

## Research Paper

# Investigating the Presence of Aflatoxin M1 and Microbial Contamination in Raw, Traditional, and Pasteurized Milk Produced in Qom City, Iran, in 2022



Seyed Erfan Hosseini Nasab<sup>1</sup> , Ebrahim Rahimi<sup>1\*</sup> 

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.



**Citation** Hosseini Nasab SE, Rahimi E. [Investigating the Presence of Aflatoxin M1 and Microbial Contamination in Raw, Traditional and Pasteurized Milk of Qom City in 1401 (Iran) (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E2764.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2764.1>

 <https://doi.org/10.32598/qums.17.2764.1>



Received: 06 May 2023

Accepted: 24 Jul 2023

Available Online: 17 Sep 2023

### Keywords:

Aflatoxin M1, Milk, Adulteration, Qom city, Iran

## ABSTRACT

**Background and Objectives** Aflatoxins are toxic fungal metabolites found in foods. After eating foods containing aflatoxin B1, the ruminants metabolize the toxin and excrete aflatoxin M1 in their milk. The permissible level of aflatoxin in milk is not more than 50 ng/L. This study aims to investigate the amount of aflatoxin M1 in the collected raw, traditional, and synthetic milk using the ELISA method. We also intend to determine the adulteration of raw milk in Qom City, Iran.

**Methods** From the supply centers, 180 samples of raw, milk, and pasteurized were prepared in Qom and sent to the laboratory for analysis. The chi-square test was performed using SPSS software, version 26. The level of significance was set at <0.005.

**Results** Investigations showed that all sampled milk was contaminated with aflatoxin, but the contamination was not beyond the standard limit. However, the level of microbial contamination was high. Regarding milk adulteration, we found 4, 0, and 2 cases of adulteration in raw, traditional, and industrial milk samples, respectively.

**Conclusion** The milk tested in this study is safe for consumption regarding aflatoxin M1 contamination. Continuous monitoring and evaluation of aflatoxin B1 levels in livestock diets and aflatoxin M1 in dairy milk is necessary, especially for countries at high risk for aflatoxin M1 contamination.

### \* Corresponding Author:

Ebrahim Rahimi, PhD.

Address: Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Tel: +98 (913) 3278377

E-Mail: [ebrahimrahimi55@yahoo.com](mailto:ebrahimrahimi55@yahoo.com)



Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.  
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).  
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

## Extended Abstract

### Introduction

The quality of raw milk is vital for the success of dairy industries worldwide. Achieving this quality depends on economic factors. Today, consuming milk and its products in every society is one of the most important indicators of cultural development [1]. Raw milk is rich in easy-to-digest proteins, vitamins A, B1, B2, and B6, pantothenic acid, saturated and unsaturated fatty acids, and multiple salts. However, milk is poor regarding vitamins K and B12 [2]. Milk is a favorable growth environment for various pathogenic microorganisms. The growth and proliferation of pathogenic microorganisms have adverse effects on the taste and other organoleptic characteristics of milk, including smell and color. It even leads to milk spoilage and fatal diseases for its consumers [3]. fungi and molds are among the microorganisms that can contaminate and decrease milk quality.

Aflatoxins consist of a group of approximately 20 related fungal metabolites. They can be found in a wide range of important food items, including grains, nuts, spices, figs, dried fruits, and most importantly, rations and fodder of animals. Aflatoxin M1 (AFM1) is the hydroxylated metabolite of aflatoxin B1 (AFB1) and is found in milk and subsequently in other dairy products when lactating animals are fed contaminated feed. The presence of AFM1 in milk, especially cow's milk, endangers human health due to its importance as a food for adults and children [8]. Aflatoxin can be produced by three *Aspergillus* species: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, and *A. nomius*. They infect plants and plant products [9].

### Methods

In total, 180 milk samples were taken from the supply centers of raw milk, traditional milk, and pasteurized milk to the stores in the city, and after sampling, they were taken to the food hygiene laboratory. First, 5 g of the sample was diluted and prepared up to a dilution of 3 and was cultured linearly in an agar plate culture medium at 37°C for 24 hours. The colonies grown on the plate were counted. To find out the excess water in the milk, we measured the freezing point of the milk. A cryoscope measured the freezing point of raw milk, and a thermolactodensitometer analyzed its specific gravity. If water alone is added to milk, the specific gravity of milk decreases, and due to the decrease in salt and lactose concentration, the freezing point of milk becomes closer to the freezing point of water. In this experiment, an AFM1 ELISA kit

(R-Biopharm, Germany) was used to measure aflatoxin M1 in milk. The test was performed according to the kit manufacturer's instructions.

### Results

The results of the statistical analysis of the desired taps in terms of water adulteration are shown. Among the samples, there was a significant difference in terms of non-adulteration ( $P < 0.05$ ). Of course, there was no significant difference between the raw and pasteurized milk samples according to the standards for raw and pasteurized milk. The results of the statistical analysis among the 180 milk samples in terms of total microbial load show significant ( $P < 0.05$ ) differences in terms of their safety. Pasteurized and traditional milk samples had the lowest and highest total counts among the samples, respectively. The results of the statistical analysis among the 180 milk samples in terms of having aflatoxin showed a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the samples in terms of their safety. Out of 180 samples, pasteurized and raw milk had the lowest and highest amount of aflatoxin, respectively.

### Conclusion

Our study samples were safe for consumption regarding AFM1 contamination. Continuous monitoring and evaluation of AFB1 levels in livestock diets and AFM1 in dairy milk is necessary, especially for countries at high risk for AFM1 contamination.

### Ethical Considerations

#### Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the [Islamic Azad University, Sharrekord branch](#), (Code: IR.IAU.QOMREC.1402.005).

#### Funding

This study was financially supported by [Azad Islamic University, Shahrekord branch](#).

#### Authors contributions

All authors contributed equally to preparing all parts of the research.

#### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the president of [Shahrekord Azad University](#).

## مقاله پژوهشی

## بررسی وجود آفلاتوکسین M1 و آلودگی میکروبی در شیر خام، سنتی و پاستوریزه شهرستان قم در سال ۱۴۰۱

سید عرفان حسینی نسب<sup>۱</sup>، \* ابراهیم رحیمی<sup>۱</sup>

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

Use your device to scan  
and read the article online**Citation** Hosseini Nasab SE, Rahimi E. [Investigating the Presence of Aflatoxin M1 and Microbial Contamination in Raw, Traditional and Pasteurized Milk of Qom City in 1401 (Iran) (Persian)]. *Qom Univ Med Sci J.* 2023; 17:E2764.1. <https://doi.org/10.32598/qums.17.2764.1>**doi** <https://doi.org/10.32598/qums.17.2764.1>

## چکیده

تاریخ دریافت: ۱۶ اردیبهشت ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش: ۰۲ مرداد ۱۴۰۲

تاریخ انتشار: ۲۶ شهریور ۱۴۰۲

**زمینه و هدف:** آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های قارچی سمی هستند که در غذاها یافت می‌شوند. هنگامی که نشخوارکنندگان غذاهای دارای آفلاتوکسین B1 را می‌خورند، سم را متابولیزه و آفلاتوکسین M1 را در شیر دفع می‌کنند. میزان مجاز آفلاتوکسین در شیر ۵۰ نانوگرم بر لیتر است. هدف از مطالعه حاضر بررسی رخداد آفلاتوکسین M1 در شیر خام سکوی جمع‌آوری، شیر سنتی و شیر صنعتی به روش الیزا و تعیین میزان تقلبات شیر خام در شهرستان قم می‌باشد.

**روش بررسی:** تعداد ۱۸۰ نمونه شیر از سکوی جمع‌آوری، شیرهای سنتی و شیر پاستوریزه در شهرستان قم نمونه‌گیری و جهت انجام تحلیل‌های لازم به آزمایشگاه منتقل شدند. از آزمون یک‌طرفه (آنووا)، نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ استفاده و سطح معنادار بودن  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بررسی‌ها نشان داد تمام شیرهای نمونه‌گیری‌شده به آفلاتوکسین آلوده بودند، اما هیچ کدام از آلودگی‌ها فراتر از محدوده استاندارد نبودند. سطح آلودگی میکروبی بالا بوده و در بررسی تقلبات نشان داده شد که در شیرهای خام، سنتی و صنعتی به ترتیب ۰، ۴ و ۲ مورد تقلب تأیید شد.

**نتیجه‌گیری:** شیرهایی که در این مطالعه آزمایش شده‌اند، از نظر آلودگی آفلاتوکسین M1 برای مصرف بی‌خطر هستند. نظارت مستمر بر ارزیابی مداوم سطوح آفلاتوکسین M1 در جیره دام‌ها و همچنین آفلاتوکسین M1 در شیر گاوداری‌ها لازم است و این امر به‌ویژه برای کشورهای که در معرض خطر بالا برای وقوع آفلاتوکسین M1 در نظر گرفته می‌شوند، بیشتر است.

## کلیدواژه‌ها:

آفلاتوکسین M1، شیر، تقلب، شهر قم، ایران

## \* نویسنده مسئول:

دکتر ابراهیم رحیمی

نشانی: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی.

تلفن: ۳۲۷۸۳۷۷ (۹۱۳) ۰۹۸+

رایانامه: [ebrahimrahimi55@yahoo.com](mailto:ebrahimrahimi55@yahoo.com)

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

پارازیتیکوس می‌شود که گیاهان و محصولات گیاهی را آلوده می‌کنند [۹].

آفلاتوکسین M1 می‌تواند ۱۲-۲۴ ساعت بعد از ورود آفلاتوکسین B1 به بدن دام، در شیر تشخیص داده شود و پس از چند روز به سطح بالایی می‌رسد. هنگامی که جذب آفلاتوکسین B1 به اتمام رسید، غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر بعد از ۷۲ ساعت به سطحی غیرقابل تشخیصی کاهش پیدا می‌کند. به جهت شناسایی، جداسازی و اندازه‌گیری آفلاتوکسین موجود در شیر گاوداری‌ها، شیوه‌های متفاوتی وجود دارد مانند کروماتوگرافی لایه نازک<sup>۱</sup>، کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا<sup>۲</sup>، کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرم و الایزا که امروزه روش الایزا به علت سرعت بالا بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰-۱۲].

افزودن آب یکی از ساده‌ترین انواع تقلبات می‌باشد که به جهت افزایش وزن، حجم و وزن مخصوص شیر پس از برداشتن چربی در آن صورت می‌گیرد. می‌توان با اندازه‌گیری وزن مخصوص شیر و همچنین نقطه انجماد، به تقلبات ناشی از اضافه کردن تقلبات در شیر خام پی‌برد [۱۳]. وجود تقلبات در حوزه شیر و لبنات بیشتر در کشورهای در حال توسعه همچون هند، پاکستان و ایران وجود دارد. به این دلیل که وجود هرگونه ناخالصی در شیر خام، پاستوریزه و یا استریلیزه، سبب ایجاد مخاطراتی برای مصرف‌کنندگان می‌شود، بنابراین هدف از این مطالعه بررسی وجود آفلاتوکسین M1، آب و آلودگی میکروبی در شیر خام، سنتی و پاستوریزه شهرستان قم در سال ۱۴۰۱ است.

## مواد و روش‌ها

در مجموع تعداد ۱۸۰ نمونه شیر در سال ۱۴۰۱ از مراکز عرضه شیر خام، شیرسنتی و جهت نمونه‌گیری شیر پاستوریزه به فروشگاه‌های سطح شهر مراجعه کردند و بعد از نمونه‌گیری به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی منتقل شدند.

### اندازه‌گیری توتال کانت

ابتدا ۵ گرم از نمونه‌ها رقیق‌سازی شدند و تارقت ۳-آماده‌سازی شد و به روش پورپلیت در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت پلیت کانت‌آگار به صورت خطی کشت داده شد و کلنی‌های رشد کرده در پلیت شمارش شدند [۱۴].

### اندازه‌گیری نقطه انجماد

به منظور پی بردن به آب اضافی در شیر، نقطه انجماد شیر اندازه‌گیری می‌شود. سنجش نقطه انجماد شیر خام به وسیله

کیفیت شیر خام یک موضوع حیاتی برای موفقیت در صنایع لبنی سراسر دنیا می‌باشد که تمرکز آن بر روی مسائل اقتصادی است. امروزه میزان مصرف شیر و فرآورده‌های آن در هر جامعه یکی از مهم‌ترین شاخص‌های توسعه فرهنگی به شمار می‌آید [۱]. شیر خام غنی از پروتئین‌های سهل‌الهضم، ویتامین‌های گروه A، B1، B2، B6، پانتوتنیک اسید، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و املاح فراوان می‌باشد. شیر از لحاظ فراوانی ویتامین‌های K و B12 فقیر می‌باشد [۲]. این ماده غذایی، یک محیط رشد مطلوب برای فعالیت میکروارگانیسم‌های مختلف بیماری‌زا می‌باشد. رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های پاتوژن بر روی طعم و دیگر ویژگی‌های ارگانولپتیکی شیر مانند بو، رنگ و مزه آن نیز تأثیرات نامطلوبی دارد که علاوه بر فساد در شیر، سبب ایجاد بیماری‌هایی حتی کشنده می‌شود [۳]. یکی از میکروارگانیسم‌هایی که می‌تواند سبب کاهش کیفیت و آلودگی در شیر شود، قارچ‌ها و کپک‌ها هستند.

قارچ‌ها و کپک‌ها، به وفور در اتمسفر وجود دارند. چنانچه شرایط نگهداری علوفه و اغذیه مورد استفاده دام‌ها مناسب نباشد، وجود رطوبت، هوا و گرمای مناسب، شرایط مطلوبی را برای رشد، ازدیاد و تکثیر قارچ‌ها فراهم می‌کند. از مهم‌ترین قارچ‌های آلوده‌کننده علوفه دام‌ها که در بروز آلودگی‌های گاوداری‌ها نقش دارند، مایکوتوکسین‌ها هستند [۴]. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه خطرناکی هستند که توسط گونه‌های مختلف کپکی تولید می‌شوند و خطرات جدی برای سلامت انسان و حیوان ایجاد می‌کنند. از جمله این مخاطرات در انسان، می‌توان به توانایی ایجاد سرطان کبد اشاره کرد. در بین مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها مهم‌ترین نوع سموم کپکی هستند که عمدتاً از اسپرژیلوس‌ها تولید می‌شوند [۵-۷].

آفلاتوکسین‌ها از گروهی از تقریباً ۲۰ متابولیت قارچی مرتبط تشکیل شده‌اند و می‌توانند در طیف گسترده‌ای از مواد غذایی مهم همانند غلات، آجیل، ادویه‌جات ترشیجات، انجیر، میوه‌های خشک و از همه مهم‌تر در جیره و علوفه دام‌ها وجود داشته باشند. آفلاتوکسین<sup>۱</sup> M1 متابولیت هیدروکسیله آفلاتوکسین<sup>۲</sup> B1 است و در شیر و متعاقباً در سایر محصولات لبنی هنگامی که حیوانات شیرده با مواد غذایی آلوده تغذیه می‌شوند، یافت می‌شود. وجود آفلاتوکسین M1 در شیر به‌ویژه شیر گاو، به دلیل اهمیت آن به‌عنوان یک ماده غذایی برای بزرگسالان و به‌ویژه کودکان، آن را برای انسان تبدیل به یک خطر خاص می‌کند [۸]. آفلاتوکسین می‌تواند توسط ۳ گونه اسپرژیلوس تولید شود که شامل اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس نومیوس و اسپرژیلوس

3. Thin Layer Chromatography (TLC)  
 4. High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

1. Aflatoxin M1 (AFM1)  
 2. Aflatoxin B1 (AFB1)

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار میزان تغییرات توتال کانت در بین نمونه‌های بررسی شده (برحسب cfu/g)

نوع سم	شیر خام	شیر سنتی	شیر پاستوریزه
شمارش کلی	۱۶±۰.۱۰۳/۰۱ <sup>b</sup>	۱۷±۱.۰۳/۰۱ <sup>a</sup>	۱۲۰±۱.۰۳/۰۱ <sup>c</sup>

a, b: حروف لاتین متفاوت، اختلاف آماری معنی دار (P<۰/۰۵)



تاریک قرار داد شد. پس از ۵ دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده به هر چاهک اضافه شد. کیت چندین بار تکان داده شد و سپس با دستگاه الایزا ریدر (Germany, Tech-Bio) با طول موج ۴۵۰ نانومتر میزان جذب نوری محاسبه و پس از رسم منحنی، غلظت آفلاتوکسین M1 محاسبه شد [۱۷].

### آزمون آماری

در مطالعه حاضر جهت تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ و از روش کای اسکور استفاده شد. همچنین حد معناداری در مطالعه حاضر ۰/۰۵ < P در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از تحلیل آماری شیرهای مورد نظر از نظر تقلب به آب در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است. در بین نمونه‌ها، از نظر عدم تقلب اختلاف معناداری وجود داشت (P<۰/۰۵). البته بین نمونه شیر خام و شیر پاستوریزه با توجه به استاندارد مربوطه به شیر خام و پاستوریزه اختلاف معناداری نبود.

نتایج حاصل از تحلیل آماری در بین ۱۸۰ نمونه شیرهای مورد نظر از نظر بار میکروبی شمارش کلی در جدول شماره ۱ نشان داد در بین نمونه‌ها، از نظر سالم بودن اختلاف معناداری وجود داشت (P<۰/۰۵). البته بین نمونه به ترتیب کمترین و بیشترین میزان شمارش کلی را نمونه شیر پاستوریزه و شیر سنتی داشت.

نتایج حاصل از تحلیل آماری در بین ۱۸۰ نمونه شیرهای مورد نظر از نظر دارا بودن آفلاتوکسین در جدول شماره ۲ نشان داد در بین نمونه‌ها، از نظر سالم بودن اختلاف معناداری وجود داشت (P<۰/۰۵). از بین ۱۸۰ نمونه به ترتیب کمترین و بیشترین میزان آفلاتوکسین را نمونه شیر پاستوریزه و شیر خام داشت.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار میزان تغییرات آفلاتوکسین در بین نمونه‌های بررسی شده (برحسب نانوگرم بر لیتر)

نوع سم	شیر خام	شیر سنتی	شیر پاستوریزه
آفلاتوکسین	۳۲±۰.۳۰۱	۳۷±۰.۳۰۱	۱۲±۰.۱۰۱ <sup>c</sup>

a, b: حروف لاتین متفاوت، اختلاف آماری معنی دار (P<۰/۰۵)



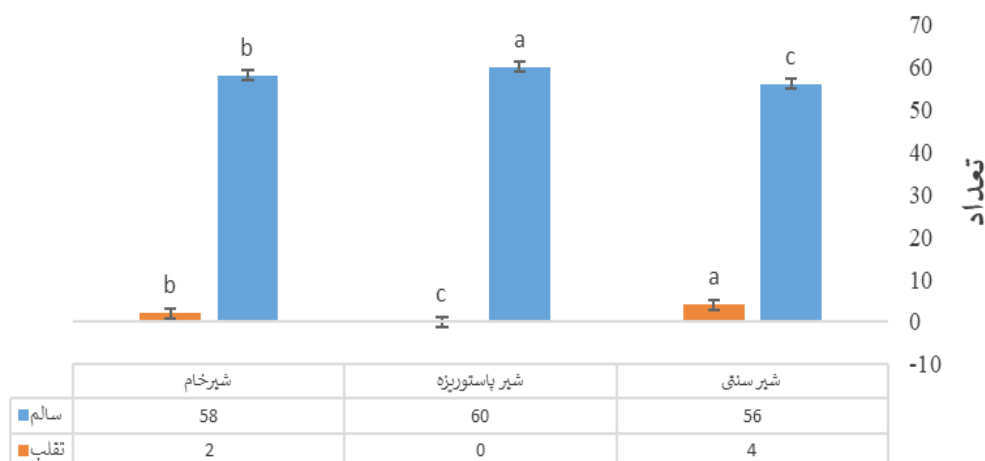
دستگاه کرایوسکوپ و وزن مخصوص شیر به وسیله ترمولاکتو دانسیتومتر مورد بررسی قرار گرفت. در صورت افزودن آب به تنهایی به شیر، وزن مخصوص شیر کاهش می‌یابد و به دلیل کاهش غلظت نمک و لاکتوز، نقطه انجماد شیر به نقطه انجماد آب نزدیک تر می‌شود [۱۳].

### آماده سازی نمونه جهت اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه‌ها

همه نمونه‌های شیر سرد در سانتیفریوژ یخچال دار با دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شدند و لایه‌های چربی روی شیر برداشته و خارج شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه شیر بدون چربی جهت بررسی آفلاتوکسین M1 جدا شد [۱۵-۱۷].

### اندازه گیری آفلاتوکسین M1 به روش ELISA

در این آزمایش کیت الایزای آفلاتوکسین-Biopharm (M1 (R, Germany) استفاده شد. آزمایش طبق دستورالعمل سازنده کیت انجام شد. به طور خلاصه، ۵۰ میکرولیتر از هر کدام از استانداردها (۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ نانوگرم بر لیتر) به ۵۰ میکرولیتر از نمونه شیر بدون چربی در درون چاهک اضافه شد. سپس به ترتیب میزان ۵۰ میکرولیتر کنژوگه و ۵۰ میکرولیتر آنتی بادی هم به هر چاهک اضافه شد. کیت به صورت دستی چندین بار در جهات مختلف حرکت داده شد تا تمام محتویات هر چاهک کاملاً با هم مخلوط شوند. کیت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از ۱۰ دقیقه تمام محتویات کیت خارج و کیت ۳ مرتبه با آب مقطر شست و شو شد. به کیت به صورت وارونه ضربه زده شد تا تمام آب مقطر موجود در چاهک‌ها خارج و چاهک‌ها تماماً خشک شوند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کروموژن به هر چاهک اضافه شد و سپس کیت به صورت دستی چندین بار در جهات مختلف حرکت داده شد تا تمام محتویات چاهک با هم مخلوط شوند. سپس کیت به مدت ۵ دقیقه در محیط



تصویر ۱. میزان تغییرات شیر سالم در بین نمونه‌های بررسی شده (برحسب تعداد)

## بحث

کمیسون Codex Alimentarius<sup>۵</sup> (۵۰ نانوگرم در لیتر) بود.

میزان آلودگی در زمستان به‌طور معناداری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از تابستان بود [۲۲] که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت ندارد. در این مطالعه میزان آفاتوکسین در شیر خام در محدوده ۳۲، شیر سنتی ۲۷ و شیر پاستوریزه در محدوده ۱۲ نانوگرم بر لیتر بود که هیچ‌کدام از نمونه‌ها، فراتر از استاندارد (۵۰ نانوگرم بر لیتر) نبودند. ایوب و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای به بررسی و تعیین آفاتوکسین M1 در محصولات لبنی محلی پرداختند. از ۱۴۱ نمونه محصول لبنی (شیر خام، شیر پاستوریزه، شیر خشک، ماست، پنیر فتا) که مورد آزمون قرار گرفت نتایج نشان داد ۵۴/۶ درصد از شیر و محصولات لبنی آلوده به آفاتوکسین M1 بودند [۲۳] که در این مطالعه ۱۰۰ درصد نمونه‌ها به آفاتوکسین آلوده بودند.

مشابه سایر آفاتوکسین‌ها، آفاتوکسین M1 در گروه ۱ به‌عنوان سرطان‌زا برای انسان طبقه‌بندی شده است، زیرا شواهد کافی برای سرطان‌زایی کبدی در انسان وجود دارد. تقریباً ۰/۵ تا ۵ درصد آفاتوکسین B1 که در خوراک دام می‌باشد، به‌صورت آفاتوکسین M1 در شیر منتقل می‌شود. مطالعات نشان داده است که آفاتوکسین M1 می‌تواند به سرعت (در عرض ۱۲ ساعت) پس از مصرف آفاتوکسین B1 توسط گاوهای شیرده ظاهر شود و غلظت آن به‌تدریج به زیر حد تشخیص در طی ۷۲ ساعت پس از حذف خوراک‌های آلوده به آفاتوکسین B1 کاهش یابد [۲۴].

مطالعات تاجیک و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی میزان آفاتوکسین M1 در شهرستان ارومیه نشان داد که از ۷۲ نمونه انتخاب‌شده، تمامی نمونه‌ها به آفاتوکسین آلوده هستند که ۶/۲۵ درصد از نمونه‌ها فراتر از استانداردهای ملی بودند [۲۵] که با نتایج حاصل از این مطالعه در خصوص درصد آلودگی همسو بود، اما در مطالعه حاضر، در هر ۳ نمونه شیر خام، سنتی و پاستوریزه آلودگی

مطابق استاندارد اتحادیه اروپا، حد مجاز آفاتوکسین در شیر ۵۰ نانوگرم بر لیتر در هر لیتر می‌باشد [۱۸]. طبق استاندارد اروپا هیچ‌کدام از نمونه‌های شیر خام، سنتی و صنعتی فراتر از محدوده تعیین‌شده توسط استاندارد اتحادیه اروپا نیست.

در مطالعه انجام‌شده در چین ۲۸۰ نمونه، ۵۲/۸ درصد از ۵۳۰ نمونه به آفاتوکسین آلوده بودند که ۲۸/۹ درصد از آن‌ها، غلظت بیش از حد مجاز استاندارد را داشت [۱۹] که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر ارتباطی ندارد. در یک مطالعه در ترکیه، ۳۰/۱ درصد از نمونه‌های شیر خام به آفاتوکسین آلوده بودند که ۱۷ درصد از نمونه‌ها دارای آلودگی بیشتر از میزان استاندارد تعریف شده بود [۲۰] که با نتایج این تحقیق مطابقتی ندارد. در این مطالعه تمامی نمونه‌ها آلوده به آفاتوکسین M1 بود، اما هیچ‌کدام از نمونه‌ها بالاتر از میزان استاندارد نبودند.

در کشور اردن مطالعه مشابهی انجام شد که نشان داد رخداد آفاتوکسین در نمونه‌های شیر ۱۰۰ درصد بود، در حالی که ۱۷ درصد از نمونه‌ها رنج بالای ۵۰ نانوگرم در لیتر را داشتند که بالاتر از استاندارد بود [۲۱]. در مطالعه حاضر ۱۰۰ درصد از نمونه‌ها به آفاتوکسین آلوده بودند، اما هیچ‌کدام از نمونه‌ها آلودگی بالاتر از ۵۰ نانوگرم را نداشت. مطالعه واقف و محمدی در غرب ایران ۱۴۴ نمونه شیر (۱۰۲ نمونه شیر خام و ۴۲ نمونه شیر پاستوریزه) را از نظر آفاتوکسین M1 با روش الایزا مورد بررسی قرار دادند. آفاتوکسین M1 در ۴۷/۹۱ درصد از نمونه‌ها با غلظت متوسط  $39/45 \pm 18/40$  نانوگرم در لیتر یافت شد. بالاترین میانگین غلظت آفاتوکسین M1 در نمونه‌های گاوداری سنتی ( $43/9 \pm 9/5$ ) نانوگرم در لیتر ثبت شد. غلظت آفاتوکسین M1 در ۲۱/۵ درصد شیر خام گاو و ۱۱/۹ درصد شیرهای پاستوریزه بالاتر از حداکثر حد تحمل پذیرفته‌شده توسط اتحادیه اروپا/

5. www.lgcstandards.com/GB/en/Resources/Articles/aflatoxins\_dairy

امروزه افزایش میزان تقلبات در شیرهای خام به یک امر مهم برای سازمان‌های نظارتی و بهداشتی تبدیل شده است. به‌علت میزان بالای تولید شیر و عدم وجود امکانات نگهداری شیر خام و نقل و انتقال مناسب آن، در مواردی تولیدکنندگان و مراکز جمع‌آوری شیر برای آنکه از فساد شیر جلوگیری شود و یا شیر را تازه نشان دهند، موادی را به شیر اضافه می‌کنند. آب یکی از این موارد است که با توجه به قیمت ارزان آن می‌تواند گردش مالی قابل توجهی را برای شخص خاطی در پی داشته باشد.

برای مقابله با آفلاتوکسین M1 در شیر و فرآورده‌های لبنی، توجه به حساس‌ترین مراحل تولید خوراک گاوهای شیرده ضروری است. برای جلوگیری از تلفات محصول و خطرات برای سلامت انسان و دام، مراقبت از این مراحل که می‌تواند نقطه بحرانی برای رشد قارچ و تولید میکوتوکسین در سیستم کشاورزی ارگانیک باشد، ضروری است. از آنجایی که این ترکیبات به‌طور قابل توجهی منابع غذایی حیوانات را آلوده می‌کنند، نگرانی بیشتری در مورد آلودگی مواد غذایی در سایر مناطق جهان به‌ویژه منابع غذایی که توسط انسان مصرف می‌شود، وجود دارد. براساس برآوردهای سازمان بهداشت جهانی<sup>۷</sup>، سالیانه یک چهارم محصولات تولید شده تحت تأثیر سموم قارچی قرار می‌گیرند و میزان زیان‌های ناشی از حذف مواد غذایی آلوده و خسارات وارده به محصولات کشاورزی در آمریکا در هر سال حدود ۱۰۰ میلیون دلار برآورد می‌شود. بارندگی زیاد و مداوم در مناطق پر باران، محصول برنج را به‌ویژه در مناطق گرم، مستعد آلودگی و تهاجم قارچی و باکتری می‌کند. با وجود تلاش کشاورزان برای خشک کردن محصول، این فرآیند به‌طور مطلوب انجام نشده و رطوبت دانه‌ها به میزان قابل قبولی کاهش نمی‌یابد و نتیجه آن آلودگی و عفونت قارچی در زمان برداشت یا طی دوره انبارداری خواهد بود [۳۳-۳۵].

شیرهایی که در این مطالعه آزمایش شده‌اند، از نظر آلودگی آفلاتوکسین M1 برای مصرف بی‌خطر هستند. نظارت مستمر بر ارزیابی مداوم سطوح آفلاتوکسین M1 در جیره دام‌ها و همچنین آفلاتوکسین M1 در شیر گاوداری‌ها لازم است و این امر به‌ویژه برای کشورهایی که در معرض خطر بالا برای وقوع آفلاتوکسین M1 در نظر گرفته می‌شوند، بیشتر است.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد شهرکرد (کد: IR.IAU.QOMREC.1402.005) تأیید شده است.

کمتر از میزان استاندارد بود. در مطالعه کامکار و همکاران در سال ۲۰۰۵ از مجموع ۱۱۱ نمونه انجام‌شده مشخص شد که ۷۶/۶ درصد از آلودگی به آفلاتوکسین گزارش شد که از این میزان آلودگی، همه آن‌ها در محدوده مجاز می‌باشند [۲۶] که در خصوص محدوده غلظت سم، با مطالعه حاضر ارتباط دارد. نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق باطنی و صمدزاده در سال ۱۳۸۰ در زنجان بر روی شیرخام و پنیرهای محلی نشان داد که از ۱۰۸ نمونه پنیر مورد آزمون (۷۷/۱ درصد) و ۱۳۴ نمونه شیر (۸۴/۳ درصد) از نظر اشرشیاکلی مثبت هستند و کلیه نمونه‌ها بار میکروبی توتال بیش از حد استاندارد را داشتند [۲۷] که در مطالعه حاضر بیشترین رنج آلودگی در شیر خام بود.

در مطالعه شیونگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی رخدادهای آفلاتوکسین در شیرخام و فرآورده‌های لبنی مشخص شد که از مجموع ۱۱۱ نمونه مورد آزمایش، تقریباً ۷۳/۶ درصد از نمونه‌های شیر خام برای آفلاتوکسین M1 با میانگین ۱۰۰/۰ نانوگرم در لیتر مثبت بودند. محتوای آفلاتوکسین M1 در ۱/۸ درصد از نمونه‌های شیر استریلیزه<sup>۸</sup> و در ۵۹/۵ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه، بالاتر از حد قانونی اتحادیه اروپا ۵۰ نانوگرم در لیتر بود، در حالی که تمام نمونه‌های شیر در چین کمتر از حد قانونی ۵۰۰ نانوگرم در لیتر بودند [۲۸]. در این مطالعه در هیچ‌کدام از نمونه‌ها آلودگی فراتر از استاندارد گزارش نشد. در مطالعه دیگری از فلاح و همکاران در یزد در سال ۲۰۱۶ بر روی بررسی رخداد آفلاتوکسین M1 در شیرهای خام، به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر گاو با ۴۶/۵ درصد بود. سپس به‌ترتیب گوسفند، بز و شتر با درصدهای ۲۱/۶، ۲۰/۱ و ۴/۰۳ درصد به آفلاتوکسین آلوده بودند [۲۹]. در مطالعه حاضر به بررسی آلودگی شیر خام، سنتی و صنعتی گاو پرداخته شد و مشخص شد میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 پائین‌تر از محدوده استاندارد است.

مطالعه عبادی و همکاران بر روی تقلبات شیر خام تحویلی به کارخانه‌ها گزارش دادند که به هیچ‌کدام از شیرهای خام تحویل داده‌شده به کارخانه‌ها آب اضافه نشده بود [۱۳]، در حالی که در این مطالعه ۵۸ نمونه از ۶۰ نمونه شیر خام بدون تقلب بود. شیرهای پاستوریزه فاقد تقلب بودند و شیرهای سنتی ۴ مورد تقلب داشتند. در مطالعه محمودی و همکاران مشخص شد که به ۴۰ درصد از شیرهای سنتی آب اضافه شده است [۳۰] که با نتایج این مطالعه رابطه‌ای ندارد. مطالعات چندا و همکاران بر روی تقلبات شیر نشان داد که هیچ‌کدام از شیرهای خام عرضه‌شده در مراکز عرضه، تقلب (اضافه کردن آب) نداشته است [۳۱] که با مطالعه حاضر تا حدودی در خصوص شیر سنتی همسو است. در مطالعه‌ای مشابه در شهر فیصل‌آباد پاکستان نشان دادند که به ۷۰ درصد از شیرهای خام عرضه‌شده آب اضافه شده است [۳۲] که با نتایج این تحقیق مطابقتی ندارد.

7. World Health Organization (WHO)

6. Ultra High Temperature (UHT)



### حامی مالی

این پژوهش با بودجه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شده است.

### مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشتند.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از ریاست دانشگاه آزاد شهرکرد تشکر می‌کنند.

## References

- [1] Muehlhoff E, Bennett A, McMahon D. Milk and dairy products in human nutrition. Rome: Food and Agriculture Organization; 2013. [Link]
- [2] Temerbayeva M, Rebezov M, Okuskhanova E, Smolnikova F, Sharma S, Mustafayeva A, et al. [Technology of sour milk product for elderly nutrition (Russian)]. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2018; 9(1):291-5. [Link]
- [3] Coelho MC, Malcata FX, Silva CCG. Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions. Foods. 2022; 11(15):2276. [DOI:10.3390/foods11152276] [PMID]
- [4] Negash D. A review of aflatoxin: Occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. J Nutr Health Food Eng. 2018; 8(2):190-7. [DOI:10.15406/jnhfe.2018.08.00268]
- [5] Jafari K, Fathabad AE, Fakhri Y, Shamsaei M, Miri M, Farahmandfar R, et al. Aflatoxin M1 in traditional and industrial pasteurized milk samples from Tiran County, Isfahan Province: A probabilistic health risk assessment. Ital J Food Sci. 2021; 33(SP1):103-16. [DOI:10.15586/ijfs.v33iSP1.2054]
- [6] Abbas A, Wright CW, El-Sawi N, Yli-Mattila T, Malinen AM. A methanolic extract of *Zanthoxylum bungeanum* modulates secondary metabolism regulator genes in *Aspergillus flavus* and shuts down aflatoxin production. Sci Rep. 2022; 12(1):5995. [DOI:10.1038/s41598-022-09913-3] [PMID]
- [7] Ren X, Branà MT, Haidukowski M, Gallo A, Zhang Q, Logrieco AF, et al. Potential of trichoderma spp. for biocontrol of aflatoxin-producing *aspergillus flavus*. Toxins. 2022; 14(2):86. [DOI:10.3390/toxins14020086] [PMID]
- [8] Yang M, Zhu Z, Zhuang Z, Bai Y, Wang S, Ge F. Proteogenomic characterization of the pathogenic fungus *aspergillus flavus* reveals novel genes involved in aflatoxin production. Mol Cell Proteomics. 2021; 20:100013. [DOI:10.1074/mcp.RA120.002144] [PMID]
- [9] Ismaiel AA, Tharwat NA, Sayed MA, Gameh SA. Two-year survey on the seasonal incidence of aflatoxin M1 in traditional dairy products in Egypt. J Food Sci Technol. 2020; 57(6):2182-9. [DOI:10.1007/s13197-020-04254-3] [PMID]
- [10] Fallah AA, Rahnema M, Jafari T, Saei-Dehkordi SS. Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. Food Control. 2011; 22(10):1653-6. [DOI:10.1016/j.foodcont.2011.03.024]
- [11] Ghasemian SO. [Aflatoxin M1 contamination in raw cow milk of dairy farms in Behbahan area, Khuzestan province, Iran (Persian)]. Toloobebehdasht. 2019; 18(2):46-56. [DOI:10.18502/tbj.v18i2.1263]
- [12] Tabari M, Tabari K, Tabari O. Aflatoxin M1 determination in yoghurt produced in Guilan province of Iran using immunoaffinity column and high-performance liquid chromatography. Toxicol Ind Health. 2013; 29(1):72-6. [DOI:10.1177/0748233712446729] [PMID]
- [13] Ebadi A, Bonyadian M, Abasvali M, Torian F, Hashemi Z. [Study on raw milk adulterations delivered to dairy processing plants in Mazandaran province (Persian)]. J Food Sci Technol. 2020; 17(105):63-70. [DOI:10.52547/fsc.17.105.63]
- [14] Ayazi N, Heidarzadi MA, Kohneh Poushi M, Karami M, Sa-bzibalkhanlo A, Gorgin Karaji K. [Investigating the amount of microbial contamination of pasteurized milk in Kermanshah city with coliform and the total number of bacteria (Persian)]. J Altern Vet Med. 2022; 5(12):702-9. [Link]
- [15] Kamkar A, Jahed KGR, Alavi S. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. J Environ Health Sci Eng. 2011; 8(2):133-40. [Link]
- [16] Kamkar A, Fallah AA, Mozaffari Nejad AS. The review of aflatoxin M1 contamination in milk and dairy products produced in Iran. Toxin Rev. 2014; 33(4):160-8. [DOI:10.3109/15569543.2014.922580]
- [17] Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi AR, Torabi S. [Evaluation of the contamination of aflatoxin M1 level in raw milk samples by ELISA method in Yazd province (Persian)]. J Vet Res. 2017; 72(3):313-21. [DOI:10.22059/JVR.2017.222337.2551]
- [18] Mukhtar F, Umar S, Bakar A, Muhammad H. Occurrence and level of Aflatoxin M1 in fresh raw cow milk within Zaria metropolis. Bayero J Pure Appl Sci. 2022; 13(1):107-11. [Link]
- [19] Guo LY, Zheng N, Zhang YD, Du R, Zheng BQ, Wang JQ. A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Tangshan region of China during 2012-2014. Food Control. 2016; 69:30-5. [DOI:10.1016/j.foodcont.2016.03.017]
- [20] Golge O. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Adana province of Turkey. Food Control. 2014; 45:150-5. [DOI:10.1016/j.foodcont.2014.04.039]
- [21] Omar SS. Aflatoxin M1 levels in raw milk, pasteurised milk and infant formula. Ital J Food Saf. 2016; 5(3):5788. [DOI:10.4081/ijfs.2016.5788] [PMID]
- [22] Vagef R, Mahmoudi R. Occurrence of Aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk produced in west region of Iran (during summer and winter). Int Food Res J. 2013; 20(3):1421-5. [Link]
- [23] Ayoub M, Sobeih A, Raslan AA. Evaluation of aflatoxin M1 in raw, processed milk and some milk products in Cairo with special reference to its recovery. Researcher. 2011; 3:5-11. [Link]
- [24] Fallah AA. Aflatoxin M1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. Food Control. 2010; 21(11):1478-81. [DOI:10.1016/j.foodcont.2010.04.017]
- [25] Tajik H, Rohani SM, Moradi M. Detection of aflatoxin M1 in raw and commercial pasteurized milk in Urmia, Iran. Pak J Biol Sci. 2007; 10(22):4103-7. [DOI:10.3923/pjbs.2007.4103.4107] [PMID]
- [26] Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in Iranian Feta cheese. Food Control. 2006; 17(10):768-75. [DOI:10.1016/j.foodcont.2005.04.018]
- [27] Bateni J, Samadzadeh R. The degree of contamination of milk and traditional cheese being sold with *Brucella* and *Escherichia coli* microbes in Zanjan city. J Adv Med Biomed Res. 2001; 9(35):58-65. [Link]

- [28] Xiong J, Xiong L, Zhou H, Liu Y, Wu L. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M1 in UHT and pasteurized milk in central China. *Food Control*. 2018; 92:386-90. [DOI:10.1016/j.foodcont.2018.05.022]
- [29] Fallah AA, Fazlollahi R, Emami A. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*. 2016; 68:77-82. [DOI:10.1016/j.foodcont.2016.03.018]
- [30] Mahmoudi R, Shahri M, Moosavy M, Norian R. [Analysis of adulteration in raw cow milk samples collected from East Azerbaijan Province of Iran (Persian)]. *Int J Food Nutr Saf*. 2015; 6:150-6. [Link]
- [31] Chanda T, Debnath G, Hossain M, Islam M, Begum M. Adulteration of raw milk in the rural areas of Barisal district of Bangladesh. *Bangladesh J Anim Sci*. 2012; 41(2):112-5. [DOI:10.3329/bjas.v41i2.14126]
- [32] Lateef M, Faraz A, Mustafa MI, Akhtar P, Bashir MK. Detection of adulterants and chemical composition of milk supplied to canteens of various hospitals in Faisalabad city. *Pak J Zool*. 2009; 9:139-42. [Link]
- [33] Malissiova E, Soultani G, Tsokana K, Alexandraki M, Manouras A. Exposure assessment on aflatoxin M1 from milk and dairy products-relation to public health. *Clin Nutr ESPEN*. 2022; 47:189-93. [DOI:10.1016/j.clnesp.2021.12.017] [PMID]
- [34] Mohamadin M, Rama A, Seboussi R. Aflatoxin M1 in Ultra high temperature milk consumed in Sharjah, United Arab Emirates. *J Food Qual Hazards Control*. 2022; 9(1):43-8. [DOI:10.18502/jfqhc.9.1.9689]
- [35] Kortei NK, Annan T. Aflatoxin M1 contamination of Ghanaian traditional soft cottage cheese (wagashie) and health risks associated with its consumption. *J Food Qual*. 2022;2022. [DOI:10.1155/2022/7595545]