



رخداد آفاتوکسین M1 در انواع شیرهای عرضه شده در شهرستان شیراز به روش الایزا

امیر حسین هاشمی^۱، نجمه واحد دهکردی^{۱*}، ابراهیم رحیمی^۱

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

* نویسنده مسئول: najmeh.vaheddehkordi@iau.ir

دریافت مقاله: ۱۴ اردیبهشت ۱۴۰۵، بازنگری: ۱۹ خرداد ۱۴۰۵، پذیرش نهایی: ۲۵ تیر ۱۴۰۵



10.22034/nfvm.2026.580438.1312

چکیده

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به‌طور طبیعی توسط کپک‌ها تولید می‌شوند و سبب آلودگی مواد غذایی در انسان و دام می‌شوند. آفاتوکسین M1 یک ترکیب سرطان‌زای اصلی است که در شیر و فرآورده‌های لبنی یافت می‌شود و خطری دائمی برای مصرف‌کنندگان دارد. هدف از این پژوهش رخداد آفاتوکسین M1 در انواع شیرهای عرضه شده در شهرستان شیراز به روش الایزا است. ۸۰ نمونه شیر شامل ۲۰ نمونه شیر خام، ۲۰ نمونه پاستوریزه، ۲۰ نمونه ESL و ۲۰ نمونه استریلیزه به‌صورت تصادفی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان نمونه‌گیری و جهت ارزیابی میزان آفاتوکسین M1 به روش الایزا مطابق دستورالعمل کیت سنجش (Biopharm-R, Germany) در شرایط سرد به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد انتقال داده شد. نتایج نشان داد تمام نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) به آفاتوکسین M1 آلوده بودند، اما هیچ‌کدام از نمونه‌ها فراتر از استاندارد ایران و اروپا نبود. به‌این ترتیب غلظت آلودگی در شیر خام ۳۰/۷۷، شیر پاستوریزه ۳۲/۴۵، شیر ESL ۲۷/۳۹ و شیر استریلیزه ۲۴/۲۴ نانوگرم بر لیتر بود. با توجه به آلودگی پایین‌تر از استاندارد ایران؛ اروپا و آمریکا در مطالعه‌ی حاضر، استفاده از انواع شیرهای عرضه شده در شهرستان شیراز در محدوده‌ی نمونه‌های بررسی شده، غلظت‌ها کم‌تر از حدود مجاز بودند؛ با این حال، آلودگی ۱۰۰ درصدی نمونه‌ها ضرورت پایش مستمر را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: آفاتوکسین M1، مایکوتوکسین، شیر، ایمنی غذایی.

رخداد آفاتوکسین M1 در انواع شیرهای عرضه‌شده در شهرستان شیراز به روش الیزا

مقدمه

با توجه به صنعتی شدن کشورها و بروز بیماری‌های جدید، سلامت افراد جامعه، که تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند سلامت مواد غذایی قرار دارد، مهم‌ترین اولویت جوامع بشری است؛ بنابراین شناسایی و اندازه‌گیری این عوامل آلاینده‌ی مواد غذایی حائز اهمیت است (۱). یکی از مواد غذایی که توسط آلاینده‌ها دستخوش تغییراتی می‌گردد شیر است.

شیر یک غذای کامل، با ارزش غذایی بالا است که در هر بازه‌ی سنی، در برگیرنده‌ی بخشی از رژیم غذایی بوده و از اهمیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. (۲). رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های پاتوژن بر روی طعم و ویژگی‌های ارگانولپتیکی شیر، تاثیرات نامطلوبی دارد که باعث فساد در شیر می‌شود. یکی از میکروارگانیسم‌هایی که می‌تواند سبب کاهش کیفیت و آلودگی در شیر شود قارچ‌ها و کپک‌ها هستند (۳، ۴).

مایکوتوکسین‌ها آلاینده‌های مهمی هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویه توسط برخی قارچ‌های مولد سم در طول رشدشان روی مواد غذایی و خوراک دام تولید می‌شوند و می‌توانند اثرات سمی متعددی همچون سمیت کبدی، سمیت کلیوی، سمیت عصبی (۵)، سرکوب سیستم ایمنی، جهش‌زایی (۶) و سرطان‌زایی شوند (۷).

آفاتوکسین‌ها توسط گونه‌های قارچی از جنس آسپرژیلوس، به‌ویژه آسپرژیلوس فلاووس (*A. flavus*)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*A. parasiticus*) و آسپرژیلوس نومیوس (*A. nomius*) تولید می‌شوند. این گونه‌های قارچی و متابولیت‌های مضر آن‌ها، با پراکندگی گسترده، یک مشکل عمده برای صنایع غذایی و خوراک دام هستند (۸). در مواد غذایی و خوراک دام، ترکیب بسیار سمی که معمولاً تحت هر شرایط طبیعی وجود دارد، آفاتوکسین B1 (۱) AFB (AFB) است که پس از مصرف AFB1 توسط حیوانات، تبدیل بیوشیمیایی کبدی این مولکول، مشتق هیدروکسیله

شده‌ای به نام آفاتوکسین M1 (AFM1) را تولید می‌کند که به شیر و سایر مایعات بدن دفع می‌شود (۹). هر دو AFB1 و AFM1 توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) به عنوان گروه ۱ مواد سرطان‌زای انسانی طبقه‌بندی شده‌اند (۱۰).

وجود AFM1 در شیر و فرآورده‌های لبنی، تهدیدی بالقوه برای سلامت انسان است. اگرچه سمیت AFM1 کم‌تر از ترکیب اصلی (AFB1) است (۱۱)، اما بسیاری از کشورها هنوز فاقد سیستم مناسبی برای جلوگیری از آلودگی مواد غذایی با آفاتوکسین‌ها، به ویژه شیر و محصولات مشتق شده از آن هستند که نشان داده شده برای مصرف خطرناک هستند. مقدار AFM1 دفع شده در شیر حیوانات شیرده به‌صورت درصدی از AFB1 دریافتی از خوراک آلوده بیان شده است. سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا تخمین زده است که میزان انتقال AFB1 از خوراک به AFM1 در شیر گاو به‌طور متوسط ۱ تا ۲ درصد است، اگرچه در گاوهای پر تولید، این میزان می‌تواند به ۶ درصد افزایش یابد (۱۲).

چندین مرجع ایمنی مواد غذایی در جهان حداکثر حد مجاز باقی‌مانده (MRL) برای وجود AFM1 در شیر و سایر فرآورده‌های لبنی تعیین کرده‌اند (۱۳). سازمان غذا و داروی ایالات متحده (USFDA) و چین حد مجاز AFM1 در شیر را ۵۰۰ نانوگرم در لیتر تعیین کرده‌اند (۱۴)، در حالی که اتحادیه اروپا (EU) با تعیین حداکثر ۵۰ نانوگرم در لیتر استاندارد سختگیرانه‌تری را برای محافظت از سلامت مصرف‌کنندگان انتخاب کرده است (۱۵).

AFB1 از طریق دستگاه گوارش جذب می‌شود، در کبد توسط آنزیم‌های سیتوکروم P450 به AFM1 هیدروکسیله می‌شود و سپس از طریق شیر دفع می‌شود (۱۶). AFM1 ترکیبی پایدار است که با روش‌های گرمایش خانگی معمول مانند مایکروویو یا جوشاندن از بین نمی‌رود. قرار گرفتن در معرض AFM1 در اوایل زندگی و دوران کودکی با کاهش نمرات Z قد برای سن (HAZ) در کودکان (۱۷)، کاهش

اساس برآزش منحنی استاندارد با استفاده از مدل لجستیک چهارپارامتری (۴-Parameter Logistic; ۴PL) انجام شد و نتایج به صورت نانوگرم بر لیتر (ng/L) گزارش گردید.

اعتبارسنجی ELISA: به منظور ارزیابی عملکرد روش در ماتریس شیر، شاخص‌های حساسیت، دقت و صحت به صورت تجربی تعیین گردید.

حد تشخیص (Limit of Detection, LOD): حد

تشخیص روش برابر با (ng/L) ۵ تعیین شد. این مقدار به عنوان کم‌ترین غلظتی تعریف گردید که سیگنال آن به طور معنی داری از بلانک قابل تفکیک بوده و با اطمینان قابل شناسایی است.

دقت (Precision): دقت روش از طریق محاسبه‌ی

ضریب تغییرات (Coefficient of Variation, CV) در شرایط تکرارپذیری و بازتولیدپذیری ارزیابی شد:

CV درون‌آزمونی (Intra-assay): ۵/۳ درصد و CV بین‌آزمونی (Inter-assay): ۹/۸ درصد بود. این مقادیر نشان‌دهنده‌ی تکرارپذیری و پایداری مناسب روش در اندازه‌گیری‌های مکرر بود. صحت (Accuracy) و بازیابی (Recovery)، صحت روش با استفاده از نمونه‌های شیر غنی‌شده (Spiked samples) در سه سطح غلظتی ۱۰، ۲۰ و ۵۰ (ng/L) ارزیابی شد. درصد بازیابی به ترتیب در سطح (۱۰ ng/L): ۸۸/۲ درصد، در سطح (۲۰ ng/L): ۹۶/۴ درصد و در سطح (۵۰ ng/L): ۱۰۵/۶ درصد بود. نتایج نشان‌دهنده‌ی عدم وجود اثرات ماتریسی قابل توجه و کارایی مناسب روش در استخراج و اندازه‌گیری افلاتوکسین M۱ در نمونه‌های شیر بود. در مجموع، مقادیر به دست آمده برای LOD، CV و Recovery نشان‌دهنده‌ی عملکرد تحلیلی مناسب، دقت بالا و صحت قابل قبول روش ELISA در آنالیز افلاتوکسین M۱ در ماتریس شیر بوده و شرایط لازم برای کاربرد در مطالعات پایش ایمنی غذایی را برآورده می‌سازد (۲۲).

وزن هنگام تولد (۱۸)، کاهش قد در هنگام تولد (۱۹) و رشد ناقص (۲۰) مرتبط است. اثرات تجمعی این سم همچنین با افزایش خطر سرطان، سرکوب سیستم ایمنی، کارسینوم هپاتوسلولار، سندرم ری، سیروز و کوآشیورکور مرتبط است (۲۱). با توجه به مخاطرات ذکر شده در خصوص آفاتوکسین و عدم وجود مطالعه‌ای جامع در این خصوص، هدف از پژوهش حاضر، بررسی رخداد آلودگی به آفاتوکسین M۱ در انواع شیرهای عرضه شده در شهرستان شیراز است.

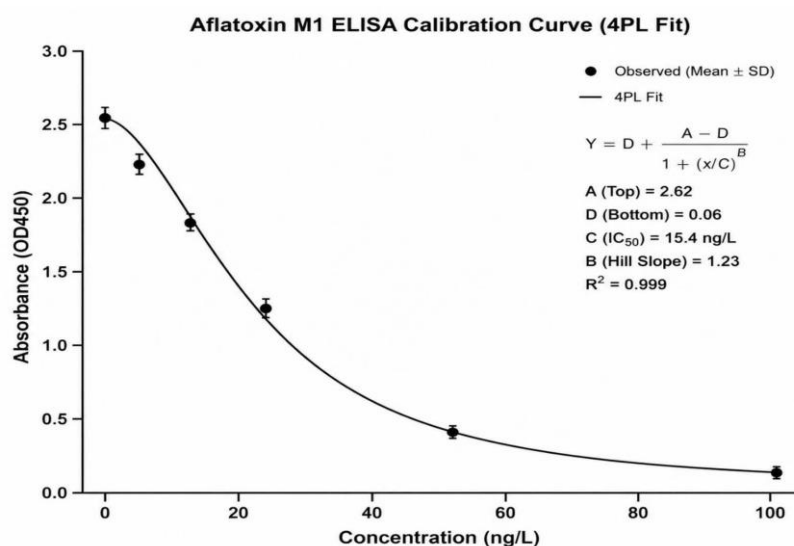
مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در گام نخست تعداد ۸۰ نمونه شیر شامل

۲۰ نمونه شیر خام، ۲۰ نمونه شیر پاستوریزه، ۲۰ نمونه شیر ESL و ۲۰ نمونه شیر استریلیزه در فصول مختلف سال (هر نوع شیر ۵ نمونه در هر فصل) به صورت تصادفی از مراکز عرضه‌ی این محصولات از شهرستان شیراز نمونه‌گیری و در شرایط سرما به آزمایشگاه انتقال داده شد.

تشخیص آفاتوکسین M۱ به روش الایزا: مقدار

افلاتوکسین M۱ در نمونه‌های شیر با استفاده از کیت الایزای رقابتی (Biopharm-R, Germany) و مطابق با دستورالعمل سازنده تعیین گردید. نمونه‌ها پیش از آنالیز تا دمای محیط هم‌دم شده و به منظور حذف کامل فاز چربی و کاهش اثرات ماتریسی، به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پس از جداسازی لایه‌ی چربی، فاز شفاف زیرین (شیر بدون چربی) با دقت جمع‌آوری و مستقیماً در آزمون مورد استفاده قرار گرفت. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای کیت در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم بر لیتر (ng/L) تهیه شد. تمامی نمونه‌ها و استانداردها به صورت دو تکرار مستقل (duplicate) مورد سنجش قرار گرفتند. پس از انجام مراحل انکوباسیون و شستشو، واکنش رنگ‌سنجی با افزودن سوبسترا انجام و واکنش با محلول توقف متوقف گردید. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر اندازه‌گیری شد. محاسبه‌ی غلظت افلاتوکسین M۱ بر



شکل ۱، منحنی کالیبراسیون ELISA برای تعیین غلظت آفلاتوکسین M1 با برازش مدل لجستیک چهارپارامتری (4PL) پارامترهای مدل شامل A (مجانِب بالا)، D (مجانِب پایین)، C (غلظت در نقطه میانی یا IC_{50}) و B (شیب هیل) محاسبه گردید. ضریب رگرسیون (R^2) برابر با ۰/۹۹۹ نشان‌دهنده دقت بسیار بالای مدل در توصیف داده‌های استاندارد در طول موج ۴۵۰ نانومتر بود.

مشخص شده است. نتایج نشان دادند از مجموع ۸۰ نمونه شیر خام، پاستوریزه، ESL و استریلیزه، تمام نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند؛ اما فراوانی هیچ‌کدام از نمونه‌ها مقدار آلودگی آن‌ها فراتر از ۵۰ نانوگرم بر لیتر نبود. به این ترتیب از مجموع ۸۰ نمونه شیر نمونه‌گیری شده در مراکز عرضه‌ی شهرستان شیراز، آلودگی به آفلاتوکسین M1 طبق استاندارد ایران و اروپا مشاهده نشد (جدول ۱).

آنالیزهای آماری: از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ برای محاسبات و ارزیابی داده‌ها و از آزمون‌های آماری ANOVA یک‌طرفه، GLM برای مقایسه میانگین‌ها و از آمار توصیفی (Descriptive Statistics) برای مقایسه درصد فراوانی‌ها استفاده شد.

نتایج

نتایج بررسی آلودگی شیرهای خام عرضه‌شده در شهرستان شیراز به آفلاتوکسین M1 در جدول ۱

جدول ۱- توزیع فراوانی شاخص پراکندگی و مرکزی نمونه شیرهای آلوده به آفلاتوکسین M1 در شهرستان شیراز

تعداد نمونه	دامنه	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد	میان	۱۰۰٪ و ۵۰٪ >
۲۰	۳۷/۸	۱۱	۴۸/۸	۳۰/۷۷	۱۰/۶۵	۲/۳۸۱	۲۷/۹	۰
۲۰	۳۷	۱۱	۴۸	۳۲/۴۵	۱۰/۷۵۰	۲/۴۰۴	۳۴/۶	۰
۲۰	۳۵	۱۲	۴۷	۲۷/۳۸	۹/۲۵۳	۲/۰۷	۲۸	۰
۲۰	۳۴	۱۱	۴۵	۲۴/۲۴	۱۰/۰۸	۲/۲۵۳	۲۱/۵	۰

دانست. همچنین ارزش کمی و کیفی شیر خام موجود در سطح شهرستان شیراز که به تغذیه و محل نگهداری دام بستگی دارد نشان داد، کمترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در شیرهای فصول بهار و تابستان داشتند که دلیل آن، استفاده‌ی دام از علوفه‌ی تازه در چراگاه‌ها است. در حالی‌که در دیگر فصول سال که دام از چراگاه تغذیه نمی‌کند احتمال آلودگی بیش‌تر است (جدول ۲).

نتایج حاصل از آنالیز آماری شیرهای جمع‌آوری شده در سطح شیراز نشان داد، تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها در طی دوره و بین دوره مشاهده شد. با توجه به این‌که نمونه‌های شیر پاستوریزه، ESL و استریلیزه به‌صورت تصادفی از بازار تهیه شده است، بنابراین اطلاعات اولیه‌ای درخصوص میزان آفلاتوکسین اولیه‌ی آن‌ها موجود نیست و نمی‌توان آنالیز مقایسه‌ای و تاثیر روش‌های بسته‌بندی نمونه شیرها را در فصول سال بر میزان آفلاتوکسین معنی‌دار

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار آلودگی به آفلاتوکسین M₁ شیرهای عرضه‌شده (چهار فصل) در شهرستان شیراز (نانوگرم بر لیتر)

*: حروف بزرگ (در طی دوره) و حروف کوچک (در بین دوره‌ها) ($p < 0.05$).

** تفاوت مقدار آفلاتوکسین نمونه‌ها با استاندارد ایران با احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار است ($p < 0.05$).

فصل زمستان	فصل پاییز	فصل تابستان	فصل بهار	فصول نمونه شیر
۳۰/۵۴±۲/۱۳ Bb	۴۱/۵۲±۲/۳ Aa	۲۵/۴۴±۱/۲۱ Cc	۲۵/۵۶±۲/۲ Cb	شیر خام
۳۵/۰۴±۳/۱۸ Aa	۳۳/۵۸±۱/۲۵ Bb	۲۸/۵۶±۲/۷ Db	۳۲/۶۴±۳/۱۵ Ca	شیر پاستوریزه
۲۲/۰۲±۵/۲۸ Dc	۲۸/۶۰±۳/۱۵ Bc	۳۵/۹۲±۳/۱۲ Aa	۲۳/۰۰±۵/۱۷ Cc	شیر ESL
۱۹/۶۰±۲/۲۶ Cd	۱۹/۹±۲/۲۵ Cd	۳۵/۶۶±۳/۱۲ Aa	۲۱/۸۰±۲/۱۱ Bd	شیر استریلیزه

نبود اطلاعات درباره میزان اولیه AFM₁ در شیر خام ورودی و تفاوت احتمالی منابع تأمین، نمی‌توان این تفاوت را به‌طور قطعی به فرآیند حرارتی یا نوع بسته‌بندی نسبت داد. (جدول ۳).

از لحاظ تفاوت معنی‌داری حاصل از میانگین داده‌های آماری بین انواع نمونه‌های شیر، شیر استریلیزه و ESL کمترین غلظت آلودگی (تاثیر حرارت روی کاهش ماندگاری و فعالیت آفلاتوکسین) را داشتند. میانگین AFM₁ در نمونه‌های ESL و استریلیزه کم‌تر بود؛ با این‌حال، به‌دلیل

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در انواع شیرهای عرضه‌شده در شهرستان شیراز (نانوگرم بر لیتر)

** تمامی مقادیر کم‌تر از حد مجاز استاندارد ایران و اتحادیه اروپا بودند.

نوع شیر	مقدار آلودگی به آفلاتوکسین
شیر خام	۳۰/۷۷±۱۰/۰ b
شیر پاستوریزه	۳۲/۴۵±۱۰/۰ a
شیر ESL	۲۷/۳۹±۹/۰ c
شیر استریلیزه	۲۴/۲۴±۱۰/۰۸ d

بحث و نتیجه‌گیری

وجود AFM1 در شیر ناشی از مصرف مواد حاوی AFB1 توسط دام است و ارتباط خطی بین غلظت AFB1 در خوراک مصرف شده توسط دام‌های شیری و سطح AFM1 در شیر آن‌ها گزارش شده است. علاوه بر این، غلظت AFM1 در شیر به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر عوامل دیگری مانند موقعیت جغرافیایی، گونه‌های جانوری و فصول و همچنین روش‌های فرآوری و تجزیه و تحلیل شیر قرار دارد (۲۳). در همین راستا، هدف پژوهش حاضر بررسی غلظت آفاتوکسین M1 در انواع شیرهای عرضه‌شده در شهرستان شیراز بود؛ نتایج این پژوهش نشان داد تمام نمونه‌های شیر، به آفاتوکسین M1 آلوده بودند؛ اما غلظت آلودگی هیچ‌کدام از نمونه‌های شیر نمونه‌گیری‌شده در شهرستان شیراز فراتر از استاندارد ملی ایران (۱۰۰ ng/L) (۲۴)، اروپا (۵۰ ng/L) و آمریکا و چین (۵۰۰ ng/L) (۲۵) نبودند.

Kafleh و همکاران (۲۰۲۴) در پژوهشی با هدف تعیین آلودگی به آفاتوکسین M1 در شیر عرضه شده در نپال گزارش دادند که از ۸۴ نمونه شیر، تمام نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده به AFM1 آلوده بودند و ۹۷/۶ درصد از نمونه‌ها از حداکثر حد مجاز اتحادیه اروپا (EU) فراتر بودند (۱۶). در پژوهش دیگری در ترکیه، رخداد آفاتوکسین M1 از ۱۷۵ نمونه مورد بررسی، مشخص شد که از ۱۴۶ نمونه ۱۶/۵۷ درصد فراتر از استاندارد اروپا بود (۲۶). مطالعه Kotteri و همکاران (۲۰۲۲) در غنا گزارش دادند که از ۱۲۰ نمونه شیر، ۶۷ نمونه (۵۵/۸ درصد) مثبت، ۶۳ نمونه (۹۴/۰۲ درصد) فراتر از استاندارد اروپا بودند (۲۷). پژوهشی در چین که توسط XU و همکاران (۲۰۲۰) ۳۴/۵ درصد از نمونه‌های شیر از حد قانونی اتحادیه اروپا (EU) برای AFM1 در شیر فراتر بود (۲۸) مطالعه جعفری و همکاران (۲۰۲۱) بر روی ارزیابی شیر سنتی و صنعتی به آفاتوکسین M1 در اصفهان دریافتند که میانگین غلظت AFM1 در نمونه‌های شیر سنتی و صنعتی به ترتیب ۵۳ و ۵۴/۳۳ ng/L بودند که بالاتر از استانداردهای اتحادیه

اروپا و کدکس بود. تاجیک و همکاران (۲۰۰۷) روی میزان آفاتوکسین M1 در شهرستان ارومیه نشان داد که از ۷۲ نمونه انتخاب شده، تمامی نمونه‌ها به آفاتوکسین آلوده بودند که ۶/۲۵ درصد نمونه‌ها فراتر از استانداردهای ملی بودند (۲۹). پژوهش‌های یادشده، مطابقتی با نتایج مطالعه‌ی حاضر ندارند، از مهم‌ترین دلایل عدم مطابقت با پژوهش حاضر می‌توان به شرایط جغرافیایی محل نمونه‌گیری و آزمایش، میزان آلودگی آفاتوکسین B1 در خوراک دام و خطای آزمایشگر اشاره کرد.

ستوده و همکاران (۲۰۲۱) بر روی تشخیص آفاتوکسین M1 در شیر نشان داد که در تمام نمونه‌های شیر پاستوریزه در محدوده‌ی ۴۱ تا ۳۷ ng/L نشان داده شد (۳۰). Xiong و همکاران (۲۰۱۹) روی بررسی شیوع آفاتوکسین M1 در انواع شیر از مجموع ۷۳۴ نمونه، ۵۹۰ نمونه (۸۰/۴ درصد) برای آفاتوکسین M1 مثبت بودند. میانگین آفاتوکسین ۲۳/۷ ng/L بود و رنج آلودگی در محدوده ۵/۱ تا ۹۶/۴ ng/L بود (۳۱). پژوهشی توسط **فلاح و همکاران در یزد (۲۰۱۶)** با هدف رخداد آفاتوکسین M1 در شیرهای خام، گزارش دادند که بیشترین میزان آلودگی مربوط به شیر گاو با ۴۶/۵ درصد بود. سپس به ترتیب گوسفند، بز و شتر با درصدهای ۲۱/۶ درصد، ۲۰/۱ درصد و ۴/۰۳ درصد به آفاتوکسین آلوده بودند (۳۲). **پرویزی‌فرا و رحیمی در پژوهشی (۲۰۲۴)** با هدف تعیین آفاتوکسین M1 در شیرهای عرضه‌شده در شهرستان کرج گزارش دادند از ۶۰ نمونه شیر نشخوارکنندگان، ۱۰۰ درصد آلودگی به آفاتوکسین M1 وجود داشت در حالی که هیچ‌کدام از نمونه‌ها فراتر از آلودگی ایران و اتحادیه اروپا نبودند (۳۳). مطالعه‌ای توسط **واقف و محمدی** با هدف تعیین میزان آلودگی به آفاتوکسین M1 از مجموع ۱۴۴ نمونه شیر (۱۰۲ نمونه شیر خام و ۴۲ نمونه شیر پاستوریزه) در غرب ایران گزارش دادند که آفاتوکسین M1 در ۴۷/۹۱ درصد نمونه‌ها با غلظت متوسط ۳۹/۴۵ ng/L یافت شد. بالاترین میانگین غلظت آفاتوکسین M1

جهت کاهش این قارچ باید اندیشیده شود که می‌توان به عدم تغذیه دام با نان خشک و علوفه کپک زده، ایجاد شرایط مناسب محیطی در انبارهای خوراک دام مانند پوشاندن سطح رویی خوراک پس از هر بار برداشت جهت جلوگیری از گسترش قارچ، نظارت مستمر و دقیق بر نحوه‌ی کنترل و نگهداری علوفه و خوراک دام توسط کارشناسان مجرب اشاره کرد. اگر چه به دلیل وجود رطوبت و حرارت بالا در مزارع پرورش علوفه، پیشگیری از تشکیل سم آفلاتوکسین قبل از برداشت محصول مشکل است، می‌توان با ذخیره محصول بر اساس اصول علمی میزان این سم را تا حد زیادی کاهش داد و تا جایی که امکان دارد خوراک دام را تا حدودی از این آلودگی‌های قارچی حفظ نموده و یا میزان آن را کاهش داد. در ایران شیوع آفلاتوکسین M₁ در شیر دام، گسترش فراوانی داشته و به این دلیل لازم است این دسته از فراورده‌های غذایی به‌طور مستمر مورد پایش قرار گیرند. شیوع آفلاتوکسین در شیر خطرات جبران‌ناپذیری را بر سلامت انسان تحمیل نموده، از این رو کنترل دوره‌ای و مستمر امری حیاتی است. این پژوهش نشان داد آفلاتوکسین M₁ همچنان یک خطر مهم در بخش سلامت و امنیت غذایی است که می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را مورد مخاطره قرار دهد و صدمات جبران‌ناپذیری در پی داشته باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که آلودگی آفلاتوکسین M₁ در شیرهای عرضه‌شده در شیراز پایین‌تر از آستانه‌ی مجاز ارائه‌شده توسط اتحادیه اروپا، ایران و آمریکا است و بنابراین پایش همیشگی و مداوم، کنترل نقاط حساس در زنجیره‌ی خوراک دام می‌تواند محتوای AFM₁ را در بیشتر از میانگین به‌دست‌آمده از این پژوهش کاهش دهد. با وجود آنکه میزان آفلاتوکسین M₁ در تمامی نمونه‌های شیر بررسی شده کم‌تر از حدود مجاز تعیین‌شده توسط استانداردهای ایران، اتحادیه اروپا و آمریکا بود، مشاهده آلودگی در همه نمونه‌ها نشان می‌دهد که این آلاینده همچنان از نظر ایمنی غذایی حائز اهمیت است. بنابراین، پایش مستمر شیر و کنترل

در نمونه‌های گاوداری سنتی ($43/9 \pm 9/5$ ng/L) ثبت شد. غلظت آفلاتوکسین M₁ در ۲۱/۵ درصد شیر خام گاو و ۱۱/۹ درصد شیرهای پاستوریزه بالاتر از حداکثر تعیین‌شده توسط اتحادیه اروپا/کمیسیون Codex Alimentarius بود. میزان آلودگی در زمستان به‌طور معنی داری ($0/05 - P$) بیش‌تر از تابستان بود (۳۴). رحیمی و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهشی روی رخدادهای آفلاتوکسین M₁ در شیر نشخوارکنندگان دریافتند که میزان آلودگی در ۴۲/۱ درصد نمونه‌ها با غلظت متوسط ۴۳/۳ ng/L بود (۳۵). پژوهشی در مصر (۲۰۰۹) روی غلظت آفلاتوکسین M₁ در شیر خام گزارش دادند میانگین آلودگی کم‌تر از ۵۰ نانوگرم در لیتر بود (۳۶). نتایج مطالعات یادشده، مطابق با پژوهش حاضر است. محیط جغرافیایی، شرایط آب و هوایی یکسان و پایش مستمر خوراک دام از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین B₁ می‌تواند از مهم‌ترین ویژگی‌های مطابقت مطالعات پیشین با پژوهش حاضر باشد.

تمرکز این مطالعه تعیین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در انواع شیرهای عرضه‌شده در شهرستان شیراز بود. از آنجا که فرایندهای حرارتی، عدم حضور سم آفلاتوکسین M₁ در شیر و فراورده‌های حاصل از آن را ضمانت نمی‌کند، وجود این ماده‌ی خطرناک و بسیار سمی در شیر، اهمیت فوق‌العاده زیادی دارد. وجود شیری عاری از آفلاتوکسین مطلوب جوامع بوده، اما دستیابی به این موضوع، به راحتی ممکن نیست. بر این اساس ضوابط و استانداردهایی جهت کاهش این سم در شیر و فراورده‌های آن تنظیم شده است. البته محدوده‌های تعیین‌شده توسط استاندارد به‌طور وسیعی متغیر بوده و اصول علمی ظریفی در تنظیم آن‌ها نقش دارد. به‌نظر می‌رسد حضور سم آفلاتوکسین M₁ با تغذیه دام‌های شیروار مرتبط است. جهت رسیدن به کیفیت مطلوب شیر باید غذای دام بدون آلودگی به آفلاتوکسین B₁ باشد. به دلیل شرایط نامناسب نگهداری خوراک دام، قارچ آسپرژیلوس به سرعت بر روی خوراک دام رشد نموده و گسترش می‌یابد. لازم به ذکر است که راه‌کارهایی

پژوهش، راهنمایی‌های ارزشمندی را ارائه دادند، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافع مالی یا غیرمالی با سازمان‌ها یا افرادی که ممکن است از نتایج این تحقیق منتفع شوند، ندارند. این پژوهش بدون هیچ‌گونه حمایت مالی خارجی انجام شده و نویسندگان کاملاً به استقلال علمی خود متعهد هستند.

References

1. Borchers A, Teuber SS, Keen CL, Gershwin ME. Food safety. Clin Rev Allergy Immunol. 2010;39(1-3):95-141.
2. Jaiswal L, Worku M. Recent perspectives on cow's milk allergy and dairy nutrition. Crit Rev Food Sci Nutr. 2022;62(27): 7503-7517.
3. Webbe J, Uthaya S, Modi N. Nutrition for the micro preemie: beyond milk. Semin Fetal Neonatal Med. 2022; 27(3):101344
4. Afshar S, Sheikhloie H. Survey of Aflatoxin M1 in Pasteurized Milks of East Azerbaijan Province by HPLC Method. J Health. 2022;12(4):478-487.
5. Wochner KF, Becker-Algeri TA, Colla E, Badiale-Furlong E, Drunkler DA. The action of probiotic microorganisms on chemical contaminants in milk. Crit Rev Microbiol. 2018;44(1):112-123.
6. Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG. Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. Front Microbiol. 2017;8: 2170.
7. Corassin CH, Borowsky A, Ali S, Rosim RE, de Oliveira CAF. Occurrence of Aflatoxin M1 in milk and dairy products traded in São Paulo, Brazil: An update. Dairy. 2022;3(4):842-848.
8. Hattimare D, Shakya S, Patyal A, Chandrakar C, Kumar A. Occurrence and exposure assessment of Aflatoxin M1 in milk and milk products in India. J Food Sci Technol. 2022;59(6):2460-2468.
9. Min L, Fink-Gremmels J, Li D, Tong X, Tang J, Nan X, et al. An overview of aflatoxin B1 biotransformation and aflatoxin M1

نقاط حساس در زنجیره تأمین خوراک دام، به‌ویژه پیشگیری از آلودگی خوراک به آفاتوکسین B1، می‌تواند در کاهش میزان AFM1 در شیر و حفظ سلامت مصرف‌کنندگان مؤثر باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله، از زحمات و حمایت‌های بی‌دریغ کارشناسان و اعضای محترم هیئت علمی بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد شهرکرد که در طول انجام این

secretion in lactating dairy cows. Anim Nutr. 2021;7(1):42-48.

10. European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to aflatoxin B1 as an undesirable substance in animal feed. EFSA J. 2004;2(39):1-27.

11. Ferrari L, Fumagalli F, Rizzi N, Grandi E, Vailati S, Manoni M, et al. An eight-year survey on aflatoxin B1 indicates high feed safety in animal feed and forages in northern Italy. Toxins (Basel). 2022;14(11):763.

12. de Matos CJ, Schabo DC, do Nascimento YM, Tavares JF, Lima EdO, da Cruz PO, et al. Aflatoxin M1 in Brazilian goat milk and health risk assessment. J Environ Sci Health B. 2021;56(4):415-22.

13. Turna NS, Wu F. Aflatoxin M1 in milk: A global occurrence, intake, & exposure assessment. Trends Food Sci Technol. 2021;110:183-92.

14. Seid A, Mama, A. Aflatoxicosis and occurrence of aflatoxin M1 (AFM1) in milk and dairy products: a review. Austin J Vet Sci Anim Husband. 2019;6(1):1054.

15. European Commission. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off J Eur Union. 2006;364:5-24.

16. Kafle S, Paudel M, Shrestha C, Kathayat KB, Sapkota RC, Tiwari A, et al. Aflatoxin M1 contamination in dairy milk in Kathmandu, Nepal. Toxins (Basel). 2024;16(11):468.

17. Kiarie G, Dominguez-Salas P, Kang'ethe S, Grace D, Lindahl J. Aflatoxin exposure among young children in urban low-income areas of Nairobi and association with child growth. *Afr J Food, Agri, Nurt Dev*. 2016;16(3):197-211.
18. Abdulrazzaq YM, Osman N, Yousif ZM, Al-Falahi S. Aflatoxin M1 in breast milk of UAE women. *Ann Trop Paediatr*. 2003;23(3):173-179.
19. Giovati L, Magliani W, Ciociola T, Santinoli C, Conti S, Polonelli L. AFM1 in milk: Physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. *Toxins (Basel)*. 2015;7(10):4330-4349.
20. Mahdavi R, Nikniaz L, Arefhosseini S, Vahed Jabbari M. Determination of aflatoxin M1 in breast milk samples in Tabriz-Iran. *Matern Child Health J*. 2020;14(10):758-767.
21. Ahlberg S, Grace D, Kiarie G, Kirino Y, Lindahl J. A risk assessment of aflatoxin M1 exposure in low and mid-income dairy consumers in Kenya. *Toxins (Basel)*. 2018;10(9):348.
22. Yahyaraeyat R, Shokri H, Khosravi A, Torabi S. Evaluation of the contamination of aflatoxin M1 level in raw milk samples by ELISA method in Yazd province. *J Vet Res*. 2017;72(7):78-89.
23. Mollakhalili-Meybodi N, Nematollahi A. The occurrence of aflatoxin M1 in milk samples of Iran: A systematic review and meta-analysis. *Environ Monit Assess*. 2023;195(6):786.
24. ISIRI. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Maximum permitted levels of mycotoxins in foods. 2020;5925:1-15.
25. Petersen AB. Expert advice on appropriate criteria and limits for contaminants in ready-to-use therapeutic foods. New York: World Food Programme and United Nations Children's Fund; 2018. p. 1-15.
26. Hepçin S, Gücükoğlu A. Determination of Aflatoxin M1 in Buffalo Milk and Products. *Turk J Agric Food Sci Technol*. 2022;10(12):2354-7.
27. Kortei NK, Annan T, Kyei-Baffour V, Essuman EK, Boakye AA, Tettey CO, *et al*. Exposure assessment and cancer risk characterization of aflatoxin M1 (AFM1) through ingestion of raw cow milk in southern Ghana. *Toxicol Rep*. 2022;9(3):1189-97.
28. Xu N, Xiao Y, Xie Q, Li Y, Ye J, Ren D. Occurrence of aflatoxin B1 in total mixed rations and aflatoxin M1 in raw and commercial dairy milk in northern China during winter season. *Food Control*. 2021;124:107916.
29. Tajik H, Rohani SMR, Moradi M. Determination of aflatoxin M1 in pasteurized and Raw Milk in Urmia, Iran. *Pak J Biol Sci*. 2007;10(22):4103-4107.
30. Sotoodeh L, Dini A, Rezaeian M, Esmacili A, Asgaryan 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.
31. Xiong J, Peng L, Zhou H, Lin B, Yan P, Wu W, *et al*. Prevalence of aflatoxin M1 in raw milk and three types of liquid milk products in central-south China. *Food Control*. 2020;108:106840.
32. 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.
33. Parvizifara S, Rahimi E. Occurrence of aflatoxin M1 in ruminants milk offered in Karaj County using ELISA. *Food Process Preserv J*. 2024;16(1): 67-80.
34. 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.
35. Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini H. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food Chem Toxicol*. 2010;48(1):129-31.
36. Motawee MM, Bauer J, McMahon DJ. Survey of aflatoxin M1 in cow, goat, buffalo and camel milks in Ismailia-Egypt. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2009;83:766-9.



Volume 9, Issue 2, Summer 2026, pages: 33-42

۴۲

Occurrence of Aflatoxin M1 in Different Types of Milk Marketed in Shiraz, Iran, Using ELISA

Amir hossein Hashemi¹, Najmeh Vahed dehkordi^{1*}, Ebrahim Rahimi¹

1- Department of Food Hygiene, Shk.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Correspondence author: najmeh.vaheddehkordi@iaau.ir

Receive: May 04, 2026; Revise: June 09, 2026; Accept: July 16, 2026

 10.22034/nfvm.2026.580438.1312

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites naturally produced by molds and may contaminate food products intended for human and animal consumption. Aflatoxin M1 is a carcinogenic compound found in milk and dairy products and may pose a potential health risk to consumers. This study aimed to determine the occurrence of aflatoxin M1 in different types of milk marketed in Shiraz, Iran, using ELISA. A total of 80 milk samples, including 20 raw, 20 pasteurized, 20 ESL, and 20 sterilized milk samples, were randomly collected during spring, summer, autumn, and winter. Samples were transported under cold conditions to the laboratory of Islamic Azad University of Shahrekord and analyzed for aflatoxin M1 using an ELISA kit according to the manufacturer's instructions. The results showed that all samples were contaminated with aflatoxin M1; however, none exceeded the Iranian or European regulatory limits. The mean aflatoxin M1 concentrations were 30.77 ng/L in raw milk, 32.45 ng/L in pasteurized milk, 27.39 ng/L in ESL milk, and 24.24 ng/L in sterilized milk. Since all detected concentrations were below the Iranian, European, and American limits, the milk samples marketed in Shiraz appear to pose a low risk to consumers.

Keywords: aflatoxin M1, mycotoxin, milk, food safety.