تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای تولیدی مزارع پرورش گاو شیری استان چهار محال و بختیاری به روش الایزا

ابراهیم رحیمی *[1] و گیتی کریم[2]

۱-دستیار تخصصی رشته بهداشت مواد غذایی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاداسلامی واحد شهرکرد
۲-گروه تخصصی بهداشت موادغذایی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

چکیده

اهمیت نقش شیر در تغذیه انسان، خصوصاً تغذیه نوزدان به خوبی شناخته شده است. به عبارت دیگر آلودگی شیر با آفلاتوکسین ها خطر بالقوه‌ای برای سلامتی انسان محسوب می‌شود. در این مطالعه، وجود آفلاتوکسین M_1 در نمونه های شیر خام جمع آوری شده از ۸۶ مزرعه پرورش گاو شیری استان چهار محال و بختیاری به وسیله آزمایش الایزا مورد آزمایش قرار گرفت. در ٤١ نمونه از مجموع ۸٦ نمونه آزمایش شده وجود آفلاتوکسین M_1 با غلظتی مابین ۲/۸٦۸ تا ۱۷٦/۱۹۲ نانوگرم در لیتر تعیین شد. در ١٦ نمونه (۱۸/٦ درصد) از نمونه های مثبت، سطح آلودگی به آفلاتوکسین M_1 بیش از حد مجاز استاندارد مورد استفاده در اتحادیه اروپا یعنی ۵۰ نانوگرم در لیتر بدست آمد. ضریب همبستگی بین تعداد کل گاو، تعداد راس گاو شیری در گله و میانگین میزان تولید شیر روزانه (kg) و آلودگی به آفلاتوکسین در سطح $P<۰/۰۵$ معنادار بود.

کلید واژگان : آفلاتوکسین M_1، شیر

۱-مقدمه

آفلاتوکسین ها گروهی ازتوکسین های طبیعی هستند که وسیله کپک ها یی مانند آسپرژیلوس فلاووس[1] وآسپرژیلوس پارازیتیکوس[2] تولید می شوند که چهار تیپ عمده آن را آفلاتوکسین های B_1 , B_2 , G_1 , G_2 تشکیل می‌دهند . اگر آفلاتوکسین B_1 به تنها یا همراه با آفلاتو کسینهای دیگر در خوراک دام به وسیله حیوانات خورده شود به توکسینها ی دیگری در ترشحات و بافتهای آنها تبدیل می شود ، که دو توکسین در شیر حیوانات مشخص گردیده است و تحت عنوان توکسینهای شیر یا اصطلاحاً آفلاتوکسینهای M_1و M_2 نامیده می شوند [۲۰، ۱۸، ١٤، ۱۳، ۵، ۳، ۱]

آفلاتوکسین M_1 ، ۱۲ تا ٢٤ ساعت بعد از خوردن آفلاتوکسین B_1 همراه خوراک توسط دام وارد شیر می‌شودو بعداز چند روز به حداکثرخودش می رسد. حدود ۷۲ساعت بعد از اتمام ورود آفلاتوکسینB_1 به بدن ازشیرحذف میشود حدود ۳ – ۱ درصد آفلاتوکسین B_1 خورده شده توسط دام به آفلاتوکسین M_1 تبدیل می‌شود. این میزان ازحیوانی حیوان دیگر ، روز به روز و از یک شیر دوشی به شیردوشی بعدی تغییر می کند (۱۳، ٤).

ارتباط مستقیمی مابین حضورآفلاتوکسین B_1 درخوراک دام و آفلاتوکسینM_1درشیر دام وجوددارد.آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 از نظر ساختمانی به ترتیب مشتقات ٤ هیدروکسی

* مسئول مکاتبات: Ebrahimrahimi55@yahoo.com

1.Aspergillus flavus
2.Aspergillus parasiticus

Archive of SID
www.SID.ir

M_1وتاثیرآن درممانعت ازکدبرداری RNA وسنتز پروتئینها درست به اندازه آفلاتوکسین B_1 است ولی تاثیر آن بر DNA کمتر از آفلاتوکسین M_1 و قدرت سرطانزایی آفلاتوکسین M_1 حدود $\frac{1}{10}$ قدرت سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 است (IARC[1] آفلاتوکسین B_1 را در گروه A و آفلاتوکسین M_1 را در گروه B عوامل سرطانزا طبقه بندی نموده است) و قدرت جهش زایی آن $\frac{1}{30}$ جهش زایی آفلاتوکسین B_1 می‌باشد. آفلاتوکسین M_1 درجه حرارت پاستوریزاسیون را تحمل می‌کند و در صورتی که شیرهای آلوده به فرآورده‌های شیر تبدیل شوند باز هم حاوی آفلاتوکسین خواهند بود. بررسیهای انجام شده با شیرهایی که به طور طبیعی و مصنوعی با آفلاتوکسین M_1 آلوده شده بودند، نشان می‌دهد که سم حرارت $٦٤\ ^oC$ را به مدت ۲ ساعت تحمل کرده و حالت اولیه خود را حفظ می کند ولی افزایش درجه حرارت ثبات ساختمانی آنرا کاهش می‌دهد. فرآیندهای مختلف حرارتی که برای تهیه انواع فرآورده های شیر به کار می روند، نمی توانند پایداری آفلاتوکسین M_1 را کاهش دهند و همچنین مشخص شده است که پایداری آفلاتوکسین M_1 در طی فرآیند حرارتی به نوع آلودگی محصول بستگی ندارد و شیر با آلودگی طبیعی و مصنوعی مقاومت حرارتی یکسانی دارد (۲٤، ۲۳، ۱۵).

شیر و محصولات شیری را می توان به عنوان بخش مهمی از تغذیه در سبد خانوارهای ایران در نظر گرفت. هر چند که میزان مصرف سرانه این محصولات بسته به شرایط اقتصادی، فرهنگ و بینش تغذیه ای در این خانوارها بسیار متغیر است. بنابراین نه تنها سنجش سطوح آفلاتوکسین M_1 در شیر و محصولات شیری بسیار حائز اهمیت است بلکه این عمل می‌بایستی به شکل منظم در کلیه اقلام غذایی انجام پذیرد.

۲-مواد و روش کار

دراین مطالعه برای اندازه گیری آفلاتوکسین M_1 درنمونه‌های شیر از روش ELISA استفاده شد. کیتهای مورد استفاده از شرکت R-biopharm آلمان تهیه گردید که دارای حساسیتی برابر با ۵ نانوگرم در لیتر می‌باشد. واکنش متقاطع با آفلاتوکسین M_1 در این تست ۱۰۰ درصد و هیچ واکنش متقاطعی با آفلاتوکسین G_2, G_1, B_2, B_1 ندارد (واکنش متقاطع با آفلاتوکسین M_2 ارزیابی نشده است). میزان بازیافت آفلاتوکسین در شیر با این روش ۹۵ درصد (p.r=٪۹۵) با ضریب خطای ۱۵ درصدی (c.v.=٪۱۵) است.

۲-۱-نمونه‌برداری : در این مطالعه اطلاعات کاملی از کلیه مزارع پرورش گاو شیری استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. بدین‌ترتیب و پس از تهیه فهرست از دامداریها در نیمه اول زمستان ۱۳۸۳ نمونه شیر مخازن جمع‌آوری شیر هر دامداری از دوشش صبح در یک روز جمع‌آوری شد و در اسرع وقت در کنار یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد ارسال گردید.

۲-۲-آماده‌سازی نمونه‌ها : نمونه‌های شیر بعد از تهیه از نظر دما، میزان اسیدیته، چربی و ردوکتاز آزمایش شدند. نمونه‌هایی که از نظر تست ردوکتاز و اسیدیته قابل قبول تشخیص داده شدند در مراحل بعدی به مدت ۱۰ دقیقه و حداکثر در دمای ۱۰° درجه سانتی‌گراد و با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و بعد از سانتریفوژ، لایه چربی سطح نمونه‌های شیر به وسیله پمپ خلاء و سواپ سرپنبه‌ای جداسازی شد.

۲-۳-روش آزمایش : ۱۰۰ میکرولیتر از محلولهای استاندارد (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ۸۰ قسمت در تریلیون) و نمونه‌های شیر آماده‌سازی شده را به کمک سمپلر ۱۰ میکرولیتری به حفره‌های میکروپلیت اضافه (برای هر استاندارد و نمونه سر سمپلر جداگانه مورد استفاده قرار گرفت.) و سپس به مدت ۱ ساعت به دور از نور و در درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس مایع موجود در میکروپلیت خارج شده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قرار دادن آن شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب الرطوبه مایع موجود در حفره‌ها به طور کامل تخلیه شد، سپس همه حفره‌ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد، (عمل شستشو دو بار تکرار گردید) و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می‌گرفت تا کاملاً باقیمانده آب شستشو خارج

1.International Agency for Research on Cancer

Archive of SID
www.SID.ir

شود به این ترتیب موادی که بعد از این مدت در واکنش شرکت نکرده‌اند، خارج شدند.

سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین کونژوگه شده با آنزیم به حفره‌ها اضافه شد و میکروپلیت به مدت یک ساعت دیگر در گرم‌خانه ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از این زمان مایع موجود در حفره‌ها به طور کامل تخلیه شد، سپس همه حفره‌ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد، عمل شستشو دو بار تکرار گردید و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می‌گرفت تا کاملاً باقیمانده آب شستشو خارج شود.

سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر کروموژن به هر حفره اضافه شد. بعد از مخلوط کردن به آرامی، میکروپلیت به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی گرم خانه‌گذاری شد.

در پایان واکنش رنگی صورت گرفت بدین‌صورت که در نبود حضور آفلاتوکسین M_1 در نمونه (منفی بودن نمونه) واکنش رنگی با رنگ آبی مشخص می‌گردید که شدت رنگ با مقدار آفلاتوکسین موجود در نمونه‌ها رابطه غیرمستقیم داشت، بدین معنی که با افزایش مقدار سم در حفره‌ها از شدت رنگ کاسته می‌شود و حفره‌های بی‌رنگ معرف وجود آفلاتوکسین بودند.

در نهایت برای توقف واکنش محلول قطع واکنش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره‌ها اضافه شد و رنگ آبی موجود نیز به رنگ زرد تغییر یافت.

خواندن میکروپلیت با اسپکتروفتومتر مخصوص در طول موج ۴۵۰ نانومتر انجام گردید و اطلاعات مربوط به میزان جذب (OD) هر حفره به تفکیک ثبت شد، با کسر میزان جذب نمونه‌ها و استانداردها (۵۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ قسمت بر تریلیون) بر میزان جذب استاندارد صفر، ضرب در ۱۰۰، درصد جذب بدست آمد.

$$\text{درصد جذب} = \frac{\text{جذب استاندارد (یا نمونه)} \times 100}{\text{جذب استاندارد صفر}}$$

بر اساس درصد جذب نمونه‌های استاندارد و میزان آفلاتوکسین M_1 موجود در نمونه‌ها استاندارد منحنی کالیبراسیون با کامپیوتر رسم شد و به دنبال آن بر اساس درصد جذب هر نمونه شیر و انطباق با منحنی کالیبراسیون میزان آفلاتوکسین M_1(ppt) هر نمونه به دست آمد.

لازم به ذکر است نمونه‌های شیر که غلظت آفلاتوکسین M_1 آن به حدی نبود که روش الایزا قادر به شناسایی میزان آن باشد، شاخص آلودگی ۲/۵ نانوگرم در لیتر ($\frac{1}{2}$ حداقل غلظت قابل شناسایی) در نظر گرفته شد.

۳-تجزیه و تحلیل آماری

یافته‌های بدست آمده از آزمایش و اطلاعات جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS/12 و آزمون‌های ضریب همبستگی و آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

٤-نتایج

بر اساس آزمون الایزا از ۸٦ نمونه شیر اخذ شده از ۸٦ دامداری در استان چهارمحال و بختیاری ٤١نمونه (٤٧/٧ درصد) با میانگین ۳۹/۱٤ نانوگرم بر لیتر آلوده به آفلاتوکسین M_1 تشخیص داده شدند و مابقی (۵۲/۳ درصد) از این نظر منفی بودند. از ٤١ نمونه مثبت ۱۵ نمونه (۱۷/٤ درصد)، ٤ نمونه (٤/۷ درصد)، ٦ نمونه (۷ درصد) و ١٦ نمونه شیر (۱۸/٦ درصد) به ترتیب به کمتر از ۱۰، ۲۰-۱۰، ۵۰-۲۰ و بالای ۵۰ نانوگرم در لیتر آفلاتوکسین M_1 آلوده بودند.

جدول۱ شاخص‌های آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 (بر حسب نانوگرم درلیتر) براساس تعداد راس دام دردامداریهای موردمطالعه

ضریب همبستگی	آفلاتوکسین M1 (برحسب نانوگرم در لیتر)
تعداد راس دام در گله	r = ۰/۲۷۲ p = ۰/۰۱۱ n = ۸٦

بر اساس نتایج جدول، ضریب همبستگی بین تعداد راس دام در گله و آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در سطح $P \leq ۰/۰۵$ معنادار بوده، بنابراین بین دو متغیر رابطه مستقیم وجود دارد. به عبارتی دیگر با افزایش تعداد دام در گله میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر افزایش یافته است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲ شاخص آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 (برحسب نانوگرم در لیتر) بر اساس تعداد راس دام شیری در دامداریهای مورد مطالعه

ضریب همبستگی	آفلاتوکسین M_1 (برحسب نانوگرم در لیتر)
تعداد راس دام شیری در گله	r = ۰/۲۷۲ p = ۰/۰۱۱ n = ۸۶

بر اساس نتایج جدول، ضریب همبستگی بین تعداد راس دام شیری در گله و حضور آفلاتوکسین M_1 در شیر، در سطح $P \leq$ ۰/۰۵ معنادار بوده است و بنابراین بین دو متغیر رابطه مستقیم وجود دارد و با افزایش تعداد راس دام شیری در گله شاخص آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 افزایش یافته است

بر اساس نتایج جدول، ضریب همبستگی بین تعداد در M_1 راس دام شیری در گله و حضور آفلاتو کسین شیر، در سطح $P \leq$ ۰/۰۵ معنادار بوده است و بنابراین بین دو متغیر رابطه مستقیم وجود دارد و با افزایش تعداد راس دام شیری در گله شاخص آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 افزایش یافته است.

جدول۳ شاخص آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 (بر حسب نانوگرم در لیتر) بر اساس میزان تولید شیر روزانه (بر حسب کیلوگرم) در دامداریهای مورد مطالعه

ضریب همبستگی	آفلاتوکسین M_1 (برحسب نانوگرم در لیتر)
میانگین شیر تولیدی روزانه (Kg)	r = ۰/۲۵۵ p = ۰/۰۱۸ n = ۸۶

نتایج حاکی از آن است که ضریب همبستگی بین جدول میانگین میزان تولید شیر روزانه برحسب کیلوگرم و میزان آفلاتوکسین M_1 (بر حسب نانوگرم در لیتر) در شیر، در سطح $P \leq$ ۰/۰۵ معنادار است.

جدول٤ شاخص آلودگی شیربه آفلاتوکسین M1 (برحسب نانوگرم‌درلیتر)براساس موقعیت محل‌دامداری دراستان چهارمحال‌وبختیاری

ردیف	محل دامداری	میانگین	انحراف معیار	تعداددامداری مطالعه شده درمحل
۱	حاج کهوا شمالی	۹/۳۶۱	۱۶/۹۸۸	۱۳
۲	حاج کهوا جنوبی	۱۰/۲۸۵	۱۸/۲۰٤	۱۸
۳	قلنگان	۲۰/۸۲۲	۲۸/۲۳۹	۹
٤	سامان	٦۹/۸۸۲	۱٦/٥۹۲	۳
٥	شهرک کیان	٤/٤۷٦	۳/۳٥۳	۱٤
٦	لردگان	۲۳/۸۷۸	۲٦/۱۰٦	۹
۷	فارسان	۲٥/۱٥٦	۳٦/۲۲۳	٦
۸	بروجن	٥۷/۳۱٥	٦٦/۰٤۳	۸
۹	فرخ شهر	۲۱/۰٥۸	۲۷/۹٦۷	٦

جدول٥ آزمون تفاوت‌های معناداری میانگین آفلاتوکسین M1 (برحسب نانوگرم بر لیتر) در واحدهای مورد مطالعه

منبع تغییرات	مجذورات مجموع	درجه آزادی	مربعات میانگین	F	P
بین گروهی	۲٥٤٥٥/٤۰٥	۸	۳۱۸۱/۹۲۹	۳/۹۱۲	۰/۰۰۱
درون گروهی	٦۲٦۳۰/٦۹۳	۷۷	۸۱۳/۳۸٦		
کل	۸۸۰۸٦/۰۹۸	۸٥			

F مشاهده در سطح $P \leq$ ۰/۰۱ معنادار بوده، بنابراین بین میانگین آفلاتوکسین M_1 در دامداریهای مناطق مورد مطالعه تفاوت وجود دارد.

Archive of SID
www.SID.ir

۵-بحث

حداکثر قابل قبول وجود آفلاتوکسین M_1 در شیر و محصولات شیری در سراسر جهان بسته به شرایط و قوانین هر کشور تنظیم و اجرا می‌شود. و این میزان ممکن است از کشور به کشور دیگر متغیر باشد. از آنجائیکه در حال حاضر استاندارد ملی در مورد حد مجاز آلودگی آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های آن در کشور وجود ندارد. لذا در این بررسی شاخص آلودگی، استاندارد اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) منظور گردید. در نظر است که استاندارد کدکس الیمانتاریوس برای آفلاتوکسین M_1 برای ایران در نظر گرفته می‌شود، حد مجاز در این استاندارد ۵۰۰ng/l است.

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۶۱ با استفاده از روش TLC بر روی ٦١ نمونه شیر (۵۲ نمونه شیر خام و ۷ نمونه شیر پاستوریزه) در ایران صورت گرفت آلودگی شیرهای خام به آفلاتوکسین M_1 برابر ۹۲/۳ درصد مشاهده گردید و همچنین در تمام نمونه‌های شیر پاستوریزه آلودگی دیده شد. میزان آلودگی در شیرهای خام ۱۰-٦ میکروگرم در لیتر و در شیرهای پاستوریزه ۵-۱ میکروگرم در لیتر گزارش شده است(۳). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۱۳۷۲ با استفاده از روش الایزا آلودگی ۷۳ نمونه از شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M_1، ۸۲/۲ درصد با میانگین ۲۵۹/۵ نانوگرم در لیتر گزارش شده است. تعداد ٦٠ نمونه (۸۲/۲٪) آلوده و ۱۳ مورد (۱۷/۸ درصد) بدون آلودگی به سم بودند(۲).

مطالعه‌ای مشابه در سال ۱۳۸۲ جهت ارزیابی حضور و مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر خام تولید شده در شهر سراب حاکی از آن است که از ۱۱۱ نمونه شیر مورد مطالعه ۸۵ نمونه (٧٦/٦ درصد) آلوده به آفلاتوکسین M_1 با غلظتی مابین ۰/۰۱۵ تا ۰/۲۸ میکروگرم در لیتر بوده است. سطح آفلاتوکسین M_1 در ٤٠ درصد از نمونه‌های آلوده بیشتر از حداکثر قابل قبول ثبت شده در اتحادیه اروپا می‌باشد(۱۳).

در بررسی اخیر، با استفاده از روش الایزا آلودگی شیرهای مزارع پرورش گاوهای شیری استان چهارمحال و بختیاری به آفلاتوکسین M_1 مورد ارزیابی قرار گرفت که از ٨٦ نمونه شیر آزمایش شده ٤٠ نمونه (٤٦/٥١ درصد) آلوده به آفلاتوکسین M_1 بود، از این تعداد در ١٦ نمونه (١٨/٦ درصد) غلظت آفلاتوکسین M_1 بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا بدست آمد. غلظت آفلاتوکسین M_1 در ۱۵ نمونه (۱۷/٤ درصد) پایین‌تر از ۱۰ نانوگرم در لیتر، در ٤ نمونه (٤/٧ درصد) بین ۱۰ تا ۲۰ نانوگرم در لیتر، در ٦ نمونه (۷ درصد) بین ۵۰-۲۰ نانوگرم در لیتر، در ١٦ نمونه (۱۳/۹۵ درصد) بالاتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر تعیین شد.

ارزیابی دو مطالعه انجام شده در تهران نشان می‌دهد آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در فاصله ۱۵ سال بین دو مطالعه هم در درصد آلودگی و هم در مقدار آن کاهش یافته است و مقایسه ارقام به دست آمده در مطالعات انجام شده در تهران با سراب حاکی از آن است که سطح و مقدار آلودگی شیرهای مورد مطالعه در سراب به مراتب پایین‌تر از تهران بوده است و در مطالعه حاضر آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین M_1 به مراتب کمتر از میزان بدست آمده در مطالعات انجام شده در تهران و سراب ایران می‌باشد و این موضوع حاکی از ارتقاء سطح دانش دامداران در فراهم آوردن یک جیره سالم و عاری از آلودگی به قارچها می‌باشد.

گزارشات و نتایج مطالعات متعدد در ایران و سایر کشورها نشان می‌دهد که میانگین سطح آفلاتوکسین M_1 در شیر، در خلال فصول پائیز و زمستان بیشتر از فصول بهار و تابستان است. و از آنجائیکه مطالعه حاضر در فصل پائیز و زمستان انجام شده لذا احتمالاً حضور آفلاتوکسین M_1 در شیر تولیدی فصول بهار و تابستان پایین‌تر از میزان به دست آمده می‌باشد. از مهمترین علل پایین بودن آفلاتوکسین M_1 در شیر تولید فصول بهار و تابستان استفاده از علوفه تر در این فصول می‌باشد.

از بین مطالعات انجام شده در سایر کشورها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

از ۳٤۲ نمونه شیر آزمایش شده در اندونزی، ۱۹۹ نمونه (۵۸ درصد) به آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده است که در ۷۳ نمونه (۲۱ درصد) آن میزان سطح آفلاتوکسین M_1 بیش از ۵۰۰ نانوگرم در لیتر گزارش شده است).

در تایلند از ۳۱۰ نمونه شیر مایع، ۲٦۱ نمونه (٨٤ درصد) بیش از ۵۰ نانوگرم در لیتر به آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده‌اند، باز آلودگی ۵۸ نمونه (۱۹ درصد) بیش از ۵۰۰ نانوگرم در لیتر بوده است. در مطالعه‌ای دیگر از ۲۷۰ نمونه شیر خام و محصولات شیری (شیرخشک وشیر بسته‌بندی شده) همه نمونه‌ها به جز یک نمونه شیر خام و ۱۱ نمونه پودر شیر به

Archive of SID
www.SID.ir

آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده ومیزان آلودگی بیش از ۵۰ نـانوگرم در لیتر گزارش شده است (۲۲، ۹).

در فیلیپین آفلاتوکسین M_1 در ۸۸ درصـد نمونـه‌هـای شـیر مورد مطالعه بالای ۰/۰۵ و ۱۸ درصد بالای ۰/۵ میکروگـرم در کیلوگرم بوده است(۷).

در هند از ۸۷ نمونه شیر ارزیابی شـده، ۸۷/۳ درصـد از آنهـا آلوده به آفلاتوکـسین بـوده‌انـد، میـانگین آلـودگی ۲۸ تـا ۱٦٤ میکروگـرم در لیتـر بـوده اسـت کـه تقریبـاً در ۹۹ درصـد از نمونه‌های آلوده، میزان آلودگی بالاتر از حد قابل قبول اتحادیـه اروپا بدست آمده است(۱۹).

مطالعه‌ای در کره، میزان حضور آفلاتوکسین M_1 در شیر مایع را ۷٦ درصد با متوسط غلظت ۱۸پیکوگرم در لیتر گزارش کرده است(۱٤). در مطالعه مشابه از ۱۳٤ نمونه شیر مایع، ۵۰ نمونـه (۳۷ درصـد) بـا غلظتـی بـالای ۰/۰۵ میکروگـرم در لیتـر بـه آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده‌اند(۱٤).

ارزیابی آفلاتوکسین M_1 در آنکـارای ترکیـه نـشان داد از ۹۰ نمونه شیر خام، ۷۹ نمونه (۸۷/۷۷درصد) بـه آفلاتوکـسین M_1 آلوده بوده، کـه غلظـت آفلاتوکـسین M_1 در ۳۵ نمونـه (٤٤/۳ درصد) بیش از ۵۰ نانوگرم در لیتر بوده است(٦).

از ۱٦۱ نمونه شیر آزمـایش شـده در ایتالیـا ۱۲۵ نمونـه (۷۸ درصد) بین کمتر از ۱ تا ۲۳/۵ نانوگرم در لیتـر (متوسـط ٦/۲۸ نانوگرم در لیتر) به آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده‌اند(۱۲).

در آرژانتین از کل ۷۷ نمونه، انواع شیر تنها ۱۸ نمونه (تقریبـاً ۲۳ درصد) به آفلاتوکسین M_1 آلوده بود(۱٦).

طـی مطالعـه‌ای جهـت سـنجش آفلاتوکـسین M_1 در شـیر حیوانات اهلی در ژاپن از ۲۸ نمونه شیر مـورد مطالعـه در ۲۰۷ نمونه (۹۹/۵ درصد) آفلاتوکسین M_1 ردیابی شده کـه غلظـت آن از ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۲۹ بـا میـانگین ۰/۰۰۹ میکروگـرم در لیتـر گزارش شده است(۱۸).

۳٤ نمونه (۷۱/٤ درصد) شیر از ٤۹ نمونه شـیر مطالعـه شـده در آفریقای شمالی حاوی ۰/۰۳تـا ۳/۱۲ نـانوگرم در میلـی‌لیتـر آفلاتوکسین بوده است(۱۰).

سنجش آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌هـای شـیر خـام در آلمـان بیانگر آلودگی ٤ نمونه شیر آزمایش شده می‌باشد(۱۱).

از ٤۷ نمونه شیر استریلیزه شده مورد مطالعه جهـت بررسـی حضور آفلاتوکسین M_1 در شمال غربی اسپانیا ۱٤ نمونه (۲۹/۸ است(۸).

بررسـی حـضور و سـنجش آفلاتوکـسین M_1 در شـیر گـاو مصرفی در برزیل حاکی از آلودگی تنهـا ۱ نمونـه شـیر از ۱۰۰ نمونه شیر مورد مطالعه می‌باشد(۲۱).

آلودگی شیر خام به آفلاتوکـسین M_1 درکـشور پرتقـال ۸۰/٦ درصد گـزارش شـده کـه سـطح آلـودگی در ۱۷ نمونـه (٥٤/۸ درصد) پایین‌تـر ازحـدقابل قبـول($\mu g/l$ ۰/۰۱۰-۰/۰۰۵)، دو نمونه (٦/۵ درصد) بـالاتر از حـد مـورد قبـول($\mu g/l$ ۰/۰۲-۰/۰۱۱) بوده است(۱۷).

از نتایج به دست آمده از آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در ایران و سایر کشورها چنین استنباط می‌شود که سطوح آلـودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در ایران و بعضی از کشورها خـصوصاً کشورهای آسیایی بالاست.

همانطور که نتایج جداول ۱ و ۲ نـشان مـی‌دهـد بـا افـزایش تعداد کل دام و تعداد راس گاو شیری در گله‌های مورد مطالعه میزان آفلاتوکسین شیر افزایش یافته است و این اختلاف از نظر آماری معنادار بوده است. از مطالعات مشابهی که در سال ۱۳۷۲ در تهران انجام شده چنین برمی‌آید که ظاهراً با افـزایش تعـداد راس دام شیری در گله‌ها، میزان آلودگی شیرها به آفلاتوکـسین M_1 افزایش یافته است هر چند که این اختلاف معنی دار نبوده است. البته تصور مـی‌شـود اگـر از آزمـون ضـریب همبـستگی استفاده می‌شد، اختلاف معنی‌داری به دست می‌آمد.

طبق بررسی دیگر در مطالعـه حاضـر رابطـه میـانگین میـزان تولید شیر (بر حسب کیلـوگرم) و میـزان آفلاتوکـسین M_1 در شیر مورد آزمون قرار گرفت. و بر اساس یافتـه‌هـای جـدول ۳ آزمون ضریب همبستگی نشان داد رابطه معناداری بـین ایـن دو متغیر وجود دارد و بـا افـزایش میـزان تولیـد شـیر روزانـه بـار آلودگی به آفلاتوکسین M_1 افزایش یافته اسـت. در حـالی کـه مطالعه مشابه انجام شده در تهران حاکی از آن است کـه میـزان آلودگی در دامداریهایی که تولید شـیر آنهـا کمتـر بـوده بـالاتر می‌باشد هر چند که از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نبوده است.

گزارش‌های موجود نشان می‌دهد که اگر بخـواهیم شـیرهایی با آلودگی کمتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر آفلاتوکسین داشته باشـیم باید روی جیره غذایی مورد مصرف دام‌ها دقت زیاد نماییم کـه مقدار آلودگی به آفلاتوکسین‌های G,B بیش از ۳-۲ میکروگرم در هر کیلوگرم نباشد. بـا بـزرگ‌شـدن گلـه‌هـا حفـظ سـلامتی خوراک دام سخت‌تر خواهد شد، لذا از دلایل عمده بـالا رفـتن میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر همزمان با افـزایش تعـداد راس

Archive of SID
www.SID.ir

دام در گله حاکی از ضعف مدیریت در گله‌های بزرگ خواهد بود.

ثابت شده که منشاء آفلاتوکسین M_1 در شیر آلودگی اجزاء غذایی حیوانات شیرده به آفلاتوکسین B_1 می‌باشد که در بدن حیوان هیدروکسید شده و از طریق شیر و ادرار دفع می‌شود. با توجه به اثرات سمی و سرطانزایی این سم پاکسازی و حذف سم از شیر و فرآورده‌های آن از ضروریات است. در حال حاضر به علت مشکلات زیاد در ارتباط با سم‌زدایی در شیر پیشنهاد می‌گردد که فراهم آوردن یک جیره سالم و عاری از آلودگی قارچی به ویژه در فصول سرد سال بهترین راه پیشگیری است. هر چند که تحقیق در مورد روش‌های سالم‌سازی غذایی حیوان از نظر رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین یا حذف سم از ضروریات برنامه‌های پژوهشی محسوب می‌گردد. یکی از پیشنهادات مناسب که می‌تواند ما را در جهت مبارزه با این سم قارچی و در نتیجه ارتقاء سطح کیفی و بهداشتی شیر و فرآورده‌های آن یاری دهد، تلاش در جهت هماهنگ کردن مقررات مربوط به حدود مجاز آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی مورد مصرف دام و انسان و برنامه‌های مراقبتی بصورت منظم و مداوم در جهت رعایت مقررات مربوط به حدود مجاز آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی موردمصرف انسان و دام می‌باشد.

٦-منابع

[1] Allame, A. A., Razzahgi Abyaneh, M. 2001. Mycotoxines. Publication of Emam Hossain University. Vol. 1. P. 1-670.

[2] Kamkar, A. and Karim, G., 1999. Effect of sodium bisulfite on M1 aphlatoxine of milk. Journal of Research and Constructivness 44: 112-116.

[3] Karim, G., parvaneh, V. and Kordi, H., 1982. Study of milk contamination to aphlatoxine in Region Tehran. Iranain Journal of Hygiene No. 1-3.

[4] Karim, G., Bakani, S. and Khorasani, A., 1999. Study milk contamination amount delivered to Tehran Dairy Companies to M1 aphlatoxine using ELISA method. Journal of Research and Constructivness. No. 40, 41, 42: 163-165.

[5] Mortazavi, A. and Tabatabaie, F., 1997. Fungal Toxines, Publication of Mashhad Ferdowsi University, Vol. 1: 1-206.

[6] Bakirci, I., 2001, A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and milk products producted in Van province of Turkey. Food Control, 12, 47-51.

[7] Begino, E. T., 1998, Aflatoxin detection in milk in the Philippines. Poster presented at the 4th APFAN Conference, November 1998, Chiang Mai, Thailand. Data from the Bureau of Animal Industry, Department of Agriculture, Philippines.

[8] Blanco, J. L., Dominguezs, L., Gomez-Lucia, E., Garayzable, J. F. F., Garcia, J. A. and Suarez, G., 1988, Presence of aflatoxin M_1 in commericial Ultra-Hight Temperature treated milk. Applied Enuiron mental Microbiology, 56, 1622-1623.

[9] Boriboon, U. and Suprasert, D., 1994, Determination of aflatoxin M_1 and M_2 in milk and milk products. Ministry of Public Health Journal (Thailand), 13, 108-114.

[10] Elgerbi, A. M., Aidoo, K. E., Candish ,A. A. and Tester, R. F., 2004, Occurrence of aflatoxin M_1 in randomly selected North African milk and cheese samples, Food Additive Contamination, 21(61):592-597.

[11] Fritz, W., Oonath, R. and Engst, R., 1977, Determination and occurrence of aflatoxin M_1 and B_1 in milk and dairy products, Nahrung, 21(1):79-84.

[12] Galvano, F., Glofaro, V., Ritieni, A.,Bognanno, M., De Angelis, A. and Galvan, G., 2001, Survey of the occurrence of aflatoxin M_1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. Food Additive and Contaminants, 18(7): 644-646.

[13] Kamkar, A., 2005, A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in raw milk producted in sarab city of Iran, Food Control, 16:593-599.

[14] Kim, E. K., Shon, D. H., Ryu, D., Park, J. W., Hwang, H. J. and Kim, Y. B., 2000, Occurrence of aflatoxin M_1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. Food Additive and Contaminants, 17(1): 59-64.

[15] Letutour, B., Elaruki, A. and Ihlal, L., 1983, Simultaneous detection of aflatoxin B_1 and ochratoxin A in olive oil. Journal of the America, oil chemistry society. 60(4): 835-537.

[16] Lopez, C. E., Ramos, L. L., Romadan, S. S. and Bulacio, L. C., 2003, Presence of aflatoxin M_1 in milk for human consumption in Argrntina. Food Control, 14(1): 13-34.

Archive of SID

www.SID.ir

[17] Martins, M. L. and Martins , H. M., 2000, Aflatoxin M_1 in raw and Ultra High Temperature-treated milk commercialized in Portugal. Food Additive and Contaminants, 17(10): 871-874.

[18] Nakajima, M., Tabata, S., Akiyama, H., Itoh, Y., Tanka, T., Sunagawa, H., Tyonan, T., Yoshizawa, T. and Kumagai, S., 2004, Occurece of aflatoxin M_1 in domestic milk in Japan during the winter season, Food Additive Contamination, 21(5): 472-478.

[19] Rastogi, Sh., Premendra, D. D., Subhash, K. K. and Das, M., 2004, Detection of aflatoxin M_1 contamination in milk and infant milk products from Index markets by ELISA, Food Control; 15: 287-290.

[20] Rodrigvez Velasco, M. L., Calongo Delso, M. M. and Ordonez Escudero, 2003, ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M_1 in raw cow's milk, Food Additive Contamination, 20(3):276-280.

[21] Sabino, M., Purchio, A. and Zorezetto, M. A., 1989, Variations in the levels of aflatoxin in cows milk consumed in the city of Sao Paulo, Brazil, Food Additive Contamination, 6(3):321-326.

[22] Saitanu, K., 1997, Incidence of aflatoxin M_1 in Thai milk products. Journal of Food Protection, 60, 1010-1012.

[23] Shibatu, TM. M., Souzacunha, M., Del, R. and Hirooka, E. Y., 1995, Risk of aflatoxin production is soybean. Semina, 16(1): 168-177.

[24] Whiaker, I., Horwitz, w., Albert, R. and wesheim, s., 1996, Variability associated with analitycal methods used to measure aflatoxin in agricultured commodities. Journal of AOAC International, 79(2): 476-485.

Archive of SID

www.SID.ir