

مطالعه آلودگی آفلاتوکسینی پنیرهای سفید کارخانه‌ای عرضه شده به بازار تهران با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک

ابوالفضل کامکار*

استادیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

چکیده :

در این مطالعه تعداد ۴۸ نمونه از پنیرهای سفید کارخانه‌ای عرضه شده در شهر تهران (مربوط به کارخانجات مختلف و با تاریخ تولیدهای متفاوت) بصورت تصادفی انتخاب شده و مقدار آفلاتوکسین های M_I و B_I, B_2, G_I, G_2 با روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مورد ارزیابی قرار گرفت. آفلاتوکسین M_I در ۳۷ نمونه (۷۰/۰۸٪) از ۴۸ نمونه پنیرهای مورد آزمایش وجود داشت. حدود ۷۵/۶٪ از نمونه‌های مثبت، دارای مقادیر آفلاتوکسین M_I بیشتری در مقایسه با حداکثر مجاز (۰/۲۵ ppb) که توسط اتحادیه اروپا پذیرفته شده است، بودند.

میزان آلودگی در نمونه های تولید شده طی ماههای مختلف با یکدیگر متفاوت بود. محدوده آلودگی نمونه‌های مختلف پنیر در طی دوره شش ماهه مطالعه به ترتیب در طی ماههای دی، بهمن، اسفند، فروردین، اردیبهشت و خرداد ۱۵۹-۷۴۷، ۱۹۷-۷۲۰، ۱۸۵-۱۰۴۷، ۲۳۲-۷۶۱، ۲۱۸-۶۲۷ و ۱۷۶-۴۹۵ نانوگرم در هر کیلوگرم و میانگین آنها ۳۹۰/۸۷، ۴۹۶/۱۲، ۵۵۳/۵۰، ۲۸۷/۱۲، ۲۵۸/۲۵ و ۲۱۳/۸۷ نانوگرم در هر کیلوگرم بود.

بالاترین میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_I در نمونه‌های پنیر تولیدی در اسفندماه (۵۵۳/۵ ng/kg) و پایین‌ترین آن مربوط به نمونه‌های تولیدی در طی خرداد ماه ۲۱۳/۸ ng/kg بدست آمد.

در تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات بدست آمده مشخص گردید که میانگین آلودگی نمونه‌های پنیر در طی مدت شش ماه و بین ماههای مختلف به صورت جداگانه معنی‌دار نمی‌باشد ($p > ۰/۰۵$)، ولی در مقایسه میانگین نمونه‌های اخذ شده طی دو فصل سال، یعنی زمستان و بهار، این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p = ۰/۰۰۴$).

به عبارت دیگر میانگین آلودگی آفلاتوکسین پنیرهای تولید شده در طی فصل زمستان بصورت معنی داری از میانگین آلودگی آفلاتوکسین نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل بهار بالاتر بود. ضمناً در این بررسی هیچکدام از نمونه ها دارای آلودگی به آفلاتوکسینهای B_I, B_2, G_I, G_2 نبودند.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میزان آلودگی آفلاتوکسین M_I در نمونه‌های پنیر آزمایش شده در این مطالعه می‌تواند برای سلامتی مصرف کنندگان مخاطره‌آمیز باشد.

کلیدواژه ها: آفلاتوکسین ، پنیرسفید.

* مسئول مکاتبات مقاله: abolfazl_kamkar@yahoo.com

۱- مقدمه:

آفلاتوکسین‌ها^۱ گروه بزرگی از مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که بوسیله گونه‌های خاصی از جنس قارچی آسپرژیلوس تولید می‌شوند. این گروه از سموم قارچی به عنوان سردسته تمامی مایکوتوکسین‌ها محسوب می‌شوند، به همین دلیل بیش از سایر مایکوتوکسین‌ها مورد توجه محققین و مراجع بهداشتی قرار گرفته‌اند [۱]. بعضی از آفلاتوکسین‌ها به عنوان عامل سرطانزای قوی در میان ترکیبات شناخته شده طبیعی مطرح می‌باشند. به همین دلیل کوشش‌های فراوانی در راستای حذف یا غیرفعال سازی این ترکیبات در زنجیره غذایی انسان و حیوانات به عمل آمده است. تاکنون ۱۸ نوع آفلاتوکسین مورد شناسایی قرار گرفته است که از این میان انواع B_1 ، M_1 و G_1 بیشترین اهمیت را دارند [۱]. آفلاتوکسین M_1 ممکن است در شیر حیواناتی که از غذای آلوده به آفلاتوکسین B_1 تغذیه کرده باشند یافت شود. شکل‌گیری آفلاتوکسین M_1 که متابولیتی از آفلاتوکسین B_1 است در کبد صورت می‌گیرد و در غدد پستانی گاوهای شیری به درون شیر ترشح می‌شود. در مقالات زیادی گزارش شده است که بین میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر و آفلاتوکسین B_1 در غذای مصرف شده بوسیله حیوانات یک رابطه خطی وجود دارد. از طرف دیگر سطوح آفلاتوکسین M_1 در شیر تغییری فصلی را نشان می‌دهد و مقدار سم در فرآورده‌های مختلف حاصل از شیر آلوده، دارای تفاوت‌هایی می‌باشد [۲].

با عنایت به اینکه مصرف دراز مدت آفلاتوکسین‌ها در انسان اثرات موتاسیون زایی، سرطانزایی و ناقص‌الخلقه زایی را بدنبال دارد و از طرفی شیر و فرآورده‌های شیری مورد مصرف روزانه اکثریت قریب به اتفاق مردم می‌باشند، بنابراین بررسی وجود این سموم در پنیر می‌تواند وسعت و اهمیت مسئله را با عدد و رقم

مطمئن‌ی نشان دهد و طبیعی است در صورتیکه نتوانیم برای کاهش یا حذف آلودگی شیرهای تحویلی به واحدهای تولید کننده پنیر فکری بکنیم، چنین اطلاعات پایه‌ای به ما نشان خواهد داد که آیا مسئله آنقدر اهمیت دارد که لازم باشد تحقیقات و توجهات بیشتر در این زمینه صورت گیرد یا خیر. در این مطالعه هدف کلی شامل این موارد می‌باشد:

- ۱- تعیین وضعیت آلودگی پنیرهای سفید کارخانه‌ای عرضه شده در تهران به آفلاتوکسین
- ۲- مقایسه میزان آلودگی پنیرهای آلوده با استانداردهای موجود داخل و خارج.

۲- مواد و روش کار :

۲-۱- مواد مورد استفاده:

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق دارای خلوص و کیفیت آزمایشگاهی بوده و آب مورد استفاده، آب مقطر بود.

۲-۱-۱- روش نمونه‌برداری و تعداد

نمونه:

پنیر، در این بررسی بر اساس نتایج حاصل از پژوهشهای قبلی با در نظر گرفتن شیوع آلودگی برابر ۸۰ درصد احتیاج به حداقل ۴۸ نمونه پنیر سفید (پنیر سفید نگهداری شده در آب نمک) کارخانه‌ای داشتیم که این نمونه‌ها در طی مدت شش ماه و هر ماه تعداد ۸ نمونه با تاریخ تولیدهای مختلف و به صورت تصادفی تهیه شدند.

محلول کار آفلاتوکسین M_1 با غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در میلی‌لیتر.

محلولهای استاندارد حاوی آفلاتوکسین‌های B_1 ، B_2 ، G_1 ، G_2 با غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر.

^۱ - Aflatoxins

۲-۲- وسایل مورد استفاده:

۱. صفحات لایه نازک از سیلیکاژل به ابعاد ۲۰ × ۲۰ (سیلیکاژل ۶۰ Merck روی شیشه)
۲. لامپ ماوراء بنفش قابل تنظیم با طول موج ۳۶۰ نانومتر
۳. وسایل معمول آزمایشگاهی برای کروماتوگرافی لایه نازک
۴. ستون شیشه ای برای کروماتوگرافی ستونی با طول ۳۰ سانتیمتر و قطر داخلی یک سانتیمتر و مخزنی تقریباً به حجم ۱۵ میلی لیتر که انتهای پائینی آن باریک شده و دایره کوچکی را با قطر ۴ میلی متر تشکیل می دهد که مجهز به شیر مناسب باشد.
۵. تبخیر کننده چرخشی مجهز به خلاء

۲-۳- روش کار:

پس از انتقال نمونه های پنی‌ر جمع آوری شده به آزمایشگاه و آماده سازی اولیه بلافاصله عملیات اندازه گیری آفاتوکسین با روش TLC مطابق روش مرجع AOAC (۳) انجام گرفت.

در این روش برای استخراج سم از کلروفرم استفاده شد، سپس با کمک کروماتوگرافی ستونی حاصل استخراج تصفیه شده و پس از تغلیظ، به روش کروماتوگرافی روی لایه نازک تعیین مقدار شد. در کروماتوگرافی روی لایه نازک به عصاره آماده شده پس از کروماتوگرافی ستونی مقدار معینی کلروفرم یا مخلوط بنزن + استونیتریل اضافه گردید سپس توسط یک سرنگ میکرولیتری مقادیر مشخص از عصاره نمونه مورد آزمون و محلول های استاندارد آفاتوکسین برداشته شد و بر روی صفحه کروماتوگرافی به شرح زیر نقطه گذاری گردید، به طوریکه فاصله نقاط با حاشیه پائینی صفحه کروماتوگرافی حدود ۲ سانتیمتر بود.

مقادیر ۳، ۶، ۱۲، ۲۴ میکرولیتر از محلول استاندارد آفاتوکسین M₁ با غلظت ۰/۰۵ میکروگرم در میلی لیتر مقدار ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده از نمونه مورد آزمون مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول استاندارد که حاوی آفاتوکسین های B₁، B₂، G₁، G₂ باشد.

سپس در فاصله ۱۲ تا ۱۴ سانتیمتر صفحه کروماتوگرافی از محل نقطه گذاری شده یک خط جهت تعیین مرز حلال کشیده شد (حدی که حلال باید روی صفحه بالا بیاید) و بلافاصله صفحه درون مخزن یا تانک ظهور که به آن حلال ظهور، اضافه شده بود قرار داده شده و تانک در تاریکی گذاشته شد تا ظهور صورت پذیرد. (منظور از ظهور، حرکت حلال ظهور بر روی صفحه کروماتوگرافی می باشد که بر اثر این عمل سموم آفاتوکسین از هم جدا و تفکیک می گردند). پس از آنکه خط حلال حدود ۱۲ سانتیمتر روی صفحه بالا آمد، صفحه کروماتوگرافی از مخزن خارج شده و در تاریکی قرار داده شد تا حلال آن تبخیر شود سپس آن را در تاریکی و به فاصله ۱۰ سانتیمتر زیر لامپ ماوراء بنفش قرار داده و وضعیت لکه های ایجاد شده توسط آفاتوکسین ها را ارزیابی نموده و محل های آن روی صفحه به طور تقریبی تعیین گردید.

۲-۴- روش تخمین و محاسبه میزان آفاتوکسین:

در این روش مقدار آفاتوکسین موجود در عصاره مورد آزمون از طریق مقایسه چشمی مابین شدت فلورسانس نقاط مربوط به عصاره و نقاط مربوط به استانداردها صورت گرفت و میزان آفاتوکسین را مطابق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{میزان آفاتوکسین بر حسب میکروگرم در کیلوگرم} = \frac{V_{st}}{V_m} C_{st} \times \frac{V_{ext}}{m \times (VF/125)}$$

V_{st} = حجم استاندارد آفلاتوکسین M_1 یا B_1 بر حسب میکرولیتر

V_m = حجم عصاره نمونه بر حسب میکرولیتر

C_{st} = غلظت استاندارد آفلاتوکسین M_1 یا B_1 بر حسب میکروگرم در میلی لیتر

V_{ext} = حجمی که عصاره نمونه در آن حل شده است (بر حسب میکرولیتر)

M = وزن پنیر بر حسب گرم

VF = حجم ماده صاف شده بر حسب میلی لیتر

125 = حجم کلروفورم مورد استفاده در استخراج بر حسب میلی لیتر

۳-نتایج:

در این مطالعه تعداد ۴۸ نمونه از پنیرهای سفید کارخانه‌ای عرضه شده در شهر تهران (مربوط به کارخانجات مختلف و با تاریخ تولیدهای متفاوت) بصورت تصادفی انتخاب شده و مقدار آفلاتوکسین های B_1, B_2, G_1, G_2 و M_1 با روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده از این مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات موجود از میان تعداد ۴۸ نمونه پنیر سفید سنتی کارخانه ای مورد آزمایش حدود ۷۰٪ نمونه‌ها دارای آلودگی به آفلاتوکسین M_1 بودند. محدوده آلودگی نمونه‌های مختلف پنیر در طی دوره شش ماهه مطالعه به ترتیب در طی ماههای دی، بهمن، اسفند، فروردین، اردیبهشت و خرداد، ۷۴۷-۱۵۹، ۷۲۰-۱۹۷، ۱۰۴۷-۱۸۵، ۷۶۱-۲۳۲، ۶۲۷-۲۱۸ و ۴۹۵-۱۷۶ نانوگرم در هر کیلوگرم بود. هیچ کدام از نمونه ها به آفلاتوکسین های B_1, B_2, G_1, G_2 آلوده نبودند.

میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در نمونه های پنیر در طی مدت شش ماه و بین ماههای مختلف به صورت جداگانه معنی دار نبود ($P > 0/05$)، ولی در مقایسه میانگین نمونه های اخذ شده طی دو فصل سال یعنی فصل زمستان و بهار، این اختلاف معنی دار بود، به عبارت دیگر میانگین آلودگی آفلاتوکسین پنیرهای جمع آوری شده در طی فصل زمستان به صورت معنی داری از میانگین آلودگی آفلاتوکسین نمونه های جمع آوری

شده در فصل بهار بالاتر بود. تقریباً ۷۵ درصد نمونه‌های آلوده به آفلاتوکسین M_1 دارای میزان آفلاتوکسین M_1 بالاتری در مقایسه با حد مجاز 250 ng/kg که توسط برخی کشورهای دنیا (از جمله کشورهای اتحادیه اروپایی) [۲] پذیرفته شده است، بودند، ضمناً در این بررسی هیچکدام از نمونه‌ها دارای آلودگی به آفلاتوکسینهای B_1, B_2, G_1, G_2 نبودند.

۴-بحث و نتیجه گیری:

از آنجائی که آلودگی شیر و فرآورده های آن به آفلاتوکسین M_1 می تواند بهداشت و سلامت مصرف کنندگان، خصوصاً افراد حساس نظیر اطفال و سالخوردگان را به خطر بیاندازد، مطالعات متعددی در مورد تعیین وجود و تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین شیر و فرآورده های آن در سرتاسر دنیا انجام شده و می شود. نتایج حاصل از چنین مطالعاتی بیانگر این واقعیت است که در بعضی از موارد درصد شیوع و غلظت آلودگی بالا بوده و می تواند خطرساز باشد ولی در بعضی از موارد بررسی این پارامترها پائین تر از حدود مجاز می باشد که به این موارد در جدول شماره ۲ اشاره گردیده است.

با عنایت به مطالعات قبلی صورت گرفته در ایران که فوق العاده محدود بوده، به نظر می آید که مقایسه نتایج بدست آمده در این مطالعه با مطالعه صورت گرفته توسط پروانه و همکاران بیانگر این واقعیت است که درصد شیوع و میزان آلودگی به میزان قابل توجهی

پائین‌تر از گذشته می باشد. لازم به ذکر است که بر اساس گزارش پروانه و همکاران، ۹۷/۵ درصد نمونه‌های پنیر مورد بررسی، دارای آلودگی آفلاتوکسینی به آفلاتوکسین M_1 بوده و در آزمایش مقداری نیز محدوده آلودگی بین ۱۰۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰۰ نانوگرم در کیلوگرم گزارش گردید [۴].

معمولاً اختلافاتی که در ارائه نتایج توسط محققین کشورهای مختلف مشاهده می گردد می تواند دلایل متعددی داشته باشد که از جمله آنها می توان به نحوه ساخت پنیر، میزان آلودگی شیرهای مورد استفاده برای تهیه پنیر، شرایط موجود در طی دوران رسیدن پنیر و روش مورد استفاده جهت آنالیز نمونه‌های پنیر اشاره نمود [۸ و ۷ و ۵].

علاوه بر موارد ذکر شده میزان آفلاتوکسین M_1 شیرهای تولید شده در نقاط مختلف تحت تأثیر عواملی نظیر شرایط جغرافیایی و فصلی قرار می گیرد. به عنوان مثال، مشاهده شده است که درصد و میزان آلودگی در فصل تابستان در مقایسه با فصل زمستان به صورت معنی‌داری پائین تر است [۶]. ضمناً همانگونه که بیان گردید خود تکنیک‌های مورد استفاده جهت آنالیز سم در روی نتایج می تواند تأثیرگذار باشد، امروزه روشهای متعددی برای این منظور استفاده می شود که از جمله معروف‌ترین آنها روشهای کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و روش الیزا می باشد لازم به ذکر است که هر کدام از روشهای مذکور دارای معایب و محاسنی برای خودشان می باشند که از پرداختن به آن خودداری می شود [۱۲ و ۱۱ و ۱۰ و ۹].

به طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گرفت که مصرف فرآورده‌های شیری که دارای آلودگی آفلاتوکسینی بالاتر از حد مجاز هستند، می تواند به طور بالقوه برای مصرف کنندگان خطرناک باشد، لذا بایستی به فکر چاره و کنترل آلودگی در شیر و فرآورده‌های آن بود. از جمله مؤثرترین و مهم‌ترین راههای کنترل

آلودگی شیر و فرآورده‌های آن، تولید شیر سالم، که یا فاقد آفلاتوکسین M_1 و یا میزان آفلاتوکسین آن پائین باشد، است. با توجه به اینکه ظهور آفلاتوکسین M_1 در شیر، نتیجه مستقیم مصرف آفلاتوکسین B_1 از طریق مواد خوراکی توسط دامهای تولید کننده شیر است، بنابراین می توان نتیجه گرفت که کنترل آلودگی مواد مصرفی دامهای شیری با دادن غذای سالم و فاقد آلودگی، می تواند ما را در تولید شیرهای فاقد سم و یا شیرهایی که دارای حداقل آلودگی هستند یاری نماید. ولی باید توجه داشت که انجام این کار و در واقع کنترل آلودگی غذایی دام به دلایل وجود شرایط آب و هوایی متفاوت نظیر رطوبت نسبی و درجه حرارت مشکل است. از جمله عوامل دیگری که میزان آلودگی خوراک دامی را تحت تأثیر قرار می دهد میزان رطوبت خاک و صدماتی است که از ناحیه آنها به علوفه و غذای دام وارد می شود. بر اساس مطالعات انجام شده بیشترین میزان آلودگی علوفه به آفلاتوکسین در دوره بعد از برداشت به دلیل رشد قارچ‌ها، مخصوصاً قارچ‌هایی از خانواده آسپرژیلوس صورت می گیرد.

آنچه که از مجموع مطالب ذکر شده می توان برداشت نمود این است که مواد غذایی مورد مصرف دامها (مخصوصاً دامهای شیری) بایستی از نظر آلودگی‌های آفلاتوکسینی (بخصوص آفلاتوکسین B_1) مورد بررسی قرار گرفته و در صورت آلوده بودن از گردونه مصرف خارج گردد. ضمناً شرایط نگهداری این دسته از مواد خوراکی بایستی از نظر وجود عوامل مستعد کننده، کاملاً تحت کنترل باشد و بالاخره برنامه بررسی آلودگی آفلاتوکسینی مواد غذایی مورد مصرف دامها، شیر و فرآورده‌های شیری به صورت منظم و مرتب به مورد اجرا گذاشته شده و در صورتی که میزان آن آلودگی بالا باشد جلوی مصرف آنها توسط افراد خصوصاً افراد بیمار، اطفال و سالخوردگان گرفته شود.

تقدیر و تشکر :

مالی حوزه محترم معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و
معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشکده دانشگاه
تهران سپاسگزاری کند.

این مطالعه با پشتیبانی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه
تهران انجام گرفته است. وظیفه خود میدانم از کمکهای

جدول شماره ۱- میانگین و انحراف معیار آفاتوکسین M_1 (ng/kg) در نمونه های پنیر سفید کارخانه ای تولید شده در طی ماههای
مختلف سال ۸۳-۱۳۸۲

ماه	معیار	تعداد نمونه (کل)	منفی	مثبت	میانگین	ماکزیمم	مینیمم	انحراف معیار
دی		۸	۲	۶	۳۹۰/۸۷	۷۴۷	۴۴۷	۲۹۷/۳
بهمن		۸	۱	۷	۴۹۶/۱۲	۷۲۰	۱۹۷	۲۸۲/۲
اسفند		۸	۰	۸	۵۵۳/۵	۱۰۴۷	۲۳۳	۳۰۰/۳
فروردین		۸	۳	۵	۲۷۸/۱۲	۷۶۱	۲۳۲	۲۸۳/۱۲
اردیبهشت		۸	۳	۵	۲۵۸/۲۵	۶۲۷	۲۱۸	۲۴۷/۸
خرداد		۸	۲	۶	۲۱۳/۸۷	۴۹۵	۱۷۶	۱۶۶/۳

جدول شماره ۲- گوشه ای از نتایج تحقیقات انجام شده در برخی کشورها جهت تعیین میزان آلودگی شیر و فرآورده های آن به آفاتوکسین
 M_1

نوع محصول	کشور	سال انتشار	تعداد نمونه	فراوانی برحسب درصد	مقادیر ng/kg	مرجع
پنیر سفید	ترکیه	۱۹۷۳	۱۰۲	یافت نشد	-	۱۳
پنیر تولوم و اتلو ^۱	ترکیه	۱۹۷۴	۷۱	یافت نشد	-	۱۴
پنیر سفید	آلمان	۱۹۷۷	۱۳۶	۶۹	< limits	۱۵
پنیر سفید	آمریکا	۱۹۸۶	۱۱۸	۶/۸	۱۰۰-۱۰۰۰	۱۶
پنیر سفید	ایتالیا	۱۹۸۸	۶۶	۱/۲	۲۸۰-۱۳۰۰	۱۷
پنیر سفید و پنیر تولوم ^۲	ترکیه	۱۹۸۹	۵	یافت نشد	-	۱۸
پنیر سفید	ژاپن	۱۹۹۳	۳۷	یافت نشد	-	۱۹
پنیر سفید	ایتالیا	۱۹۹۴	۲۰۰	۹	۳۵-۱۹۰	۲۰
پنیر سفید	ترکیه	۱۹۹۵	۸	۱۰۰	۷۷/۶-۱۶۲/۳	۲۱
پنیر سفید	ایتالیا	۱۹۹۶	۵۰	۸	۵۰-۱۰۰	۲۲
شیر پاستوریزه	یونان	۱۹۹۷	۸۱	۸۹	۱-۱۷۷	۲۳
پنیر سفید	ایتالیا	۱۹۹۸	۱۱۴	۸۰	۲۱-۴۹۶	۲۴
پنیر سفید	ترکیه	۲۰۰۱	۵۷	۱۲/۲۸	> ۲۵۰	۲۵
پنیر سفید	ترکیه	۲۰۰۱	۱۱۰	۹۱/۸	۱۰-۲۰۰۰	۲۶
پنیر سفید	ترکیه	۲۰۰۴	۴۰۰	۸۱/۷۵	> ۲۵۰	۲۷
ماست	پرتغال	۲۰۰۴	۹۶	۱۸	۱۹-۹۸	

۱. White and tulum cheese

۲. Otlu and white cheese

- [11] Oliveria, C.A; Germano, P.M; Bird, C. and pinto, C.H. (1997). Immunochemical assessment of aflatoxin M₁ in milk powder consumed by infants in Sao Paulo, Brazil. *Food Addi. and Contamin.* 14(1): 7 – 10.
- [12] Oruc, H.H. and Sonal, S. (2001). Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey, *Veterinary and Human Toxicology*, 43: 292 – 293
13. Demirer, M.A. (1973). Sut Ve Sut mamullerinde aflatoksin M₁ Ve B₁ aranması. Ankara Universities, Veteriner Fakultes Dergisi, 36 (1): 85 – 107.
- [13] Demirer, M.A. (1974). Bazi peynirlerimizden izole ettigimiz kufler Ve bunlarn aflatoksin yetenklerinin arastirilmast. Ankara Universities, Veteriner Fakultes Dergisi, 21: 1 – 2.
- [14] Kiermeier, F. and Mashaley, R. (1977). Einfluss der malkereitechnischen behandlung der rohmich auf des aflatoxin M₁ gehult der daraus hergestellten produkte. *Zeitschrift für Leben smitteluntersuchung und forschung*, 164: 183 – 187.
- [15] Trucksess, M.W. and page, S.W. (1986). Examination of imported cheese for aflatoxin M₁. *Journal of Food Protection* . 49. 633
- [16] Cirilli, G., Aldana, M., Cirilli, G.S. (1988). Contamination of dairy products by hydroxy- aflatoxins. *Microbiologie, aliments, nutrition*, 6, 217- 219
- [17] Demirer, M.A; Dincer, B; koymaz, S; Alperden, I; Yalcin, S. & Ozer, I. (1989). Bazi gida maddelerinde mycoflora Ve mycotoxin arastirma lari Ankara. Universitesi Veteriner Fakultes, Dergisi, 36(1): 85 – 107
- [18] Tabata, S; kamimura, H; Ibe, A; Hashimoto, H; Iidu, M; Tamura, Y. and Nishima, H (1993). Aflatoxin contatmination in foods and foodstuffs in Tokyo: 1986 – 1990. *J. AOAC Int.* 76: 32 – 35.
- ۵-منابع:
- [1] Aseveda, I.G. Yashido, M (1994). Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* SPP isolated from stored maize *Rev. Microbiol*, 25(1), 46-50.
- [2] EU Regulation 466/2001 of March 2001 (2001). Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Commission*, L077, 1-13
- [3] AOAC Official Methods of Analysis (2001) Determination of aflatoxin M₁ in milk and dairy product. 1199-1206. AOAC, International, Gaithersburg, MD.
- [۴] پروانه، ویدا، شاهین، محمود. کریم، گیتی و کردی، جلال. (۱۳۶۰). بررسی آلودگی پنیر سفید به آفاتوکسین، مجله بهداشت ایران (۱۰) ۴-۰۱.
- [5] Dagoglu, G; keles, O and Yildirim, M. (1995). Peynirlerde aflatoksin duzeylerinin ELISA testi ile arastirilmasi. *Istambul Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 21 (2): 313 – 317.
- [6] Galvano, F; Galofaro, V; Angelis, A. De, Galvano, M; boganno, M; Galvano, G. (1998). Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Italy. *Journal of Food Protection*, 61 (6), 738 – 741.
- [7] Mc Kinney, J.D; Cavanau, G.C; Bell, J.T; Bell, A. S; Hoversland, A.S; Nelson, D.M; Pearson, J. and Selkirk, R.J. (1973). Effects of ammoniation of aflatoxins in rations fed tacating cows. *J. Amera. Oil. Chem. Soc.* 50: 79 – 84.
- [8] Wiseman, D.W. and Marth, H. (1983). Behavior of aflatoxin M₁ during manufacture and storage of quesoblanco and bakers cheese. *Journal of Food Protection* 46: 910 – 913
- [9] Amra, H.A (1998). Survey of aflatoxin M₁ in Egyptian raw milk by enzyme – linked immunosorbent assay. *in Mycotex* 98, Toulouse July 2-4.
- [10] Domagala, J; kizsa, J; Bluthgen, H. and Heeschen, W. (1997) Contamination of milk with aflatonin M₁ in Poland. *Milchwissen schaft*, 52 (11): 631 – 633.

- [24] Seyrek, k.(2001). Turk Silahi Kuvvetlerine bagi birliklerde tuketilen beyaz peynirlerdeki aflatoxin M₁ Serviyesinni ELISA methodu ile Saptanmasi. *Veteriner Hekimler Demegi Dergisi*, 72: 55 – 58
- [25] Belgin, S. Parlema, D. Marth, U. (2004). Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA, *Food Control*, 15: 45 – 49
- [26] Maria, L.M.; H.M. M.; (2004). Aflatoxin M₁ in yogurts in Portugal, *International Journal of Food Microbiology*, 91: 315 – 317.
- [19] Barbieri, G., Bergamini, G; Ori, E and Reska, P. (1994). Aflatoxin M₁ in Parmesan cheese. HPLC determination. *Journal of Food Science*, 59(6): 1313 – 1331
- [20] Bakirci, I. (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Van province of Turkey, *Food Control* (12): 514– 518.
- [21] Finoli, C.A; Bellavita, V.M. and Cerruti, G. (1996). Sulla presenza di aflatoxina M₁ in latte e derivati. *Latte latticini Conserve Anim.* 8 (9): 611 – 625
- [22] Markaki, P. and Melissari, E. (1997). Occurrence of aflatoxin M₁ in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Additives and Contaminantion*, 14, 451 – 45.
- [23] Galvano, F; Galofaro, V. and Galvano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M₁ in milk and milk products: A worldwide review. *Journal of Food protection* 59(10): 1079 – 1090