

بررسی میزان آفلاتوکسین B1 و M1 در تعدادی از مواد غذایی موجود در انبارهای مواد غذایی یگان‌های نزاها در تهران در سال ۱۳۹۰

دکتر کیوان کوهیان^۱، دکتر محمدحسن کاظمی^۲، دکتر مرتضی اکبری^۳

چکیده

مقدمه: انواع قارچ‌های آسپرژیلوس از مهمترین گونه‌های مولد آفلاتوکسین‌های B₁، B₂، G₁ و G₂ در مواد غذایی می‌باشند. آفلاتوکسین‌های M₁ و M₂ متابولیت‌های هیدروکسیله شده آفلاتوکسین‌های B₁ و B₂ هستند. هدف از اجرای این مطالعه بررسی وضعیت آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین در انبارهای مواد غذایی نزاها بوده است. بدین منظور از ۴ نوع مواد غذایی شامل برنج، آرد گندم، پنیر و ماست در سال ۱۳۹۰ نمونه‌گیری و آزمایش به عمل آمد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه یک مطالعه مقطعی می‌باشد که در سال ۱۳۹۰ بر روی ۴ ماده غذایی صورت پذیرفت. از هر نوع ماده غذایی در هر یگان تعداد ۲۰ نمونه مطابق با استانداردهای ملی نمونه‌گیری به عمل آمد. میزان آفلاتوکسین B₁ و آفلاتوکسین M₁ در محصولات یاد شده توسط الیزا تعیین گردید.

یافته‌ها: از ۱۶۰ نمونه اخذ شده از هر یک از این مواد، ۴/۳۷٪ از نمونه‌های برنج، ۸/۱۲٪ از نمونه‌های آرد گندم، ۲۱/۲۵٪ از نمونه‌های پنیر و ۵/۶۲٪ از نمونه‌های ماست به آفلاتوکسین آلوده بودند. نمونه‌های برنج، آرد گندم، پنیر و ماست به ترتیب دارای ۰/۶۲۵٪، ۱/۲۵٪، ۵٪ و ۱/۸۷٪ آلودگی بیش از حد مجاز آفلاتوکسین بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع میزان آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین در نمونه‌های مواد غذایی موجود در یگان‌های نزاها پایین‌تر از میانگین کشوری بود که این امر می‌تواند به علت آزمایش‌های میکروبی و قارچی بر نمونه‌های دریافتی از کارخانه‌ها باشد. البته با توجه به این که نمونه‌گیری‌ها عمدتاً در فصل تابستان انجام گرفته‌اند، تغذیه دام‌ها با علوفه تازه نیز می‌تواند باعث کاهش قابل توجه آفلاتوکسین در فرآورده‌های لبنی گردد. موثرترین و مهمترین راه‌های کنترل آلودگی، تولید فرآورده‌های فاقد آفلاتوکسین و یا میزان پایین آن می‌باشد که عمدتاً با نگهداری بسته‌بندی و فرآوری مناسب مواد غذایی پدید می‌آید.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین، برنج، آرد گندم، پنیر، ماست، نزاها

مقدمه:

قارچ‌های *Aspergillus Flavus*، *A. parasiticus* و *A. nomius* از مهمترین گونه‌های مولد آفلاتوکسین‌های B₁، B₂، G₁ و G₂ در مواد غذایی می‌باشند. آفلاتوکسین‌های M₁ و M₂ از متابولیت‌های هیدروکسیله شده آفلاتوکسین‌های B₁ و B₂ تولید می‌گردند. از بین تمام آفلاتوکسین‌ها، آفلاتوکسین B₁ سمی‌ترین متابولیت بوده و از طرف آژانس بین‌المللی تحقیق روی سرطان به عنوان ترکیبی سرطان‌زا در گروه A عوامل سرطان‌زا قرار گرفته است (۱، ۲). سمیت و خاصیت سرطان‌زایی آفلاتوکسین M به مراتب کمتر از آفلاتوکسین B است و در گروه B عوامل سرطان‌زا قرار می‌گیرد. سمیت و خاصیت سرطان‌زایی آفلاتوکسین در محصولات خشک‌سار پسته و انجیر گزارش شده است.

ارتباط مستقیمی بین حضور آفلاتوکسین M₁ در شیر و آفلاتوکسین B₁ در خوراک دام وجود دارد. بین ۰/۳ تا ۶/۲ درصد از آفلاتوکسین B₁ خورده شده توسط دام، به صورت آفلاتوکسین M₁ از شیر خام دفع می‌شود. آفلاتوکسین M₁ در فرآورده‌های شیری نسبتاً با ثبات است (۳، ۴، ۵).

بنابراین اگر شیر خام به آفلاتوکسین M₁ آلوده باشد پنیر تولید شده

از این شیر همچنان حاوی آفلاتوکسین M₁ خواهد بود. میزان حضور آفلاتوکسین M₁ در پنیر حدود ۴ برابر بیشتر از ماده اولیه آن یعنی شیر می‌باشد. میزان توزیع آفلاتوکسین در پنیر به عوامل زیادی از جمله درجه آلودگی شیر یا کیفیت شیر و پروسه تولید پنیر بستگی دارد. با توجه به اهمیت شیر و فرآورده‌های شیری در تغذیه انسان خصوصاً نوزادان و کودکان و خطرات بالقوه آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی، محدودیت‌هایی به وسیله بسیاری از کشورها در خصوص حضور آفلاتوکسین‌ها در غذای انسان و خوراک دام اعمال شده است. بر اساس استاندارد اتحادیه اروپا حداکثر حد مجاز آفلاتوکسین M₁ در شیر مایع و ماست ۵۰ نانوگرم در کیلوگرم تعیین شده است و مطابق استاندارد FAO آمریکا، سطح آفلاتوکسین M₁ در شیر مایع نباید بیش از ۵۰۰ نانوگرم در کیلوگرم باشد. حداکثر حد مجاز غلظت آفلاتوکسین M₁ در پنیر در بسیاری از کشورهای اروپایی

۱- اداره بهداشت و درمان نزاها، آزمایشگاه مواد غذایی، دامپزشک

۲- اداره بهداشت و درمان نزاها، مدیریت طب پیشگیری، دامپزشک MPH

۳- اداره بهداشت و درمان نزاها، معاونت بهداشت، دامپزشک MPH

۴- اداره بهداشت و درمان نزاها، معاونت آموزش و پژوهش، متخصص بیماری‌های عفونی

۵- اداره بهداشت و درمان نزاها، آزمایشگاه مواد غذایی، کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی

۲۵۰ نانوگرم در کیلوگرم یعنی ۴ برابر بیشتر در نظر گرفته شده است. حداکثر حد مجاز غلظت آفلاتوکسین در خشکبار بر اساس استانداردهای اروپایی و ایران ۵ نانوگرم در کیلوگرم می باشد. گزارشات فراوانی از وضعیت آلودگی محصولات غذایی ایران و سایر کشورها وجود دارد (۶، ۷). با توجه به خطرات بالقوه حضور آفلاتوکسین B₁ و M₁ در فرآورده های غذایی از ۴ نوع ماده غذایی (برنج، آرد گندم، پنیر یا ماست) که بیشتر مورد مصرف کارکنان بوده و از ۸ یگان مستقر در تهران نمونه گیری به عمل آمد. نمونه ها از انبارهای مواد غذایی یگانها اخذ گردید. میزان آفلاتوکسین M₁ و B₁ توسط روش الیزا اندازه گیری گردید.

مواد و روش ها:

روش مطالعه از نوع مقطعی می باشد. بدین منظور از ۴ نوع نمونه ماده غذایی شامل برنج، آرد گندم، پنیر و ماست موجود در انبارهای مواد غذایی یگانهای مختلف نزاجا در تهران نمونه گیری به عمل آمد. از هر نوع ماده غذایی تعداد ۲۰ نمونه مطابق جدول استاندارد نمونه گیری به عمل آمد و آنها از نظر حضور آفلاتوکسین B₁ و M₁ با استفاده از روش الایزا مورد آزمایش قرار گرفتند. کیت مورد استفاده در این مطالعه از نوع R-biopharm Ridascreen بود که بر اساس ادعای شرکت سازنده حساسیت کیت برابر ۵/۰ نانوگرم در لیتر می باشد.

آماده سازی نمونه: در این بررسی میزان آفلاتوکسین B₁ در برنج و آرد گندم و میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر و ماست به وسیله روش الایزا مورد آزمایش قرار گرفت. ابتدا ۱۰ گرم از نمونه ها به صورت کامل آسیاب گردیدند. سپس نمونه های مذکور با ۵۰ میلی لیتر محلول آبی استونیتریل مخلوط گردیدند و برای ۳ دقیقه در مخلوط کن با دور بالا مخلوط شدند. محلول یاد شده صاف شده و توسط آب مقطر رقیق شد. در روش سنجش ایمنی آنزیمی در روش رقابتی غیرمستقیم ابتدا سم از نمونه مورد آزمون توسط حلال استخراج شده به درون چاهک های پلیت که از قبل با سم آفلاتوکسین پوشانده شده است اضافه می گردد. آنگاه آنتی آفلاتوکسین ویژه منوکلونال جدا شده از سرم خون موش به درون چاهک ها اضافه گردید. در نهایت آنزیم و سوبسترا اضافه می گردد و میزان جذب نوری مشخص می شود. در این راستا ۵۰ میکرولیتر از عصاره رقیق شده و آنتی آفلاتوکسین ها به هر چاهک به جز چاهک شاهد منتقل می نماییم. هر چاهک را ۵ مرتبه با محلول شستشوی آماده شده شستشو می دهیم. سپس ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم اتصال پراکسیداز اضافه می نماییم. ۱۰۰ میکرولیتر محلول ABTS تهیه شده را به چاهک ها اضافه می نماییم و میزان جذب نوری را توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (ریدر الایزا) قرائت می نماییم. برای اندازه گیری آفلاتوکسین M₁ در شیر و پنیر ۲ گرم از هر نمونه پنیر به دقت وزن

و در بالن ژوژه ۵۰ میلی لیتری حاوی ۴۰ میلی لیتر دی کلرومتان اضافه و برای مدت ۱۵ دقیقه به هم زده می شود. در ادامه سوسپانسیون حاصله با استفاده از سرنگ های فیلتردار، فیلتر و ۱۰ میلی لیتر از عصاره حاصله در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تبخیر می گردد. باقیمانده را در ترکیبی شامل ۰/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات و ۱ میلی لیتر هپتان حل می نماییم. ترکیبات به دست آمده را به مدت ۱۵ دقیقه حداکثر در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد و با دور ۲۷۰۰ دور در دقیقه سانتریوژ می نماییم و سپس فاز رویی را به طور کامل تخلیه می کنیم. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول های استاندارد و نمونه های پنیر و ماست آماده شده را به کمک سمپلر ۱۰ میکرولیتری به حفره های میکروپلیت اضافه شده و سپس به مدت ۱ ساعت به دور از نور و در درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری می نماییم. سپس مایع موجود در میکروپلیت خارج شده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قرار دادن آن به شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب رطوبت، مایع موجود در حفره ها رابه طور کامل تخلیه می کنیم سپس همه حفره ها را با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شسته و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین کونژوگه شده با آنزیم ها به حفره ها اضافه شد و میکروپلیت به مدت یک ساعت در گرمخانه ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر کروموژن اضافه گردید و میزان جذب هر نمونه با قرائت کننده الیزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: یافته های بدست آمده از آزمایش و اطلاعات جمع آوری شده با نرم افزار SPSS ۱۶.۰ و آزمون های ضریب همبستگی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

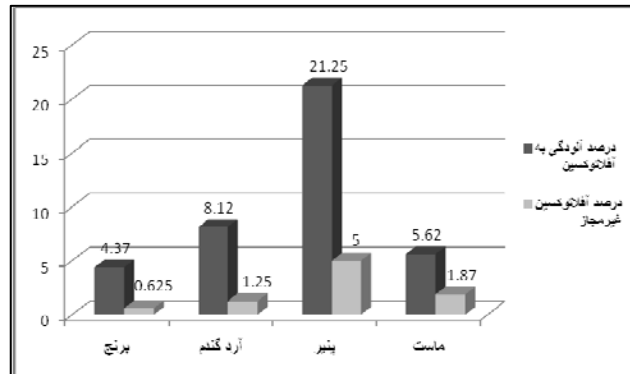
یافته ها:

میانگین مقدار آفلاتوکسین B₁ در نمونه های برنج مورد بررسی، ۳/۰۷ نانوگرم در گرم بود. از بین ۱۶۰ نمونه برنج نمونه برداری شده ۷ مورد (۴/۳۷٪) آلودگی به آفلاتوکسین B₁ داشتند که از ۷ مورد اخیر ۱ مورد از آنها دارای آلودگی بیش از حد استاندارد (۰/۶۲۵٪) بودند.

میانگین مقدار آفلاتوکسین B₁ در نمونه های آرد گندم مورد بررسی، ۲/۱۴ نانوگرم در گرم بود. در ۱۶۰ نمونه آرد گندم نمونه برداری شده از ۸ یگان، ۱۳ نمونه (۸/۱۲٪) به آفلاتوکسین B₁ آلوده بودند که از تعداد مذکور ۲ مورد (۱/۲۵٪) دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند.

میانگین مقدار آفلاتوکسین M₁ در نمونه های پنیر مورد بررسی، ۱۴۷/۴۳ نانوگرم در کیلوگرم بود. از ۱۶۰ نمونه پنیر نمونه گیری به عمل آمده، ۳۴ نمونه (۲۱/۲۵٪) آلوده به آفلاتوکسین M₁ بودند که از تعداد مذکور ۸ نمونه (۵٪) دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند.

میانگین مقدار آفلاتوکسین M₁ در نمونه‌های ماست مورد بررسی، ۲۵/۲۳ نانوگرم در لیتر بود. از ۱۶۰ نمونه ماست آزمایش شده ۹ نمونه (۵/۶۲٪) آلوده به آفلاتوکسین M₁ بودند که از تعداد مذکور، ۳ نمونه (۱/۸۷٪) دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند.



نمودار ۱: نمایش میزان آلودگی نمونه‌های برنج، آرد گندم، پنیر و ماست موجود در انبارهای مواد غذایی ۸ یگان نزاجا

در مجموع در بین ۶۴۰ نمونه اخذ شده، ۶۳ مورد (۹/۸۴٪) دارای آلودگی به آفلاتوکسین M₁ یا B₁ بودند که ۱۴ مورد (۸/۷۵٪) دارای آلودگی بیش از حد مجاز بودند.

بحث و نتیجه‌گیری:

از آنجایی که آفلاتوکسین در محصولات لبنی و فرآورده‌های گیاهی به وفور یافت می‌شود و مقالات متعدد، آلودگی محصولات مذکور را تایید می‌کند. بر اساس مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف، میزان آلودگی در ژاپن ۱۴ درصد، ترکیه ۱۲/۴ درصد و اسپانیا ۸/۴ درصد گزارش گردیده است. در ایران نتایج مطالعات متفاوت و از ۷ تا ۸۴ درصد بسته به زمان و محل نمونه‌برداری متفاوت بوده است. این بررسی نشان می‌دهد که میزان آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین در نمونه‌های مواد غذایی موجود در انبارهای مواد غذایی یگان‌های مستقر در تهران پایین‌تر از میانگین کشوری می‌باشد که این امر می‌تواند به علت وجود کنترل‌هایی که در آزمایشات متعدد قارچی و کپک بر روی محصولات به خصوص فرآورده‌های لبنی صورت می‌گیرد باشد. با توجه به اینکه نمونه‌گیری‌ها عمدتاً در فصل بهار و تابستان انجام گرفته‌اند، در این فصول به علت تغذیه دام‌ها با علوفه تازه که گالوانر و همکاران نیز به آن اشاره داشتند میزان آلودگی آفلاتوکسین M₁ کمتر می‌باشد.

حداکثر قابل قبول آفلاتوکسین M₁ در شیر و محصولات لبنی در سراسر جهان بسته به شرایط و قوانین هر کشور تنظیم و اجرا می‌شود و این میزان ممکن است از کشوری به کشور دیگر متغیر باشد. از آنجایی که در حال حاضر استاندارد ملی در مورد حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین‌ها در پنیر و ماست در ایران وجود ندارد. لذا

در بررسی این شاخص‌ها آلودگی استاندارد اتحادیه اروپا منظور گردید لیکن در خصوص برنج و آرد گندم اطلاعات و حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین‌ها از استاندارد ایران استفاده گردید.

مصرف فرآورده‌های شیری که دارای آلودگی به آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز هستند می‌تواند بالقوه برای مصرف‌کنندگان خطرناک باشد، لذا بایستی به فکر چاره و کنترل آلودگی محصولات بود. از جمله موثرترین و مهمترین راه‌های کنترل آلودگی تولید فرآورده‌های فاقد آفلاتوکسین و یا با میزان پایین آفلاتوکسین می‌باشد. با عنایت به اینکه آفلاتوکسین B₁ در محصولات با منشأ گیاهی به خصوص خشکبار به علت نگهداری و بسته‌بندی نامناسب محصول پدید می‌آید، لذا کنترل آلودگی‌ها کمک شایان توجهی به کاهش آلودگی خواهد کرد.

در محصولات لبنی کنترل آلودگی مواد مصرفی دام‌های شیری و دادن غذایی سالم و فاقد آلودگی می‌تواند ما را در تولید شیرهای فاقد سم و یا شیرهایی که دارای حداقل آلودگی هستند یاری نماید. علاوه بر آن تلاش در جهت هماهنگ کردن مقررات مربوط به حدود مجاز آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی مورد مصرف انسان و تحقیق در مورد روش‌های سالم‌سازی محصولات گیاهی و دامی و یا حذف سموم قارچی از آنها ضروری به نظر می‌رسد (۸.۹).

منابع:

- 1-Ardic. M, Atas, Y(2009): Aflatoxin M₁ Levels Of Turkish White brined cheese, Food Control, 20:196-199
- 2-Blanco. J, Domingues. L (2008): Behavior Of Aflatoxin during the manufacture ripening and storage, Journal of food science, 53:73-76
- 3-Taniwaki. M (1992): occurrence of toxigenic molds in brazilian cheese, Journal of food protection, 187-191
- 4-Van Egmond. H (1989): Mycotoxins in dairy products, Elsevir applied science London, pp:1-25-
- Food and Agriculture Organization (1997): Worldwide regulations for mycotoxins. A compendium, FAO, Food and Nut paper, pp:60-74
- 6-J. P. F. DMELLO (2003): Food safety contaminants and Toxins, CAB Publication, PP:67-83
- 7-Sarimehmetoglu. B (2004): Detection of Aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA, Food control, 15:45-51
- 8-Galvano. B (1996): Occurrence of Aflatoxin M₁ in some cheese types sold in Erzurum turkey, Turkish Journal of veterinary science, 28:527-5
- ۹- ابراهیمی، رحیمی (۱۳۹۰): بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M₁ در پنیر سفید ایرانی، مجله تغذیه و صنایع غذایی ایران. شماره ۴