تاثیر عملیات حرارتی سرخ کردن عمیق بر باقیمانده تایلوزین در گوشت

علی حشمتی[۱]، ابوالفضل کامکار[۲*]، جمیله سالار آملی[۳]، ، جلال حسن[۴]، غلامرضا جاهد[۵]

۱- استادیار گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی همدان

۲- دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

۳- دانشیار مرکز تحقیقات سم شناسی و مسمومیت های دامی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

۴- استادیار مرکز تحقیقات سم شناسی و مسمومیت های دامی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

۵- دانشیار بخش بهداشت و ایمنی مواد غذایی، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

(تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۸)

چکیده

بیشتر اطلاعاتی که در زمینه باقیمانده های آنتی بیوتیکی در مواد غذایی وجود دارد مربوط به مواد خام است. چون مواد غذایی قبل از مصرف پخته می شوند بنابراین لازم است تا اثر تیمار حرارتی بر باقیمانده ها بررسی شوند. هدف از این مطالعه تعیین تاثیر سرخ کردن عمیق بر باقیمانده تایلوزین در گوشت است. به نمونه های ۲۰ گرمی گوشت چرخ شده، تایلوزین در سه سطح ۴، ۸ و ۱۶ میکروگرم اضافه و به مدت ۳ ، ۵ و ۷ دقیقه در دمای ۱۸۰Ċ سرخ شدند. مقدار تایلوزین قبل و بعد از پخت با روش HPLC اندازه گیری شد و مقدار درصد کاهش آن محاسبه گردید دمای مرکز نمونه ها و مقدار کاهش وزن آنها بعد از سرخ کردن تعیین شد. در همه تیمار ها مقدار تایلوزین نمونه پخته بطور معنی داری کمتر از نمونه خام بود ($p < ۰/۰۵$). مقدار درصد کاهش تایلوزین با زمان سرخ کردن، مقدار کاهش وزن و دمای مرکز همبستگی مثبت و معنی دار داشت. با افزایش زمان سرخ کردن، مقدار کاهش وزن، دمای مرکز و مقدار درصد کاهش تایلوزین بیشتر شد. اگرچه سرخ کردن منجر به کاهش باقیمانده تایلوزین در گوشت می شود اما در هر صورت روش مطمئنی برای این منظور بحساب نمی آید و لازم است با مصرف درست در دام ها و رعایت زمان بازداری مقدار باقیمانده آن را در گوشت کاهش داد.

کلید واژگان: تایلوزین، باقیمانده دارویی، آنتی بیوتیک، HPLC ، سرخ کردن

* مسئول مکاتبات: akamkar@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

روز به روز جمعیت انسان ها افزایش می یابد. یکی از نیازهای مهم تغذیه ای این جمعیت ، مواد پروتئینی به ویژه شیر ، انواع گوشت و تخم پرندگان است. سالم بودن این مواد اهمیت بالایی داشته و به مفهوم تأمین سلامت انسان هاست. استفاده از داروها در دام ها امری اجتناب ناپذیراست. یکی از آثار جانبی آنها باقی ماندن در مواد غذایی بدلیل استفاده بیش از حد مجاز دارو یا عدم رعایت زمان بازداری دارو است. لذا یکی از نگرانی های حائز اهمیت درخصوص مصرف مواد غذایی با منشا دامی بویژه گوشت مرغ وجود باقیمانده های داروی در آن می باشد. در میان باقیمانده های دارویی، باقیمانده آنتی بیوتیک ها بعلت کثرت و وسعت مصرف بیشتر مورد توجه می باشد[۱ و ۲] و بدلایل ایجاد واکنش‌های آلرژیک (حساسیت)، افزایش مقاومت میکروبی و تخریب فلور میکروبی طبیعی روده از نقطه نظر سلامتی نگران کننده می باشند[۳ و ۴] لذا سازمان های مرتبط برای حفظ سلامتی مصرف کننده بیشینه حد مجاز باقیمانده[1] را در فرآورده های مختلف منجمله گوشت تعیین نموده اند. اغلب اطلاعات درباره باقیمانده های داروی مربوط به مواد خام می باشد و مقدار MRL برای این فرآورده ها تعیین شده است در حالیکه گوشت و سایر محصولات دامی قبل از مصرف در معرض تیمارهای مختلف از جمله تیمار های حرارتی قرار می گیرند. این تیمارهای حرارتی می توانند روی باقیمانده دارو تاثیر بگذارند و مقدار آن را در مواد غذایی تغییر دهند[۵] لذا تنها با اندازه گیری باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد خام نمی توان میزان مواجهه[2] انسان با این ترکیبات را محاسبه نمود [۶]. کدکس الیمنتاریوس نیز در این زمینه تاکید داشته که پژوهش های کافی در خصوص تاثیر فرآوری مواد غذایی بر روی باقیمانده دارویی انجام نشده است و به مطالعه های بیشتری در این زمینه نیاز است[۷]. با این توضیحات در صورتی که مشخص گردد بخشی از آنتی بیوتیک ها طی فرآوری مواد غذایی بویژه موقعی که در معرض تیمارهای حرارتی قرار می گیرد تخریب می گردند می توان گفت مقدار MRL برای باقیمانده آنتی بیوتیک تغییر می کند. بنابراین آگاهی از این موضوع اهمیت زیادی دارد چرا که می تواند منجر به تغییر در قوانین بین المللی باقیمانده آنتی بیوتیک گردد و حد مجاز آنها را در مواد غذایی تغییر دهد.

تحقیقات متعدی در خصوص اثرات پخت بر بقایای آنتی بیوتیک های پنی سیلین G [۸ و ۹]،تتراسیکین ها [۱۰-۱۲]، استرپتومایسین [۱۳ و ۱۴]، نئومایسین [۱۵]، جنتامایسین [۱۶] و سولفانامید [۱۷] انجام شده است. در یک مطالعه اثر تیمارهای حرارتی بر آنتی بیوتیک های ماکرولیدی در شیر بررسی شده است.[۱۸]. تایلوزین ازجمله آنتی بیوتیک های ماکرولیدی است که به مقدار زیاد در دامپزشکی استفاده می شود. حد مجاز باقیمانده این دارو در اتحادیه اروپا ۱۰۰ g/kgμ در عضله ،کبد ، کلیه و چربی و ۵۰ g/kgμ در شیر است[۱۹]. سرویس بازرسی ایمنی مواد غذایی[3] ایالات متحده کنترل باقیمانده این آنتی بیوتیک ها در گوشت را جز برنامه های سالیانه خود قرار داده و نسبت به گزارش مواردی که مقدار آنتی بیوتیک بیش از بیشینه حد مجاز باقیمانده است اقدام می نماید[۲۰]. بنابراین از نظر مقامات بهداشتی موسسات بین المللی کنترل باقیمانده آنها در دنیا ضروری است. با توجه به اینکه یکی از روش های مرسوم پخت گوشت مرغ، سرخ کردن آن می باشد و تاکنون مطالعه خاصی در خصوص تاثیر این شیوه پخت بر باقیمانده تایلوزین انجام نشده است لذا هدف از این مطالعه بررسی تغییر بقایای این آنتی بیوتیک طی فرآیند سرخ کردن است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

استاندارد تایلوزین تارترات و کارتریج C18 از شرکت Sigma (آمریکا)، آمونیوم استات ، استیک اسید، سدیم هیدروکسید با درجه آنالیتیک[4] و استونیتریل و متانول با درجه LC از شرکت Merck (آلمان)خریداری شدند. روغن سرخ کردنی از شرکت بهار(ایران) تهیه شد.

1. Maximum residue limit
2. Exposure
3. Food safety inspection service
4. Analytical grade

Archive of SID
www.SID.ir

۲-۲- تجهیزات

تجهیزات مورد استفاده عبارت است از : دستگاه HPLC ساخت شرکت Waters (آمریکا) مدل ۲۶۹۵ با آشکارساز فوتودیو آرای ، دماسنج دیجیتالی ساخت شرکت GmbH (آلمان) مدل TFA-301040، ترازو دیجیتالی ساخت شرکت Sartorius (آلمان) مدلBL2108 ، سرخ کن دیجیتالی ساخت شرکت جنرال (آمریکا)، همزن الکتریکی ساخت شرکت Gerhardt (آلمان)، سانتریفوز ساخت شرکت یونیورسال (آلمان) مدل 320R.

۲-۳- روش ها

۲-۳-۱-منحنی درجه بندی

محلول مادر تایلوزین (۱۰۰۰ پی پی ام) با حل کردن تایلوزین تارترات در آب تهیه شد. محلول کاری با مقدار ۱۰۰ پی پی ام از محلول مادر تایلوزین در آب تهیه شد. محلول استاندارد با مقدار ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ پی پی ام از محلول کاری تهیه شد و پس از تزریق به HPLC نسبت به رسم منحنی درجه بندی اقدام شد. هر کدام از استانداردها سه بار تزریق شدند.

۲-۳-۲-بازیابی[5] تایلوزین

برای بررسی بازیابی روش تجزیه، تایلوزین به مقادیر ۲۰۰ ، ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی بی به ۲۰ گرم گوشت اضافه شد و پس از همزدن و استخراج مقدار آن اندازه گیری شد. با تقسیم مقدار اندازه گیری شده به مقدار اضافه شده و ضرب در صد مقدار درصد بازیابی تعیین شد.

۲-۳-۳- استخراج تایلوزین از گوشت

جهت استخراج تایلوزین از بافت گوشت از روش استخراج مایع – مایع تسهیل شده با نمک استفاده شد. بدین منظور به ۲ گرم از نمونه گوشت ۰/۵ میلی لیتر بافر آمونیوم استات(۱۰ میلی مولار) و ۴ میلی لیتر استونیتریل اضافه شد. نمونه بمدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی همزده شد. سپس سانتریفوژ (۵۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۵ دقیقه) و فاز روئی جدا و به آن ۰/۵ گرم کلرید سدیم اضافه شد. پس از مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد و اجازه داده شد تا دو فاز گردد. از فاز روئی ۵۰۰ میکرولیتر در داخل ظرف ریخته شد و ۵۰۰ میکرولیتر بافر آمونیوم استات (۱۰ میلی مولار) به آن اضافه شد و نمونه به HPLC تزریق شد.

۲-۳-۴-روش تجزیه تایلوزین

تایلوزین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) با ستون C18 (با طول ۱۵۰ میلی متر و قطر داخلی ۳/۹ میلی متر و اندازه ذرات ۴ میکرومتر) و آشکارساز فوتودیو آرای[6] اندازه گیری شد. روش تجزیه بصورت حلال ثابت با فاز متحرک الف: استونیتریل و ب : استات آمونیوم (۱۰ میلی مولار) و ۱٪ تری فلورو استیک اسید با نسبت ۳۰ (فاز الف)به ۷۰ (فاز ب) با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه انجام گردید. حجم تزریق نمونه ۲۰ میکرولیتر بود. تایلوزین در طول موج ۲۸۹ نانومتر اندازه گیری شد.

محاسبه LOD و LOQ : برای محاسبه حدتشخیص[7] و حد تعیین مقدار کمی[8] ابتدا سه بار نمونه شاهد به HPLC تزریق شد و سطح نوفه[9] در محل پیک تایلوزین اندازه گیری شده و انحرف معیار این سه بار تعیین گردید. با فرمول زیر LOD و LOQ محاسبه شدند.

$$LOD = \frac{\text{انحراف معیار شاهد} \times 3}{\text{شیب منحنی درجه بندی}}$$

۲-۳-۵- آماده سازی نمونه گوشت

گوشت مرغ تازه از سطح عرضه شهر تهران تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه مرکز تحقیقات سم شناسی و مسمومیت‌های دامی دانشگاه تهران، ران مرغ جدا و گوشت آن از استخوان تفکیک شد و کاملا با چرخ گوشت همگن و تا زمان تیمار حرارتی در فریزر ۲۰- Ċ نگهداری شد. لازم بذکر است ابتدا گوشت چرخ شده از نظر باقیمانده تایلوزین مورد بررسی قرار گرفت و مقدار این آنتی بیوتیک در آن اندازه گیری شد. ولی مقدار تایلوزین آن کمتر از LOD روش اندازه گیری بود لذا مقدار تایلوزین گوشت خام صفر در نظر گرفته شد. در زمان تیمارهای حرارتی گوشت از

5. Recovery

6. Photodiode array detector
7. limit of detection
8. Limit of quantification
9. Noise area

Archive of SID

www.SID.ir

فریزر خارج و پس از قرار دادن آن در یخچال اجازه داده شد تا کاملا دیفراست گردد. پس از یکنواخت کردن، نمونه های به وزن ۲۰ گرم توزین و آنتی بیوتیک تایلوزین تارترات در سه مقدار ۴ ، ۸ و ۱۶ میکروگرم به آن اضافه شد (spiked) و کاملا بهم زده شد تا آنتی بیوتیک بطور یکنواخت در نمونه پخش شود. نمونه به شکل کاملا گرد و کروی در آمد و تحت تیمارهای حرارتی قرار گرفت

۲-۳-۶- سرخ کردن

نمونه های آماده شده به روش عمیق سرخ[10] گردیدند. ابتدا حدود ۱۰۰ گرم روغن در داخل سرخ کن ریخته شد سپس تا دمای ^{o}C ۱۸۰ گرم شد و بعد از آن نمونه در داخل توری مخصوص قرار گرفته و درون روغن فرو برده شد. نمونه ها بمدت ۳، ۵ و ۷ دقیقه سرخ شدند.

۲-۳-۷-محاسبه مقدار درصد کاهش تایلوزین

برای بررسی تاثیر تیمارهای حرارتی بر تایلوزین مقدار آن قبل و بعد از تیمار حرارتی اندازه- گیری شد و با فرمول زیر مقدار کاهش محاسبه شد:

$$\text{درصد کاهش تایلوزین} = \frac{\text{مقدار تایلوزین نمونه خام(نانوگرم)} - \text{مقدار تایلوزین نمونه پخته(نانوگرم)}}{\text{مقدار تایلوزین نمونه خام(نانوگرم)}} \times 100$$

۲-۳-۸- اندازه گیری دما و وزن

دمای درونی (مرکز) نمونه های گوشت در پایان زمان سرخ کردن اندازه گیری و ثبت شد و وزن هر نمونه قبل و بعد از پخت با ترازو تعیین شد. مقدار درصد کاهش وزن با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{مقدار درصد کاهش وزن} = \frac{\text{وزن نمونه قبل از سرخ کردن(گرم)} - \text{وزن نمونه بعد از سرخ کردن(گرم)}}{\text{وزن نمونه قبل از سرخ کردن(گرم)}} \times 100$$

۲-۳-۹-تجزیه و تحلیل آماری

کلیه تیمارهای حرارتی سه بار تکرار گردیدند. برای انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS version 16.0 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده ها بررسی شد سپس در صورتی که داده ها نرمال بودند در هر کدام از تیمارها برای بررسی تفاوت بین مقدار تایلوزین نمونه گوشت خام و پخته از آزمون تی تست جفت شده[11] استفاده شد. برای بررسی تفاوت بین مقدار درصد کاهش تایلوزین در نمونه های که مقدار اولیه تایلوزین در آنها متفاوت بود ولی تحت زمان یکسان پخته شدند و همچنین در نمونه های که مقدار اولیه تایلوزین در آنها یکسان بود ولی تحت زمان های مختلف سرخ شدند روش تجزیه واریانس یک طرفه[12] بکار گرفته شد. و برای مقایسه دو به دو گروه ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. برای بررسی اثر متقابل زمان های مختلف سرخ کردن و مقادیر متفاوت اولیه تایلوزین بر مقدار درصد کاهش آن از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد. جهت تعیین ارتباط بین مقدار درصد کاهش تایلوزین پس از سرخ کردن با زمان سرخ کردن، مقدار درصد کاهش وزن و مقدار اولیه تایلوزین (مقدار تایلوزین در نمونه خام) ضریب همبستگی پیرسون[13] برای آنها محاسبه شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اعتبار روش[14]

شکل ۱ کروماتوگرام تایلوزین در نمونه استاندارد و گوشت را نشان می دهد زمان بازداری[15] تایلوزین حدود ۷/۴ دقیقه و منحنی درجه بندی تایلوزین در محدوده غلظت ۰/۱ پی پی ام تا ۱ پی پی ام خطی بود. معادله و ضریب رگرسیون این خط عبارت بود از:

$$y = ۱۵۶۸۸x - ۱۱۵ \qquad R^2 = ۰/۹۹۷$$

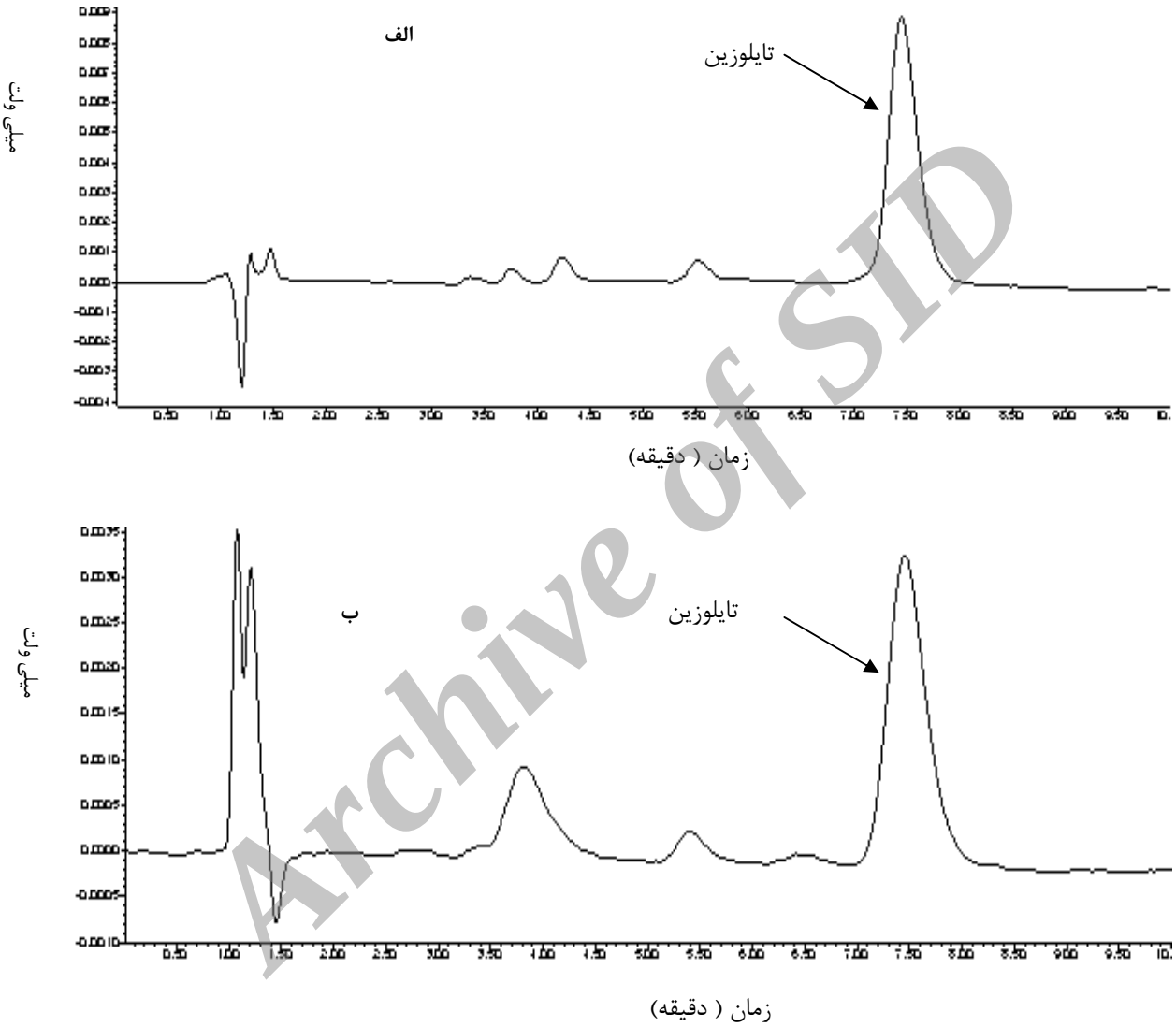
۳-۲- LOD و LOQ روش تجزیه بکار رفته به ترتیب ۱۵ و ۴۹ پی پی بی بود که با توجه به اینکه بیشینه حد مجاز باقیمانده تایلوزین در گوشت ۱۰۰ پی پی بی است لذا روش تجزیه بکار

10. Deep-frying

11. Paired T- test
12. One way ANOVA
13. Pearson correlation coefficient
14. Method validation
15. Retention time

Archive of SID
www.SID.ir

رفته در این تحقیق قادر به تعیین کمی تایلوزین در کمتر از نصف MRL است. مقدار بازیابی تایلوزین از گوشت در مقادیر ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ پی پی بی به ترتیب ۹۴/۹٪ ، ۹۴/۳ و ۹۸/۱٪ (بطور متوسط ۹۵/۷۸٪) بود. بنابراین با توجه موارد مذکور روش تجزیه و استخراج برای ادامه کار معتبر است.



شکل ۱ کروماتوگرام الف: استاندارد تایلوزین($\mu g\ ml^{-1}$ ۱) ب: تایلوزین اضافه و بازیابی شده از گوشت($\mu g\ kg^{-1}$ ۴۰۰)
شرایط جداسازی : ستون C18 (با طول ۱۵۰ میلی متر و قطر داخلی ۳/۹ میلی متر و اندازه ذرات ۴ میکرومتر) و آشکارساز فوتودیو آرای با روش آنالیز بصورت حلال ثابت با فاز متحرک الف: استونیتریل و ب : استات آمونیوم (۱۰ میلی مولار) و ۱٪ تری فلورو استیک اسید با نسبت ۳۰ (فاز الف) به ۷۰ (فاز ب) با سرعت جریان ۱ میلی لیتر و حجم تزریق نمونه ۲۰ میکرولیتر

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۳- تغییرات دما و وزن نمونه

پس از سرخ کردن وزن نمونه ها کاهش یافت. مقدار کاهش وزن بین ۳۹/۰٪ تا ۵۴/۰٪ متغیر بود. در تیمارهای مختلف مقدار دما مرکز متفاوت و در کل تغییرات دما در محدوده ^{o}C ۹۰/۴ تا ^{o}C ۹۷/۸ قرار داشت. بطور کلی با افزایش زمان سرخ کردن هم مقدار درصد کاهش وزن و هم دمای مرکز نمونه ها افزایش یافت (جدول ۱).

۳-۴- تغییرات مقدار تایلوزین

در تمامی تیمارها، مقدار تایلوزین نمونه سرخ شده بطور معنی داری ($p < ۰/۰۵$) کمتر از نمونه خام بود (جدول ۱). درصد کاهش تایلوزین پس از سرخ کردن در نمونه های گوشت که مقدار اولیه تایلوزین در آنها ۴ ، ۸ و ۱۶ میکرگرم بوده و طی مدت ۳ ، ۵ و ۷ دقیقه سرخ شدند در جدول ۲ نشان داده شده است. بین مقدار درصد کاهش تایلوزین نمونه های که بمدت ۳ دقیقه یا ۵ دقیقه سرخ شدند اختلاف معنی داری وجود دارد اما این مقادیر در بین نمونه های که بمدت ۷ دقیقه سرخ شدند با هم اختلاف معنی دار نداشتند. بین مقدار درصد کاهش تایلوزین در نمونه های که مقدار اولیه تایلوزین آنها ۴ ، ۸ و ۱۶ میکروگرم بوده و طی مدت ۳، ۵ و ۷ دقیقه سرخ شدند اختلاف معنی دار مشاهد شد. بطور کلی با افزایش زمان سرخ کردن مقدار درصد کاهش تایلوزین بیشتر شد. بیشترین درصد کاهش تایلوزین (۶۲/۹٪) در نمونه ای بود که مقدار اولیه تایلوزین آن ۸ میکروگرم بی بوده و بمدت ۷ دقیقه سرخ شد. مقدار کاهش تایلوزین هم به زمان سرخ کردن و هم مقدار اولیه تایلوزین بستگی دارد. آزمون ANOVA دو طرفه نیز نشان داد که اثر متقابل زمان سرخ کرن و مقدار اولیه تایلوزین نمونه بر مقدار کاهش تایلوزین طی سرخ کردن تاثیر معنی دار است.

مقدار ضریب همبستگی بین زمان سرخ کردن و درصد کاهش تایلوزین و همچنین بین درصد کاهش وزن نمونه و درصد کاهش تایلوزین در سطح اطمینان۱٪ معنی دار و حدود ۰/۹ است. اگرچه مقدار اولیه تایلوزین در نمونه خام بر مقدار کاهش آن طی سرخ کردن تاثیر می گذارد اما مقدار ضریب همبستگی بین این دو غیر معنی دار و حدود ۰/۳- است. پس از سرخ کردن درصد کاهش وزن نمونه و دمای مرکز آن با مقدار درصد کاهش تایلوزین همبستگی مثبت و معنی دار داشتند (جدول ۳)

تاکنون درباره اثرات پخت بر باقیمانده آنتی بیوتیک های ماکرولیدی در گوشت گزارشی دیده نشده است. در یک مطالعه اثر تیمارهای حرارتی بر آنتی بیوتیک های ماکرولید از جمله اریترومایسین ، اسپیرمایسین و تایلوزین در شیر بررسی شده است. این آنتی بیوتیک ها در مقادیر مختلف به شیر اضافه شدند و نمونه در معرض سه نوع تیمارحرارتی یعنی ^{o}C۶۰ بمدت ۳۰ دقیقه ، ^{o}C ۱۲۰ بمدت ۲۰ دقیقه و ^{o}C ۱۴۰ بمدت۱۰ ثانیه قرارگرفتند. برای ارزیابی کاهش فعالیت آنتی بیوتیک ها از روش ممانعت رشد میکروکوکووس لوتئوس[16] استفاده شد. تیمار حرارتی ^{o}C ۱۲۰ بمدت ۲۰ دقیقه (تقلید کننده استریلیزاسیون سنتی) منجر به افت قابل توجه فعالیت ضد میکروبی اریترومایسین (۹۳٪) ، اسپیرمایسین (۵۱٪) و تایلوزین (۵۱٪) شد. در حالیکه تیمارحرارتی ^{o}C ۱۴۰ بمدت۱۰ ثانیه(تقلیدکننده استریلیزسیون به روش UHT) تاثیر کمتری داشت و فعالیت ضد میکروبی اریترومایسین ۳۰٪ ، اسپیرمایسین ۳۵٪ و تایلوزین ۱۲٪ کاهش یافت. کمترین کاهش فعالیت ضدمیکروبی (۲۱٪ اریترومایسین و ۱۳٪ اسپیرمایسین) طی تیمار حرارتی ^{o}C۶۰ بمدت ۳۰ دقیقه (تقلید کننده پاستوریزاسیون با دمای کم) حاصل گردید [۱۸].

اگرچه در خصوص تاثیر سرخ کردن بر باقیمانده تایلوزین در گوشت مطالعه گزارش شده وجود ندارد اما اثر سرخ کردن بر باقیمانده آنتی بیوتیک ها و سایر داروهای دامی در گوشت مطالعه شده است لذا تا حدی می توان از این تحقیقات برای تحلیل یافته های مطالعه استفاده کرد. نتایج این مطالعه نشان داد که مقدار کاهش تایلوزین در طی سرخ کردن گوشت تابع عواملی نظیر مدت زمان سرخ کردن، کاهش وزن ، دمای مرکز و مقدار اولیه تایلوزین می باشد و بین زمان سرخ کردن و مقدار درصد کاهش تایلوزین همبستگی مثبت وجود دارد. این نتیجه با یافته های Ibrahim در خصوص تاثیر سرخ کردن بر باقیمانده اگسی تتراسیکلین در گوشت بره مطابقت دارد.

16. *Micrococcus luteus*

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱ یافته های مطالعه شامل مقدار تایلوزین، دما ی مرکز و مقدار درصد کاهش وزن نمونه های سرخ شده

	زمان سرخ کردن (دقیقه)								
	۳			۵			۷		
مقدار تایلوزین نمونه خام (میکروگرم)	۴	۸	۱۶	۴	۸	۱۶	۴	۸	۱۶
مقدار تایلوزین نمونه سرخ شده (میکروگرم)	۲/۴±۰/۱	۴/۴±۰/۲	۹/۹±۰/۶	۱/۸±۰/۰	۳/۹±۰/۶	۸/۹±۰/۳	۱/۵±۰/۲	۳/۲±۰/۱	۶/۷±۰/۲
دما مرکز نمونه (Ċ)	۹۰/۴±۰/۸	۹۰/۵±۰/۶	۹۰/۵±۰/۸	۹۶/۱±۰/۶	۹۶/۲±۰/۴	۹۶/۴±۰/۳	۹۷/۷±۰/۴	۹۷/۸±۰/۶	۹۷/۷±۰/۴
درصد کاهش وزن*	۴۵/۴±۱/۴	۳۹/۰±۱/۸	۴۰/۹±۱/۰	۴۹/۶±۱/۲	۴۸/۶±۰/۹	۴۷/۹±۱/۵	۵۴/۰±۲/۷	۵۳/۱±۱/۷	۵۱/۴±۰/۴

*وزن کلیه نمونه ها قبل از سرخ کردن ۲۰ گرم بود.

جدول ۲ مقدار درصد کاهش تایلوزین در گوشت پس از سرخ کردن

مقدار درصد کاهش (میانگین ± انحراف معیار)				
مقدار تایلوزین در نمونه* قبل از سرخ کردن (پی پی بی)				زمان سرخ کردن(دقیقه)
میانگین	۸۰۰	۴۰۰	۲۰۰	
$۴۰/۷±۴/۳^{c}$	$۳۸/۳±۳/۵^{Ac}$	$۴۵/۳±۲/۸^{Ab}$	$۳۸/۵±۲/۴^{Ac}$	۳
$۵۰/۱±۴/۷^{b}$	$۴۴/۶±۱/۷^{Bb}$	$۵۱/۶±۳/۲^{Ab}$	$۵۴/۳±۱/۱^{Ab}$	۵
$۶۰/۴±۳/۲^{a}$	$۵۸/۲±۱/۴^{Aa}$	$۶۰/۱±۱/۲^{Aa}$	$۶۲/۹±۴/۶^{Aa}$	۷
$۵۰/۴±۹/۱$	$۴۷/۱±۹/۱^{B}$	$۵۲/۵±۶/۸^{A}$	$۵۱/۹±۱۱/۱^{A}$	میانگین

^{A}حروف بالانویس بزرگ غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) بین اعداد یک سطر می باشند.

^{a}حروف بالانویس کوچک غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) بین اعداد یک ستون می باشند.

*وزن نمونه ۲۰ گرم

جدول ۳ ماتریکس ضریب همبستگی پیرسون بین متغیر مستقل و وابسته گوشت طی سرخ کردن

	مقدار درصد کاهش تایلوزین	زمان سرخ کردن	در صد افت وزنی	دمای مرکز نمونه	مقدار اولیه تایلوزین
مقدار درصد کاهش تایلوزین	۱	۰/۹۰	۰/۸۳	۰/۸۵	-۰/۲۵
زمان سرخ کردن	۰/۹۰	۱	۰/۹۰	۰/۹۴	۰
در صد افت وزنی	۰/۸۳	۰/۹۰	۱	۰/۹۰	-۰/۲۱
دمای مرکز نمونه	۰/۸۵	۰/۹۴	۰/۹۰	۱	۰/۰۱
مقدار اولیه تایلوزین	-۰/۲۵	۰	-۰/۲۱	۰/۰۱	۱

با افزایش زما سرخ کردن از ۲ دقیقه به ۸ دقیقه مقدار درصد کاهش اکسی تتراسیکلین بیشتر شد و از ۲/۷٪ به ۱۷/۳٪ افزایش پیدا کرد [۱۲]. Smail-Firty و همکاران در بررسی تاثیر دما و زمان های مختلف بر باقیمانده سولفونامیدها در Meat-ball به این نتیجه رسیدند که فاکتور زمان (۳، ۶ و ۹ دقیقه) تاثیر بیشتری نسبت به فاکتور دما (۱۷۰ Ċ، ۱۸۰Ċ و ۱۹۰Ċ) در کاهش سولفونامیدها دارد و مقدار کاهش سولفونامیدها بستگی به دمایی مزکز Meat-ball و کاهش وزن آن دارد. افزایش زمان و دمای

Archive of SID

www.SID.ir

سرخ کردن سبب شد مقدار درصد کاهش سولفونامیدها بیشتر شود. در مطالعه اخیر نیز مشخص شد افزایش زمان سرخ کردن منجر به افزایش مقدار درصد کاهش تایلوزین می گردد. در مطالعه اشاره شده پس از سرخ کردن بیشینه مقدار درصد کاهش سولفادیازین، سولفامتازین، سولفامتوکسازول و سولفاکینوکسازرول به ترتیب ۳۷/۵٪، ۲۷/۵٪، ۴۰/۷ و ۲۷/۶٪ بود که این مقادیر کمتر از بیشینه کاهش تایلوزین (۶۲/۹٪) است. [۲۱]. کاهش باقیمانده سایر داروها طی سرخ کردن گزارش شده است .Lolo و همکاران اثر روش ها مختلف پخت بر باقیمانده enrofloxacin مورد مطالعه قرار دادند سرخ کردن سبب کاهش باقیمانده enrofloxacin در گوشت قسمت های مختلف جوجه شد. در ران ، سینه و کبد به ترتیب ۶۶/۳۰-۱۳/۸۸، ۶۴/۹۲-۳۱/۵۸ و ۶۱/۵-۱۰/۳۰ کاهش مشاهده شد[۲۲]. سرخ کردن سبب کاهش باقیمانده dimetridazole و متابولیت آن به ترتیب به میزان ۲۶٪ و ۳۹٪ شد[۲۳] . مقدار Lasalocid پس از سرخ کردن گوشت ۴/۳٪ کاهش نشان داده است[۲۴]. با این حال همیشه سرخ کردن منجر به کاهش باقیمانده داروها نمی گردد. Shitandi و همکاران تاثیر سرخ کردن عمیق (۲۱۰Ċ بمدت ۱۵ دقیقه) بر باقیمانده furazolidone در کبد و گوشت جوجه بررسی کردند. آنها از روش ازریابی میکروبی Delvotest SP برای تعیین باقیمانده استفاده کردند. نتایج نشان داد سرخ کردن عمیق منجر به تخریب furazolidone نمی گردد[۲۵]. بعضی از تحقیقات اشاره دارند بر اینکه پس از سرخ کردن باقیمانده دارو افزایش پیدا می کند. پس از سرخ کردن گوشت جوجه ronidazole و متابولیت آن به ترتیب به میزان ۳۰٪ و ۲۷۵٪ افزایش نشان دادند علت افزایش به کم بودن مقادیر ترکیبات اندازه گیری شده، دقت روش تجزیه و غیر یکنواخت بودن ترکیب در نمونه نسبت داده شد[۲۳]. بنابراین می توان گفت تاثیر سرخ کردن بر باقیمانده داروها مختلف متفاوت می باشد. با توجه به اینکه داروی بکار رفته در این مطالعه تایلوزین تارترات است و از آنجائیکه این ترکیب در روغن نامحلول است لذا احتمال انتقال دارو از گوشت به روغن منتفی است به همین علت به نظر می رسد کاهش تایلوزین به احتمال زیاد ناشی از تجزیه آن طی سرخ کردن است. تایلوزین A در محیط اسیدی به تایلوزین B[۱۷] (دسمیکوزین) و محصولات شناسایی و در محیط قلیایی و خنثی به آلدول تالوزین A[۱۸] و برخی ترکیبات قطبی شناسایی نشده تجزیه می گردد. تایلوزین B مشابه تایلوزین A یک آنتی بیوتیک است بنابراین ممکن است عوارضی مانند باقیمانده سایر آنتی بیوتیک ها در مواد غذایی از جمله اثرات سو بر فلور میکروبی مصرف کننده و ایجاد مقاومت در برابر آنتی بیوتیک در بر داشته باشد[۲۹-۲۶]. هیچ اطلاعاتی در خصوص سمیت محصولات تجزیه ناشناخته تایلوزین گزارش نشده است.

۴- نتیجه گیری

از این تحقیق چنین می توان نتیجه گیری کرد که عوامل متعددی نظیر دمای مرکز، افت وزنی و مقدار اولیه تایلوزین نمونه گوشت و زمان سرخ کردن در کاهش تایلوزین طی فرآیند حرارتی سرخ کردن تاثیر دارند. با این حال اگرچه ممکن است باقیمانده تایلوزین در گوشت طی سرخ کردن کاهش یابد و با این روش پخت بتوان حاشیه سلامتی گوشت را افزایش داد اما در هر صورت این شیوه برای کاهش و حذف باقیمانده تایلوزین مناسب نیست. ضمن آنکه سرخ کردن دارای مضرات متعددی می باشد لذا لازم است با مصرف درست تایلوزین در دام ها و رعایت زمان بازداری مقدار باقیمانده آن را در گوشت کاهش داد. با توجه به اینکه یکی از موضوعات مهم محصولات حاصل از تجزیه تایلوزین بوده پیشنهاد می گردد در تحقیقات بعدی شناسایی این ترکیبات و ارزیابی اثرات سم شناسایی آنها مورد مطالعه قرار گیرد.

۵- تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت حمایت از این طرح بشماره ۷۵۰۷۰۰۹/۶/۱۸ و مرکز تحقیقات سم شناسی و مسمومیت‌های دامی دانشگاه تهران نهایت تقدیر و تشکر را دارد.

17. desmycosin

18. tylosin A aldol

Archive of SID
www.SID.ir

۷- منابع

[1] Myllyniemi, A.L. 2004. Development of microbiological methods for the detection and identification of antimicrobial residues in meat [Ph.D dissertation]. the Faculty of veterinary medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

[2] Kaneene, J. B., and Miller, R. 1997. Problems associated with drug residues in beef from feeds and therapy, Review of scientific technology offfice of international epizootics, 16(2), 694-708.

[3] Botsoglou, N.A., and Fletouris, D.J. 2001. Drug residues in foods ,pharmacology, ,food safety, and analysis. New York: Marcel Dekker, Inc; 251-266

[4] Hassan, A.N., and Frank, J.F. 2001. Starter cultures and their use. In: Marth EH, Steele JL, editors. applied dairy microbiology. second ed. New York: Marcel Dekker, Inc; 151-194.

[5] Moats, W.A. 1999.. Impact of processing on food Safety. New York: Kluwer Academic, 233–241.

[6]. Botsoglou N.A. and Fletouris D.J. 2001. Drug residues in foods ,pharmacology, ,food safety, and analysi. New York: Marcel Dekker, Inc, 515-540.

[7]. Codex Alimentarius Commission. Committee on residues of veterinary drugs in foods, document control of veterinary drug residues in milk and milk products CX/RVDF, 01/8. 2001. Joint food and agriculture organization of the united nations–world health organization food standards programme, Rome.

[8] Guay, R., Cardinal P., Bourassa C., and Brassard N. 1987. Decrease of penicillin G residue incidence in milk: A fact or an artefact? International Journal of Food Microbiology, 4(3), 187-196.

[9] Rose, M.D., Bygrave. J., Farrington, W.H.H., George, and Shearer, G.1997. The effect of cooking on veterinary drug residues in food. Part 8. Benzylpenicillin. Analyst, 122, 1095–1099.

[10] Du, W.X., Marshall, M.R., Xu, D.H., Santerre, C.R., and Wei, C.I. 1997. Retention of oxytetracycline residues in cooked channel catfish fillets, Journal of food science, 62(1), 119-122.

[11] Loksuwa, J. 2002. The effect of heating on multiple residues of tetracyclines in milk, Thammasat internatinal journal of science technology, 7(3), 17-21.

[12] Ibrahim, A. 1994. Effect of cooking procedures on oxytetracycline residues in lamb muscle. Journal of agricultural and food chemistry, 42, 2561-2563.

[13] Inglis, J.M., and Katz, S.E. 1978. Determination of streptomycin residues in eggs and stability of residues after cooking. Association of official analytical chemists, 61(5), 1098-1102.

[14] Katz, S.E., and Levine, P.R. (1978).Determination of neomycin residues in eggs and stability of residues after cooking. Journal - association of official analytical chemists 61(5), 1103-1106.

[15] Pilet, C., Toma, B., Muzet, J., and Renard, F.(1969). Investigation of the thermostability of several antibiotics. research Medicine Veterinary, 6, 227-234.

[16] Sireli, U.T., Filazi, A., and Cadirci, O. 2006. Effect of cooking and storage times on gentamicin residues in eggs. Italian journal of food science, 18(4), 441-446.

[17] Furusawa, N., and Hanabusa, R. 2002. Cooking effects on sulfonamide residues in chicken thigh muscle. Food research international, 35, 37-42.

[18] Zorraquino, M.A., Althaus, R.L., Roca, M., and Molina, M.P. 2011. Heat treatment effects on the antimicrobial activity of macrolide and lincosamide antibiotics in milk. Journal of Food Protection, 74(2), 311-315.

[19] European Commission. Commission Regulation (EC) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin.2010. Official journal of the European Union, L 15, 1–72.

[20] Food Safety and Inspection Service (FSIS). 2008. National residue program scheduled sampling plans. United States department of agriculture food safety and inspection service, office of public health science,Washington, DC.

[21] Ismail-Fitry, M.R., Jinap, S., Jamilah, B., and Saleha, A.A. 2008. Effect of deep-frying at different temperature and time on

Archive of SID

www.SID.ir

sulfonamide residues in chicken meat-balls. Journal of Food and Drug Analysis, 16(6), 81-86.

[22] Lolo, M., Pedreira, S., Miranda, J.M., Vazquez, B.I., Franco, C.M., Cepeda, A., **and** Fente, C. 2006. Effect of cooking on enrofloxacin residues in chicken tissue. Food Additives and Contaminants, 23(10), 988-993.

[23]. Rose, M.D., Bygrave, J., and Sharman M. 1999. Effect of cooking on veterinary drug residues in food Part 9. Nitroimidazoles. Analyst, 124, 289–294.

[24] Rose, M.D., Rowley, J., Shearer, G., and Farrington, W.H.H. 1997. Effect of Cooking on Veterinary Drug Residues in Food. 6. Lasalocid. Journal of agriculture and food chemistry, 45, 927-930.

[25] Shitandi, A.A., Aila, O., Ottaro, S., Aliong'o, L., Mwangi,G., Kumar- Sharma, H., and Joseph, M. 2008. Effect of deep frying on furazolidone anticoccidial drug residues in liver and muscle tissues of chicken. African journal of food science, 2, 144-148.

[26] Thompson, T.S., Pernal, S.F., Noot, D.K., Melathopoulos, A.P., and Heever, J.P.V. 2007. Degradation of incurred tylosin to desmycosin—Implications for residue analysis of honey. Analysis Chimchal Acta, 586, 304-311.

[27] Teeter, J.S. and Meyerhoff, R.D. 2003. Aerobic degradation of tylosin in cattle, chicken, and swine excreta. Environtal Reseach, 93, 45-51.

[28] Paesen, J., Cypers, W., Pauwels, K., Roets E. and Hoogmartens, J. 1995. Study of the stability of tylosin A in aqueous solutions. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 13(9), 1153-1159.

[29] Aksenova, I.A., Ter-Sarkisian, E.M., Soífer, R.D., G.I. F. and Iustratova, L.S. 1984. Effect of the pH of the medium and of temperature on tylosin stability. Antibiotiki, 29(3), 179-182.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of deep-frying processing on tylosin residue in meat

Heshmati, A. [1], Kamkar, A. [2*], Salaramoli, J. [3], Hassan, J. [4], Jahed, Gh. [5]

1. Assistant Prof, Biochemistry and nutrition department, medicine faculty, Hamadan University of Medical Sciences and Health Services, Hamadan, Iran.
2. Associate Prof, Food control and hygiene department. Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.
3. Associate Prof, Toxicology and Animal Poisoning Research Center, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
4. Assistant Prof, Toxicology and Animal Poisoning Research Center, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
5. Associate Prof, Division of Food Safety and Hygiene, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran,

(Received: 92/8/23 Accepted: 92/10/8)

Major data about antibiotic residues in food limited to raw material. Because food was cooked before consumption, it's necessary to assess effect of heat treatment on antibiotic residues. The goal of this study is to evaluate effect of frying on tylosin residue in meat. Tylosin was added in three levels 4, 8 and 16 µg to 20 g minced meat samples and they were fried at 180 ^{o}C during 3, 5 and 7 min. Tylosim amount was measured before and after frying by HPLC and tylosin reduction percent, samples center temperature and their weight reduction percent were determined after frying. In all treatments tylosin in fried samples was significantly less than raw samples ($p< 0.05$). Tylosin reduction (%)amount had significant and positive correlation with frying time, sample weight percent and center temperature. By increasing frying time, weight and tylosin lost and center temperature reductions have been increased. Although frying resulted in tylosin residue reduction in meat, it isn't grantee for this goal therefore it is necessary to reduce tylosin residue in meat by its correct consumption in animals and withdrawal period consideration.

Key Words: Tylosin, Drug residue, Antibiotic, HPLC, Frying

* Corresponding Author E-Mail address: akamkar@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir