

شناسایی میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در چند نوع تجاری از پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران

آزاده کسایی¹، حمید توکلی پور²

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران. پست الکترونیکی: h.tavakolipour@gmail.com

تاریخ پذیرش: 96/8/4

تاریخ دریافت: 96/4/24

چکیده

سابقه و هدف: آفلاتوکسین M₁ یک عامل سرطان‌زای کبدی بوده که در شیر دام‌های تغذیه شده با خوراک آلوده به آفلاتوکسین B₁ یافت می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین کمی و کیفی میزان آفلاتوکسین M₁ در چند نوع پنیر موزارلای تجاری تولید شده در ایران است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش به منظور ارزیابی میزان آلودگی پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران به سم آفلاتوکسین M₁، از نمونه‌های تجاری این محصول که در بازار موجود بودند طبق استاندارد ملی ایران به شماره 18545 نمونه‌برداری انجام شد. سپس میزان آفلاتوکسین M₁ توسط روش HPLC مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت آنالیز آماری داده‌ها از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح اطمینان 95 درصد انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین شرکت‌های مختلف تولیدکننده پنیر موزارلا اختلاف آماری قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد ($p > 0/05$) و میزان آفلاتوکسین M₁ در برندهای تجاری (نشان) پگاه گلپایگان (برند A)، سیرت (برند B)، دالیا (برند C)، رامک (برند D) و 202 (برند E) به ترتیب $0/0163 \text{ ng/g} \pm 0/0473$ ، $0/0225 \text{ ng/g} \pm 0/00354$ ، $0/068 \text{ ng/g} \pm 0/0341$ ، $0/0345 \text{ ng/g} \pm 0/0064$ و $0/0707 \text{ ng/g} \pm 0/0355$ بود که مقدار آفلاتوکسین M₁ در آن کمتر از بیشینه رواداری تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران است.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در حال حاضر پنیرهای موزارلای تولید شده توسط شرکت‌های یاد شده عاری از آفلاتوکسین M₁ بوده و مطابق با حد مجاز مشخص شده توسط استاندارد ملی ایران می‌باشد.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین، آفلاتوکسین M₁، پنیر موزارلا، میکوتوکسین

• مقدمه

گردد. با توجه به اهمیت مصرف شیر و فرآورده‌های آن در سلامت انسان، به ویژه فرآورده‌های لبنی از نظر میزان آلاینده‌ها توجه خاص شده است (1). به دلیل نبود اطلاعات در نحوه توزیع آفلاتوکسین M₁ در پنیرهای موزارلای تولیدی در ایران لازم شد که وضعیت آلودگی در این محصول مورد پایش قرار گیرد. پنیر موزارلا مهم‌ترین پنیر از خانواده پاستافیلاتا محسوب می‌شود. پاستافیلاتا به زبان ایتالیایی به پنیرهای نرم و کشدار اطلاق می‌شود که تکنولوژی ساخت و مصرف این نوع پنیرهای کشدار از ویژگی‌های خاصی برخوردار است (2). تاکنون پژوهش‌های مختلفی در زمینه اندازه‌گیری آفلاتوکسین در فرآورده‌های لبنی صورت گرفته است که در ادامه به

آفلاتوکسین‌ها گروهی از سموم قارچی (مایکوتوکسین) است که تحت شرایط مناسبی از دما و رطوبت و با وجود بستره (سوبسترای) مناسب می‌تواند در خوراک انسان و دام ایجاد آلودگی نماید. با آلوده شدن خوراک دام به آفلاتوکسین B₁ (AFB₁) شاهد شناسایی باقیمانده نامطلوبی تحت عنوان آفلاتوکسین M₁ (AFM₁) در شیر خام خواهیم بود. آفلاتوکسین M₁ حاصل متابولیت ثانویه آفلاتوکسین B₁ در بدن نشخوارکنندگان است. مایکوتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین در انسان و حیوان ایجاد بیماری‌های حاد و مزمن می‌نماید. نگرش‌های غیر علمی بر اهمیت سموم قارچی می‌تواند خطر جدی برای بهداشت عمومی جامعه محسوب

در این مطالعه به بررسی غلظت آفلاتوکسین M1 در چند برند پنیر موزارای تولید شده در ایران پرداخته شد و نتایج به دست آمده با استاندارد ملی ایران مقایسه گردید.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی ماده اولیه: به منظور بررسی میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در پنیر موزارای تولید شده در ایران، چند نوع تجاری این پنیر از بازار محلی تهیه گردید. تاریخ‌های نمونه‌برداری این پنیرها بین تیر تا شهریور ماه سال 1395 بود. نام تجاری نمونه‌های پنیر موزارای تهیه شده شامل پگاه گلپایگان (برند A)، سیرت (برند B)، دالیا (برند C)، رامک (برند D) و 202 (برند E) که به ترتیب در شرکت‌های شیر پاستوریزه پگاه گلپایگان، سامان گلپا، شرکت دالیا، شرکت رامک و پاک تلیسه تولید شدند. لازم به ذکر است که از هر کدام از نشان‌های پنیر مورد بررسی 3 نمونه تهیه گردید و مورد آزمایش قرار گرفت. در نهایت نتایج به دست آمده در خصوص میزان آلودگی به سم آفلاتوکسین M1 با استاندارد ملی ایران به شماره 18545 مورد مقایسه قرار گرفت (8).

ارزیابی آفلاتوکسین M1

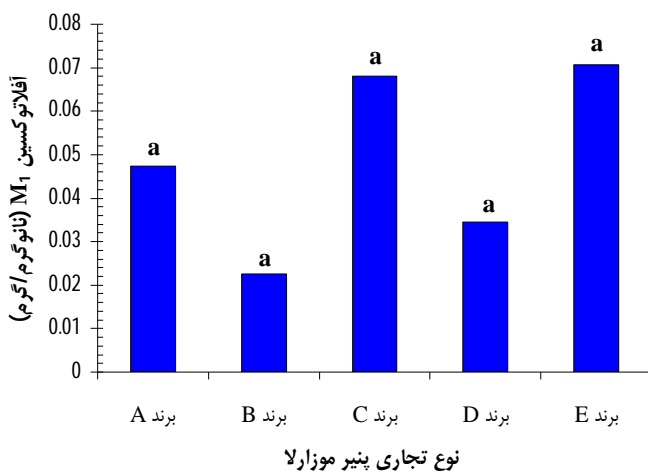
استخراج آفلاتوکسین M1 آزاد: مقدار 10 گرم از نمونه را به همراه 10 گرم سلیت توزین و به مخزن مخلوط‌کن منتقل گردید. سپس 80 میلی‌لیتر دی کلرو متان به مخزن مخلوط‌کن افزوده شد و به مدت 3 دقیقه ورتکس گردید. عصاره به دست آمده بلافاصله از کاغذ صافی با قطر روزه 30 میکرون عبور داده شد. سپس نمونه‌ها به فالكون‌های دستگاه سانتریفوژ منتقل شده و به مدت 10 دقیقه در سرعت 3000 سانتریفوژ گردید. 10 میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی از ستون ایمونوآفینیتی (Alfa Test, v-cam, آمریکا) عبور داده شد. سپس ستون ایمونوآفینیتی با استفاده از 10 میلی‌لیتر از فسفات بافر سالین (PBS) شستشو شده و در دمای اتاق خشک شد. 1 میلی‌لیتر استونیتریل از ستون ایمونوآفینیتی عبور داده شد. این عمل، آنتی ژن را از آنتی بادی جدا می‌نماید. این عصاره را در لوله آزمایش جمع‌آوری و لوله‌ها در خشک‌کن تحت خلاء (Memmert, آلمان) قرار گرفت تا عصاره به دست آمده در دمای 50°C کاملاً خشک شود. برای انحلال مجدد عصاره خشک شده از 500 میکرولیتر استونیتریل 25% (فاز متحرک) استفاده شد و برای انحلال بهتر عصاره خشک شده از دستگاه فراصوت (Starsonic, Liarre, 60 ساخت ایتالیا) استفاده شد و سپس با استفاده از ورتکس، انحلال کامل صورت گرفت. نمونه آماده تزریق به دستگاه HPLC در ویال نگهداری شد (8).

مواردی از آنها اشاره می‌شود. نوروزبایی و همکاران میزان آفلاتوکسین M1 را در پنیرهای سفید و پروبیوتیک مورد مقایسه قرار دادند. میزان آفلاتوکسین M1 در پنیر سفید و پروبیوتیک برند A به ترتیب 71/91 و 29/52 ppt تعیین شد. در مورد برند B میانگین آفلاتوکسین M1 در پنیر سفید و پروبیوتیک به ترتیب 177/65 و 131/51 ppt تشخیص داده شد. همچنین اختلاف میانگین آفلاتوکسین M1 در پنیر سفید معمولی (130/35 ppt) و پروبیوتیک (92/28 ppt) معنی‌دار بود ($p < 0/05$). نتایج آنها نشان داد که میزان آفلاتوکسین M1 در پنیر پروبیوتیک نسبت به سفید معمولی کمتر است (3). سرلک و همکاران تأثیر سوش‌های (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم)، مقدار تلقیح و فیزیولوژی پروبیوتیک‌ها و pH نهایی تخمیر را روی کاهش مقدار آفلاتوکسین M1 آزاد در دوغ بررسی نمودند. نتایج نشان داد که تیمار حاوی ل.اسیدوفیلوس نسبت به سوش‌های پروبیوتیک دیگر بیشترین کاهش آفلاتوکسین M1 آزاد را طی تخمیر و نگهداری یخچالی داشت. همچنین تیمار با pH نهایی تخمیر بالاتر (4/5) نسبت به تیمار با pH نهایی 4/2 در روزهای 14 و 28 نگهداری، به طور معنی‌داری آفلاتوکسین M1 آزاد بیشتری را کاهش داد (4). علی‌داده و همکاران تأثیر آغازگر (استارتر) ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی را بر روی کاهش میزان آفلاتوکسین M1 در ماست مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M1 به ترتیب با استارتر YC-280 و Casei-431 L. 94/35% و 94/15% بود. آنها گزارش نمودند که استارتر ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند به عنوان یک روش ایمن در آفلاتوکسین‌زدایی از ماست عمل نماید (5). کوهیان و همکاران (1390) میزان آفلاتوکسین B1 و M1 را در تعدادی از مواد غذایی موجود در انبارهای مواد غذایی یگان‌های نزاچا در استان تهران مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش نمودند که 21/25% از نمونه‌های پنیر و 5/62% از نمونه‌های ماست به آفلاتوکسین آلوده بودند (6). رحیمی و همکاران (1390) میزان آفلاتوکسین M1 را در پنیر سفید ایرانی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که 64/3% از پنیرهای مورد بررسی آلوده به آفلاتوکسین M1 بود که غلظتی مابین 44 تا 719 ng/kg داشتند. میانگین سطح آفلاتوکسین در نمونه‌های آلوده 218/8 ng/kg بود. غلظت آفلاتوکسین M1 در 14/3% از نمونه‌ها بیش از حداکثر رواداری تعیین شده (250 ng/kg) در کشورهای اروپایی به دست آمد (7).

• یافته‌ها

در مطالعه حاضر میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در چند نمونه تجاری پنیر موزارلا تولید شده در ایران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به تجزیه واریانس میزان آفلاتوکسین M₁ پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران در جدول (1) گزارش شده است. نتایج نشان داد که بین میزان آفلاتوکسین M₁ شرکت‌های مختلف تولیدکننده هیچ تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$).

نتایج مقایسه میانگین میزان آفلاتوکسین M₁ در بین نمونه‌های تجاری مختلف پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران در شکل (2) ارائه شده است. با توجه به اینکه نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که هیچ تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین میزان آلودگی به سم آفلاتوکسین M₁ پنیرهای موزارلای مختلف تولید شده در ایران وجود ندارد، با این حال بیشترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در برند تجاری E مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که کمترین میزان این سم مربوط به برند تجاری A بود.

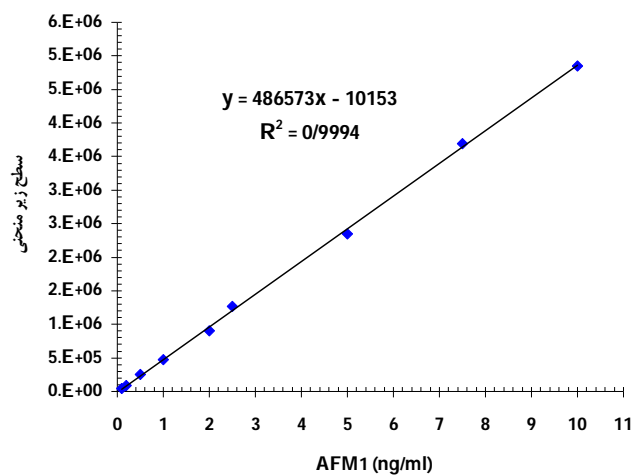


شکل 2. نتایج مقایسه میانگین میزان آلودگی چند نوع تجاری از پنیرهای موزارلا تولید شده در ایران به سم آفلاتوکسین M₁.

نتایج تجزیه واریانس مربوط به مقایسه میزان آفلاتوکسین M₁ در چند نمونه تجاری پنیر موزارلا تولید شده در ایران با استاندارد ملی ایران در جدول (2) گزارش شده است. نتایج نشان داد که بین میزان آفلاتوکسین M₁ نمونه‌های تجاری پنیر موزارلای تولید شده در ایران با استاندارد ملی ایران تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/01$).

اندازه‌گیری آفلاتوکسین M₁ آزاد: به منظور اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M₁ آزاد موجود در پنیر موزارلا، 200 میکرولیتر از عصاره حل شده در فاز متحرک (استونیتریل 25%) به دستگاه HPLC (Waters Alliance، مدل 2695، ساخت آمریکا) مجهز به شناساگر فلورسنس (Waters Alliance، مدل 474، ساخت آمریکا) و فاز معکوس (Chromolith Performance RP-18 endcapped 100 x 2) تزریق شد. سرعت جریان فاز متحرک 1 ml/min و زمان بازداری آفلاتوکسین M₁ بین 3 تا 4 دقیقه بود. همچنین طول موج برانگیختگی 360 نانومتر و طول موج نشر 435 نانومتر تنظیم گردید. حد تشخیص این روش در حد 0/003 ppb بود. (8).

رسم منحنی استاندارد: برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلفی از استاندارد آفلاتوکسین M₁ (0/02 تا 10 ppb) استفاده گردید. جهت تهیه استاندارد آفلاتوکسین M₁ از مخلوطی از حلال‌های آب مقطر، استونیتریل و متانول به ترتیب با نسبت‌های 6، 2، و 2 استفاده شد که از مخلوط فوق جهت تهیه غلظت‌های یاد شده استفاده گردید و سپس منحنی استاندارد رسم و معادله خط رگرسیون به دست آمد (شکل 1).



شکل 1. منحنی استاندارد آفلاتوکسین M₁ (غلظت‌های مختلف استاندارد آفلاتوکسین M₁ از 0/02 تا 10 ppb).

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح اطمینان 95 درصد انجام گرفت. جهت آنالیز آماری از نرم افزار Statistix نسخه 8 استفاده گردید.

جدول 1. نتایج تجزیه واریانس میزان آفلاتوکسین M1 در پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران.

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	آماره F	آماره p
نمونه تجاری پنیر موزارلا	4	0/00423	0/00106	1/56	0/2738 ^{n.s}
خطا	8	0/00542	0/00068	-	-
کل	12	-	-	-	-

**معنی دار در سطح آماری 1%، *معنی دار در سطح آماری 5% و ^{n.s} غیر معنی دار.

جدول 2. نتایج تجزیه واریانس مقایسه میزان آفلاتوکسین M1 در چند نوع تجاری از پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران با استاندارد ملی.

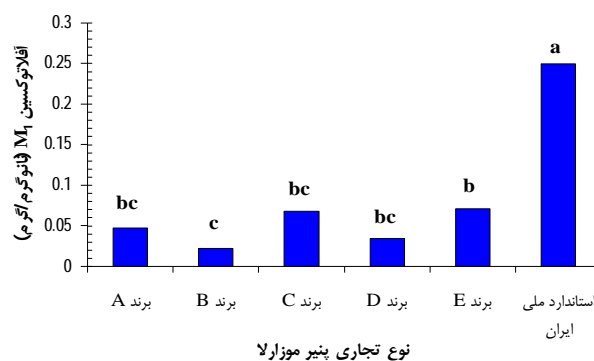
منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	آماره F	آماره p
نمونه تجاری پنیر موزارلا	5	0/10009	0/02002	36/94	0/0000**
خطا	10	0/00542	0/00054	-	-
کل	15	-	-	-	-

**معنی دار در سطح آماری 1%، *معنی دار در سطح آماری 5% و ^{n.s} غیر معنی دار.

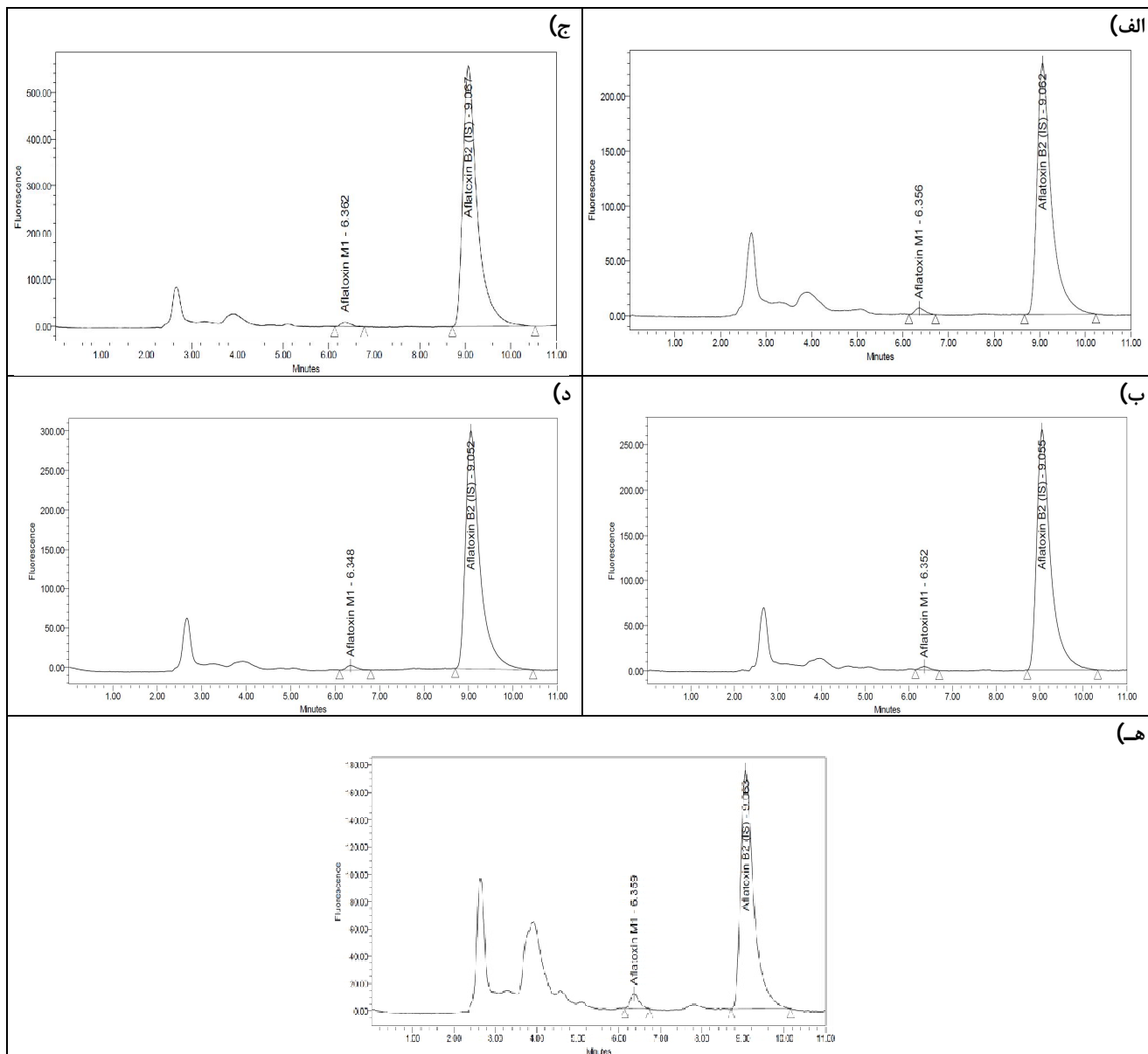
• بحث

آفلاتوکسین AFM₁ یکی از مشتقات هیدروکسیله خطرناک AFB₁ است. اگر چه AFM₁ 10 برابر کمتر از AFB₁ خاصیت سرطان زایی و موتاژنی دارد، اما آژانس بین المللی تحقیقات سرطان، آفلاتوکسین AFM₁ را در گروه 1 مواد سرطان زا طبقه بندی نموده است (9، 10). نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که بین میزان آفلاتوکسین M₁ شرکت های مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). با این حال بیشترین میزان آفلاتوکسین M₁ مربوط به برند تجاری E بود (مقدار آفلاتوکسین M₁ حدوداً 0/071 ng/g). نوروزبایی و همکاران (1394) میزان آفلاتوکسین M₁ را در پنیرهای سفید و پروبیوتیک مورد بررسی و مقایسه قرار دادند. آنها میزان آفلاتوکسین M₁ را در هر دو نوع پنیر در دامنه 0/029 تا 0/177 ng/g گزارش نمودند که نتایج به دست آمده در این پژوهش را تأیید می نماید. همچنین آنها بیان نمودند که میزان آفلاتوکسین M₁ در پنیر پروبیوتیک نسبت به پنیر سفید حدوداً 30% کمتر است که این حالت احتمالاً به دلیل نقش آفلاتوکسین زدایی باکتری های پروبیوتیکی می باشد (3). فلاح و همکاران (2009) در پژوهشی به مطالعه میزان آلودگی پنیر سفید و خامه ای به سم آفلاتوکسین M₁ پرداختند. نتایج آنها نشان داد که میزان آلودگی به این سم در دامنه 0/052 تا 0/785 ng/g بود (11).

مقایسه میانگین میزان آفلاتوکسین M₁ در چند نمونه تجاری از پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران با استاندارد ملی در شکل (3) ارائه شده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بیشترین میزان آفلاتوکسین M₁ مربوط به استاندارد ملی ایران بود. نتایج نشان داد که بین برند E با برندهای A، C و D تفاوت آماری قابل ملاحظه مشاهده نشد. همچنین، نتایج نشان داد که بین برند B با برندهای A، C و D نیز تفاوت آماری قابل ملاحظه دیده نشد. به علاوه، نتایج حاکی از آن بود که بین برندهای A، C و D تفاوت آماری قابل ملاحظه مشاهده نشد. لازم به ذکر است که کلیه کروماتوگرام های مربوط به میزان آفلاتوکسین M₁ در نمونه تجاری پنیرهای موزارلای تولید شده در ایران در شکل (4) ارائه شده است.



شکل 3. میزان آلودگی چند نوع تجاری از پنیرهای موزارلا تولید شده در ایران به سم آفلاتوکسین M₁ و مقایسه آن با استاندارد ملی ایران



شکل 4. کروماتوگرام های مربوط به آنالیز آفلاتوکسین M_1 در پنیر موزارلا: (الف) برند A، (ب) برند B، (ج) برند C، (د) برند D، (ه) برند E

نتیجه مصرف علوفه سالم و بدون کپک توسط دام است. با توجه به این یافته ها مشاهده می شود که شرکت های تولیدکننده پنیر موزارلا مورد بررسی از شیر سالم و فاقد آفلاتوکسین در تهیه پنیر موزارلا استفاده نموده اند. همچنین با توجه به اینکه نمونه برداری مربوط به نیمه اول سال بوده است و در این فصل از سال دام در چراگاه ها از چمن و علوفه سبز تغذیه نموده و بر خلاف فصل زمستان که به دلیل کمبود و یا عدم دسترسی خوراک سبز تازه، دام از مواد کنسانتره مانند ذرت، گندم و پنبه دانه تغذیه می کند، بنابراین احتمال وجود این سم به مراتب کاهش می یابد. علاوه بر این نگهداری علوفه دام در شرایط نامناسب محیطی سبب رشد قارچ مولد سم

در مقایسه میانگین مقدار آفلاتوکسین M_1 در پنیرهای موزارلا تولید شده در شرکت های مختلف با استاندارد ملی ایران مشاهده شد که تمامی نمونه های پنیر مورد بررسی، دارای آلودگی کمتری نسبت به بیشینه رواداری ذکر شده در استاندارد ملی ایران (بیشینه رواداری این سم مطابق استاندارد ملی ایران 0/25 ng/g) بودند. بنابراین پنیرهای مورد آزمون از نظر حد مجاز آلودگی با استاندارد ملی ایران مطابقت داشته و میزان آفلاتوکسین M_1 در آنها کمتر از 0/25 ng/g گزارش گردید (12). با توجه به یافته های فوق می توان چنین استنباط کرد که شیر مورد استفاده در تهیه پنیرهای موزارلا از نظر آلودگی به سم آفلاتوکسین M_1 سالم بوده که این حالت در

توجه به اینکه مؤثرترین روش برای کاهش سطح AFM_1 در محصولات لبنی، کاهش میزان AFB_1 در خوراک دام می‌باشد، لذا پیشنهاد می‌گردد تا با روش‌های مختلف نظیر نگهداری علوفه و خوراک دام در سیلوهای مناسب و مهندسی ساز در شرایط بهینه دما و رطوبت نسبی و در نتیجه تغذیه دام با علوفه سالم، میزان AFB_1 دریافتی توسط دام را کاهش داد و نهایتاً محصولات لبنی سالم به خصوص برای مصرف گروه‌های سنی حساس مانند سالمندان و کودکان به بازار عرضه نمود. همچنین پایش مداوم شیرهای خام ورودی به کارخانجات نیز امری ضروری است که مستلزم پیگیری‌های مسئولین ذیربط می‌باشد.

با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مواد غذایی مورد مصرف دام‌ها یکی از مهم‌ترین منابع آلودگی به سموم آفلاتوکسین به ویژه آفلاتوکسین B_1 است (که در اثر هیدورکسیله شدن تولید متابولیت M_1 را می‌نماید) که در صورت آلوده بودن می‌بایست با بازرسی و پایش‌های لازم آنها را شناسایی و از چرخه مصرف خارج نمود. همچنین شرایط نگهداری مواد غذایی نیز از اهمیت بالایی برخوردار است که می‌بایست از نظر وجود عوامل محرک تولید این سم کاملاً تحت کنترل باشد و نهایتاً مواد غذایی مصرفی دام‌ها و شیر باید به صورت دوره‌ای منظم و مورد بررسی و بازرسی قرار گیرد.

به طور کلی با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل آفلاتوکسین M_1 مشخص شد که در بین انواع نشان‌های تجاری پنیر موزارای مورد بررسی میزان آلودگی به سم آفلاتوکسین M_1 کمتر (حداکثر مقدار $0/071$ ppb) از بیشینه رواداری مجاز اعلام شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره 5925 بود (حداکثر مقدار $0/25$ ppb) که بیانگر راهکارهای کنترلی دقیق شرکت‌های فوق از لحاظ تهیه ماده اولیه سالم است. با توجه به نتایج فوق می‌توان چنین بیان نمود که در حال حاضر برندهای پنیر موزارای مورد بررسی از لحاظ کیفیت در سطح استانداردهای ملی بوده و فعلاً هیچ خطری برای مصرف‌کنندگان این نشان‌ها برای مصرف‌کننده در بر ندارد.

آسپرژیلوس نموده که متعاقباً با ایجاد آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام و انتقال آن به شکل M_1 به شیر دام، همراه است (13). دمای هوای 22 تا $35^\circ C$ و فعالیت آبی $0/95$ تا $0/98$ شرایط مناسبی را جهت رشد آسپرژیلوس فراهم می‌نماید. علاوه بر رطوبت و دما، پارامترهای دیگری مانند pH خوراک و تخریب مکانیکی آن نیز در رشد قارچ‌ها نقش دارند (14). با توجه به این که کیفیت شیر دریافتی، مهم‌ترین عامل تأثیرگذار بر میزان آلودگی محصولات شرکت‌های لبنیاتی به AFM_1 است، بنابراین کارخانجات باید برای بهبود کیفیت محصولات خود از پذیرش شیرهای آلوده خودداری کنند. میزان آلودگی شیرهای مورد استفاده از دامداری‌های مختلف، علت اختلاف آلودگی در برند های مختلف می‌باشد. این امر در مواردی به علت موقعیت جغرافیایی کارخانه و فصول مختلف تولید محصول می‌باشد. زیرا شرایط اقلیمی دام‌های شیری بر میزان آلودگی شیر آنها مؤثر است، چنانچه مطالعه Galvanov و همکاران (1996) نیز نشان داد میزان AFM_1 شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در نقاط مختلف تحت تأثیر عواملی نظیر شرایط جغرافیایی و فصلی قرار می‌گیرد (15). در مطالعه‌ای Ardi و همکاران (2009) به بررسی میزان آلودگی پنیر سفید به سم آفلاتوکسین M_1 پرداختند. نتایج آنها نشان داد که میزان این سم در جامعه آماری مورد مطالعه بین $0/052$ تا $0/860$ ng/g بوده است. آنها گزارش نمودند که میزان این سم در $26/4\%$ از جامعه آماری مورد مطالعه بیش از حد مجاز سازمان جهانی کدکس غذایی است (16). بنابراین به طور کلی می‌توان چنین عنوان نمود که غلظت بالای AFM_1 مشاهده شده در برخی از نمونه‌ها، می‌تواند به دلیل کنترل کیفیت ضعیف در حین تولید محصولات لبنی و آلودگی شیر خام اولیه باشد. بنابراین بهبود کنترل کیفیت در خط تولید و زنجیره توزیع این محصولات، بسیار مهم است. تجارب خوب کشاورزی و امکانات مناسب انبارمانی و حمل و نقل مواد غذایی از رشد قارچ‌های مولد این سم بر روی مواد خام مورد استفاده انسان در زنجیره غذایی جلوگیری می‌کند. با توجه به اهمیت زیاد سلامت عمومی جامعه و قرار گرفتن موقعیت جغرافیایی کشور در منطقه نیمه گرمسیری، شرایط محیطی برای رشد قارچ‌های مولد AFB_1 مناسب می‌باشد. بنابراین توجه بیشتر مسئولین نظارت بر بهداشت مواد غذایی به مشکل وجود آفلاتوکسین در شیر و فرآورده های آن ضروری است. با

• References

1. Khaksar R, Karim G, Kamkar A, Shojaee F, Ferdowsi R, Bokae S, Tahmozi Didehban S, Validation of methods to measure Aflatoxin M₁ in Iranian white cheese by liquid chromatography with high performance and clean up by means of immuneaffinity column test method, *Iranian J Food Sci Technol* 2007; 4(1): 73-78. [in Persian].
2. Jahani T, Azar M, The effects of reduction of fat and use fat replace based of WPC on rheological properties of low fat Mozzarella cheese, *Iranian J Nutr Sci Food Technol* 2006; 1(2): 55-61. [in Persian].
3. Zorozbabaee H, Mohammadi Sani A, Rezaee S, Hajimahmodi M, Investigation and comparison of Aflatoxin M₁ in white and probiotic cheese, *Innov Food Sci Technol* 2015; 7(2): 59-66. [in Persian].
4. Sarlak Z, Rohi Langrodi M, Mohammadi R, Mortazavian SAM, Khaksar R, Effects of probiotic strains and inoculated population, physiology of probiotic bacteria and fermentation final pH on free Aflatoxin M₁ binding in Doogh, *Iranian J Nutr Sci Food Technol* 2013; 8(3): 241-249. [in Persian].
5. Alidad M, Mohammadi Sani A, Tajali F, Evaluation of starter bacteria and lactobacillus casei effects on Aflatoxin M₁ in Yoghurt, *J North Khorasan Uni Med Sci* 2012; 4(4): 649-654. [in Persian].
6. Kohian K, Kazemi MH, Akbari M, Evaluation of Aflatoxin B₁ and M₁ in the number of food available in grocery stores army units in Tehran in 2011, *J Nur Medico Combat* 2011; 4: 12-14. [in Persian].
7. Rahimi A, Jafarian Dehkordi M, Iranpour A, Evaluation of Aflatoxin M₁ in Iranian white cheese, *J Food Technol Nutr* 2011; 8(4): 51-56. [in Persian].
8. Iranian National Standardization Organization, Milk and milk products-determination of Aflatoxin M₁ in cheese by HPLC method and Immunoaffinity column clean up-test method (No. 18545), 2011. [in Persian].
9. Elsanhoty RM, Salam SA, Ramadan MF, Badi FH, Detoxification of Aflatoxin M₁ in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria, *J Food Control* 2014; 43: 129-134.
10. Tavakoli HR, Riazipour M, Ráfáti Shaldehi H, Shahriari M, Naghavi S, Rahmati Najarkolaei F, AFM₁ Contamination in used yogurt in one the of universities of medical sciences in Tehran by ELISA, *Quarterly Horiz Med Sci* 2013; 18(5): 261-268. [in Persian]
11. Fallah AA, Jafari T, Fallah A, Rahnama M, Determination of Aflatoxin M₁ levels in Iranian white and cream cheese, *Food Chem Toxicol* 2009; 47(8): 1872-1875. [in Persian].
12. Iranian National Standardization Organization, Food & Feed Mycotoxins-Maximum tolerated level (No. 5925), 2001. [in Persian].
13. Mulunda F, Ngoma L, Nyirenda M, Bakunzi F, A Decade of Aflatoxin M₁ Surveillance in Milk and Dairy Products in Developing Countries (2001-2011): A Review. Book chapter in *Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries*, 2013.
14. Mohammadi H, A Review of Aflatoxin M₁ Milk, and Milk Products. *Aflatoxins. Biochem Mol Biol*, 2011. [in Persian]
15. Galvanov F, Galofaro V, Galovano G, Occurrence and stability of Aflatoxin M₁ in milk and dairy products: A worldwide review, *J Food Prot* 1996; 10: 1023-1137.
16. Ardic M, Karakaya Y, Atasever M, Adiguzel G, Aflatoxin M₁ levels Turkish white brined cheese, *Food Control* 2009; 20: 196-199.

Identification of Aflatoxin M₁ in Several Brands of Mozzarella Cheese Produced in Iran

Kasaee A¹, Tavakolipour H^{2*}

1- M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- *Corresponding author: Associated professor, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran. Email: h.tavakolipour@gmail.com

Received 15 Jul, 2017

Accepted 26 Oct, 2017

Background & Objectives: Aflatoxin M₁ is a liver carcinogen agent that is found in the milk of animals fed with feed contaminated with Aflatoxin B₁. The aim of this research was to determine the quality and quantity of Aflatoxin M₁ in several brands of mozzarella cheese produced in Iran.

Materials and Methods: In this research, in order to evaluate the contamination of the mozzarella cheese produced in Iran to Aflatoxin M₁, the sampling was performed from the commercial brands of this product available on the market in accordance to the national standard of Iran, No. 18545. Then the value of Aflatoxin M₁ was analyzed by HPLC approach. For data analysis, completely random design (C.R.D.) was used, and data comparison mean was carried out by LSD test at the confidence level of 95%.

Results: The results indicated no significant statistical difference ($p>0.05$) between different companies producing mozzarella cheese in Iran. The Aflatoxin M₁ value in the brands of Pegah Golpayegan (brand A), Sirat (brand B), Dalia (brand C), Ramak (brand D) and 202 (brand E) was recorded as 0.0473 ng/g±0.0163, 0.0225 ng/g±0.00354, 0.068 ng/g±0.0341, 0.0345 ng/g±0.0064 and 0.0707 ng/g±0.0355, respectively. As can be seen, the highest amount of Aflatoxin M₁ is related to brand E such that Aflatoxin M₁ value in it is less than the maximum tolerance set by the Iran's National Standard Organization.

Conclusion: The results showed that the mozzarella cheeses produced by the studied companies are free from Aflatoxin M₁ contamination and its level is in accordance with the limits specified by Iran's national standards.

Keywords: Aflatoxin, Aflatoxin M₁, Mozzarella cheese, Mycotoxins