مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی – درمانی شهید صدوقی یزد
دوره هفدهم، شماره سوم، تابستان۱۳۸۸، صفحات ۱۸۳-۱۷۵

انتقال آفلاتوکسین از خوراک دام به شیر دام و شیر پاستوریزه در شهر شیراز و حومه

عبدالعظیم ارسالی*[۱]، دکتر فائقه بهاءالدین بیگی[۲]، دکتر رضا قاسمی[۳]

چکیده

مقدمه: قارچ‌ها به میزان زیاد در هوا و محیط اطراف ما وجود دارند و چنانچه شرایط حرارت و رطوبت مناسب باشد باعث رشد و تکثیر آنها می‌شود. از مهمترین قارچ‌های آلوده کننده اغذیه که در روند مسمومیت نقش دارند آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس است که در اثر ترشح سم توسط این قارچ‌ها خوراک دام‌ها آلوده شده و با مصرف خوراک دام آلوده شیر نیز آلوده می‌شود.

روش بررسی: در این تحقیق جمعاً ۴۲۸ نمونه اعم از شیر خام و پاستوریزه و خوراک دام در فصول مختلف سال در شیراز و حومه نمونه‌برداری و با یکی از روش‌های ELISA، TLC مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان داد که در ۴۳/۳۶ درصد از نمونه‌های خوراک دام میزان آلودگی از حد مجاز آفلاتوکسین B1 که ppb ۲۰ می‌باشد بالاتر بود. در ۳۸/۰۳ درصد از نمونه‌های شیر خام و ۱۴/۴۲ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه میزان آلودگی از حد مجاز تعیین شده یعنی ppb ۰/۵ بالاتر بود. این تحقیق نشان داد که بین آلودگی شیر خام با آلودگی خوراک دام ارتباط وجود دارد. همچنین میزان آلودگی در فصول تابستان و پائیز بیشتر از زمستان و بهار است که این می‌تواند ناشی از رطوبت بالا در پائیز و دمای بالا در تابستان باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده نیاز مبرم به کنترل آلودگی به آفلاتوکسین در خوراک دام و جلوگیری از مصرف خوراک‌های دامی آلوده از قبیل خوراک مخلوط، ذرت و نان خشک احساس می‌شود و کنترل ادواری آلودگی به آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه خصوصاً در فصول پاییز و تابستان ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M1(AFM1)، آفلاتوکسین B1(AFB1)، شیر گاو، شیر پاستوریزه، خوراک دام، ELISA، TLC.

مقدمه

قارچ‌ها به میزان زیاد در هوا، خاک و محیط اطراف ما وجود دارند. هرگاه شرایط نگهداری اغذیه مناسب نباشد وجود رطوبت، هوا وگرمای مناسب رشد و تکثیر قارچ‌ها را سبب می‌شود. از مهم‌ترین قارچ‌های آلوده کننده اغذیه، که در بروز مسمومیت‌ها نقش مهم‌تری دارند اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشند. سموم مترشحه از این قارچ‌ها آفلاتوکسین نام دارد. که به مقادیر زیاد در اغذیه و علوفه کپک‌زده موجود می‌باشد. آفلاتوکسین‌ها، نسبت به سایر سموم قارچی به علت اثرات سرطان‌زایی و ایجاد مسمومیت حاد از اهمیت بیشتری برخوردار هستند(۱). آفلاتوکسین‌ها به صورت حاد و مزمن برای انسان و حیوانات سمی بوده و می‌توانند بیماری‌های خطرناکی از قبیل بیماری حاد کبدی، سیروز کبدی و تومور تولید کنند(۲،۳).

همچنین شیر یک غذای اصلی برای کودکان و بچه‌ها می‌باشد که به صورت‌های مختلفی از جمله ماست، پنیر و در قنادی‌ها مانند کلوچه و شکلات مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین تعیین میزان

* ۱- نویسنده مسئول: کارشناش ارشد گروه بهداشت - عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فیروزآباد - تلفن: ۰۹۱۷۳۰۲۳۹۶۷؛
Email:Abdolazim_Ersali@yahoo.com
۲- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
۳- دامپزشک - آزمایشگاه دامپزشکی رازی شیراز
تاریخ دریافت:۱۳۸۷/٤/۸ تاریخ پذیرش:۱۳۸۷/۱۰/۵

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

آفلاتوکسین M1 در شیر و محصولات آن، جهت حفظ سلامت مصرف کنندگان در گروه‌های مختلف سنی مهم می‌باشد.

آفلاتوکسین M1 و M2 متابولیت‌های هتروسیکلیک از آفلاتوکسین B1 و B2 هستند که به وسیله آنزیم P450 1A2 در انسان شکل گرفته‌اند(۴) و ممکن است در فرآورده‌های لبنی به دست آمده از چارپایان که از غذای آلوده استفاده کرده‌اند پیدا شود(۸-۵) .زمانی که حیوانات مواد خوراکی که آلوده به AfB1 می‌باشد می‌خورند، این سموم در اثر متابولیسم به صورت AfM1 در شیر آنها وارد می‌شود(۹،۱۰). و این تنها راه برای تبدیل AfB1 به AfM1 می‌باشد. AfM1 در مقابل تغییرات حرارتی از قبیل پاستوریزه کردن، استریلیزاسیون، اتوکلاو و دیگر روش‌های تولید فرآیند غذایی مقاوم بوده و تأثیری در کاهش سم نخواهد داشت (۲،۱۱-۱۳)

آفلاتوکسین M1 می‌تواند ۲۴-۱۲ ساعت بعد از ورود AfB1 به بدن حیوان در شیر تشخیص داده شود و بعد از چند روز به یک سطح بالایی خواهد رسید. وقتی که جذب آفلاتوکسین B1 خاتمه یافت غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر بعد از ۷۲ ساعت به سطح غیرقابل تشخیصی کاهش می‌یابد(۱۴). نسبت بین آفلاتوکسین B1 خورده شده به آفلاتوکسین M1 دفع شده بین ۳-۱ درصد تخمین زده شده است (۱۵-۱۷)

هدف از این مطالعه بررسی هم‌زمان وجود AfB1 در نمونه‌های مختلف خوراک دام و AfM1 در نمونه‌های شیر خام و شیر پاستوریزه تغذیه شده از آن خوراک در شهر شیراز و حومه در چهار فصل به روش‌های ELISA، TLC بود.

روش بررسی

از تابستان سال ۱۳۸۴ تا تابستان ۱۳۸۵ از مجموع ۴۱ دامداری، ۱۷۸ نمونه خوراک دام که شامل نان خشک، کاه سفید، یونجه، ذرت سیلو شده، آرد، سبوس، کاه، خوراک مخلوط و ۱۶۲ نمونه شیر خام نمونه‌برداری گردید. به طوری که در هر فصل حداقل ۱۸ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت. تعداد نمونه بر اساس وضعیت آلودگی آفلاتوکسین و ضریب اعتماد مطالعه بود. مطالعات نشان می‌دهد که در آسیا ۸۰-۴۰ درصد نمونه‌های شیر دارای آلودگی AFM1 بالای حد مجاز بوده است(۱۸).

تهیه نمونه‌های شیر پاستوریزه: برای تهیه شیر پاستوریزه از طریق سوپر مارکت‌ها و مراجعه به کارخانه‌های تهیه شیر پاستوریزه با هماهنگی مسئولین مربوطه نمونه‌برداری انجام شد. ۸۸ نمونه شیر پاستوریزه پاکتی یک لیتری در فصول مختلف سال برداشت شد. کلیه نمونه‌های شیر و خوراک دام سریع به آزمایشگاه انتقال و در فریزر ۲۰°C- تا زمان آزمایش که حداکثر دو ماه بود نگهداری شد.

روش نمونه‌برداری خوراک دام و شیرخام : برای تهیه نمونه‌های خوراک دام و شیر خام به مناطق دام‌داری‌هادر جنوب، شمال غربی، شمال و جنوب شرقی شیراز در چهار فصل سال مراجعه و نمونه های ۱/۵لیتری شیر خام از ظروف ۴۰ لیتری برداشت شد. از هر کدام از دام داری‌های همان محل ده نمونه ۲۰۰ گرمی، از نقاط مختلف ذخیره خوراک دام جمع‌آوری و سپس با یکدیگر مخلوط شد. نمونه‌ها را در پاکت‌های کاغذی که امکان تبادل هوا در آن وجود داشت به منظور این که میزان رطوبت افزایش نیابد گذاشته و هر چه سریع‌تر به آزمایشگاه انتقال داده شد.

مواد مصرفی: مواد جهت روش TLC: مواد مصرفی در این سری آزمایشات عبارت بود از متانول، هگزان، بنزن، استونیتریل، کلروفرم، استن، دی‌اتیل‌اتر و اسید سولفوریک ۵۰٪ (مرک، آلمان)، سموم آفلاتوکسین استاندارد M1 و B1 (سیگما، آلمان)، کاغذ TLC سیلیکاژل ۶۰ بدون فلورسنت (مرک، آلمان).

مواد جهت روش الایزا : کیت الایزای آفلاتوکسین M1 (R -Biopharm, آلمان) جهت اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1.

دستگاه‌های مورد استفاده در روش TLC: دستگاه اسپکتروفتومتر (DU64 Model Beckman ، آلمان) دستگاه UV (Lamg ، آلمان).

دستگاه‌ها جهت الایزا (ELISA) : سمپلر هشت کاناله با دامنه ۳۰۰-۳۰ میکرولیتر و سمپلر تک کاناله با دامنه ۱۰۰-۱۰ میکرولیتر، میکروپیپت (Treff Lab آلمان)، الایزا ریدر (Bio Tech، آلمان)، واشر الایزا (Bio Tech، آلمان)، سانتریفیوژ یخچال‌دار.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 به روش الایزا : ابتدا چربی شیر توسط سانتریفیوژ جدا شده و از لایه زیرین (Skim milk) جهت آزمایش استفاده کردیم. با توجه به اینکه کیت دارای پنج استاندارد (ppt ۲۰۰۰-۱۰۰۰-۵۰۰-۲۵۰-۰) می‌باشد، ابتدا از هر کدام از استانداردها ۵۰ میکرولیتر نمونه شیر کم‌چرب تهیه شده در مرحله آماده‌سازی نمونه میزان ۵۰ میکرولیتر را در چاهک ریختیم. بعد از آن میزان ۵۰ میکرولیتر کنژوگه به هر چاهک اضافه کردیم و سپس میزان ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بادی اضافه کردیم، کیت را به صورت دستی چندین بار در جهات مختلف حرکت دادیم تا تمام محتویات هر چاهک کاملاً با هم مخلوط شود. کیت را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق به حال خود رها کردیم، بعد از ۱۰ دقیقه تمام محتویات کیت را بیرون ریخته و کیت را سه مرتبه با آب مقطر شستشو دادیم. با کیت به صورت وارونه چندین‌بار روی حوله ضخیم ضربه زدیم تا تمام آب مقطر موجود در چاهک‌ها کاملاً تخلیه شده و چاهک‌ها کاملاً خشک شوند. میزان ۲ قطره (حدوداً ۱۰۰ میکرولیتر) از محلول کروموژن را به هر چاهک اضافه کردیم، کیت را مجدداً چندین بار به صورت دستی در جهات مختلف حرکت دادیم تا تمام محتویات هر چاهک کاملاً با هم مخلوط گردند. سپس کیت را به مدت ۵ دقیقه در محیط تاریک به حال خود رها کردیم، بعد از سپری شدن ۵ دقیقه میزان ۲ قطره (حدوداً ۱۰۰ میکرولیتر) از محلول متوقف کننده به هر چاهک اضافه کردیم. باز هم کیت را به صورت دستی در جهات مختلف حرکت دادیم. سپس توسط دستگاه الایزا ریدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر میزان جذب نوری را اندازه‌گیری کردیم و توسط نرم‌افزار مخصوص میزان آفلاتوکسین را در نمونه‌های شیر محاسبه کردیم.

اندازه‌گیری آفلاتوکسین به روش TLC : خوراک دام: ۵۰ گرم از هر نمونه‌ی نان خشک یا خوراک دام را برداشته و ابتدا توسط متانل و هگزان و سپس با کلروفرم استخراج کردیم. فاز کلروفرم تبخیر و عصاره خشک حاصله را در بنزواستونیتریل حل و مقدار ۱۰ میکرولیتر بر روی کاغذ TLC کاشته و در تانک کلروفرم و استن قرار دادیم، سپس صفحه TLC در زیر نور UV و در طول موج ۳۶۶ نانومتر مشاهده ودر صورت وجود ناخالصی در تانک دوم محتوی دی‌اتیل اتر به شکل وارونه قرار دادیم. صفحه را مجدداً زیر نور UV می‌دیدیم و اگر لکه‌ای شبیه لکه آفلاتوکسین مشاهده می‌شد اسید سولفوریک ۵۰٪ روی آن اسپری کرده و مجدداً زیر نور UV مشاهده می‌کردیم. در صورت مشاهده سم آفلاتوکسین با توجه به مقایسه آنها با استانداردهای مربوطه میزان کمی آن را به روش اسپکتروفتومتری سنجیده و بر حسب ppb گزارش کردیم.

شیر: جهت استخراج سم از شیر ۱۰ گرم شیر توسط استن و هگزان و سپس با کلروفرم استخراج کردیم. فاز کلروفرم تبخیر و عصاره خشک حاصله را در ۵۰ میکرولیتر بنزواستونیتریل حل و مقدار ۱۰ میکرولیتر بر روی کاغذ TLC کاشته و در تانک کلروفرم، استن قرار دادیم. در صورت مشاهده سم زیر نور UV میزان آن را با اسپکتروفتومتری سنجیده و مقدار آن را بر حسب ppb گزارش کردیم.

آنالیزآماری: تجزیه و تحلیل آماری جهت تعیین تفاوت‌های موجود در میزان AFM1 بین نمونه‌های شیر در فصول مختلف با استفاده از روش ANOVA یک طرفه و دانکن انجام شد. تفاوت میانگین در سطح معناداری P<۰/۰۵ بوده است.

نتایج

وجود آفلاتوکسین M1 در شیر خام: جدول ۱ میزان AFM1 را در نمونه‌های شیر خام که به وسیله روش‌های TLC و ELISA انجام شده است را نشان می‌دهد.

از ۶۴ نمونه شیر خام که در طول فصول مختلف بهار، تابستان، پائیز و زمستان نمونه‌برداری و به روش TLC آزمایش شده است به ترتیب ۱۶/۶۶ درصد، ۶۳/۱۵ درصد، ۲۷/۲۷ درصد و ۲۰ درصد آلودگی بالای سطح مجاز را نشان داد.

از ۹۱ نمونه شیر خام که در فصول مختلف سال بهار، تابستان، پائیز و زمستان نمونه‌برداری و به روش ELISA مورد آزمایش قرار گرفت به ترتیب ۱۸/۹۲ درصد، ۶۴/۲۸ درصد، ۳۳/۳۳ درصد و ۲۷/۲۷ درصد آلودگی بالای سطح مجاز ppb ۵/. را نشان داد. مقادیر AFM1 در نمونه‌های شیر خام بهار<زمستان< پائیز< تابستان بود.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

وجود آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر پاستوریزه: جدول ۲ میزان و درصد آلودگی AFM1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه که به روش TLC و ELISA آزمایش شده است را نشان می‌دهد. از ۴۵ نمونه شیر پاستوریزه که در فصول مختلف سال بهار، تابستان، پائیز و زمستان نمونه‌برداری و به روش TLC آزمایش شدند به ترتیب صفر درصد، ۳۳/۳۳ درصد، ۸/۳۳ درصد و صفر درصد آلودگی بالای سطح مجاز را نشان داد.

از ۴۳ نمونه شیر پاستوریزه که در فصول مختلف سال بهار، تابستان، پائیز و زمستان نمونه‌برداری و به روش ELISA آزمایش شدند به ترتیب ۸/۳۳ درصد، ۴۰ درصد، ۱۱/۱۱ درصد و ۱۴/۲۸ درصد آلودگی بالای سطح مجاز را نشان داد. مقادیر AFM1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه بهار > پائیز> زمستان> تابستان بود.

جدول ۱: میزان ودرصد آلودگی آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر خام

فصل سال	روش آزمایش	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده[1]	درصد نمونه‌های آلوده[1]	میزان آلودگی Ppb[2]
بهار	TLC	۲۴	۴	۱۶/۶۶	۰/۳-۷/۵
تابستان	TLC	۱۹	۱۲	۶۳/۱۵	۰/۰۴ – ۰/۲
پائیز	TLC	۱۱	۳	۲۷/۲۷	۰/۰۳ – ۰/۲
زمستان	TLC	۱۰	۲	۲۰	۰/۳ – ۲/۲۵
بهار	ELISA	۳۷	۷	۱۸/۹۲	۰/۰۴-۰/۶۰
تابستان	ELISA	۲۸	۱۸	۶۴/۲۸	۰/۰۳-۰/۷۳
پائیز	ELISA	۱۵	۵	۳۳/۳۳	۰/۰۶-۰/۵۸
زمستان	ELISA	۱۱	۳	۲۷/۲۷	۰/۰۳-۰/۶۲

۱: آلودگی بیش تر از حد مجاز ۲: یک قسمت در یک بیلیون

جدول ۲: میزان و درصدآلودگی آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه

فصل سال	روش آزمایش	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده۱	درصد نمونه های آلوده۱	میزان آلودگی ppb۲
بهار	TLC	۱۵	۰	۰/۰۰	۰
تابستان	TLC	۳	۱	۳۳/۳۳	۰/۱
پائیز	TLC	۱۲	۱	۸/۳۳	۰/۲
زمستان	TLC	۱۵	۰	۰/۰۰	۰
بهار	ELISA	۱۲	۱	۸/۳۳	۰/۴۷-۰/۵۲
تابستان	ELISA	۱۵	۶	۴۰/۰۰	۰/۱۳-۰/۶۰
پائیز	ELISA	۹	۱	۱۱/۱۱	۰/۰۷-۰/۵۸
زمستان	ELISA	۷	۱	۱۴/۲۸	۰/۰۳-۰/۵۹

۱: آلودگی بیش تر از حد مجاز ۲: یک قسمت در یک بیلیون

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

جدول ۳: میزان و درصدآلودگی آفلاتوکسین B1 در نمونه‌های خوراک دام

فصل سال	روش آزمایش	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده[1]	درصد نمونه های آلوده[1]	میزان آلودگی Ppb[2]
بهار	TLC	۲۳	۳	۱۳/۰۴	۳–۳۷
تابستان	TLC	۲۷	۱۶	۵۹/۲۵	۴/۴–۳۵/۴
پائیز	TLC	۱۳	۹	۶۹/۲۳	۱/۰۹–۲۰
زمستان	TLC	۲۴	۶	۲۵/۰۰	۲/۰۰–۵۷
بهار	ELISA	۱۹	۳	۱۵/۷۸	۰–۳۹
تابستان	ELISA	۳۲	۱۸	۵۶/۲۵	۰–۹۳
پائیز	ELISA	۲۸	۲۱	۷۵/۰۰	۰–۹۹
زمستان	ELISA	۱۲	۴	۳۳/۳۳	۰–۷۸

۱: آلودگی بیش تر از حد مجاز ۲: یک قسمت در یک بیلیون

جدول ٤: درصد آلودگی AFB1 ۱ در انواع خوراک دام در فصول مختلف

	درصد نمونه های آلوده				
فصول سال	نان خشک	یونجه	مخلوط*	ذرت سیلو شده	میانگین درصد کل آلودگی (ردیفی)
بهار	**(۱/۷)۱۴	(۱/۱۲) ۸	(۲/۱۴) ۱۴	(۲/۹) ۲۲	۱۴/۵
تابستان	(۸/۱۴) ۵۷	(۶/۱۵) ۴۰	(۹/۱۳) ۶۹	(۱۱/۱۷) ۶۴	۵۷/۵
پائیز	(۶/۸) ۷۵	(۴/۶) ۶۶	(۹/۱۳) ۶۹	(۱۱/۱۴) ۷۸	۷۲
زمستان	(۱/۸) ۱۲	(۱/۱۱) ۹	(۵/۱۱) ۴۵	(۳/۶) ۵۰	۲۹
میانگین ستونی	۳۹/۵	۳۰/۷	۴۹/۲	۵۳/۵	۴۳

۱: آلودگی بیش تر از حد مجاز

**: درصد نمونه های دارای آلودگی بیش تر از حد مجاز. داخل پرانتز تعداد نمونه‌های آلوده به کل نمونه‌ها را نشان می‌دهد.

* مخلوط: منظور مخلوط بودن دو یا چند خوراک با هم مثل مخلوط ذرت، کاه، یونجه و سبوس.

میزان آلودگی AFB1 در نمونه‌های خوراک دام به تفکیک مواد مختلف به این ترتیب بود: یونجه< نان خشک<خوراک مخلوط<ذرت

بحث و نتیجه‌گیری

وجود فلزات سنگین، گازهای سنگین، مواد رادیواکتیو، سموم ارگانو فسفره و غیره سمومی هستند که انسان هر روزه در معرض آلودگی با آنها قرار دارد و تمام سعی و تلاش جوامع پیشرفته در این است که این سموم تا حد ممکن از زندگی روزمره انسان حذف شوند. در این میان مسمومیت‌زاهایی بی‌سر و صدا در زندگی بشر وارد می‌شوند و با آلوده نمودن مواد غذایی اثرات مخربی بر روی حیاتی‌ترین ارگان‌های بدن مانند مغز و کبد و دستگاه گوارش وارد می‌آورند. این سموم محصولات کشاورزی را تخریب نموده و ضرر و زیان اقتصادی فراوانی ببار می‌آورند.

یک دسته از این سموم، سموم قارچی است از مهمترین آنها آفلاتوکسین‌ها می‌باشند. آفلاتوکسین‌ها مواد سمی موتاژن، سرطان‌زا و تراتوژن هستند که عمدتاً توسط قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌شوند. این قارچ‌ها نقش مهمی در فساد گندم، ذرت، جو، آرد، سبوس، نان و سایر مواد غذایی دارند. AFB1 یکی از متداول‌ترین و مهمترین سرطان‌زاهاست و از طریق مصرف خوراک آلوده به AFB1 به صورت AFM1 تغییر یافته و در شیر حیوان وارد می‌شود.

شناسایی آلودگی آفلاتوکسین در ۱۱ نمونه نان خشک و ۸ نمونه شیر پاستوریزه در شهر شیراز که توسط بهاءالدینی و همکاران درسال ۱۳۷۹ انجام شد نشان داد از مجموع ۱۱ نمونه نان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

خشک آزمایش شده در تعداد ۳ نمونه آلودگی به آفلاتوکسین از نوع B1 و G1 یا G2 مشاهده، که آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد (30 ppb) بود. از ۸ نمونه شیر پاستوریزه در یک نمونه از نوع بسته‌بندی مقوای بلند، آلودگی به آفلاتوکسین مشاهده شد.

بررسی و ارزیابی آفلاتوکسین M1 در ۶۲۴ نمونه شیر پاستوریزه در شهر شیراز توسط البرزی و همکاران در سال ۱۳۸۳ انجام شد نشان داد که صد در صد نمونه‌های شیر به این سم آلوده می‌باشند که AFM1 موجود در ۱۷/۸ درصد از نمونه‌ها بسیار بیشتر از حد معمول ۵۰ ng/l بود که توسط اتحادیه اروپا مجاز شمرده می‌شود (۱۹) در مطالعه ی دیگر بر روی ۱۱۱ نمونه شیر خام در سراب در ۷۶/۶٪ نمونه‌ها آلودگی در حد ۱۵-۲۸۰ ng/l گزارش شده است که در ۴۰٪ نمونه‌ها میزان آلودگی بیشتر از حد مجاز ۰/۰۵ ng/l بوده است(۲۰).

طی مطالعات انجام شده فصول مختلف هم می‌تواند روی میزان آلودگی تأثیر بگذارد(۲۱).

آفلاتوکسین اندازه‌گیری شده در شیر گوسفندان در کشور آلبانی در فصول زمستان بیشتر می‌باشد که شاید علت آن استفاده از علوفه زمستانه مانده در انبار و شرایط نگهداری علوفه دانست.

در این تحقیق بررسی‌های لازم به طور تفکیکی در فصول مختلف سال روی خوراک دام، شیر خام و شیر پاستوریزه انجام شد و نشان داد که میزان آلودگی شیر خام و پاستوریزه در فصول تابستان و پائیز بیشتر از سایر فصول می‌باشد، که این خود می‌تواند به علت عدم در دسترس بودن علوفه و همچنین استفاده از علوفه انبار شده و عدم رعایت شرایط نگهداری مناسب در انبارها باشد. همچنین وجود رطوبت و حرارت لازم برای رشد قارچ‌های اسپرژیلوس در فصل‌های پائیز و تابستان از علل بالاتر بودن میزان آلودگی به آفلاتوکسین نسبت به فصول دیگر می‌باشد. در نتیجه آلودگی شیرهای خام و پاستوریزه در همین فصول بالا می‌باشد.

در این تحقیق همچنین از دو روش الایزا و تی- ال- سی برای اندازه‌گیری AFM1 استفاده شد، نتایج حاصل از دو روش تفاوت زیادی نداشت. هر دو به عنوان روش‌های معتبر در این زمینه معرفی شده‌اند(۲۲). روش تی- ال- سی ارزان تر می‌باشد. همچنین تعداد هفت نمونه تهیه شده در فصل تابستان توسط روش HPLC بررسی شد که در ۷۰٪ نمونه ها میزان آلودگی بالای حد مجاز بود.

همچنین در بررسی انجام شده روی میزان آلودگی انواع خوراک دام در فصول مختلف سال این نتیجه حاصل شد که میزان آلودگی ذرت و خوراک مخلوط به علت استفاده از غذاهای سالم و کپک زده به صورت مخلوط، بسیار بالا است و در درجه دوم نان خشک آلوده‌ترین خوراک مورد استفاده است که متأسفانه به علت عدم دسترسی به علوفه تازه به اندازه کافی، در دام‌داری‌های سنتی به میزان زیادی از این خوراک استفاده می‌شود. همچنین شرایط نامطلوب بازیافت و عدم نگهداری صحیح نان‌های خشک موجب کپک‌زدگی و تولید سم AFB1 در خوراک دام شده که پس از مصرف توسط دام به صورت AFM1 در شیر دام به وجود می‌آید. درصد آلودگی در نمونه‌های شیر خام بیشتر از نمونه‌های شیر پاستوریزه بود که می‌تواند به علت مخلوط کردن شیرهای آلوده با شیرهای سالم در کارخانه باشد. به اعتقاد ما این اولین تحقیقی است که به طور منظم وجود AFM1 را هم در شیر خام و هم در شیر پاستوریزه و هم وجود AFB1 را هم زمان در علوفه‌های همان دامداری‌ها بررسی نمود، تا انتقال آفلاتوکسین B1 از غذا به شیر حیوانات را دنبال نماید و AFM1 در شیر خام و سپس در شیر پاستوریزه را بررسی کند. از طرفی هم تفاوت‌های فصلی را مورد مطالعه قرار داده است.

بعضی مؤلفان آلودگی بیشتری در نمونه‌های شیر در پائیز گزارش کرده‌اند(۲۳) در حالی که برخی دیگر تفاوت‌های چندانی مشاهده نکرده‌اند.(۲۵،۲۴) .

AFB1 می‌تواند با پروتئین‌ها مثل کازئین متصل شود(۲۶). بنابراین در محصولات لبنی می‌تواند وجود داشته باشد. مطالعات کافی در ایران درباره محتوای آفلاتوکسین شیر و محصولات لبنی وجود ندارد. بنابراین تحقیق بیشتری لازم است. همچنین باید نظارت‌هاي گسترده و پیوسته‌اي اجرا و توسط دولت و وزارت مربوطه هدایت شود.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

پس باید جهت تولید شیر سالم خوراک دام‌ها عاری از AFB1 باشد(۲۷). به علت خطر آفلاتوکسین M1 برای سلامتی انسان به خصوص سرطان کبد تشخیص سطح AFM1 در شیر و سایر محصولات لبنی مهم است(۲۸،۲۹).

به علت در دسترس نبودن علوفه تازه و سالم به اندازه کافی ما نمی‌توانیم سم آفلاتوکسین را به طور کامل از خوراک دام حذف کنیم ولی می‌توان میزان آلودگی را به حداقل رساند. در این راستا حد ماکزیمم سم AFB1 را در خوراک دام PPb ۲۰ و حد ماکزیمم AFM1 را در شیر PPb ۰/۵ تعیین شده است. خوراک دام‌هایی که میزان سم موجود در آن‌ها از این میزان زیادتر است نباید به مصرف دام‌های شیرده برسند و همچنین شیرهای حاوی AFM1 بیش از PPb ۰/۵ قابل فروش نمی‌باشد. مخلوط کردن غذای حاوی آفلاتوکسین بیش از حد مجاز با غذاهای دیگر به منظور کاهش سطح آفلاتوکسین امکان‌پذیر است. اما محصول مخلوط شده نمی‌تواند برای دام‌های شیرده مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از مواد جاذب آفلاتوکسین نیز در غذاهایی که دارای سطح بالای آفلاتوکسین هستند به منظور کاهش سطح آفلاتوکسین به کار گرفته شده است.

صاحب‌نظران معتقدند که نان‌های بازیافتی منبع اصلی AFB1 در خوراک دام‌ها می‌باشند. نتایج مقاله حاضر نشان می‌دهد که بیشترین غذاهایی آلوده پس از ذرت مربوط به غذاهای مخلوط مانند مخلوط ذرت، کاه، یونجه، سبوس و نان خشک می‌باشد که به نظر می‌رسد به منظور کاهش درصد آلودگی مواد کپک زده و سالم را با هم مخلوط می‌نمایند. در درجه دوم نان خشک‌های جمع‌آوری شده از درب منازل می‌باشد که بازیافت و نگهداری آن به طور صحیح انجام نمی‌گیرد که علت آن جمع‌آوری و نگهداری در کیسه‌های نایلونی که هوا از آن عبور نمی‌کند می‌باشد و شرایط را برای رشد و تکثیر قارچ‌ها مساعد می‌سازد. بنابراین ذرت، خوراک مخلوط بایستی از نظر میزان آفلاتوکسین کنترل شود و نان خشک از خوراک دام حذف شود تا میزان آلودگی آن کنترل شود. میزان آلودگی ذرت به آفلاتوکسین ب۱ از ۱ تا ۲۴۵ نانوگرم در هر گرم در ایران گزارش شده است(۲۰).

References

1- Campbell B,Draper M, Epperson B. ***Aflatoxins hazards in Grain/ Aflatoxicosis and livestock***, 2001. Available at: www. agbiobups. sdstate. Edu/ articles /FS907.pdf

2- Deshpande SS. ***Fungal Toxins***. In S.S. Deshpande, Handbook of food toxicology, 2002: 387-456.

3- Simon P, Delsaut P, Lafontain M, Moreler R, Nicot T. ***Automated columm- switching HPLC for the determination of aflatoxin M1***, 1998, J chromatography, 1998; 712: 95-104.

4- Faletto MB, Koser PlL, Battuta N, Townsend GK, Maccubbin AE, Gelboin HV. ***Cytochrome P3-450 CDNA encodes aflatoxin B1 hydroxylase***. J Bio chem, 1988; 263: 12187-9.

5- Creppy EE. ***Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe***. Toxicology letters 2002; 127: 19-28.

6- Cullen JM, Ruebner BH, Hsieh LS, Hyde DM, Hsieh DPH. ***Carcinogenicity of dietary aflatoxin M1 in male fisher rats compared to aflatoxin B1***. cancer res 1987; 47: 1913-7.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

7- Eaton DL, Gallagher EP. ***Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis*** Annual review of pharmacology and toxicology 1994; 34: 135-72.

8- Koser PL, Faletto MB, Maccubbin AE, Gurtoo HL. ***The genetics of aflatoxin B1 metabolism. Association of the induction of aflatoxin B1-4-hydroxylase with the transcriptional activation of cytochrome P3 – 450 gene***. J Bio Chem 1988; 263: 12584-95.

9- Bakirci I. ***A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey***. food con, 2001, 12: 47-51.

10- Lopez C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L, Perez J. ***Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated international*** J food Micro 2001; 64: 211-5.

11- Park DL. ***Effect of processing on aflatoxin advances in Experimental Medicine and biology*** 2002; 504: 173-9.

12- Rustom IYS. ***Aflatoxin in food and feed: Occurrence legislation and inactivation by physical methods.*** Food chem 1997; 59: 57-67.

13- Tadi PP, Teel RW, lav BHS. ***Organosulfur compounds of garlic modulate, mutagenesis***, **metabolism and DNA vinding of aflatoxin B1**, Cancer 1991; 15: 87-95.

14- Van Egmond HP. ***Current situation on regulations for mycotoxins overview of tolerances and status of standard method of sampling and analysis***. Food additives and contaminants1989; 6: 139-88.

15- Barbieri G, Bergamini C, Ori E ,Pesca P. ***aflatoxin M1 in parmesan cheese: HPLC determination***. J food sci 1994; 59: 1313-31.

16- Rodricks JV, Stoloff L. ***Aflatoxin residues from contaminated feed in edible tissues of food-producing animals.*** In: J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine and M.A. Mehlman, Editors, Mycotoxins in human and animal Health, Pathotox, Park forest south 1977; 67-79.

17- Scott PM. ***Methods for determindation of aflatoxin M1 in milk products a review of performance characteristics***. food additives and contaminants 1989; 6:226-230.

18- Ghiasian SA, Maghsood AH, Neyestani TR, Mirhendi SH. ***Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in hamedan***, Iran, J food safety 2007; 27: 188-198.

19- Alborzi S, Pourabas B, Astaneh B. ***Aflatoxin M1 contamination in Pasteurized Milk in Shiraz (south of Iran)***. Food con 2006;17,582-4

20- Yazdanpnah H. ***Mycotoxin contamination of foodstuff and feedstuff in iran***. Iranian J Phar res 2006;1:9-16.

21- Panariti E. ***Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albaina***. Arh Hig Rada Toksikol 2001;52(1): 37-41.

22- Scussel VM. ***Comparison of methods by TLC and HPTLC for determination of aflatoxin M1 in milk and B1 in Eggs***. Cienc Tecnol Campinas 2003; 23(Supl): 46-52.

23- Blanco JL, Dominguezs L, Gomez-lucia E, Garayzabal JF, Garcia JA; Suarez G, ***Presence of aflatoxin M1 in commercial UHT treated milk***, Applied Environmental Microbiology 1988 june; 54(6): 1622-3.

24- Markaki P, Melissari, ***Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC***. Food addit 1997; 14(5): 451-56.

25- Shundo L, Navas SA, Lamadro LC,Rurieri V,Sabino M. ***Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil*** . 2009July; 20(7):655-70.

26- Manetta AC, Giuseppe LD, Giammarco M. Fusaro I, Simonella A, Gramenzi A, et al. ***High performance liquid chromatography with post – column derivatisation and fluorescence detection for***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]

sensitive determination of aflatoxin M1 in milk and cheese. J chrom A 2005 Aug; 1083(1-2): 219-22.

27- Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hawand HT, Kim YB. ***Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC.*** Food Additives and contaminants 2000; 17: 59-64.

28- Reddy SV, Waliyar Farid. ***Properties of aflatoxin and it producing fungi***: Available at: www.aflatoxin. Info/aflatoxin.asp, 2000.

29- Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK, DAS M, ***Detection of aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA***, Food con 2004; 15: 287-90.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-07]