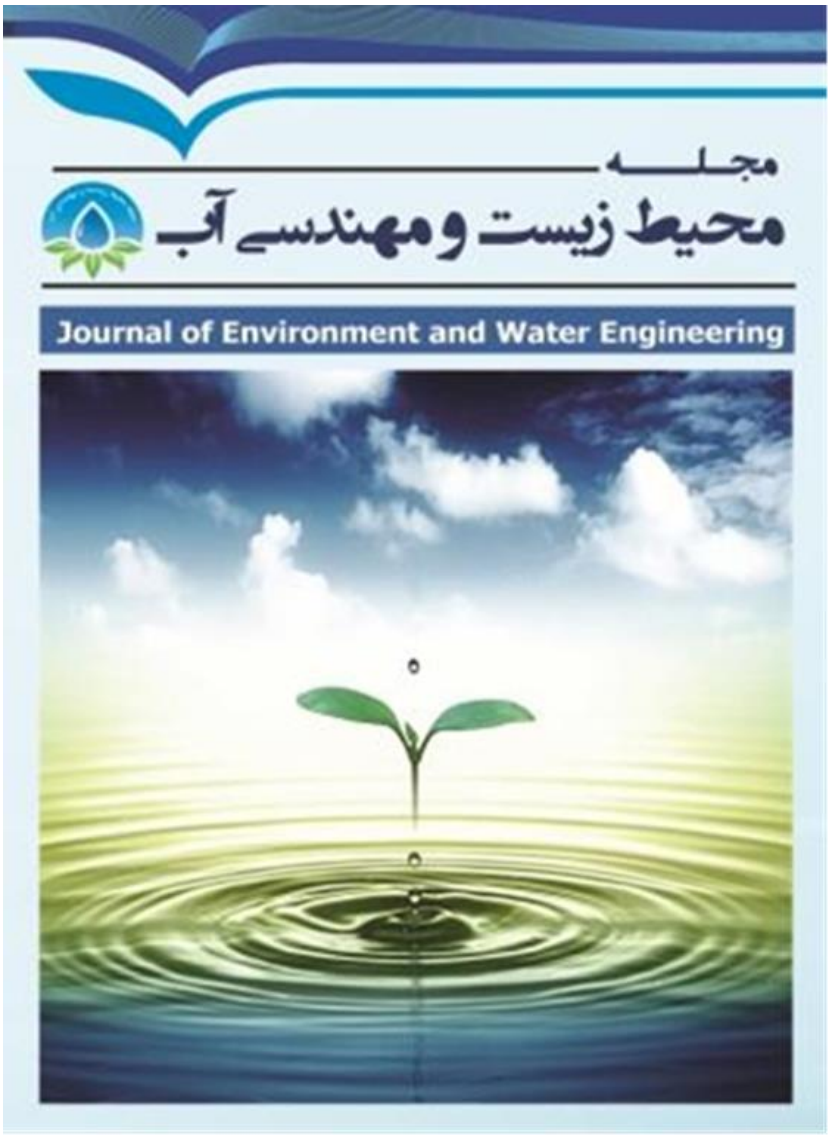
Journal of Environment and Water Engineering
ISSN: 2476- 3683

مجله محیط زیست و مهندسی آب
شاپا: ۳۶۸۳- ۲۴۷۶

مروری بر سمیت ملامین در مواد غذایی و جنبه‌های بهداشتی آن

میر جمال حسینی، جواد ملکی و ابراهیم محمدی



دوره ۱، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۴، صفحات: ۳۴-۱۸

www.jewe.ir

نحوه ارجاع به این مقاله: حسینی م.، ملکی ج. و محمدی ا. (۱۳۹۴). مروری بر سمیت ملامین در موادغذایی و جنبه‌های بهداشتی آن. محیط زیست و مهندسی آب، جلد ۱، شماره ۱، صفحات: ۳۴-۱۸.

How to cite this paper: Husseini M., Maleki J. and Mohammadi E. (2015). A review of Melamine Toxicityin Food:Health Aspects. J. Environ. Water Eng. 1 (1), 18-34.

مروری بر سمیت ملامین در مواد غذایی و جنبه‌های بهداشتی آن

میر جمال حسینی[۱*]، جواد ملکی[۲] و ابراهیم محمدی[۳]

۱- گروه سم شناسی/فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران
۲- گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران
۳- مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

*نویسنده مسئول : **jamal_hossini@yahoo.com**

تاریخ دریافت: [۱۳۹۴/۰۴/۲۱] **تاریخ پذیرش: [۱۳۹۴/۰۶/۲۰]**

چکیده

ملامین (Melamine) یک ترکیب آلی از مشتقات سیانامید است که ۶۶٪ وزنی آن را نیتروژن تشکیل می‌دهد. ملامین گاهی اوقات به‌طور غیرقانونی به‌منظور افزایش کاذب مقدار پروتئین به محصولات غذایی به‌ویژه شیر و فرآورده‌های آن اضافه می‌گردد. از طرفی آزمون‌های استاندارد اندازه‌گیری میزان پروتئین نظیر کجلدال (Kjeldahl)و دیومس (Dumas)، مقدار پروتئین مواد غذایی را با اندازه‌گیری مقدار نیتروژن موجود تخمین می‌زنند؛ بنابراین با افزودن ترکیبات غنی از نیتروژن نظیر ملامین به مواد غذایی، این آزمون‌ها قادر نیستند نیتروژن منابع پروتئینی را از غیر پروتئینی تشخیص دهند. ازاین‌رو انگیزه اقتصادی برای افزودن آن در مواد غذایی ایجاد می‌شود. در مارس سال ۲۰۰۷ سازمان غذا و دارو ایالات‌متحده رد پای ملامین را در غذای حیوانی وارده از چین (گلوتن گندم یا کنسانتره پروتئین برنج) مشاهده نمود که باعث بروز نارسائی سنگ‌های کلیوی و مجاری ادراری و هم‌چنین مرگ تعداد زیادی از سگ‌ها و گربه‌های خانگی گردید. به‌علاوه در اواخر سال ۲۰۰۸، حدود سیصد هزار کودک چینی در اثر مصرف شیر خشک آلوده به ملامین مریض شدند و ۶ نفر از آن‌ها نیز فوت نمودند. در سال‌های اخیر بررسی سمیت ملامین در بروز آسیب دستگاه تولیدمثل، تشکیل سنگ‌های مثانه و کلیه و حتی بروز سرطان مثانه بررسی‌شده است. امروزه در بسیاری از کشورها حد مجاز مقدار ملامین در شیر خشک کودک، به‌عنوان تنها منبع غذایی کودکان و برخی مواد غذایی دیگر تعیین گردیده است که به‌تفصیل شرح داده می‌شود. در این مقاله مروری سعی شده است که در مورد کاربردها و ویژگی‌های ملامین و آنالوگ‌های آن، سمیت ملامین و آنالوگ‌های آن، منابع آلودگی مواد غذایی با ملامین و مقادیر مجاز به همراه روش‌های شناسایی آن بحث و بررسی شود.

واژه‌های کلیدی: ملامین، پروتئین، سمیت، آلودگی مواد غذایی

۱- مقدمه

در مارس سال ۲۰۰۷ در ایالات‌متحده آمریکا نارسائی کلیوی و سنگ‌های مجاری ادراری در حیوانات خانگی (سگ و گربه) باعث بیماری و مرگ در تعداد زیادی از آن‌ها گردید. بررسی‌های انجام‌گرفته در خوراک حیوانات ردپای ملامین و سیانوریک اسید را در گلوتن گندم و یا کنسانتره پروتئین برنج وارده از چین را نشان داد که در اولین گام بیماری و مرگ حیوانات را به این ماده نسبت دادند (Skinner et al. 2010 ;EFSA, 2010). در اواخر سال ۲۰۰۸، تقریباً سیصد هزار کودک چینی در اثر مصرف شیر خشک آلوده به ملامین دچار نارسایی کلیوی شدند که شش نفر از آن‌ها نیز فوت نمودند (http://en.wikipedia.org). مطالعات پاتولوژیک وجود سنگ در کلیه و مثانه اغلب کودکان را تأیید نمود که باعث توجه بیش‌تر سایر کشورها نیز به مواد غذایی واردشده از چین شد (EFSA, 2010). مطالعات انجام‌گرفته در مورد منشأ ورود ملامین به مواد غذایی ثابت کرد که ملامین با دارا بودن میزان نیتروژن بالا (حدود ۶۶٪ وزنی) و به خاطر بالا نشان دادن فریبنده میزان پروتئین مواد غذایی که اساس روش‌های تشخیص آن بررسی میزان نیتروژن مواد غذایی است، به مواد غذایی افزوده‌شده است (Nshisso, 2010 ; EFSA, 2010). تحقیقات اولیه سازمان جهانی بهداشت (WHO)[1] در مورد فهرستی از غذاهای تولیدشده در چین نشان داد که در شیر خشک کودک، شیر مایع، ماست، فرآورده‌های لبنی یخی، اسنک، غذاهای فرآیند شده یخی، خامه غیر لبنی، پودر پروتئین، پودر تخم‌مرغ خشک‌شده و تخم‌مرغ‌های مایع و خوراک دام آزمون ملامین مثبت بوده است که منجر به تحریم صادرات این ترکیبات به اتحادیه اروپا و آمریکا گردید (Nshisso, 2010).

۲- کاربردها و ویژگی‌های ملامین و آنالوگ‌های آن

مطالعات نشان داده است که این ترکیب شیمیایی قادر است با فرمالدئید ترکیب‌شده و رزین محکم و بسیار مقاوم در مقابل حرارت ایجاد نماید که در ساخت ظروف غذا، کف‌پوش‌ها و تخته پاکن‌ها، فیلترهای تجاری، بنرهای تبلیغاتی کاربرد دارد (Anthony et al. 2009;WHO, 2008 ;http://en.wikipedia.org). به‌علاوه به‌عنوان عایق، ضد صدا و محصولات پاک‌کننده پلیمریک نظیر تخته‌پاک‌کن‌های جادوئی کاربرد دارد. ملامین در ورق‌های پوشش غذایی به‌صورت یک‌لایه نازک و به‌عنوان عایق گاز مورداستفادهمورداستفاده قرارمی‌گیرد. پلیمر ملامین در ساخت کاغذ به‌عنوان عامل پایداری در مقابل رطوبت به کار می‌رود (WHO, 2008). از طرفی ملامین در صنعت کاربردهای بسیار متنوعی دارد که در ذیل به‌طور مختصر نامبرده می‌شود:

۱- ساخت چسب و سریش(Anthony et al. 2009 ; Puschner et al. 2007).

۲- ترکیبات عمده پیگمان زرد در جوهرها و پلاستیک‌ها (http://en.wikipedia.org; Anthony et al. 2009 ;WHO, 2008).

۳- نرم‌کننده بتون بسیار مقاوم: سولفونات ملامین فرمالدئید(SMF)[1] یک پلیمر به‌کاررفته در ترکیب سیمان است که در کاهش محتوی آب سیمان نقش دارد درحالی‌که سیالیت و قابلیت کارکرد ترکیب در طول دست‌کاری و بتون‌ریزی را افزایش می‌دهد. این قابلیت باعث کاهش میزان تخلخل و بالا رفتن مقاومت مکانیکی و درنتیجه بهبود مقاومت بتون در مقابل عوامل مهاجم محیطی و افزایش طول عمر بتون می‌شود (WHO, 2008; Carla, 2008 و Luc).

۴- ساخت کود کشاورزی: ملامین به خاطر داشتن میزان نیتروژن بالا و تأثیر به‌عنوان کود ضروری است که به طریقی در اختیار گیاه قرار گیرد که نیازهای رشد گیاه فراهم شود، ولی فرآیند معدنی شدن نیتروژن برای ملامین بسیار آهسته است، بنابراین استفاده از آن به‌عنوان کود هم ازلحاظ اقتصادی و هم ازلحاظ علمی مقرون‌به‌صرفه نیست. در بررسی اثرات تری‌آزین‌ها به‌عنوان کود، نشان داده شد که ملامین می‌تواند به‌وسیله حداقل دو گونه از باکتری‌های موجود در خاک (پسودوموناس نوع A و کلبسیلا تراژنا) از طریق انجام واکنش‌های متوالی دآمیناسیون (Deamination) به فرم آملین، آملید و سیانوریک اسید که بعداً به بیورت، اوره و در نهایت به آمونیاک و دی‌اکسید کربن تجزیه می‌شود، متابولیزه گردد (WHO, 2008).

- مهارکننده آتش در محصولات الکتریکی، مبلمان، رنگ‌های پف کننده، پلاستیک‌ها و کاغذ (EFSA, 2010).

1- Sulfonated Melamine Formaldehyde

گزارش‌شده است که در سال ۲۰۰۷ در ایالات‌متحده آمریکا ملامین به‌عنوان عامل پیونددهنده در پلیت‌های غذایی (خوراک میگو و ماهی) به‌منظور بهبود ویژگی‌های پیوندی پلیت‌ها استفاده می‌شده است. سازمان غذا و داروی ایالات‌متحده[1](USFDA) گزارش کرد که استفاده از ملامین به‌عنوان عامل پیوندی منجر به حضور ملامین در خوراک میگو، ماهی و دام در غلظت‌های به ترتیب ۴۶۵، ۲۳۳ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم شده است؛ بنابراین این محصولات جمع‌آوری شدند و استفاده از ملامین به‌عنوان عامل پیوندی در پلیت‌ها متوقف گردید (Carla, 2008), با این توصیفات ملامین گاهی اوقات به‌طور غیرقانونی به‌منظور افزایش کاذب مقدار پروتئین به محصولات غذایی اضافه می‌گردد. آزمون‌های استاندارد اندازه‌گیری میزان پروتئین نظیر کجلدال و دیومس، مقدار پروتئین مواد غذایی را با اندازه‌گیری مقدار نیتروژن موجود تخمین می‌زنند، بنابراین با افزودن ترکیبات غنی از نیتروژن نظیر ملامین به مواد غذایی، این آزمون‌ها دچار اشتباه شده و نمی‌توانند نیتروژن منابع پروتئینی را از نیتروژن منابع غیر پروتئینی تشخیص دهند. درنتیجه انگیزه اقتصادی برای افزودن آن در غذا ایجاد می‌شود. افزودن یک گرم ملامین میزان پروتئین غذا را ۰/۴٪ افزایش می‌دهد. از طرفی حلالیت ملامین در آب باعث سوءاستفاده بیش‌تری می‌شود. چون وقتی به شیر مایع افزوده می‌شود، ۳/۱ گرم آن قادر است بیش از ۳۰ درصد مقدار پروتئین شیر را بالا نشان دهد (WHO, 2008 ; Anthony et al. 2009).

۳- ترکیبات تریازینی مرتبط با ملامین

۳-۱- تری کلروملامین (Trichloromelamine) ($C_3H_3Cl_3N_6$)

این ترکیب که به ملامین تجزیه می‌شود، در آمریکا و سایر کشورها برای گندزدائی تجهیزات فرآیند مواد غذایی، ظروف آشپزخانه و دیگر وسایل مرتبط با غذا (به‌استثنای تجهیزات یا ظروف شیر) ساخته‌شده است. به‌علاوه، آژانس حفاظت از محیط‌زیست ایالات‌متحده آمریکا[2](USEPA) کاربردتری کلروملامین را به‌عنوان ماده بهداشتی کننده و گندزدا روی سطوح سخت و به‌عنوان یکی از اجزای محلول‌های شوینده میوه‌ها و سبزی‌ها مجاز شناخته است (Lim LO et al. 1990 ; USEPA, 1999).

۳-۲- سیرومازین (Cyromazine) ($C_6H_{10}N_6$)

به‌عنوان محافظ محصولات کشاورزی در مقابل آفات (حشره‌کش و کنه‌کش) و به‌عنوان داروی دامپزشکی (اکتوپارازیت بخصوص در گوسفند) و در پرورش طیور برای کنترل لارو دیپترا کاربرد دارد. ملامین یک متابولیت آفت‌کش سیرومازین است. بدین ترتیب که وقتی پستانداران سیرومازین را از طریق گوارش دریافت می‌کنند در بدن آن‌ها به ملامین تبدیل می‌شود. گزارش‌شده است که سیرومازین هم‌چنین می‌تواند در ساختمان گیاهان نیز به ملامین تبدیل شود. مشخص شده است که سیرومازین به‌مرورزمان درروی سطوح میوه‌ها و سبزی‌ها به ملامین تبدیل می‌شود (WHO, 2008)

۳-۳- سیانوریک اسید (Cyanuric acid) (۶،۴،۲- تری هیدروکسی- ۵،۳،۱- تریازین) ($C_3H_3N_3O_3$)

یک آنالوگ اکسی‌تریازینی ملامین است که ممکن است به‌صورت یک محصول جانبی در طول تولید ملامین ایجاد گردد. سیانوریک اسید به‌صورت پودر بلوره‌ای بوده و نقطه ذوب آن ۳۶۰ درجه سانتی‌گراد است. در آب حلالیت کمی دارد (دو گرم در لیتر)، هم در حلال‌های قطبی و هم در حلال‌های غیر قطبی نامحلول است، خاصیت اسیدی دارد، در pH قلیایی بسیار محلول است. در ایالات‌متحده آمریکا سیانوریک اسید به‌عنوان یک منبع نیتروژن غیر پروتئینی برای خوراک خوک، جوجه و ماهی یا خوراکی‌های مایع مجاز نیست. هرچند به‌عنوان یک جزئی (تا ۳۰٪) از اجزای غذایی بیورت که یک افزودنی در غذای پستانداران است، پذیرفته‌شده است. سیانوریک اسید به‌صورت محصول تجزیه‌ای دی‌کلرو ایزوسیانورات مورداستفاده در گندزدایی آب، در آب آشامیدنی و در آب استخرهای شنا نیز پیدا می‌شود. وقتی‌که سدیم دی‌کلروایزوسیانورات به‌منظور گندزدایی آب به‌کاربرده می‌شود، سریعاً به فرم کلر قابل‌استفاده و سیانورات هیدرولیز می‌گردد (Brady, 1963). به‌علاوه سیانوریک اسید در استخرهای شنا به‌عنوان پایدارکننده و برای جلوگیری از تجزیه نوری یا تبخیر کلر مورداستفاده برای گندزدائی به کار می‌رود. از طرفی سیانوریک اسید در

1-United States Food ; Drug Administration
2-United States Environmental Protection Agency

تولید پودرهای پاک‌کننده، سفیدکننده‌های خانگی و پودر ماشین ظرف‌شوئی نیز کاربرد دارد. در ایالات‌متحده آمریکا سیانوریک اسید به‌عنوان جزئی از محلول‌های بهداشتی مورداستفاده در تجهیزات فرآیند مواد غذایی، ظروف آشپزخانه و دیگر وسایل مرتبط با غذا نیز ساخته می‌شود (USFDA, 2003a).

۳-۴- آملید (Ammelide) (۶-آمینو-۴،۲-دی هیدروکسی- ۵،۳،۱- تریازین) ($C_3H_4N_4O_2$)

پودر سفیدی است که در آب نامحلول است و در ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد به شکل دی‌اکسید کربن و آمونیاک تجزیه می‌شود.

۳-۵- آملین (Ammeline) (۶،۴- دی آمینو-۲- هیدروکسی– ۱،۳، ۵- تریازین) ($C_3H_5N_5O$)

پودر سفیدی است که قبل از ذوب تجزیه می‌شود، خاصیت اسیدی ضعیفی دارد که در بازهای و اسیدهای معدنی محلول است. آملید و آملین به ترتیب آنالوگ‌های مونو و دی آمینواکسی‌تری‌آزین ملامین هستند که یا به‌صورت محصولات جانبی در تولید ملامین ایجاد می‌شوند و یا درنتیجه تجزیه میکروبی ملامین تولید می‌گردند. آملین در گریس‌های خودبه‌خود نرم شونده کاربرد دارد. هیچ اطلاعی از کاربردهای آملید در دسترس نیست (USFDA, 2007). البته تعداد دیگری از ترکیبات تری‌آزینی هستند که در برخی کشورها به‌عنوان علف‌کش یا رنگ به کار می‌روند، ولی ترکیباتی که در موقعیت‌های ۶،۴،۲ حلقه تری‌آزین، سه گروه آمینی را ندارند، از مشتقات ملامین محسوب نمی‌شوند؛ مانند آترازین، سیازین، سیانازین، آمترین و پرومترین (WHO, 2008).

۴- سمیت ملامین و آنالوگ‌های آن

۴-۱- سمیت حاد ملامین(Acute toxicity)

ملامین از سه طرق مختلف (گوارشی، استنشاقی و پوستی) قابلیت جذب به بدن را داراست و می‌تواند باعث تحریک چشم، پوست و دستگاه تنفس شود (Nshisso, 2010 ; Anthony et al. 2009). برای کسب اطلاع از میزان سمیت، جذب، انتشار، متابولیسم و خروج ملامین از بدن، مطالعات اولیه ابتدا روی حیواناتی نظیر خوک و جوندگان انجام‌شده است که در گونه‌های حیوانی مختلف نتایج کاملاً متفاوت به‌دست‌آمده است. نیمه‌عمر ملامین در بدن رت‌ها و خوک‌ها حدود ۲/۷ ساعت و ۴/۰۴ ساعت گزارش گردید (Nshisso, 2010). به‌علاوه دوز کشندگی متوسط[1] (LD_{50}) در جوندگان در نرها ۳/۱۶g/kg و در ماده‌ها ۳/۸g/kg تعیین شد. این میزان برای خرگوش‌ها در تماس پوستی ملامین بیشتر از ۱g/kg گزارش‌شده است (Nshisso, ; http://en.wikipedia.org 2010). در بررسی سمیت حاد کلیوی ملامین در گوسفندها که با تجویز دهانی ۲۵ تا ۵۰ گرم، در یک دوره زمانی هفت تا ده روزه، همه حیوانات مورد آزمایش مردند. سمیت حاد و بروز مرگ مربوط به بالا رفتن نیتروژن و کراتینین (Creatinine)، اوره خون و اولیگوری (Oliguria) (کاهش غیرعادی تولید ادرار) مربوط است (Nshisso, 2010 ;Anthony et al. 2009). به‌علاوه وجود بلوره در توبول‌های کلیه پس از مرگ حیوانات، ضایعات نفروتیک (Nephrosis) و التهاب خونی مثانه از مشاهدات پاتولوژیک دیگر در ارتباط با سمیت حاد ملامین بود (http://en.wikipedia.org ;Anthony et al. 2009) به‌علاوه مشخص‌شده است که ترکیب ملامین- سیانورات خیلی سمی‌تر از خود ملامین یا سیانوریک اسید به‌تنهایی است. LD_{50} ملامین- سیانورات در موش‌های صحرایی، ۴/۱g/kg (از طریق گوارش) و ۳/۵g/kg (از طریق تنفس)، در مقایسه با ۶ و ۴/۳g/kg برای ملامین و ۷/۷ و ۳/۴g/kg برای سیانوریک اسید گزارش‌شده است (http://en.wikipedia.org). تشکیل سنگ و آنالیز سنگ‌های مثانه حاکی از وجود ملامین و اسیداوریک یا ترکیبی از ملامین در ماتریکسی از پروتئین، اسید اوریک و فسفات است (WHO, 2008). مطالعات نشان داده است که ملامین می‌تواند از جفت عبور کرده و وارد جنین و مایع آمنیوتیک گردد (Wang, 2013). به‌علاوه می‌تواند در دوران جنینی و نوزادی از طریق جریان خون وارد مغز شده و باعث اثرات سمی در سیستم عصبی مرکزی شود (Divya, 2014).

1-Median Lethal Dose

۴-۲- سمیت مزمن ملامین

جذب گوارشی ملامین در دوزهای کم در طولانی‌مدت می‌تواند منجر به آسیب دستگاه تولیدمثل، تشکیل سنگ‌های مثانه و کلیه شده که می‌تواند به سرطان مثانه نیز منجر شود. در بررسی سمیت مزمن ملامین در موش‌های صحرایی تحت تیمار با ملامین، در مثانه هر دو جنس نر و ماده، تشکیل سنگ در مثانه، تغییرات هایپرپلاسیتک (Hyperplastic) مخاطی، و گاهاً آدم (Oedema) مشاهده گردید و علائمی مانند کاهش وزن مخصوص ادرار، کریستالوری (Crystalluria)، پروتئینوری (Proteinuria) همراه با هماچوری در مطالعات آزمایشگاهی مشاهده گردید (Nshisso, 2010). بااین‌حال مطالعات سرطان‌زایی ناشی از ملامین در مطالعات حیوانی نتیجه قطعی در پی نداشته است و طبق نظرIARC[1]، ملامین ازنظر سرطان‌زایی در گروه سه قرار داده‌شده است که اشاره به ناکافی بودن اطلاعات از مطالعات انجام‌شده دارد (Nshisso, 2010). مطالعات اخیر نشان‌دارند که کودکان کمتر از سه سال در مواجه با ملامین آسیب‌پذیری بیش‌تری در ارتباط با تشکیل سنگ‌های کلیوی دارند (Skinner et al. 2010). مطالعات انسانی در چین در ارتباط با آلودگی سال ۲۰۰۸ ناشی از ملامین در بیماران با استفاده از تصاویر اولتراسوند نشان داد که ۱۲ درصد نوزادان بهبودیافته بعد از شش ماه هنوز اختلالات کلیوی را داشتند که نشان‌دهنده پتانسیل بالای عوارض ناشی از ملامین در طولانی‌مدت است. مطالعاتی نیز قلیایی کردن ادرار و آزادسازی سنگ‌ها را روش درمانی مؤثری در کاهش سریع سنگ‌های اسیداوریک در بدن می‌دانند (http://en.wikipedia.org). جالب است که تجویز سه‌روزه ملامین همراه با سیانوریک اسید در گربه‌ماهی‌ها باعث بروز تیرگی پوست، انتشار بلوره‌های ملامین در ریه‌ها، کبد، قلب، طحال، بالا رفتن غلظت آنزیم‌های سرم نظیر آلانین ترانس‌آمیناز، آسپارات ترانس‌آمیناز، افزایش میزان ترکیبات نیتروژنه نظیر کراتینین و اسید اوریک و آسیب‌های کلیوی گردید (Divya, 2014). مطالعات انسانی در بیماران تحت مواجه اغلب نشان داد که قطر سنگ‌های کلیوی تشکیل‌شده کمتر از ۴ mm است که نرخ مرگ‌ومیر پایینی دارد (Dalal, 2011; Anthony, 2009). جدول (۱) فهرستی از علائم و عوارض سمیت ناشی از ملامین رانشان می‌دهد. از طرفی نوع سنگ‌های ایجادشده در انسان تحت تماس با ملامین به حضور یا عدم حضور سیانوریک اسید وابسته است و بلوره‌های ملامین– اسیداوریک یا ملامین– سیانوریک اسید تشکیل می‌دهند که تشکیل بلوره‌های ملامین– اسیداوریک به انرژی کمتر نیاز دارد (Dalal, 2011; FAO, 2009). مطالعات سرطان‌زایی ملامین در جوندگان در مطالعات مزمن (۱۳ هفته) گسترش سنگ‌های مجاری ادراری، هایپرپلازی اپیتلیوم مثانه، کارسینومای سلولی مثانه، التهاب کلیه و مثانه و زخم اپیتلیوم مثانه را نشان داد (Divya, 2014). مطالعات امروزه از این ترکیب به‌عنوان سم تولیدمثلی نام می‌برند که سمیت آن بسته به جنس، میزان تماس و حساسیت فردی متفاوت است. اثرات ملامین بر روی سیستم تولیدمثلی جنس ماده مشکلات متعددی شامل مشکلات قاعدگی، تغییر رفتار جنسی، باروری، تغییر بلوغ، تغییر طول مدت حاملگی، مشکلات شیردهی، تغییر در یائسگی را نشان داد. البته در نرها تغییر رفتار جنسی، اختلال باروری، مشکلاتی در شکل و تعداد اسپرم‌ها هم مشاهده‌شده است (USFDA, 2007). از طرفی آژانس ایمنی غذای اروپا (EFSA)[2] اعلام نموده است که ملامین تراتوژن نیست (EFSA, 2010). مطالعات جدید پیشنهاد داده‌اند که ملامین تحت تأثیر میکروب‌های روده‌ای مانند کلبسیلا تریژنا (Klebsiella terrigena) که بندرت در روده پستانداران کلنی تشکیل می‌دهد، می‌تواند مستقیماً به سیانوریک اسید تبدیل شود که بروز بالای آسیب کلیوی در رت‌هایی که کلنی‌های کلبسیلا تریژنا در آن‌ها وجود دارد تأییدکننده این مطلب (EFSA et al. 2007) به‌علاوه سیانوریک اسید که از آنالوگ‌های ملامین است سمیت کمتری از ملامین دارد و LD_{50} گوارشی آن در موش‌های صحرایی بیش‌تر از ۱۰g/kg است (Dalal, 2011). مشخص‌شده است که سیانوریک اسید باعث نکروز کلیه، هایپرپلازی و فیبروز (Fibrosis)

1- International Agency for Research on Cancer
2- European Food Safety Authority

می‌شود (WHO, 2008). در انسان بیش از ۹۸٪ دوز سیانوریک اسید تجویزشده، ظرف ۲۴ ساعت بدون تغییر از طریق ادرار خارج شد (WHO, 2008).

۵- آلودگی مواد غذایی با ملامین و آنالوگ‌های آن

واژه آلودگی پایه به مقادیری از ملامین و آنالوگ‌های آن در غذا گفته می‌شود که درنتیجه تقلب یا سوءاستفاده وارد غذای مصرفی نشده باشد. این موارد شامل مقادیر مورد انتظار واردشده از محیط، فرآیندهای غذایی، مواد بسته‌بندی، بقایای ناشی از استفاده قانونی آفت‌کش‌های تری‌آزینی یا داروهای دامپزشکی و استفاده قانونی از ملامین در کودها یا سیانوریک اسید موجود در افزودنی‌های غذایی می‌باشند (Carla , 2008 ; WHO, 2008 و Luc). درحالی‌که تقلب به افزودن عمدی ملامین و یا آنالوگ‌های آن به‌صورت مستقیم در غذا، اجزای مواد غذایی، خوراک دام، اجزای خوراک دام یا عوامل سازنده پلیت‌های غذایی اطلاق می‌شود. تقلب هم‌چنین ممکن است مواردی را شامل شود که درنتیجه انتقال غیرمستقیم از خوراکی‌های آلوده حیوانات در غذاهای با منشأ حیوانی حضور یافته باشد (Carla, 2008 و Luc ; WHO, 2008). البته در ملامین، استفاده از واژه سوءاستفاده به کاربرد نامناسب سیرومازین (Cyromazine) (آفت‌کش که به ملامین متابولیزه می‌شود) یا بیورت (Biuret) (افزودنی غذایی پستانداران که حاوی سیانوریک اسید است) در خوراک دام گفته می‌شود (Carla et al. 2008 و Luc ; WHO, 2008).

جدول ۱- علایم و اثرات سمیت ملامین (Divya, 2014)

علایم	اثرات
ظاهر شدن خون در ادرار	نفرولیتیازیس (سنگ‌های کلیوی) با بلوره‌های ملامین
تهوع و استفراغ	عفونت مجاری ادراری
تکرر ادرار	التهاب کلیه
کمردرد	آسیب کلیوی
فشارخون بالا	کارسینومای مثانه
حضور پروتئین در ادرار	نفروز (فساد توبول‌های کلیوی)
تغییر رفتار جنسی	بالا رفتن میزان نیتروژن اوره خون و کراتینین
کاهش تولید اسپرم	ناباروری در زنان
تغییر در تعداد اسپرم‌ها	مشکلات شیردهی
تغییر در شکل اسپرم	مشکلات قاعدگی و حاملگی
تغییر در شروع یائسگی	ناباروری در مردان

۵-۱- منابع آلودگی مواد غذایی با ملامین و آنالوگ‌های آن در سطوح پایه

حضور ملامین و آنالوگ‌های آن در محیط ممکن است یا درنتیجه استفاده‌های غیرقانونی آن‌ها در زنجیره غذایی یا درنتیجه تجزیه ترکیبات محتوی آن‌ها ناشی شود. به‌علاوه مصرف استفاده‌های غیرقانونی از ملامین و آنالوگ‌های آن در مناطق مختلف جهان متفاوت است (Carla et al. 2008 و Luc ; WHO, 2008).

۵-۱-۱- مهاجرت ملامین به غذا از طریق تماس با لوازم آلوده مورداستفاده در تهیه غذا

رزین‌های مورداستفاده در بسته‌بندی مواد غذایی و ظروف آشپزخانه از طریق مهاجرت ملامین را وارد مواد غذایی و آشامیدنی‌ها می‌نمایند (Mohamed et al. 2012 ;Ruijia et al. 2010). مهاجرت ملامین از ظروف آشپزخانه که حاوی ملامین هستند با استفاده از درجه حرارت‌های بالا و حلال‌های مختلف غذائی مانند اسید استیک، اتانول و آب حاکی از مهاجرت کم‌تر از یک میلی‌گرم بر کیلوگرم ملامین به غذا است (Petersen, 2006 ; Ishiwata et al. 1986)، اگرچه برخی داده‌های محدودی نیز

مهاجرت بالاتر از یک میلی‌گرم بر کیلوگرم ملامین را نشان داده‌اند. با در نظر گرفتن غلظت ۱mg/kg و با فرض مهاجرت ۲۵٪ ملامین در رژیم‌های غذایی (۷۵۰ g برای هر فرد بالغ در هرروز)، کمیته کارشناسان مواجه با ملامین از طریق رژیم غذایی را برای افراد بالغ ۶۰ کیلوگرمی، ۱۳µg/kg/w/d(میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن در روز) برآورد شده است. به‌علاوه محققین، مهاجرت اولیه را به باقیمانده‌های مونومر در ظروف و مهاجرت‌های بعدی را به جدا شدن از پلیمر ظروف نسبت دادند (WHO, 2008) اتحادیه اروپا حد مجاز مهاجرت ملامین از طریق ظروف غذا را ۳۰mg/kg اعلام نموده است (Centre for Food Safety, 2010). اثرات گرما روی مهاجرت ملامین حاکی از آن است که وقتی دما از ۶۰ به ۹۵ درجه سانتی‌گراد برسد میزان مهاجرت ملامین از ۰/۸mg/kg به ۲/۱mg/kg می‌رسد. نتایج مشابهی در مورد مهاجرت ملامین از فنجان‌های ملامین– فرمالدئیدی به قهوه، آب پرتغال، شیر تخمیری و آب‌لیمو به دست آمد (WHO, 2008 ; Luc وCarla, 2008).

۵-۱-۲- مهاجرت ملامین از طریق چسب‌های به‌کاررفته در لوازم در تماس با غذا

USFDA (2008)، گزارش کرد که ملامین به‌عنوان جزئی از چسب‌های مورداستفاده در لوازم در تماس با غذا به کار می‌رود. USFDA تماس با ملامین از این طریق را برای یک فرد بالغ ۶۰ کیلوگرمی کم‌تر از ۰/۳۵µg/kg/w/d برآورد نمود. برآورد مشابهی در مورداستفاده از ملامین در کاغذ و تخته‌های کاغذی صورت گرفت و میزان تماس از این طریق ۰/۰۰۱۹µg/kg/w/d تخمین زده شد (www.fdo.behdasht.gov.ir).

۵-۱-۳- بقایای ناشی از کاربرد سیرومازین به‌عنوان یک آفت‌کش و داروی دامپزشکی

سیرومازین به‌عنوان آفت‌کش (کنترل مگس در کود حیوانی و مگس میوه‌ها و سبزی‌ها) یا داروی دامپزشکی مورداستفاده است (Bradley et al. 2005). بقایای سیرومازین و ملامین پس از اسپری شدن روی سبزی‌ها شناسایی‌شده است. سیرومازین در اثر تجزیه نوری، تجزیه میکروبی و تبخیر به متابولیت‌هایی نظیر ملامین تجزیه می‌شود. در سال ۲۰۰۷ در ژاپن مقادیر باقیمانده ملامین در گوجه‌فرنگی، کاهو و کرفس پایین‌تر از ۱ mg/kg اندازه‌گیری شد (جدول ۲).(Karras et al. (2007 ، بقایای ملامین در قسمت رویشی لوبیا را پس از به کار بردن سیرومازین به‌صورت محلول در ریشه لوبیا کم‌تر از ۱mg/kg اندازه‌گیری کردند (Carla و Luc، 2008; Karras et al. 2007; Wei et al. 2009). بخش بررسی باقیمانده آفت‌کش‌های کمیته مشترک FAO/WHO (JMPR)[1] (2007) و (USEPA, (1999 گزارش کردند که مقادیر باقیمانده ملامین ۱۰٪ مقادیر سیرومازین به‌کاررفته بر روی محصولات است.

جدول ۲ -بقایای ملامین و سیرومازین در محصولات کشاورزی درنتیجه کاربرد آفت‌کش سیرومازین (کمیته ایمنی غذایی ژاپن (Carla وLuc، 2008)

محصول	غلظت سیرومازین (mg/kg)	غلظت ملامین (mg/kg)
میوه گوجه‌فرنگی	۰/۰۳۳ – ۰/۱۴۵	۰/۰۱۷ – ۰/۱۶۱
ساقه گوجه‌فرنگی	۱۰/۷	۱۲/۳
کاهو	۱/۴۳ – ۲/۹۸	۰/۴۰۲ – ۰/۴۹۸
کرفس	۰/۷۴۷ – ۳/۷۳	۰/۳۹۴ – ۰/۹۱۷

هرچند JMPR اعلام کرد که در مورد ضایعات خوراکی (ضایعات گوشت پستانداران و طیور) و قارچ‌ها، مقادیر ملامین به‌اندازه مقادیر خود سیرومازین به‌کاررفته است. برای کالاهای اخیر مقادیر باقیمانده ملامین به ترتیب ۰/۰۱ و ۲/۲mg/kg فرض شد (USEPA, 1999) با فرض اینکه بقایای ملامین در تمام کالاها در حداکثر مقادیر باقیمانده (MRL) وجود داشته باشد و هم-

1- Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues

چنین در یک فرد بالغ دارای ۶۰ کیلوگرم وزن بدن استفاده‌شده باشد، مواجه با ملامین از طریق رژیم غذایی درنتیجه استفاده از سیرومازین به‌عنوان یک آفت‌کش از ۰/۰۴µg/kg/w/d تا ۰/۲۷µg/kg/w/d تخمین زده شد. جدول (۳) حداکثر حدود باقیمانده تعیین‌شده برای سیرومازین در غذا توسط کمسیون غذایی کدکس را ارائه داده است (WHO, 2008). کمسیون کدکس MRL[1] ملامین در شیر را ۱۰ng/ml اعلام کرده است (Codex General Standard, 1995; Naota, 2012). سیرومازین به‌عنوان یک داروی دامپزشکی نیز به کار می‌رود، اما اتحادیه اروپا که مقادیر MRLs سیرومازین در کاربرد آن به‌عنوان داروی دامپزشکی را تنظیم کرده است، هیچ اطلاعاتی از باقیمانده ملامین به‌عنوان محصول کاربرد سیرومازین ارائه نداده است (Carla و Luc،2008).

۵-۱-۴- مواجه با ملامین از طریق کاربردتری کلروملامین در محلول‌های گندزدا

تری کلروملامین که در ایالات‌متحده آمریکا به‌عنوان گندزدا در محلول‌های بهداشتی کننده مورداستفاده در تجهیزات فرآیند مواد غذایی و لوازم مرتبط با غذا (به‌استثنای ظروف یا تجهیزات شیر) مجاز شناخته شده است، به ملامین تجزیه می‌شود. USFDA غلظت ملامین دریافتی از رژیم غذایی را با فرض اینکه تمام گندزداهای مورداستفاده در فرآیندهای مواد غذایی حاوی تری کلروملامین باشند و با فرض اینکه یک فرد بالغ ۶۰ کیلوگرمی روزانه ۳ کیلوگرم غذا مصرف می‌کند، ۷µg/kg/w/d برآورد نمود (WHO, 2008).

جدول ۳- حداکثر حدود باقیمانده تعیین‌شده برای سیرومازین در غذا توسط کمسیون غذایی کدکس (Carla و Luc، 2008)

غذا	حداکثر حدود باقیمانده (MRL) (mg/kg)	ملاحظات
کرفس	۵	
خیار	۰/۲	
تخم‌مرغ	۰/۲	MRL کاربرد خارجی در حیوانات
کاهو	۵	
خربزه‌ها (به‌جز هندوانه)	۰/۲	
شیرها	۰/۰۱	MRL کاربرد خارجی در حیوانات
قارچ‌ها	۵	
فلفل‌ها	۱	
گرد فلفل‌ها	۱۰	
گوشت طیور	۰/۰۵	MRL کاربرد خارجی در حیوانات
گوشت گوسفند	۰/۰۵	MRL کاربرد خارجی در حیوانات
گوجه‌فرنگی	۰/۵	

1- Maximum ResidueLimit

۵-۱-۵- مواجه با سیانوریک اسید درنتیجه کاربرد دی کلروایزوسیانورات در گندزدایی آب

استفاده از دی‌کلروایزوسیانورات سدیم (NaDCC)[1] برای گندزدائی آب آشامیدنی، استخرهای شنا و آب در کارخانه‌ها مواد غذایی، سبب حضور مقادیر جزئی از سیانوریک اسید و ملامین در آب و غذا می‌گردد. این ترکیب به‌صورت قرص نیز برای استریلیزاسیون بطری‌های شیر کودک به کار می‌رود. JECFA[2] مقادیر باقیمانده سیانوریک اسید در آب را که درنتیجه کاربرد سدیم دی‌کلروایزوسیانورات به‌عنوان گندزدا در تصفیه آب حاصل می‌شود، با فرض اینکه یک مول سدیم دی‌کلروایزوسیانورات، نهایتاً یک مول سیانوریک اسید تولید می‌کند و با فرض کاربرد آن در محدوده تقریباً ۱/۶mg/l (معادل با ۱mg/l کلر آزاد) تا ۳/۲mg/l (معادل ۲mg/l کلر آزاد)، میزان مواجه با سیانوریک اسید را از طریق رژیم غذایی، ۷۰µg/kg/w/d و از طریق آب آشامیدنی ۳/۲ mg/l برآورد نمود. هرچند بررسی‌های صورت گرفته نشان می‌دهند که از سدیم دی‌کلروایزوسیانورات به‌عنوان گندزدای آب آشامیدنی عمدتاً در شرایط اضطراری استفاده می‌شود و این برآورد خیلی محافظه‌کارانه است (Naota, 2012). هم‌چنین بر اساس اعلام کمیته کارشناسان WHO، درنتیجه کاربرد سدیم دی‌کلرو ایزوسیانورات در آب استخرهای شنا، ممکن است مقادیری سیانوریک اسید جذب بدن شود؛ اما به دلیل ناکافی بودن اطلاعات قابل‌دسترس، پتانسیل مواجه با ملامین و سیانوریک اسید از طریق این منابع موردقبول واقع نشد (WHO, 2004).

۵-۱-۶- مواجه از طریق افزودن ملامین به خوراک حیوانات

ملامین به خاطر استفاده از آفت‌کش‌های تری‌آزینی نظیر سیرومازین در محصولات گیاهی یا استفاده از سیرومازین به‌عنوان داروی دامپزشکی یا درنتیجه کاربرد کودهای اوره‌ای ممکن است در غلظت‌های پایه در خوراکی‌های با منشأ حیوانی حضور یابد (WHO, 2007). کمسیون غذایی کدکس MRLs سیرومازین را ۰/۰۵mg/kg در گوشت طیور و گوشت گوسفند و ۰/۰۱mg/kg در شیر تعیین نموده است (FAO, 2009). چندین کشور نیز MRLs برای سیرومازین را در خوراکی‌های عمده حیوانی شامل گوشت، شیر و انواع تخم‌مرغ برقرار کرده‌اند. هم‌چنین، در ایالات‌متحده آمریکا سیانوریک اسید ممکن است در غلظت‌های پایه در غذای پستاندارانی که حاوی بیورت (که می‌تواند حاوی تا ۳۰ درصد سیانوریک باشد) است حضورداشته باشد (Root et al. 1996).

جدول ۴- خلاصه برآوردهای مواجه با ملامین در مقادیر پایه از منابع مختلف (WHO, 2008)

نوع منبع	مواجه روزانه برآورد شده µg/kgوزن بدن
شیر خشک کودک	۰/۵۴ – ۱/۶
سایر غذاها	۰/۰۳ – ۰/۱۲
گندزداهای مورداستفاده در فرآیند غذا	۷
مهاجرت از پلاستیک حاوی ملامین	۱۳
مهاجرت از چسب‌های حاوی ملامین	<۰/۳۵
بقایای ناشی از مصرف سیرومازین	۰/۰۴ – ۰/۲۷

۵-۱-۷- دیگر منابع دارای پتانسیل مواجه با ملامین

ملامین و سیانوریک اسید ممکن است درنتیجه استفاده‌های گسترده قانونی دیگری نظیر ساخت ورقه‌ها، خاموش‌کننده یا تأخیر کننده‌های آتش، رنگ‌ها و ترکیبات کودی وارد محیط شوند. هرچند، هیچ اطلاعات خاصی روی مقادیر باقیمانده ملامین از این

1- Sodium dichloroisocyanurate
2- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

منابع گزارش نشده است. در حال حاضر، انتظار می‌رود تمام مقادیر باقیمانده ناشی از این منابع تنها نماینده یک‌بخشی از مقادیر پایه در افراد در معرض تماس باشد (USFDA, 2003b). در مقیاس صنعتی نیز، تولید و دفع ملامین ممکن است منجر به حضور مقادیر کمی از ملامین در پساب خروجی شود. اطلاعات حاصل از ردیابی ملامین در رودخانه‌های ژاپن نشان داد که محدوده مقادیر ملامین از ۰/۰۰۰۱ تا ۰/۰۰۷۶mg/l در آب، از ۰/۰۱ تا ۰/۴mg/l در رسوبات و از ۰/۰۲ تا ۰/۵۵mg/l در ماهی است (USFDA, 2003b). ملامین می‌تواند به‌وسیله گونه‌های باکتریایی کلبسیلا (Klebsiella) و سودوموناس (Peseudomonas) از طریق واکنش‌های دآمیناسیون (Deamination) به آنالوگ‌هایی نظیر آملین، آملید و سیانوریک اسید تجزیه شود. دآمیناسیون یک‌راه معمول برای باکتری‌ها و پروتوزوئرها است و بنابراین انتقال ملامین قابل انتظار است. همانند ملامین، سیانوریک اسید نیز می‌تواند به‌عنوان یک محصول از تجزیه آفت‌کش‌های S- تری‌آزینی ایجاد شود. هرچند احتمال ایجاد مقادیری از سیانوریک اسید در غذا از طریق این منابع به‌درستی شناخته نشده است (WHO, 2008; http://en.wikipedia.org). از طرفی هیچ اطلاعاتی از بقایای آملید یا آملین از هیچ منبعی نیز تا به امروز گزارش نشده است که نیاز به مطالعات در این زمینه را برای محققین در آینده فراهم می‌سازد (WHO, 2008). جدول (۴) برآوردهای مواجه با ملامین در مقادیر پایه از منابع مختلف در افراد بالغ و در مواجه‌ای متوسط را نشان می‌دهد.

۶- منابع آلودگی مواد غذایی با ملامین و آنالوگ‌های آن درنتیجه سوءاستفاده یا تقلب

تقلب شیر و فرآورده‌های شیری با ملامین در چین، انگیزه‌ای برای تحقیقات گسترده جهانی در مورد مقادیر ملامین و در برخی موارد آنالوگ‌های آن در شیر، فرآورده‌های شیری و محصولات ترکیبی دارای اجزای ساخته‌شده از شیر گردید. در بسیاری از موارد نخستین توجه روی فرآورده‌های لبنی چینی و سایر غذاهای ترکیبی دارای اجزای لبنی ساخته‌شده در چین یا با منشأ چینی بود. در خوراک دام استفاده از ملامین به‌عنوان عامل پلیت ساز باعث شده که در خوراک پلیت‌شده ماهی و میگو ملامین شناسایی گردد (WHO, 2008b). مطالعه در خوراک ماهی سالمون، قزل‌آلا و میگو نشان‌دهندهٔ وجود ملامین است که این مقدار در میگو به ۱۷mg/kg می‌رسد. به‌علاوه در بافت ماهیچه‌ای سالمون و قزل‌آلا میزان قابل‌تشخیصی از ملامین (۴۰-۱۲۰µg/kg) گزارش گردید (Ersen et al. 2008 ;Javma, 2007). مطالعه دیگری به آلودگی ۳۰ درصدی ماهی‌های موجود در بازار اشاره نمود که سبب شد کمسیون اروپائی غذا و خوراک حیوانی که تقلب خوراک حیوانی با منشأ چین را در فرانسه، آلمان و بریتانیا بررسی‌شده بود، مقادیر ملامین را در محدوده ۴۱۰mg/kg – ۱/۶ گزارش نماید (Karbiwnyk et al. 2009). آلودگی خوراک حیوانات خانگی در سال ۲۰۰۷، میزان ترکیبات تری‌آزینی در اجزای آلوده (گلوتن) این خوراکی‌ها شامل ۸/۴٪ ملامین، ۵/۳٪ سیانوریک اسید، ۲/۳٪ آملید، ۱/۷٪ آملین و کمتر از ۱٪ اوریدوملامین و متیل ملامین نشان داد (WHO, 2008). مطالعه‌ای دیگر در خوک‌هایی که از غذای آلوده حاوی به ملامین (۷۴mg/kg– ۶۹) برای تغذیه استفاده کرده بودند نشان داد که ملامین در گوشت خوک در حد ۱۰ میلی‌گرم بر گرم تا هفته اول بعد از ذبح قابل‌شناسایی است (Root et al. 1996). به دنبال آن سازمان‌های متعددی ملامین را در محصولات غذایی مختلف از قبیل آلبومین تخم‌مرغ (۱۱-۱۲mg/kg)، تخم‌مرغ‌های کامل خشک‌شده (۲/۸-۴/۶mg/kg)، پودر تخم‌مرغ کامل (۰/۸۴-۴mg/kg)، پودر سفیده تخم‌مرغ (۱/۳-۲/۵mg/kg)، پودر زرده تخم‌مرغ (۰/۱۱mg/kg) و محصولات مختلف گزارش گردید که همگی به انتقال ملامین از خوراک حیوانی تقلب شده اشاره می‌کند (Infosan, 2008; Karbiwnyk et al. 2009). در مطالعات دیگری به آلودگی شیر، خامه و فراورده‌های لبنی در تایوان و چین در محدوده ۷۵۰-۲۱۰۰۰mg/kg به ملامین را نشان دادند که منبع آلودگی این محصولات در آن موقع شناخته نشد (Fsanz, 2008 ; WHO, 2008). اطلاعات مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌های چین (سال ۲۰۰۸) در مورد آنالیز موادی که در استان گوانژوی چین برای تقلب شیر به کار می‌رفتند و بعداً در ساخت شیر خشک کودکان نیز استفاده شدند، نشان داد که میزان متوسط ملامین ۱۸۸۰۰۰ mg/kg، سیانوریک اسید ۳/۲ mg/kg، آملین ۱۴/۹ mg/kg و آملید ۲۹۳mg/kg به کار گرفته‌شده بسیار بالاتر از میزان این ترکیبات در

حادثه آلودگی ملامین سال ۲۰۰۷ در آمریکا است (WHO, 2008). جدول (۵)، مقادیر ملامین در نمونه‌های آزمایش‌شده از مواد غذایی و خوراک دام را نشان می‌دهد. با توجه به نگرانی‌های موجود در مورد آلودگی میوه‌ها و سبزی‌ها رشد کرده در چین، تخم‌مرغ‌های تازه، فرآورده‌های مایع و پودری تخم‌مرغ، خامه‌های غیر لبنی، بی‌کربنات آمونیوم و خوراک دام تولیدشده در چین که احتمالاً به کشورهای دیگر نیز صادرشده باشد، آزمایش این نوع محصولات و مواد غذایی حاوی این اجزاء به‌وسیله کشورهای پیشرفته در اولویت قرار گرفت (WHO, 2008).

۷- آزمون‌های تشخیص حضور ملامین و آنالوگ‌های آن در مواد غذایی

در فاصله زمانی ۱۰ ساله از حضور ملامین و مشتقات آن در مواد غذایی روش‌های مختلفی برای ارزیابی ملامین در محصولات غذایی مختلف به کار گرفته شد که دراین‌بین روش‌های کروماتوگرافی بر سایر روش‌ها ارجحیت داشتند. کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا[1](HPLC)، کروماتوگرافی گازی– اسپکترومتری جرمی[2](GC-MS)، کروماتوگرافی مایع استخراج فاز جامد _ اسپکترومتری جرمی[3](SPE/LC-MS)، یونیزاسیون الکتروسپری جفت شده با اسپکترومتری جرمی (ESI-MS)، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا _ اسپکترومتری جرمی جفت شده (HPLC-MS/MS)، کروماتوگرافی مایع واکنش هیدروفیلیک[4](HILIC) و آزمون آنزیم اتصال شده به جاذب ایمنی[5](ELISA) به‌عنوان روش‌های ترجیحی به کار گرفته می‌شوند ولی در حال حاضر روش طلایی برای شناسایی ملامین و آنالوگ‌های آن در مواد غذایی روش HPLC است (Ruijia et al. 2010). در این روش با استفاده از آشکارسازهای UV/DAD[6]می‌توان به‌عنوان یک روش تأییدی در شناسایی ملامین مورداستفاده قرار گیرد و توانایی شناسایی ملامین در محدوده ۰/۰۵ تا ۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش‌شده است. البته ماتریکس ماده آنالیز شونده و روش استخراج نمونه همگی در تغییر تعیین محدوده تشخیص می‌توانند دخیل باشند (Ruijia et al. 2010). روش‌های کروماتوگرافی گازی– اسپکترومتری جرمی (GC-MS) به خاطر دارا بودن خاصیت انتخابی متوسط نیز می‌توانند به‌عنوان یک روش تأییدی و یا غربالگری مورداستفاده قرار گیرند. البته به علت کوچکی و طبیعت قطبی ملامین و آنالوگ‌های آن، مشتقات تری‌متیل‌سیلیل (trimethylsilyl) به فرم یونیزاسیون در آنالیز GC به کار گرفته می‌شوند. حدود تعیین مقدار ملامین در این روش در محدوده ۰/۰۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش‌شده است که بستگی به ماتریکس آنالیز شونده و روش استخراج نمونه دارد (Ruijia et al. 2010). روش‌های اسپکترومتری جرمی جفت شده (MS/MS) نیز به خاطر دارا بودن خاصت انتخابی بالا به‌عنوان یک روش غربالگری و یا تأییدی مورداستفاده قرار می‌گیرند. در بیشتر روش‌های آنالیز MS/MS برای اطمینان از شناسایی آنالیت‌های موردنظر، حداقل دو یون انتقالی برای هر آنالیت ردیابی می‌شود (Ruijia et al. 2010). در HPLC– MS/MS، حدود تعیین مقدار ملامین و آنالوگ‌های آن با روش HPLC-MS/MS در محدوده ۰/۰۰۲ تا ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش‌شده است (Ruijia et al. 2010).

1- High-performance liquid chromatography
2- Gas chromatography Mass spectrometry
3- Solid phase extraction Liquid chromatography-Mass spectrometry
4- Hydrophilic interaction chromatography
5- Enzyme-linked immunosorbent assay
6- Ultraviolet/Diode Array Detector

جدول ۵- مقادیر ملامین در نمونه‌های آزمایش‌شده مواد غذایی و خوراک دام (WHO, 2008)

نوع غذا	مقدار ملامین (mg/kg)
بیسکویت، کیک و شیرینی	۰/۶ – ۹۴۵/۸۶
شیر مایع و فرآورده‌های ماست	۰/۵ – ۶۴۸
دسر منجمد	۳۹ - ۶۰/۸
شیر خشک و فرآورده‌های غلات	۰/۳۸ – ۱۱۴۳
مواد غذایی فرآیند شده	۰/۶ – ۴۱
اجزای فرآوری مواد غذائی	۱/۵ – ۶۶۹۴
خوراک دام	۱۱۶/۲ – ۴۱۰

۸- استانداردهای موجود جذب قابل‌تحمل روزانه و حداکثر مجاز حضور ملامین در مواد غذایی و خوراک دام

اتحادیه اروپا استاندارد جذب قابل‌تحمل روزانه ملامین[1](TDI) را ۰/۲ mg/kg وزن بدن تعیین نموده است (قبلاً ۰/۵ میلی‌گرم بود). کانادا این میزان را ۰/۳۵mg/kg و FDA آمریکا ۰/۰۶۳mg/kg (قبلاً ۰/۶۳ mg/kg بود) اعلام کرده‌اند. اداره ایمنی غذای سازمان جهانی بهداشت، مقدار ملامین دریافتی روزانه‌ای که یک فرد بدون ایجاد خطر جدی برای سلامتی می‌تواند تحمل کند (TDI)، ۰/۲mg/kg وزن توده بدن برآورد نموده است (http://en.wikipedia.org). بخش استانداردهای غذایی ملل متحد، کمسیون کدکس، حداکثر مقدار مجاز ملامین در پودر غذای کودک را ۱ mg/kg و در دیگر غذاها و هم‌چنین در خوراک حیوانات، ۲/۵mg/kg تعیین نموده است. بااین‌حال در برخی کشورها الزامات قانونی در خصوص سطوح مجاز ملامین به‌منظور ممنوعیت محصولات حاوی ملامین وجود ندارد (FAO, 2009). اگرچه WHO قبلاً TDI برای سیانوریک اسید به‌تنهایی را ۱/۵mg/kg اعلام کرده بود، اما برای حضور هم‌زمان ملامین و سیانوریک اسید هیچ TDI اعلام‌نشده است (Fsanz, 2008). در ایران نیز با توجه به بررسی‌های صورت گرفته و بر اساس آخرین منابع علمی معتبر حداکثر مقدار مجاز ملامین در فرآورده‌های غذایی حاوی شیر و یا مشتقات آن (به‌استثناء شیر خشک اطفال) ۲/۵ mg/kg اعلام گردیده است (Bernama, 2008).

۹- نتیجه‌گیری

تماس با ملامین از طرق مختلف (گوارشی، پوستی، تنفسی) می‌تواند منجر به آسیب دستگاه تولیدمثلی، یا تشکیل سنگ‌های مثانه و کلیه شده و حتی سرطان مثانه نیز گردد. مواد غذایی ممکن است از طریق محیط و یا تقلب و سوءاستفاده با ملامین و آنالوگ‌های آن (سیانوریک اسید، آملیدن و آملید) آلوده گردند. با توجه به سمیت حاد بسیار پایین ملامین، خطر اصلی آلودگی ملامین به سمیت مزمن برمی‌گردد که اغلب با تشکیل سنگ کلیوی همراه است. از مهم‌ترین مواد غذایی که می‌تواند در مواجه با ملامین آسیب بیش‌تری به جامعه وارد کند مصرف شیر خشک‌های آلوده به ملامین به‌عنوان تنها منبع غذای مورداستفاده در کودکان است و تماس طولانی‌مدت با مقادیر بالاتر از TDI ممکن است برای سلامتی کودکان جامعه نگران‌کننده باشد. برهم این اساس WHO برای پیشگیری از مواجه با ملامین و آنالوگ‌های آن برقراری یک سیستم بازرسی و اندازه‌گیری‌های ایمنی محصولات

1- Tolerable daily intake

وارداتی و صادراتی را پیشنهاد داده که می‌تواند بسیار مفید باشد. ازاین‌روFAO/WHO بایستی همکاری سازمانی با صنایع مواد غذایی و دیگر صنایع داخل در زنجیره غذایی کشورهای مختلف داشته باشند تا با بررسی نتایج آزمایش‌ها وضعیت این ترکیبات در اختیار جامعه گذاشته شود. نتایج آزمایش‌ها انجام‌شده در مورد ملامین و سه آنالوگ آن (سیانوریک اسید، آملین، آملید) در غذا، خوراک دام و اجزای غذایی دیگر و به‌خصوص برای ملامین گزارش گردد. از طرف دیگر مشکل آلودگی با ملامین از رخدادهای تازه است و مسئولین به خاطر مشخص بودن ساختار ملامین به‌عنوان یک ترکیب و اثر آن در بدن اطلاعات کافی در دست دارند. دو چالش بزرگی که شیمی‌دان‌ها با آن روبرو هستند این است که اولاً ملامین سمیت خیلی پایینی دارد و دوماً ملامین سریعاً از بدن خارج می‌شود؛ بنابراین تحقیقات طولانی در فضای وسیع موردنیاز است. از طرفی پیشنهاد می‌شود هر چه سریع‌تر در تمام محصولات شیری آزمایش تعیین میزان ملامین انجام شود. از طرف دیگر مطالعات قبلی در مورد آلودگی غذای دام‌ها، سیانوریک اسید علت اصلی مرگ‌ومیر بالا در سگ‌ها و گربه‌ها معرفی شد. درحالی‌که هنوز هیچ‌کدام از سه آنالوگ ملامین مثل خود ملامین به‌خوبی مطالعه نشده‌اند، بنابراین در صورت شیوع دیگر، مسئولین کشورهای تحت تأثیر، اطلاعات زمینه‌ای زیادی روی هیچ‌کدام از آنالوگ‌ها در اختیار نخواهند داشت؛ بنابراین اگر شیر خشک کودکان با ملامین و یکی از آنالوگ‌های همراه آن آلوده شود، در یک مدت‌زمان کوتاه مرگ‌ومیر زیادی در پی خواهد داشت. موضوع دیگر نیاز به تحقیقات کلینیکی است که بایستی با استفاده از بهترین روش‌های اپیدمیولوژی انجام شود. از آنجائی که مطالعات مقطعی– عرضی تنها اطلاعات مقطعی از جمعیت را در یک‌زمان و تماس خاص می‌دهند و بیماری نیز در همان مدت‌زمان کوتاه تشخیص داده می‌شود، پیچیدگی سمیت کلیوی ناشی از تماس با ملامین به‌خوبی درک نخواهد شد؛ بنابراین می‌توان مطالعه گروهی آینده‌نگر با جمع‌آوری شرکت‌کنندگانی که کودکانشان با شیر خشک تولیدشده در کارخانه‌ها محصولات شیری تغذیه می‌شوند طراحی کرد که بینشی از فاکتورهای مختلف مرتبط با تشکیل سنگ‌های کلیوی را به جامعه عرضه کند. گذشته از این، مطالعه کوهورت (گروهی) می‌تواند در بررسی‌های بعدی در مورد کودکانی که ممکن است شرایط دیگری از سنگ‌ها در آن‌ها توسعه‌یافته باشد، نظیر سرطان، مورداستفاده قرار گیرد؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعاتی در ارتباط با تعیین میزان انتقال ملامین از خوراک دام محتوی به محصولات دامی مورد مصرف در انسان طراحی شود. به‌علاوه میزان مهاجرت ملامین در محصولات غذایی، آلودگی عرضی در طول فرآیندهای غذایی، تجهیزات فرآیند مواد غذایی و مواد بسته‌بندی مورد ارزیابی قرار گیرد. به‌علاوه مطالعاتی در مورد تعیین دوز آستانه و مدت‌زمان تماس برای ایجاد بلوره در کلیه و مجاری ادراری برای ملامین به‌تنهایی و در ترکیب با سیانوریک اسید و سایر تری‌آزین‌ها در نسبت‌های مولاری متفاوت تعیین گردد و هم‌چنین انجام مطالعات به منظر بهتر فهمیدن کینتیک سمیت ملامین به‌ویژه در نوزادان انجام گیرد.

References

Anthony K., Ching H., Tze-Hoi K. and Philip K. (2009). Melamine Toxicity and the Kidney. J. American Soci. Nephrol. 20(4), 245-250.

Bernama M. (2008). Malaysia Bans Import of Raising Agent from China, orders recall of two biscuit brands. Malaysian. National. News. Agency, 16.October. et al. .

Brady A. P., Sancier K. M. and Sirine G. (1963). Equilibria In Solutions of Cyanuric Acid, Its Chlorinated Derivatives. Journal of the American Chemical Society, 85(9), 3101–3104.

Bradley G., Patakioutas G., Savvas D., Matakoulis C., Sakellarides T. and Albanis T. (2005). Survey of The Migration of Melamine , Application, Fate of Cyromazine In A Closed-Cycle Hydroponic. Cultivation of Bean (Phaseolus Vulgaris L). J. Agric. Food Chem., 28(4), 9928-35.

Carla H. and Luc P. (2008). Background Paper on Occurrence of Melamine in Foods, Feed. Health Canada, Ottawa, Canada.

Centre for Food Safety (2010). Safety of Melamine-Ware Available for Use on Local Food Premises. Food and Agriculture Organization of the United Nations Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (Codex STAN 193-1995).

Dalal R. P. and Goldfarb D. S. (2011). Nat Rev Nephrol Melamine-Related Kidney Stones, Renal Toxicity, 7(2), 267-274.
Divya N. (2014). Melamine - An Overview of Its Toxicity. Biotech Articles. http://www. biotecharticles.com, Accessed 2015.
Fsanz A. (2008). Food Standards Code, Chapter 1, Part 1.4, Standard 1.4.2, Schedule 1. Food Standards Australia, New Zeal, (http://www.foodst;ards.gov.au/thecode), Accessed 2015.
FAO. (2009). Pesticide Management, JMPR Evaluation, List of Pesticides Evaluated by JMPR, JMPS, Cyromazine, JMPR, Evaluation. (http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/pests/pm/lpe/lpe-c/en), Accessed: 2015.
Health Canada (2008a). Survey, Health Risk Assessment of Background Levels of Melamine in Infant Formula Allowed for Sale in Canada. Ottawa, Ontario, Health Canada, Health Products; Food Branch, Food Directorate, Bureau of Chemical Safety.
Health Canada (2008 b). Health Canada's Risk Assessment for Melamine in Foods Containing Milk, Milk-Derived Ingredients. Ottawa, Ontario, Health Canada, Available at (http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/melamine-eng.php).
Wikipedia. (2015). http://en.wikipedia.org/wiki/Melamine#Testing_in_food.Accessed.
Ishiwata H., Inoue T. and Tanimura A. (1986). Migration of Melamine, Formaldehyde from Tableware Made of Melamine Resin. Food Additives, Contaminants,3(1), 63–70.
Infosan. (2008). Melamine-Contaminated Products, China. International Food Safety Authorities Network.
Javma. (2007). Melamine Adulterates Component of Pellet Feeds. J. Am. Vet. Med. Assoc., 17-18.
Karras G. (2007). Fate of Cyromazine Applied in Nutrient Solution to A Gerbera (Gerbera Jamesonii) Crop Grown in A Closed Hydroponic System. Crop Protect. 26(5), 721–728.
Karbiwnyk C. M. (2009). Determination of Cyanuric Acid Residues in Catfish, Trout, Tilapia, Salmon; Shrimp by Liquid Chromatography–T, Em. Mass. Spectrometry. Anal. Chim. Acta., 637(1-2), 101-11.
Lim L. O. (1990) Disposition of Cyromazine In Plants Under Environmental Conditions. Journal of Agricultural; Food Chemistry, 38(3), 860–864.
Mohamed M. and Roquaia- El H. (2012). Determination of Melamine in Infant Milk Formula, Milk Powder, Basaa Fish Samples by HPLC/DAD. J. Environ. Anal. Toxicol., 2(1), 4-14.
Naota F. (2012) Organic Solvent-Free, Simple Method for Determining Cyromazine , Its Metabolite, Melamine, in Cow's Milk. J. Anal. Sci. Instrum., 2(1), 68-73.
Puschner B., Poppenga R. H., Lowenstine L. J., Filigenzi M. S. and Pesavento P. A. (2007). Assessment of Melamine , Cyanuric Acid Toxicity in Cats. J. Vet. Diagn Invest., 19(5), 616-624.
Root D. S., Hongtrakul T. and Dauterman W. C. (1996). Studies on the Absorption, Residues, Metabolism of Cyromazine in Tomatoes. Pesticide Sci., 48(6), 25–30.
Ruijia Y., Wei H., Lishi Z. H., Miles T. and Xiaofang P. (2010). Milk Adulteration With Melamine In China, Crisis, Response. Quality Assurance, Safety of Crops, Food, 1757(20), 8361-8371.
Skinner-Jerry C. G., Thomas-John D. and Osterloh D. (2010). Melamine Toxicity. J. Med. Toxicol. 6(3), 5-50.
USEPA. (1999). Cyromazine, pesticide tolerance. Federal Register, 64(8), 50043–50050.
USFDA. (2003a). Code of Federal, Indirect Food Additives: Adjuvants, Production Aids, Sanitizers), Section 178.1010 (Sanitizing Solutions). Regulations Title 21, Volume 3, Part 178Washington, DC, United States Food, Drug Administration.
USFDA. (2007). Interim Melamine, its Analogues Safety/Risk Assessment. Washington, DC, United States Food; Drug Administration, Center for Food Safety (http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html).
USFDA. (2003b). Code of Federal Regulations Title 21, Chapter I, Part 573, Section 573.220, Feed grade biuret. Washington, DC, United States Food, Drug Administration (http://cfr.vlex.com/vid/19712997).
WHO. (2008). Expert Meeting to Review Toxicological Aspects of Melamine, Cyanuric Acid, Ottawa, Can.
WHO. (2008). Melamine Cyanuric acid, Toxicity, Preliminary Risk Assessment, Guidance on Levels in Food. (www.who.int/foodsafety/fs).
Wang C. C., Fung K. P. and Fok T. F. (2013). Melamine Toxicity in Rat Foetuses, Infants, 19(4), 8-20.

Wei R., Wang R., Zeng Q., Chen M. and Liu T. (2009). High-Performance Liquid Chromatographic Method for The Determination of Cyromazine, Melamine Residues in Milk, Pork, 47(9), 581-4.
WHO. (2004). Sodium Dichloroisocyanuratein Safety Evaluation of Certain Food Additives, Contaminants. Prepared by the sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, World Health Organization, WHO, Food Additives Series.
WHO. (2007). Sodium Dichloroisocyanurate in Drinking-Water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva, World Health Organization.
WHO. (2008 a). Melamine-Contaminated Powdered Infant Formula, China. Weekly Epidemiological Record. Geneva, World Health Organization, 38(4), 350–362.
WHO. (2008 b). Melamine-Contamination Event, China. Geneva, World .Health Organization.

لیست اصطلاحات:

AD: Acceptable Daily Intake
BMD: Benchmark dose
BMD05: Benchmark dose for a 5% risk
BMD10: Benchmark dose for a 10% risk
BMDL: Lower limit on the benchmark dose
BMDL05: Lower limit on the benchmark dose for a 5% risk
BMDL10: Lower limit on the benchmark dose for a 10% risk
CAS: Chemical Abstracts Service
CFR: Code of Federal Regulations (USA)
CYA: Cyanuric acid
DAD: Diode array detection
DNA: Deoxyribonucleic acid
EFSA: European Food Safety Authority
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
EU: European Union
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations
GC: Gas chromatography
GEMS/Food: Global Environment Monitoring System – Food Contamination Monitoring; Assessment Programme

HPLC: High-performance liquid chromatography
INFOSAN: International Food Safety Authorities Network
JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
JMPR: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues *K*d dissociation constant
LC: Liquid chromatography
LD_{50}: Median Lethal Dose
MEL: Melamine
MRL: Maximum Residue Limit
MS: Mass Spectrometry
NOAEL: No-observed-adverse-effect level
NTP: National Toxicology Program (USA)
SAR: Special Administrative Region
STMR: supervised trial median residue
TDI: Tolerable daily intake
USA: United States of America
USEPA: United States Environmental Protection Agency
USFDA: United States Food; Drug Administration
USSR: Union of Soviet Socialist Republics
UV: ultraviolet
WHO: World Health Organization

A Review on Melamine Toxicity in Food Products and its Health Aspects

Mirjamal Husseini[1*], Javad Maleki[2] and Ebrahim Mohammadi[3]

[1] Department of Toxicology/Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[2] Department of Food Health and Safety, Faculty of Health, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[3] Environmental Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

[*]**Corresponding Author: jamal_hossini@yahoo.com**

Received: July 12, 2015 Accepted: September 11, 2015

Abstract

Melamine, an organic compound, derived from cyanimide, is composed of 66% by weight of nitrogen. It is sometimes illegally added to food products, especially milk and its products in order to increase tempting protein content. The standard tests to measure the protein, such as Kjeldahl and Dumas, estimate the amount of food proteins by measuring the amount of nitrogen available. Therefore, by adding nitrogen-rich compounds such as melamine to food, these tests are unable to differentiate non-protein nitrogen sources of the protein one. Hence, an economic incentive is created to add it to food. In March 2007, the United States FDA found traces of melamine in animal feed imported from China (wheat gluten or rice protein concentrate), which caused kidney stones and urinary tract disorders as well as death in large number of household dogs and cats. In addition, in late 2008, about 300,000 Chinese children fell ill due to the consumption of melamine-contaminated milk powder and six of them died. In recent years, examining the toxicity of melamine has been studied in hurting reproductive organs, forming bladder and kidney stone and even bladder cancer. Today, in many countries the maximum concentration limit (MCL) of melamine in baby milk powder, as an only source of food for children, and some other food products has been determined, which are elaborated. In this review article, it is attempted to discuss the uses and properties of melamine and its analogues, the toxicity of melamine and its analogues, sources of contamination of food with melamine and its maximum concentration level, and the methods to identify it.

Keywords: Melamine, Protein, Toxicity, Food Contamination.