با توجه به موارد ذکر شده لزوم مونیتورینگ میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 در طول زمان (در قالب طرحهایی مانند PMS) و ارزیابی ریسک خطر آفرینی جهت بررسی وضعیت موجود در مطالعات آتی، جهت اطمینان از سلامت مصرف کنندگان امری ضروری است.

نتیجه‌گیری

میانگین سطح آلودگی شیر پاستوریزه عرضه شده در بازار شهرستان‌های رفسنجان و کرمان به آفلاتوکسین M1، ۳۳/۲۷ نانوگرم بر لیتر ارزیابی شد که کم‌تر از حد مجاز در استاندارد ایران است. تفاوت معنی‌داری در میزان آلودگی به آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه توزیع شده در شهرستان کرمان و رفسنجان و فصل تولید شیر مشاهده نشد. اما تفاوت میزان آلودگی به آفلاتوکسین در شیر پاستوریزه تولید شده در مناطق جغرافیایی متفاوت (برندهای متفاوت) معنی‌دار ارزیابی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف شیر پاستوریزه برای بزرگسالان از ریسک پایین در ابتلاء به سرطان کبد ($HI < 1$) برخوردار است. در حالی‌که شاخص

References

- [1] Gigli I. Milk Proteins: From Structure to Biological Properties and Health Aspects: BoD-Books on Demand; 2016.
- [2] Yildirim E, Ilina L, Laptev GY, Zaitsev SY. Influence of Zaslon®-Fito enterosorbent of mycotoxins on rumen microbiome and

- productivity of dairy cows. *Agricultural Biology* 2019; 54(6): 1144-53.
- [3] Tudu S, Ranjan A, Kumari P, Choudhary A. Aflatoxin M1 in Milk of Cow in Relation to Lactation Period and Yields. *IJRESM* 2020; 3(10): 107-10.
- [4] Van der Fels-Klerx H, Vermeulen L, Gavai A, Liu C. Climate change impacts on aflatoxin B1 in maize and aflatoxin M1 in milk: A case study of maize grown in Eastern Europe and imported to the Netherlands. *PLoS One* 2019; 14(6): 1-14.
- [5] Hussain I, Anwar J, Asi MR, Munawar MA, Kashif M. Aflatoxin M1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food control* 2010; 21(2): 122-4.
- [6] Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini H. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *FCT* 2010; 48(1): 129-31.
- [7] Set E, Erkmen O. The aflatoxin contamination of ground red pepper and pistachio nuts sold in Turkey. *FCT* 2010; 48(8-9): 2532-37.
- [8] Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology letters* 2002; 127(1-3): 19-28.
- [9] ISIRI. Mycotoxins maximum permissible level in food and feed. . 1st Revision of standard number 5925. <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/5925.pdf>: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 2009.[Farsi]
- [10] Rasti-Ardakany M, Ranjbari AR, Hydari MR. Aflatoxin M1 Contamination Rate in Pasteurized Milk in Isfahan City, Iran. *JHSR* 2018; 14(2): 265-271. [Farsi]
- [11] Ali Nia F, Babae Z. Determination of aflatoxin M1 in Mazandaran Province at the first half of 1390. *JMUMS* 2012; 22(93): 40-6.
- [12] Behfar A, Khorasgani ZN, Alemzadeh Z, Goudarzi M, Ebrahimi R, Tarhani N. Determination of Aflatoxin M1 levels in produced pasteurized milk in Ahvaz City by using HPLC. *JJNPP* 2012; 7(2): 80.
- [13] Maktabi S, Hajikolaie M, Ghorbanpour M, Pourmehdi M. Determination of aflatoxin M1 in UHT, pasteurized and GSM milks in Ahvaz (south-west of Iran) using Elisa. *GV* 2011; 7(1): 31-4.
- [14] Rahimi E, Mohammadhosseini Anari M, Alimoradi M, Rezaei P, Arab M, Goudarzi M.

- Aflatoxin M1 in pasteurized milk and white cheese in Ahvaz, Iran. *GV* 2012; 9(4): 384-7.
- [15] 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): 7-10.
- [16] Rohani FG, Aminae MM, Kianfar M. Survey of aflatoxin M1 in cow's milk for human consumption in Kerman Province of Iran. *FAC: Part B* 2011; 4(3): 191-4.
- [17] Mohajeri A, Mohajeri F, Amiri A, Khorramdel Azad H, Ahmadi Z, Asadollahi Z, et al. Occurrence of aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk produced in Rafsanjan, Iran. *Journal of Community Health Research* 2015;4(3):215-9.
- [18] Mohajeri FA, Ghalebi SR, Rezaeian M, Gheisari HR, Azad HK, Zolfaghari A, et al. Aflatoxin M1 contamination in white and Lighvan cheese marketed in Rafsanjan, Iran. *Food Control* 2013; 33(2): 525-7.
- [19] Patyal A, Gill JPS, Bedi JS, Aulakh RS. Potential risk factors associated with the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced under different farm conditions. *JESH, Part B* 2020; 55(9): 827-34.
- [20] Khaneghahi Abyaneh H, Bahonar A, Noori N, Yazdanpanah H, Shojaee Aliabadi MH. Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and UHT milk marketed in Iran. *FAC: Part B* 2019; 12(4): 236-44.
- [21] Rahmani J, Alipour S, Miri A, Fakhri Y, Riahi S-M, Keramati H, et al. The prevalence of aflatoxin M1 in milk of Middle East region: A systematic review, meta-analysis and probabilistic health risk assessment. *FCT* 2018;118: 653-66.
- [22] Pardakhti A, Maleki S. Risk Assessment of Aflatoxin M1 Contamination of Milk in Iran. *IJER* 2019; 13(2): 265-71.
- [23] Kuiper-Goodman T. Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. *CJPP* 1990; 68(7): 1017-24.
- [24] Nabizadeh S, Shariatifar N, Shokoohi E, Shoeibi S, Gavahian M, Fakhri Y, et al. Prevalence and probabilistic health risk assessment of aflatoxins B 1, B 2, G 1, and G 2 in Iranian edible oils. *ESPR* 2018; 25(35): 35562-70.
- [25] Eurachem Guide; The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd ed.; LGC (Teddington) Ltd.: Teddington, UK, 2014.

- Available at aflatoxin M1 contamination of raw milk with special focus on climate conditions in Serbia. *JSFA* 2019; 99(11): 5202-10.
- <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>, accessed in March 2017.
- [26] Tajkarimi M, Aliabadi-Sh F, Nejad AS, Poursoltani H, Motallebi A, Mahdavi H. Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *FC* 2008; 19(11): 1033-36.
- [27] Pour noormohammadi Sh, Ansari M, Nezakati Alfata L. Determination of aflatoxin m1 in pasteurized milk consumed in kerman province. *JKUMS* 201; 16(3): 271-80.[Farsi]
- [28] Nazari A, Nourouzi H, Movahedi M, Khaksarian M. Measurement of aflatoxin m1 in raw and pasteurized cow milk samples by HPLC. *YAFTEH* 2007; 9(3): 49-56. [Farsi]
- [29] Doster M, Michailides T. Aspergillus molds and aflatoxins in pistachio nuts in California. *PP* 1994; 84(6): 583-90.
- [30] Moretti A, Pascale M, Logrieco AF. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *TFST* 2019; 84: 38-40.
- [31] Milićević D, Petronijević R, Petrović Z, Đjinović-Stojanović J, Jovanović J, Baltić T, Janković S. Impact of climate change on
- [32] Shekhar M, Singh N, Bisht S, Singh V, Kumar A. Effects of Climate Change on Occurrence of Aflatoxin and its Impacts on Maize in India. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2018; 7(6): 109-16.
- [33] Yu J, Wu F, Hennessy DA. The impact of climate change on aflatoxin contamination in US corn. Annual Meeting, August 5-7, Washington, D.C., Agricultural and Applied Economics Association; 2018.
- [34] Gizachew D, Chang C-H, Szonyi B, De La Torre S, Ting W-tE. Aflatoxin B1 (AFB1) production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* on ground Nyjer seeds: The effect of water activity and temperature. *IJFM* 2019; 296: 8-13.
- [35] Udomkun P, Tirawattanawanich C, Ilukor J, Sridonpai P, Njukwe E, Nimbona P, Vanlauwe B. Promoting the use of locally produced crops in making cereal-legume-based composite flours: An assessment of nutrient, antinutrient, mineral molar ratios, and aflatoxin content. *FC* 2019; 286: 651-8.
- [36] Ansari F, Pourjafar H, Christensen L. A study on the aflatoxin M1 rate and seasonal variation in

- pasteurized cow milk from northwestern Iran. *EMA* 2019; 191(1): 6-12.
- [37] Alizadeh-Choobari O, Najafi M. Extreme weather events in Iran under a changing climate. *CD* 2018; 50(1-2): 249-60.
- [38] FAO. Gateway to dairy production and products. Milk and milk products <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/en/>. 2017.
- [39] Ismail A, Akhtar S, Levin RE, Ismail T, Riaz M, Amir M. Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. *CRM* 2016; 42(3): 418-27.
- [40] Ismail A, Levin RE, Riaz M, Akhtar S, Gong YY, de Oliveira CA. Effect of different microbial concentrations on binding of aflatoxin M1 and stability testing. *FC* 2017; 73: 492-6.

Evaluation of Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurized Milk in Kerman and Rafsanjan Cities in 2019: A Descriptive Study

L. Sotoodeh¹, A. Dini², M. Rezaeian³, A. Esmaili⁴, A. Asgarian⁵

Received:01/08/2020 Sent for Revision: 26/08/2020 Received Revised Manuscript:29/11/2020 Accepted: 02/12/2020

Background and Objectives: Aflatoxins are known as causative factors of hepatic and extra-hepatic carcinogenesis within humans. Aflatoxin B1 enters the animal body through contaminated feed and is partially secreted in milk after being metabolized in the liver to aflatoxin M1 (AFM1). The aim of this study was to determine the amount of aflatoxin M1 to evaluate the quality status of pasteurized milk.

Materials and Methods: This descriptive study was performed to determine the occurrence of AFM1 in 39 pasteurized milk samples collected during winter and summer 2019 in Kerman and Rafsanjan cities. Aflatoxin analysis was carried out by high-performance liquid chromatography. The non-parametric Mann–Whitney U and Kruskal–Wallis H tests were used to analyze data.

Results: Aflatoxin M1 was detected in 100% of the pasteurized milk ranging from 5.41 to 125.37 ng/l. Toxin levels in 2.6% (1 sample) and 17.9% (7 samples) of the pasteurized milk samples exceeded the Iranian national standard (100 ng/L) and EU (50 ng/L) limit, respectively. The mean concentration of aflatoxin in pasteurized milk samples produced in various regions was significantly different ($p < 0.05$). The carcinogenic risk assessment of AFM1 in milk was estimated, indicating that adult consumers in Kerman and Rafsanjan city are not at considerable cancer risk ($HI < 1$). However, it was not the case for children ($1 < HI < 10$).

Conclusion: Large amount of AFM1 in milk samples might be a potential hazard for the public health. Thus, analyzing and reducing the levels of AFB1 in animal feedstuffs and AFM1 in raw milk delivered by dairy factories can be regarded as the initial step to control the transfer of AFM1 to humans.

Key words: Aflatoxin M1, Milk, High Pressure Liquid Chromatography, Carcinogenic Risk assessment

Funding: This study was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study (IR.RUMS.REC.1398.014).

How to cite this article: Sotoodeh L, Dini A, Rezaeian M, Esmaili A, Asgarian A. Evaluation of Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurized Milk in Kerman and Rafsanjan Cities in 2019: A Descriptive Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2021; 19 (11): 1163-78 [Farsi]

1- MSc Student of Food Sciences and Technology, Rafsanjan Institute of Kar, Rafsanjan, Iran, ORCID: 0000-0002-4679-530X

2- Assistant Prof., Pistachio Safety Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, ORCID: 0000-0002-1856-1629

(Corresponding Author): Tel: (034) 34282703, Fax: (034) 34282706, E-mail: a.dini@rums.ac.ir

3- Prof., Dept. of Epidemiology and Biostatistics, Occupational Environmental Research Center, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, ORCID: 0000-0003-3070-0166

4- Associate Prof., Occupational Environmental Research Center, Dept. of Environmental Health Engineering, School of Health, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, ORCID: 0000-0002-4321-5947

5- MSc in Analytical Chemistry, Food and Drug Control Laboratory, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, ORCID: 0000-0002-3883-5949