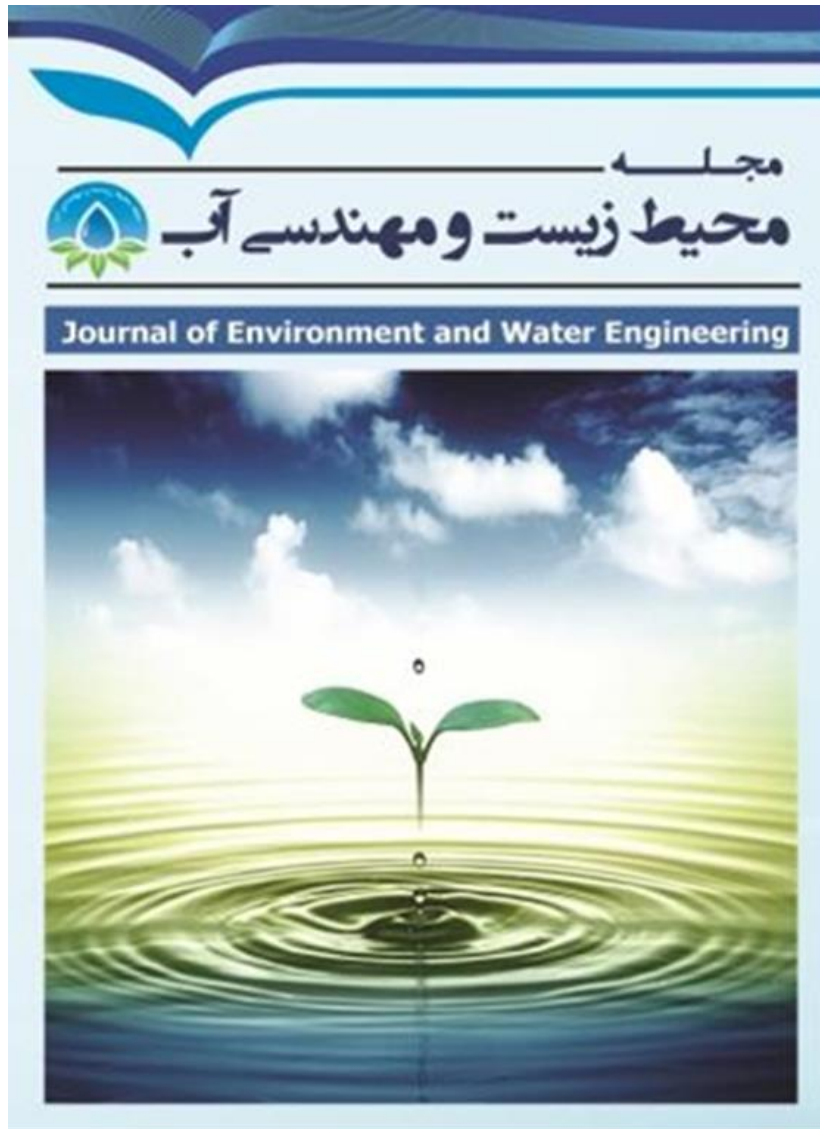


مروری بر سمیت ملامین در مواد غذایی و جنبه‌های بهداشتی آن

میر جمال حسینی، جواد ملکی و ابراهیم محمدی



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

www.jewe.ir

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

How to cite this paper: Hussein M., Maleki J. and Mohammadi E. (2015). A review of Melamine Toxicity in 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. از این رو انگیزه اقتصادی برای افزودن آن در مواد غذایی ایجاد می‌شود. در مارس سال ۲۰۰۷ سازمان غذا و دارو ایالات متحده رد پای ملامین را در غذای حیوانی وارده از چین (گلو تن 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 بررسی شده 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 ایالات متحده آمریکا نارسایی 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 (EFSA, 2010; Skinner et al. 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 فریبده میزان پروتئین مواد غذایی که اساس روش‌های تشخیص آن بررسی میزان نیتروژن مواد غذایی است، به مواد غذایی افزوده شده است (EFSA, 2010; Nshisso, 2010). تحقیقات اولیه سازمان جهانی بهداشت^۱ (WHO) 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 پاک‌ها، فیلترهای تجاری، بنرهای تبلیغاتی کاربرد دارد (<http://en.wikipedia.org>; WHO, 2008; Anthony et al. 2009). به‌علاوه به‌عنوان عایق، ضد صدا و محصولات پاک‌کننده پلیمریک نظیر تخته پاک‌کن‌های جادویی کاربرد دارد. ملامین در ورق‌های پوشش غذایی به‌صورت یک‌لایه نازک و به‌عنوان عایق گاز مورد استفاده‌مورد استفاده قرار می‌گیرد. 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 (Puschner et al. 2007; Anthony et al. 2009).

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^۱ (SMF) 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 در نتیجه بهبود مقاومت بتون در مقابل عوامل مهاجم محیطی و افزایش طول عمر بتون می‌شود (WHO, 2008; Luc و Carla, 2008).

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 از لحاظ اقتصادی و هم از لحاظ 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 دامیناسیون (Deamination) به فرم آمین، 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 پف‌کننده، پلاستیک‌ها و کاغذ (EFSA, 2010).

گزارش شده است که در سال ۲۰۰۷ در ایالات متحده آمریکا ملامین به عنوان عامل پیونددهنده در پلیت‌های غذایی (خوراک میگو و ماهی) به منظور بهبود ویژگی‌های پیوندی پلیت‌ها استفاده می‌شده است. سازمان غذا و داروی ایالات متحده^۱ (USFDA) گزارش کرد که استفاده از ملامین به عنوان 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 به عنوان عامل پیوندی در پلیت‌ها متوقف گردید (Carla, 2008). با این توصیفات ملامین گاهی اوقات به طور غیرقانونی به منظور افزایش کاذب مقدار پروتئین به محصولات غذایی اضافه می‌گردد. آزمون‌های استاندارد اندازه‌گیری میزان پروتئین نظیر کج‌دال 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. در نتیجه 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- تری‌کلروملامین (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) ساخته شده است. به‌علاوه، آژانس حفاظت از محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا^۲ (USEPA) کاربرد تری‌کلروملامین را به‌عنوان ماده بهداشتی کننده و گندزدا روی سطوح سخت و به‌عنوان یکی از اجزای محلول‌های شوینده میوه‌ها و سبزی‌ها مجاز شناخته است (USEPA, 1999 ; Lim LO et al. 1990).

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 دیپتیرا 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. گزارش شده است که سیرومازین هم‌چنین می‌تواند در ساختمان گیاهان نیز به ملامین تبدیل شود. مشخص شده است که سیرومازین به‌مرور زمان در روی سطوح میوه‌ها و سبزی‌ها به ملامین تبدیل می‌شود (WHO, 2008).

۳-۳- سیانوریک اسید (Cyanuric acid) (۶،۴،۲- تری‌هیدروکسی-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 ایالات متحده 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 بی‌بورت که یک افزودنی در غذای پستانداران است، پذیرفته شده است. سیانوریک اسید به‌صورت محصول تجزیه‌ای دی‌کلرو ایزوسیانات مورد استفاده در گندزدایی آب، در آب آشامیدنی و در آب استخرهای شنا نیز پیدا می‌شود. وقتی که سدیم دی‌کلرو ایزوسیانات به‌منظور گندزدایی آب به‌کار برده می‌شود، سریعاً به فرم کلر قابل استفاده و سیانوریک اسید تبدیل می‌گردد (Brady, 1963). به‌علاوه سیانوریک اسید در استخرهای شنا به‌عنوان پایدارکننده و برای جلوگیری از تجزیه نوری یا تبخیر کلر مورد استفاده 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 ایالات متحده آمریکا سیانوریک اسید به‌عنوان جزئی از محلول‌های بهداشتی مورد استفاده 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-دی‌هیدروکسی-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- آملمین (Ammeline) (۶،۴-دی‌آمینو-۲-هیدروکسی-۵،۱،۳-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 آملمین به ترتیب آنالوگ‌های مونو و دی‌آمینواکسی‌تری‌آزین ملامین هستند که یا به‌صورت محصولات جانبی در تولید ملامین ایجاد می‌شوند و یا در نتیجه تجزیه میکروبی ملامین تولید می‌گردند. آملمین 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 انجام شده است که در گونه‌های حیوانی مختلف نتایج کاملاً متفاوت به‌دست آمده است. نیمه‌عمر ملامین در بدن رت‌ها و خوک‌ها حدود ۲/۷ ساعت و ۴/۰۴ ساعت گزارش گردید (Nshisso, 2010). به‌علاوه دوز کشندگی متوسط^۱ (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 گزارش شده 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 (Anthony et al. 2009 ; <http://en.wikipedia.org>) به‌علاوه مشخص شده 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 گزارش شده 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).

۴-۲- سمیت مزمن ملامین

جذب گوارشی ملامین در دوزهای کم در طولانی مدت می تواند منجر به آسیب دستگاه تولیدمثل، تشکیل سنگ های مثانه و کلیه شده که می تواند به سرطان مثانه نیز منجر شود. در بررسی سمیت مزمن ملامین در موش های صحرایی تحت تیمار با ملامین، در مثانه هر دو جنس نر و ماده، تشکیل سنگ در مثانه، تغییرات هایپرپلاستیک (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). باین حال مطالعات سرطان زایی ناشی از ملامین در مطالعات حیوانی نتیجه قطعی در پی نداشته است و طبق نظر IARC^۱، ملامین از نظر سرطان زایی در گروه سه قرار داده شده است که اشاره به ناکافی بودن اطلاعات از مطالعات انجام شده دارد (Nshisso, 2010). مطالعات اخیر نشان دارند که کودکان کمتر از سه سال در مواجه با ملامین آسیب پذیری بیش تری در ارتباط با تشکیل سنگ های 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 بهبود یافته بعد از شش ماه هنوز اختلالات کلیوی را داشتند که نشان دهنده پتانسیل بالای عوارض ناشی از ملامین در طولانی مدت است. مطالعاتی نیز قلبیایی کردن ادرار و آزادسازی سنگ ها را روش درمانی مؤثری در کاهش سریع سنگ های اسیداوریک در بدن می دانند (<http://en.wikipedia.org>). جالب است که تجویز سه روزه ملامین همراه با سیانوریک اسید در گربه ماهی ها باعث بروز تیرگی پوست، انتشار بلوره های ملامین در ریه ها، کبد، قلب، طحال، بالا رفتن غلظت آنزیم های سرم نظیر آلانین ترانس آمیناز، آسپارات ترانس آمیناز، افزایش میزان ترکیبات نیتروژنه نظیر کراتینین و اسید اوریک و آسیب های کلیوی گردید (Divya, 2014). مطالعات انسانی در بیماران تحت مواجه اغلب نشان داد که قطر سنگ های کلیوی تشکیل شده 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 را نشان می دهد. از طرفی نوع سنگ های ایجاد شده در انسان تحت تماس با ملامین به حضور یا عدم حضور سیانوریک اسید وابسته است و بلوره های ملامین- اسیداوریک یا ملامین- سیانوریک اسید تشکیل می دهند که تشکیل بلوره های ملامین- اسیداوریک به انرژی کمتر نیاز دارد (Dalal, 2011; FAO, 2009). مطالعات سرطان زایی ملامین در جوندگان در مطالعات مزمن (۱۳ هفته) گسترش سنگ های 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 به عنوان سم تولیدمثلی نام می برند 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 اسپرم ها هم مشاهده شده است (USFDA, 2007). از طرفی آژانس ایمنی غذای اروپا (EFSA)^۲ اعلام نموده است که ملامین تراژون نیست (EFSA, 2010). مطالعات جدید پیشنهاد داده اند که ملامین تحت تأثیر میکروبیوم های روده ای مانند کلبسیلا تریژنا (Klebsiella terrigena) که بندرت در روده پستانداران کلنی تشکیل می دهد، می تواند مستقیماً به سیانوریک اسید تبدیل شود که بروز بالای آسیب کلیوی در رت هایی که کلنی های کلبسیلا تریژنا در آن ها وجود دارد تأیید کننده این مطلب (EFSA et al. 2007) به علاوه سیانوریک اسید که از آنالوگ های ملامین است سمیت کمتری از ملامین دارد و LD₅₀ گوارشی آن در موش های صحرایی بیش تر از ۱۰ g/kg است (Dalal, 2011). مشخص شده 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 تجویز شده، 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 در نتیجه تقلب یا سوءاستفاده وارد غذای مصرفی نشده باشد. این موارد شامل مقادیر مورد انتظار وارد شده 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 (WHO, 2008; Luc و Carla, 2008). درحالی‌که تقلب به افزودن عمدی ملامین و یا آنالوگ‌های آن به صورت 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 در نتیجه انتقال غیرمستقیم از خوراکی‌های آلوده حیوانات در غذاهای با منشأ حیوانی حضور یافته باشد (WHO, 2008; Luc و Carla, 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 (WHO, 2008; Luc و Carla et al. 2008).

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

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

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

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

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

رزین‌های مورد استفاده 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 غذایی 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 1 mg/kg و با فرض مهاجرت 25% ملامین در رژیم‌های غذایی (750 g) برای هر فرد بالغ در هر روز، کمیته کارشناسان مواجهه با ملامین از طریق رژیم غذایی را برای افراد بالغ 60 کیلوگرمی، $13 \mu\text{g/kg/w/d}$ (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 30 mg/kg اعلام نموده است (Centre for Food Safety, 2010). اثرات گرما روی مهاجرت ملامین حاکی از آن است که وقتی دما از 60 به 95 درجه سانتی‌گراد برسد میزان مهاجرت ملامین از پرتغال، شیر تخمیری و آب‌لیمو به دست آمد (WHO, 2008 ; Luc و Carla, 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 مورد استفاده در لوازم در تماس با غذا به کار می‌رود. USFDA تماس با ملامین از این طریق را برای یک فرد بالغ 60 کیلوگرمی کم‌تر از $0.35 \mu\text{g/kg/w/d}$ برآورد نمود. برآورد مشابهی در مورد استفاده از ملامین در کاغذ و تخته‌های کاغذی صورت گرفت و میزان تماس از این طریق $0.0019 \mu\text{g/kg/w/d}$ 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 مورد استفاده است (Bradley et al. 2005). بقایای سیرومازین و ملامین پس از اسپری شدن روی سبزی‌ها شناسایی شده است. سیرومازین در اثر تجزیه نوری، تجزیه میکروبی و تبخیر به متابولیت‌هایی نظیر ملامین تجزیه می‌شود. در سال 2007 در ژاپن مقادیر باقیمانده ملامین در گوجه‌فرنگی، کاهو و کرفس پایین‌تر از 1 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 1 mg/kg اندازه‌گیری کردند (Wei et al. 2009 ; Karras et al. 2007; 2008، Luc و Carla). بخش بررسی باقیمانده آفت‌کش‌های کمیته مشترک FAO/WHO¹ (JMPR) (2007) و USEPA، (1999) گزارش کردند که مقادیر باقیمانده ملامین 10% مقادیر سیرومازین به‌کاررفته بر روی محصولات است.

جدول ۲- بقایای ملامین و سیرومازین در محصولات کشاورزی در نتیجه کاربرد آفت‌کش سیرومازین (کمیته ایمنی غذایی ژاپن) (Luc و Carla, 2008)

مصول	غلظت سیرومازین (mg/kg)	غلظت ملامین (mg/kg)
میوه گوجه‌فرنگی	$0.033 - 0.145$	$0.017 - 0.161$
ساقه گوجه‌فرنگی	10.7	12.3
کاهو	$1.43 - 2.98$	$0.402 - 0.498$
کرفس	$0.747 - 3.73$	$0.394 - 0.917$

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 0.1 و 2 mg/kg فرض شد (USEPA, 1999) با فرض اینکه بقایای ملامین در تمام کالاها در حداکثر مقادیر باقیمانده (MRL) وجود داشته باشد و هم-

چنین در یک فرد بالغ دارای ۶۰ کیلوگرم وزن بدن استفاده شده باشد، مواجهه با ملامین از طریق رژیم غذایی در نتیجه استفاده از سیرومازین به عنوان یک آفت کش از $0.04 \mu\text{g/kg/w/d}$ تا $0.27 \mu\text{g/kg/w/d}$ تخمین زده شد. جدول (۳) حداکثر حدود باقیمانده تعیین شده برای سیرومازین در غذا توسط کمیسیون غذایی کدکس را ارائه داده است (WHO, 2008). کمیسیون کدکس^۱ MRL ملامین در شیر را 10 ng/ml اعلام کرده است (Codex General Standard, 1995; Naota, 2012). سیرومازین به عنوان یک داروی دامپزشکی نیز به کار می رود، اما اتحادیه اروپا که مقادیر MRLs سیرومازین در کاربرد آن به عنوان داروی دامپزشکی را تنظیم کرده است، هیچ اطلاعاتی از باقیمانده ملامین به عنوان محصول کاربرد سیرومازین ارائه نداده است (Carla و Luc, 2008).

۵-۱-۴- مواجهه با ملامین از طریق کاربرد تری کلروملامین در محلول های گندزدا

تری کلروملامین که در ایالات متحده آمریکا به عنوان گندزدا در محلول های بهداشتی کننده مورد استفاده در تجهیزات فرآیند مواد غذایی و لوازم مرتبط با غذا (به استثنای ظروف یا تجهیزات شیر) مجاز شناخته شده است، به ملامین تجزیه می شود. USFDA غلظت ملامین دریافتی از رژیم غذایی را با فرض اینکه تمام گندزدهای مورد استفاده در فرآیندهای مواد غذایی حاوی تری کلروملامین باشند و با فرض اینکه یک فرد بالغ ۶۰ کیلوگرمی روزانه ۳ کیلوگرم غذا مصرف می کند، $7 \mu\text{g/kg/w/d}$ برآورد نمود (WHO, 2008).

جدول ۳- حداکثر حدود باقیمانده تعیین شده برای سیرومازین در غذا توسط کمیسیون غذایی کدکس (Carla و Luc, 2008)

ملاحظات	حداکثر حدود باقیمانده (MRL) (mg/kg)	غذا
	۵	کرفس
	۰/۲	خیار
MRL کاربرد خارجی در حیوانات	۰/۲	تخم مرغ
	۵	کاهو
	۰/۲	خربزه ها (به جز هندوانه)
MRL کاربرد خارجی در حیوانات	۰/۰۱	شیرها
	۵	قارچ ها
	۱	فلفل ها
	۱۰	گرد فلفل ها
MRL کاربرد خارجی در حیوانات	۰/۰۵	گوشت طیور
MRL کاربرد خارجی در حیوانات	۰/۰۵	گوشت گوسفند
	۰/۵	گوجه فرنگی

۵-۱-۵- مواجهه با سیانوریک اسید در نتیجه کاربرد دی کلروایزوسیانورات در گندزدایی آب

استفاده از دی کلروایزوسیانورات سدیم (NaDCC)^۱ برای گندزدایی 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 به صورت قرص نیز برای استریلیزاسیون بطری‌های شیر کودک به کار می‌رود. JECFA^۲ مقادیر باقیمانده سیانوریک اسید در آب را که در نتیجه کاربرد سدیم دی کلروایزوسیانورات به عنوان گندزدا در تصفیه آب حاصل می‌شود، با فرض اینکه یک مول سدیم دی کلروایزوسیانورات، 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 مواجهه 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 دی کلروایزوسیانورات به عنوان گندزدای آب آشامیدنی عمدتاً در شرایط اضطراری استفاده می‌شود و این برآورد خیلی محافظه کارانه است (Naota, 2012). همچنین بر اساس اعلام کمیته کارشناسان WHO، در نتیجه کاربرد سدیم دی کلروایزوسیانورات در آب استخرهای شنا، ممکن است مقادیری سیانوریک اسید جذب بدن شود؛ اما به دلیل ناکافی بودن اطلاعات قابل دسترس، پتانسیل مواجهه با ملامین و سیانوریک اسید از طریق این منابع مورد قبول واقع نشد (WHO, 2004).

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

ملامین به خاطر استفاده از آفت‌کش‌های تری‌آزینی نظیر سیرومازین در محصولات گیاهی یا استفاده از سیرومازین به عنوان داروی دامپزشکی یا در نتیجه 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 ایالات متحده آمریکا سیانوریک اسید ممکن است در غلظت‌های پایه در غذای پستاندارانی که حاوی بیورت (که می‌تواند حاوی تا ۳۰ درصد سیانوریک باشد) است حضور داشته باشد (Root et al. 1996).

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

نوع منبع	مواجهه روزانه برآورد شده µg/kg وزن بدن
شیر خشک کودک	۰/۵۴ - ۱/۶
سایر غذاها	۰/۰۳ - ۰/۱۲
گندزدهای مورد استفاده 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 مواجهه با ملامین

ملامین و سیانوریک اسید ممکن است در نتیجه 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 $0/0001$ تا $0/0076\text{mg/l}$ در آب، از $0/01$ تا $0/4\text{mg/l}$ در رسوبات و از $0/02$ تا $0/55\text{mg/l}$ در ماهی است (USFDA, 2003b). ملامین می‌تواند به‌وسیله گونه‌های باکتریایی کلبسیلا (*Klebsiella*) و سودوموناس (*Pseudomonas*) از طریق واکنش‌های دامیناسیون (Deamination) به آنالوگ‌هایی نظیر آملمین، آملمید و سیانوریک اسید تجزیه شود. دامیناسیون 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 آملمید یا آملمین 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 مواجهه با ملامین در مقادیر پایه از منابع مختلف در افراد بالغ و در مواجهه‌ای متوسط را نشان می‌دهد.

۶- منابع آلودگی مواد غذایی با ملامین و آنالوگ‌های آن در نتیجه 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 پلیت‌ساز باعث شده که در خوراک پلیت‌شده ماهی و میگو ملامین شناسایی گردد (WHO, 2008b). مطالعه در خوراک ماهی سالمون، قزل‌آلا و میگو نشان‌دهنده وجود ملامین است که این مقدار در میگو به 17mg/kg می‌رسد. به‌علاوه در بافت ماهیچه‌ای سالمون و قزل‌آلا میزان قابل‌تشخیصی از ملامین ($40-120\text{ }\mu\text{g/kg}$) گزارش گردید (Javma, 2007; Ersen et al. 2008). مطالعه دیگری به آلودگی ۳۰ درصدی ماهی‌های موجود در بازار اشاره نمود که سبب شد کمسیون اروپایی غذا و خوراک حیوانی که تقلب خوراک حیوانی با منشأ چین را در فرانسه، آلمان و بریتانیا بررسی شده بود، مقادیر ملامین را در محدوده 410mg/kg - $1/6$ گزارش نماید (Karbiwnyk et al. 2009). آلودگی خوراک حیوانات خانگی در سال ۲۰۰۷، میزان ترکیبات تری‌آزینی در اجزای آلوده (گلوتن) این خوراکی‌ها شامل $8/4\%$ ملامین، $5/3\%$ سیانوریک اسید، $2/3\%$ آملمید، $1/7\%$ آملمین و کمتر از 1% اوریدوملامین و متیل ملامین نشان داد (WHO, 2008). مطالعه‌ای دیگر در خوک‌هایی که از غذای آلوده حاوی به ملامین ($74-69\text{mg/kg}$) برای تغذیه استفاده کرده بودند نشان داد که ملامین در گوشت خوک در حد 10 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 مختلفی از قبیل آلبومین تخم‌مرغ ($12-11\text{mg/kg}$)، تخم‌مرغ‌های کامل خشک‌شده ($2/8-4/6\text{mg/kg}$)، پودر تخم‌مرغ کامل ($4-0/84\text{mg/kg}$)، پودر سفیده تخم‌مرغ ($2/5-1/3\text{mg/kg}$)، پودر زرده تخم‌مرغ ($0/11\text{mg/kg}$) 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 فرآورده‌های لبنی در تایوان و چین در محدوده $2100-750\text{mg/kg}$ به ملامین را نشان دادند که منبع آلودگی این محصولات در آن موقع شناخته نشد (Fsan, 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 188000 mg/kg ، سیانوریک اسید $3/2\text{ mg/kg}$ ، آملمین $14/9\text{ mg/kg}$ و آملمید 293mg/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 صادر شده 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 در این بین روش‌های کروماتوگرافی بر سایر روش‌ها ارجحیت داشتند. کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ (HPLC)، کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی^۲ (GC-MS)، کروماتوگرافی مایع استخراج فاز جامد - اسپکترومتری جرمی^۳ (SPE/LC-MS)، یونیزاسیون الکتروسپری جفت شده با اسپکترومتری جرمی (ESI-MS)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا - اسپکترومتری جرمی جفت شده (HPLC-MS/MS)، کروماتوگرافی مایع واکنش هیدروفیلیک^۴ (HILIC) و آزمون آنزیم اتصال شده به جاذب ایمنی^۵ (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^۶ می‌توان به‌عنوان یک روش تأییدی در شناسایی ملامین مورد استفاده قرار گیرد و توانایی شناسایی ملامین در محدوده ۰/۰۵ تا ۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده 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 مورد استفاده 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 گزارش شده 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 خاصیت انتخابی بالا به‌عنوان یک روش غربالگری و یا تأییدی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در بیشتر روش‌های آنالیز MS/MS برای اطمینان از شناسایی آنالیت‌های مورد نظر، 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 گزارش شده 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 آزمایش شده مواد غذایی و خوراک دام (WHO, 2008)

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

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

اتحادیه اروپا استاندارد جذب قابل تحمل روزانه ملامین^۱ (TDI) را 0.2 mg/kg و وزن بدن تعیین نموده است (قبلاً 0.5 میلی‌گرم بود). کانادا این میزان را 0.35 mg/kg و FDA آمریکا 0.063 mg/kg (قبلاً 0.63 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)، 0.2 mg/kg و 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 1 mg/kg و در دیگر غذاها و هم‌چنین در خوراک حیوانات، $2/5 \text{ mg/kg}$ تعیین نموده است. با این حال 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 $1/5 \text{ mg/kg}$ 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 (به‌استثنا شیر خشک اطفال) $2/5 \text{ mg/kg}$ 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 مواجهه با ملامین آسیب بیشتری به جامعه وارد کند مصرف شیر خشک‌های آلوده به ملامین به‌عنوان تنها منبع غذای مورد استفاده 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 مواجهه با ملامین و آنالوگ‌های آن برقراری یک سیستم بازرسی و اندازه‌گیری‌های ایمنی محصولات

وارداتی و صادراتی را پیشنهاد داده که می‌تواند بسیار مفید باشد. از این رو FAO/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 انجام شده در مورد ملامین و سه آنالوگ آن (سیانوریک اسید، آملمین، آملمید) در غذا، خوراک دام و اجزای غذایی دیگر و به خصوص برای ملامین گزارش گردد. از طرف دیگر مشکل آلودگی با ملامین از رخدادهای تازه است و مسئولین به خاطر مشخص بودن ساختار ملامین به عنوان 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 مورد نیاز 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. در حالی که هنوز هیچ‌کدام از سه آنالوگ ملامین مثل خود ملامین به خوبی 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 به خوبی درک نخواهد شد؛ بنابراین می‌توان مطالعه گروهی آینده‌نگر با جمع‌آوری شرکت‌کنندگانی که کودکانشان با شیر خشک تولید شده 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 توسعه یافته باشد، نظیر سرطان، مورد استفاده 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. به علاوه میزان مهاجرت ملامین در محصولات غذایی، آلودگی عرضی در طول فرآیندهای غذایی، تجهیزات فرآیند مواد غذایی و مواد بسته‌بندی مورد ارزیابی قرار گیرد. به علاوه مطالعاتی در مورد تعیین دوز آستانه و مدت‌زمان تماس برای ایجاد بلوره در کلیه و مجاری ادراری برای ملامین به تنهایی 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.
- Fsanx A. (2008). Food Standards Code, Chapter 1, Part 1.4, Standard 1.4.2, Schedule 1. Food Standards Australia, New Zeal, (<http://www.foodstandards.gov.au/the-code>), 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 178 Washington, 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 Dichloroisocyanurate 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 Kd dissociation constant
 LC: Liquid chromatography
 LD₅₀: 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 Maleki² and Ebrahim Mohammadi³

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.