ORIGINAL ARTICLE

Investigating Aflatoxin M1 Contamination in Buffalos Milk Using Immunoassay

Huria Ghariby[1],
Afshin Takdastan[2],
Abdol Kazem Neisi[3],
Hamideh Rezazadeh[1],
Hasan Kuhpaee[4]

[1] MSc Student in Environmental Health, School of Public Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[2] Associate Professor, Environmental Technologies Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Environmental Health, School of Public Health, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
[4] MSc Student in Industrial Safety Engineering, Faculty of Health, Safety and Environment, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received January 18, 2016 ; Accepted December 19, 2016)

Abstract

Background and purpose: Mycotoxins are a group of toxic compounds produced by several species of fungi and aflatoxins are the most important toxins. M1 and M2 which are derivatives of aflatoxin B1 and B2 are resistant against thermal changes, such as pasteurization, sterilization and autoclave and their concentration will not decrease. They are transmitted to humans by milk and milk products and threaten the health of human and society. The aim of this study was to determine aflatoxin M1 in buffaloes milk in Ahvaz and Karoon, Iran using ELIZA method.

Materials and methods: In a cross-sectional study, 60 milk samples were randomly collected from two farms with large number of buffalos, in autumn. ELISA method was used to evaluate of aflatoxins the samples.

Results: The average level of aflatoxin M1 in two selected locations was (155.91 ng/l) which was more than standard level in Iran and the Codex Alimentarius.

Conclusion: According to this research, there was a strong relationship between presence of toxin in milk with the animals' diet and method of storing their foods.

Keywords: aflatoxin M1, milk, food safety, ELISA

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 248-256 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۵ بهمن سال ۱۳۹۵ (۲۵۶-۲۴۸)

بررسی سم آفلاتوکسین M1 در شیر گاومیش با استفاده از روش ایمنواسی

حوریا غریبی[۱]
افشین تکدستان[۲]
عبدالکاظم نیسی[۳]
حمیده رضازاده[۱]
حسن کوهپایی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: مایکوتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات سمی طبیعی بوده که توسط گونه‌های متعددی از قارچ‌ها تولید می‌شوند که آفلاتوکسین‌ها مهم‌ترین آن‌ها است.آفلاتوکسین‌های M_1و M_2 مشتقاتی از آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 هستند که در مقابل تغییرات حرارتی از قبیل پاستوریزه کردن، استریلیزاسیون و اتوکلاو کردن مقاومت نشان داده در نتیجه غلظت آن‌ها کاهش پیدا نمی‌کند لذا توسط شیر و محصولات لبنی به انسان منتقل شده و سلامت انسان و جامعه را به خطر می‌اندازد. هدف از انجام این مطالعه بررسی آفلاتوکسینM_1 در شیر گاومیش‌های دو شهرستان اهواز و کارون با استفاده از روش الایزا بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- تحلیلی ۶۰ نمونه شیر به‌طور اتفاقی از ۲دامداری که بیش‌ترین راس را در دو منطقه داشتند و در۳ ماه از فصل پاییز(مهر، آبان، آذر) جمع‌آوری شد و روش الایزا برای تعیین آفلاتوکسین موجود در نمونه‌های شیر گاومیش استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین غلظت سم آفلاتوکسین M_1 درکل نمونه‌های دو منطقه نامبرده طی سه ماه متوالیاز حد مجاز استاندارد ایران، اتحادیه اروپا (کدکس) و سازمان غذا بیش‌تر (۱۵۵/۹۱ ng/l) بود.

استنتاج: طبق بررسی‌های انجام شده در مطالعه حاضر رابطه تنگاتنگی بین نوع جیره غذایی و روش نگهداری خوراک دام با میزان سم در شیر وجود داشت.

واژه های کلیدی: آفلاتوکسین M_1، شیر، ایمنی غذا، الایزا

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها گروهی ازترکیبات سمی طبیعی بوده که توسط گونه‌های متعددی از قارچ‌ها تولید می‌شوند. این ترکیبات متابولیت‌های ثانویه نسبتاً مقاومی هستند که می‌توانند سبب آلوده شدن غذای انسان و حیوانات در فرآیندهای تولید، انتقال و ذخیره‌سازی مواد غذایی شوند(۱). از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌توان آفلاتوکسین، پاتولین، اکراتوکسین A و زیرالنون را نام برد که آفلاتوکسین‌ها مهم‌ترین آن‌ها بوده‌اند(۲). این سم‌ها

مولف مسئول: افشین تکدستان– اهواز: دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، مرکز تحقیقات فناوری های زیست محیطی E-mail:afshin_ir@yahoo.com
۱. دانشجوی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۲. دانشیار، مرکز تحقیقات فناوری های زیست محیطی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۳. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۴. دانشجوی ارشد ایمنی و محیط زیست، دانشکده سلامت ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۱۰/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۴/۱۱/۳ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۹/۲۹

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

انواع مختلفی دارندکه عبارتند ازآفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1، G_2، M_1 و M_2 که توسط قارچ‌های رشته‌ای جنس آسپرژیلوس تولید می‌شوند(۴،۳). آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 مشتقاتی از آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 هستند که توسط آنزیم P4501A2 در بدن انسان شکل می‌گیرند(۵). هنگام تولید قارچ‌های رشته‌ای مولد آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام مشتق 4-Hydroxy آن یعنی آفلاتوکسین M1 در شیر تولید شد که همانند آفلاتوکسین B_1 اثرات هپاتوتوکسینی و سرطان‌زایی دارد(۶-۹). آفلاتوکسین M1 در مقابل تغییرات حرارتی از قبیل پاستوریزه کردن، استریلیزاسیون، اتوکلاو کردن و دیگر روش‌های فرآوری مقاومت نشان داده و غلظت آن کاهشی پیدا نمی‌کند(۱۳-۱۰). از مهم‌ترین اثرات زیستی آفلاتوکسین‌ها می‌توان به جلوگیری از سنتز RNA و پروتئین، اختلال در اعمال کبدی، ایجاد سرطان کبد، کاهش ضریب تبدیل مواد غذایی، تقلیل در میزان افزایش وزن روزانه، کاهش تولید شیر در گاوهای شیری، تضعیف سیستم ایمنی گونه‌های حیوانی و افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌های عفونی اشاره نمود(۱۷-۱۴). مجامع بین‌المللی و سازمان جهانی بهداشت حداکثر مجاز آفلاتوکسین M1 در شیر و محصولات لبنی را ۵۰ تا ۵۰۰ ng/l تعیین نموده‌اند(۱۹،۱۸). کمیته اروپایی و غذایی کدکس، ماکزیمم میزان آفلاتوکسین M1 در شیر خام، مایع و سایر محصولات شیری را ۵۰ng/kg (۰/۰۵ µg/l) تعیین نموده است(۲۰). در حالی که موسسه استاندارد ایران نیز طبق توصیه سازمان غذا و دارو، حد مجاز آفلاتوکسین M_1 را در شیر خام ۰/۱ µg/l اعلام کرده است(۲۱). روش‌های اندازه گیری آفلاتوکسین M_1 در جیره‌های غذایی عبارت از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، گاز کروماتوگرافی (GC)، کروماتوگرافی با لایه نازک (TLC) و روش‌های ایمونواسی مانند ELIZA می‌باشد(۲۶-۲۲) که روش الایزا به دلیل دقت بالا و صرفه جویی در این مطالعه انتخاب شد.

با توجه به نقش شیر و فرآورده های آن در تغذیه و سلامت جامعه، ایمنی و بهداشت در این خصوص بسیار حایز اهمیت است. هم‌چنین سم آفلاتوکسین M_1 یکی از معضلات بهداشتی کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما می‌باشد. شایان ذکر است که استان خوزستان در رتبه اول پرورش گاومیش قرار دارد(۲۷) و میزان مصرف عمده شیر و محصولات لبنی این استان توسط گاومیش‌داری‌ها تامین می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی آفلاتوکسین M_1 در شیر گاومیش‌های دو منطقه مشعلی و گاومیش آباد در ماه پاییز که حساس‌ترین ماه از نظر رشد قارچ‌های مولد می‌باشد بوده است.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی و از جنس پایه‌ای – مقطعی می‌باشد. در مهرماه سال ۱۳۹۳ تا آذرماه همان سال دامداری‌های سنتی جهت جمع‌آوری نمونه به ترتیب در ۲ منطقه گاومیش آباد و مشعلی که بر طبق آخرین آمار سازمان جهاد کشاورزی استان خوزستان (سال۱۳۸۷) بیش‌ترین تعداد راس گاومیش‌های اهواز را دارا بودند(۲۷)، انتخاب شدند. هر ماه از دو دامداری انتخابی (دارای بیش‌ترین راس گاومیش در دو منطقه مذکور) ۱۰ بطری ml ۱۲۰ شیر جمع‌آوری شد. بطری‌ها در شرایط سرد و دور از نور آفتاب نگهداری ($4\ ^0c$) شدند و سپس به آزمایشگاه منتقل و تحت دمای $-20\ ^0c$ در فریزر نگهداری گردیدند. به این ترتیب ۶۰ نمونه شیر در ۳ ماهه فصل پاییز (مهر، آبان، آذر) جمع‌آوری شد. همه نمونه‌ها با شرایط یکسان از فریزر خارج شدند و سپس مورد آنالیز قرار گرفتند.

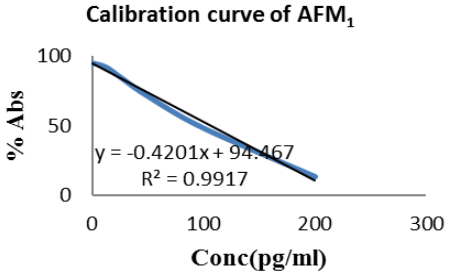
جهت آماده‌سازی نمونه‌های شیر سرد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت $2000 \times g$ در $4\ ^0c$ سانتریفیوژ شدند و سپس توسط یک کاردک، چربی روی سطح شیر زا حذف شد. در انتها µl ۱۰۰ از شیر بدون چربی جهت آنالیز الایزا جداسازی شد. بعد از آماده‌سازی معرف‌ها بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده (EuroProxima B.V. –

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

ساخت کشور هلند) محتویات هر یک از چاهک‌ها با برگرداندن پلیت‌های میکروتیتر با یک حرکت کوتاه عمودی خالی و چاهک‌ها با ۳۰۰ µl از محلول شستشو پر شد. این چرخه شستشو ۳ بار تکرار گردید. پلیت‌ها و چاهک‌ها توسط حرکت عمودی سریع خالی شدند. پلیت روی دستمال گذاشته شد و با حرکتی محکم تکانده شد. سپس باقی مانده محلول شستشو از پلیت خارج شد. جهت سنجش میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر از دستگاه الیزا (رقابتی) استفاده گردید به این ترتیب که 100 µl استاندارد بافر رقیق‌کننده در چاهک A_1 (بلانک) و ۱۰۰µl استاندارد صفر در چاهک B_1 ریخته شد. سپس ۱۰۰µl محلول استاندارد آفلاتوکسین M_1 در چاهک C_1 تا H_1 به میزان ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ ، ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ pg/ml ریخته شد و ۱۰۰µl از هر نمونه محلول در مابقی چاهک‌های میکروتیتر پلیت تزریق گردید و پلیت میکروتیتر برای چند ثانیه کوتاه تکان داده شد و به مدت ۱ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه گردید. سپس محلول از میکروتیتر پلیت تخلیه شد و ۳ بار توسط بافر شستشو، شستشو داده شد. در ادامه کار ۱۰۰µl از کنژوگه(Aflatoxin M1-HRP) به همه چاهک‌ها جز چاهک A_1 تزریق گردید و پلیت میکروتیتر برای چند ثانیه کوتاه تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه گردید و دوباره محلول از میکروتیتر پلیت تخلیه شد و ۳ بار توسط بافر شستشو، شستشو داده شد. سپس ۱۰۰ µl از محلول سوبسترا نیز در هر چاهک ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه گردید. در انتها نیز ۱۰۰ µl از محلول متوقف‌کننده واکنش به هر چاهک اضافه شد و میزان جذب بلافاصله در طول موج ۴۵۰ nm خوانده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار spss16 و آزمون آماری ANOVA انجام شد. به دلیل این که در داده‌های مربوط به گروه‌ها طبق تست همسان‌سازی، واریانس‌ها برابر نبودند از آزمون Welch به منظور مقایسه ماه‌های مهر، آبان و آذر استفاده شد و هم‌چنین برای مقایسه دو به دو بین ماه‌ها از تست Tamhanes استفاده شد. P به عنوان سطح معنی‌دار درنظر گرفته شد.

یافته ها

بر طبق منحنی استاندارد به دست آمده برای اندازه‌گیری غلظت آفلاتوکسین M_1 از غلظت‌های تلفیقی (pg/ml) به عنوان سطر افقی و درصد جذب (در طول موج ۴۵۰ ng) به عنوان ستون عمودی، منحنی با ضریب همبستگی بالای ۹۹درصد به دست آمد (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: منحنی استاندارد به دست آمده برای اندازه گیری غلظت آفلاتوکسین M_1

جهت بررسی صحت روش الایزا در تعیین مقدار آفلاتوکسین M1، ۶ نمونه آلوده به‌طور تصادفی انتخاب شد. نتایج درصد بازیافت نمونه‌های انتخابی بیش از ۶۰ درصد و کم‌تر از ۱۲۰درصد بود که این نتایج در غلظت‌های کم‌تر از ۱ µg/ml نشانه صحت روش آزمون بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: نتایج بررسی صحت روش الایزا در تعیین مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر

نمونه	بازیافت		
	مشعلی	نمونه	گاومیش آباد
۵	۱۱۴/۱۲	۲	۹۰/۰۲
۱۱	۸۶/۶۵	۱۷	۱۱۷/۱۵
۲۲	۹۲/۱۱	۲۵	۷۳/۲۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

بررسی حساسیت روش الایزا در تعیین مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر دام توسط دو فاکتور حد پایینی تشخیص نمونه‌ها (LOD) و حد تعیین مقدار کمی نمونه‌ها (LOQ) توسط شرکت سازنده کیت تعیین شد(۳۱-۲۸). حدپایینی تشخیص نمونه‌ها (LOD) و حد تعیین مقدارکمی نمونه‌ها (LOQ) به ترتیب ۶ppt>و ۲۰ppt> بود. میانگین غلظت سم آفلاتوکسین M_1 نمونه‌های منطقه گاومیش آباد و مشعلی نیز بررسی شد (جدول شماره۲ و۳). از ۶۰ نمونه ۵۴ نمونه (۹۰ درصد) با محدوده غلظتی بالای حد استاندارد ایران (۱۰۰ ng/l) بوده و محدوده غلظتی در ۶۰ نمونه از ۳۱۲/۲۵۶-۵۵/۲۶ ng/l بود. بیش‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۲۰۹/۴۷ng/l) در شیر دام منطقه مشعلی مربوط به ماه آذر و کم‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۱۳۷/۹۴ng/l) در این منطقه مربوط به ماه مهر بود. هم‌چنین بیش‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۱۷۱/۹۱ng/l) در شیر دام منطقه گاومیش آباد مربوط به ماه آذر و کم‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۱۰۴/۸۳ng/l) در این منطقه نیز مربوط به ماه مهر بود.

جدول شماره ۲: میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 در شیر دام در منطقه مشعلی در ماه های مهر، آبان و آذر سال ۱۳۹۳ (ng/l)

	شهرستان اهواز (منطقه مشعلی)				
ماه	تعداد نمونه ها	تعداد نمونه مثبت	تعداد نمونه های مثبت بالاتر از حد مجاز	انحراف معیار ± میانگین	محدوده آلودگی
مهر	۱۰	۱۰	۱۰	۱۳۷/۹۴ ± ۲۱/۰۳۸	۱۷۹/۱۵-۱۰۳/۸۹
آبان	۱۰	۱۰	۱۰	۱۶۳/۶۹ ± ۴۷/۴۰	۲۵۱/۲۱-۱۰۹/۶۵
آذر	۱۰	۱۰	۱۰	۲۰۹/۴۷ ± ۶۷/۲۳	۳۱۲/۲۵-۱۱۱/۶۸
کل	۳۰	۳۰	۳۰	۱۷۰/۳۷ ± ۵۶/۰۶	۳۱۲/۲۵-۱۰۳/۸۹

جدول شماره ۳: میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 در شیر دام منطقه گاومیش آباد در ماه های مهر، آبان و آذر سال ۱۳۹۳ (ng/l)

	شهرستان کارون (منطقه گاومیش آباد)				
ماه	تعداد نمونه ها	تعداد نمونه مثبت	تعداد نمونه های مثبت بالاتر از حد مجاز	انحراف معیار ± میانگین	محدوده آلودگی
مهر	۱۰	۱۰	۶	۱۰۴/۸۳ ± ۳۲/۶۹	۱۷۵/۲۳-۵۵/۲۶
آبان	۱۰	۱۰	۸	۱۴۷/۶۲ ± ۴۷/۸۰	۲۲۲/۹۵-۹۱/۸۶
آذر	۱۰	۱۰	۱۰	۱۷۱/۹۱ ± ۴۸/۸۳	۲۷۷/۲۴-۱۱۷/۱۲
کل	۳۰	۳۰	۲۴	۱۴۱/۴۵ ± ۵۰/۷۶	۲۷۷/۲۴-۵۵/۲۶

بیش‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۱۹۰/۶۹ ng/l) در شیر دام دو منطقه مربوط به ماه آذر و کم‌ترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 (۱۲۱/۳۹ng/l) مربوط به ماه مهر بود. نتایج آزمون آماری نشان داد اختلاف میانگین آفلاتوکسین M_1موجود در خوراک دام نمونه‌های مربوط به ماه‌های مهر و آبان و مهر و آذر معنی‌دار بوده است($p<۰/۰۵$). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین میانگین آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های دو منطقه مشعلی و گاومیش آباد وجود داشت ($p<۰/۰۵$). میانگین آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های دومنطقه مشعلی و گاومیش آباد در ماه مهر، آبان و آذر به ترتیب ۳۱/۶۹ ± ۱۲۱/۳۹، ۴۷/۰۶ ± ۱۵۵/۶۵و ۶۰/۳۴ ±۱۹۰/۶۹ بود. هم‌چنین میانگین سم در نمونه‌های هر دو منطقه در سه ماهه فصل پاییز ۵۴/۹۸ ± ۱۵۵/۹۱به دست آمد.

بحث

منشا تمامی آفلاتوکسین‌ها در فرآورده‌های حیوانی اغذیه آلوده به سم بوده و حیوانات شیرده آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 را از طریق غذای آلوده به صورت آفلاتوکسین M_1 و M_2 به شیر منتقل می‌کنند و سلامت انسان را به خطر می‌اندازند. بنابراین پایش و پیشگیری در این زمینه حایز اهمیت است.گاومیش‌داری‌های سنتی نقش مهمی در تامین محصولات لبنی استان خوزستان دارند و شرایط آب و هوایی این استان جهت رشد انواع قارچ‌ها مناسب می‌باشد.

در این مطالعه دو منطقه گاومیش آباد و مشعلی که بر طبق آمار سال ۱۳۸۷ سازمان جهاد کشاورزی خوزستان در رتبه اول و دوم از نظر تعداد رئوس گاومیش و تولید شیر گاومیش قرار گرفته‌اند، مورد بررسی قرار گرفت. از این نظر که فصل پاییز به دلیل فاصله زمانی طولانی تا زمان برداشت محصولات کشاورزی و شرایط رطوبت و دمای مناسب جهت رشد قارچ‌های مولدحساس‌ترین فصل می‌باشد، ماه‌های این فصل مورد بررسی قرار گرفت(۳۲). دراین مطالعه کم ترین میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 (۱۰۴/۸۳ ng/l) مربوط به منطقه گاومیش آباد در ماه مهر و بیش‌ترین میانگین غلظت آلودگی (۲۰۹/۴۷ ng/l) مربوط به منطقه مشعلی در ماه آذر بود که علت اصلی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

آلودگی خوراک دام به آفلاتوکسین B_1 بود. هم‌چنین همان‌طورکه در نتایج نشان داده شد میزان سم در نمونه‌های شیر دو منطقه با کاهش دما در فصل پاییز افزایش یافت که نشان‌دهنده تاثیر مثبت کاهش دما در رشد قارچ‌های مولد سم آفلاتوکسین B_1 موجود در خوراک دام بود. (۳۲،۳۰،۲۹).

Zheng و همکاران در سال ۲۰۱۳ در کشور چین وجود آفلاتوکسین M_1 در ۱۵۳نمونه شیر استریلیزه را ارزیابی نمودند. در ۵۴/۹۷ درصد از نمونه‌های شیر استریلیزه، میزان AFM_1 با غلظت ۰/۱۶-۰/۰۰۶ µg/L تشخیص داده شد. علاوه بر این ۹۶/۲درصد نمونه های شیر پاستوریزه از نظر تست AFM_1 مثبت بودند. سطح غلظت نیز ۰/۰۲۳ µg/L تا ۰/۱۵۴ بود(۳۳). در حالی که در مطالعه حاضر همه نمونه‌ها از نظر تست مثبت بوده و سطح آفلاتوکسین M_1 در محدوده پایین‌تری بود که این تفاوت به دلیل شرایط نگهداری بسیار نامناسب خوراک دام در مطالعه Zheng و همکاران(۳۳) بود.

Siddappa و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کشور هند وجود آفلاتوکسینM1 را در بعضی از نمونه های شیر استریلیزه، خام و پاستوریزه در ایالت‌های کارناتاکا و تامیلنادو بررسی نمودند. میزان سم در ۳۸ درصد آن‌ها بیش تر از حد مجاز تعیین شده توسط کدکس و قوانین الزامی کشور هند، (مقررات FSSAI (۲۰۱۱) بود (سطح ۰/۵ میکروگرم در لیتر) و در ۶۲/۵ درصد از شیرهای استریلیزه، میزان AFM_1 تشخیصی پایین‌تر از حد مجاز بود (۰/۰۲ میکروگرم در لیتر)(۳۴). آفلاتوکسین M1 در ۶۱/۶ درصد از ۵۲ نمونه شیر خام آنالیز شده دو ایالت کارناتاکا و تامیلنادو با محدوده غلظتی ۰/۱ تا ۳/۸ میکروگرم در لیتر بود و در ۱۷/۳درصد از این نمونه‌ها میزانAFM1 بالاتر از حد مجاز کشور هند (۵۰۰ میکروگرم در لیتر) بود. در حالی که در مطالعه حاضر محدوده غلظتی در شیر خام گاومیش‌ها پایین‌تر بود (۰/۲-۰/۱ میکروگرم در کیلوگرم) و در مقایسه با استاندارد کشور هند در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها سطح آلودگی پایین‌تر از حد مجاز کشور هند بود که این تفاوت سه دلیل عمده شامل شرایط آب و هوایی متفاوت هندوستان و اهواز، نوع خوراک دام مصرفی و شرایط برداشت و نگهداری خوراک دام داشت.

در مطالعه‌ای که در ترکیه توسط unusan و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی ۱۲۹ نمونه شیر پاستوریزه انجام شد ۷۵ نمونه شیر آلوده به آفلاتوکسین M_1 بودند و میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_1 ۱۰۸/۱۷ ng/l بود(۳۵). در حالی که در مطالعه حاضر میانگین آلودگی در شیر بالاتر بوده که این خود می‌تواند به دلیل شرایط آب و هوایی متفاوت (دما و رطوبت) در ترکیه و اهواز و تاثیر فاکتورهای محیطی به خصوص دما و رطوبت هوا بر رشد قارچ های مولد سم در جیره غذای دام باشد.

صادقی و همکاران در سال ۱۳۹۱ میزان آفلاتوکسین M_1 را در شیر خام، پاستوریزه و استریلیزه بررسی نمودند. نتایج مطالعات در رابطه با میزان آفلاتوکسین بیش از حد استاندارد در شیرهای مختلف متفاوت بود میزان آلودگی در بیش‌تر موارد در فصل سرد بیش از فصل گرم بود(۳۶) که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت.

صادقی و همکاران در سال ۱۳۸۹ میزان آفلاتوکسین M_1 موجود در شیرخام جمع آوری شده برای تحویل به کارخانه شیر پاستوریزه کرمانشاه را ارزیابی نمودند. در ۲۹۵ نمونه میزان آفلاتوکسین از استاندارد کدکس (۰/۵ میکروگرم در لیتر) بالاتر بود. میانگین کل ۱/۲۱ µg/L بود که بیش از دو برابر استاندارد کدکس بود. بالاترین میزان آفلاتوکسین M_1 مربوط به فصل بهار و کم‌ترین میزان مربوط به فصل پاییز بود و بین میزان آلودگی به سم آفلاتوکسین M_1 و فصول تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p< ۰/۰۵$)(۳۷). در مطالعه حاضر نیز میزان آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در ۶۰ نمونه آنالیز شده از استاندارد کدکس بالاتر بوده و میانگین آلودگی ۱/۵۹ یعنی بیش از سه برابر استاندارد کدکس بود. هم‌چنین بالاترین میزان آلودگی مربوط به ماه سردتر (آذر ماه) و کم‌ترین میزان نیز مربوط به ماه گرم‌تر (مهرماه) بود و میانگین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

آلودگی فقط بین ماه‌های مهر و آذر معنی‌دار بود($p<۰/۰۵$).

در مطالعه‌ای که توسط عزیزی و همکاران در سال ۸۷ در بابل صورت گرفت میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 شیر پاستوریزه در ماه‌های دی، بهمن و اسفند همگی صد درصد بود و میانگین آن به ترتیب ۲۲۲/۲۳۴،۷۱/۱۲ و ۲۳۴/۶۷ng/l (متوسط ۲۳۰/۵) مشخص گردید و میانگین آن برای شیر استریلیزه ۲۲۱/۶۶ng/l مشخص شد(۳۸). در مطالعه حاضر صد درصد نمونه‌های شیر گاومیش نیز آلوده به آفلاتوکسین M_1 بوده و میانگین آلودگی در منطقه گاومیش آباد در سه ماهه متوالی ۱۴۹/۳۳ng/lو در منطقه مشعلی ۱۶۸/۸۱ng/l بود. هم‌چنین میانگین دو منطقه در سه ماهه متوالی ۱۵۹/۰۷ ng/l بود که از میانگین آلودگی در بررسی عزیزی و همکاران(۳۸) کم‌تر بود. زیرا مطالعه عزیزی و همکاران(۳۸) در فصل زمستان صورت گرفته و فاصله نگهداشت خوراک دام از زمان برداشت بیش‌تر بود و قارچ‌ها زمان بیش‌تری جهت رشد در غذای دام پیدا نموده و به تناسب رشد بیش‌تر قارچ‌ها سم بیش‌تری در جیره تولید و به شیر دام منتقل یافته است. هم‌چنین شرایط نگهداری و نوع غذای مصرفی نیز در میزان این اختلاف حایز اهمیت بوده است. بین دو منطقه مشعلی و گاومیش آباد واقع در دو شهرستان اهواز و کارون میزان رشد میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 در منطقه مشعلی به نسبت گاومیش آباد بیش‌تر بود که این خود دو علت عمده داشت. دلیل نخست نوع ماده غذایی مصرفی در دو منطقه بود که به صورت مخلوط استفاده می‌شد. در مشعلی از مخلوط تفاله نیشکر، کاه و سبوس برنج استفاده می‌شد در حالی که در گاومیش آباد این مخلوط حاوی تفاله نیشکر، سبوس گندم بود. جیره غذایی منطقه مشعلی حاوی سبوس برنج بود و جیره غذایی منطقه مشعلی حاوی سبوس برنج بود و نتایج نشان داد که این محصول نیز جزء آلوده‌ترین منبع غذایی دام‌ها در منطقه اهواز بوده است که البته علت این امر را می‌توان در میزان بالای چربی سبوس برنج دانست. این محصول بر خلاف سبوس گندم که حدود ۴ تا ۵ درصد چربی دارد دارای ۱۱ تا ۱۸درصد چربی است. این چربی نیز عمدتاً غیر اشباع بوده و به سرعت دچار فساد می‌گردد(۳۹). دلیل دوم تفاوت در روش نگهداری خوراک دام بود. در گاومیش آباد مواد غذایی در کیسه‌ها و روی پالت در انبار نگهداری می‌شد در حالی که در مشعلی نگهداری خوراک دام روی زمین و جای مرطوب انجام می‌گرفت و این خود به شرایط رشد قارچ‌های مولد سم کمک شایانی می‌نمود.

بنابر نتایج به دست آمده حاصل از مطالعه حاضر و مطالعات دیگر در این زمینه پایش و کنترل در کلیه فصول به خصوص پاییز و تابستان(به دلیل رطوبت بالا در پائیز و دمای بالا در تابستان) بسیار حایز اهمیت است(۴۰). با بررسی‌های انجام شده در دو منطقه نامبرده (مشعلی و گاومیش آباد خوزستان) بین نوع جیره غذایی با میزان سم آفلاتوکسین موجود در شیر رابطه تنگاتنگی وجود دارد. بنابراین باید جایگزینی برای خوراک دام پر خطر از جمله سبوس برنج با اغذیه کم خطر (آرد گندم، کنجاله آفتابگردان و غیره) در نظر گرفته و خوراک دام را درشرایط بهداشتی نگهداری نمود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد است که در چارچوب طرح تحقیقاتی به شماره ETRC9302 مصوب مرکز تحقیقات فناوری‌های زیست محیطی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور انجام شد. بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز تحقیقات و فناوری های زیست محیطی و معاونت توسعه پژوهش و فناوری دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز که زمینه لازم را برای این تحقیق فراهم آوردند، اعلام می نمایند.

References

1. Ellen CH. Patulin: a mycotoxin in apples. Perishables Handling Quarterly 1997; 91: 5-6.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

2. Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM. Food mycotoxins: an update. J Food Sci 2006; 71(5): R51-R65.
3. Elik TH, Sarimehmetoglu B, Kuplulu O. Aflatoxin M1 contamination in pasteurised milk. Veterinarski Arhiv 2005; 75(1): 57-65.
4. Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicol Lett 2002; 127(1-3): 19-28.
5. Faletto M, Koser P, Battula N, Townsend G, Maccubbin A, Gelboin H, et al. Cytochrome P3-450 cDNA encodes aflatoxin B1-4-hydroxylase. J Biol Chem 1988; 263(25): 12187-12189.
6. Pazoki M, Takdastan A, Jaafarzadeh A. Investigation of minimization of excess sludge production in sequencing batch reactor by heating some sludge. Asian Journal of Chemistry 2010; 22(3): 1751-1756.
7. Cullen JM, Ruebner BH, Hsieh LS, Hyde DM, Hsieh DP. Carcinogenicity of dietary aflatoxin M1 in male Fischer rats compared to aflatoxin B1. Cancer Res 1987; 47(7): 1913-1917.
8. Eaton DL, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1994; 34(1): 135-172.
9. Koser PL, Faletto M, Maccubbin A, Gurtoo H. 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 Biol Chem 1988; 263(25): 12584-12595.
10. Fazelipour Mو Takdastan A, Sekhavatjo M. 2011, Survey on chlorine application in equencing batch reactor waste sludge in order to sludge minimization. Asian Journal of Chemistry 2011; 23(6): 2994-2998.
11. Park DL. Effect of processing on aflatoxin. Adv Exp Med Biol 2002; 504: 173-179.
12. Rustom IY. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. Food Chem 1997; 59(1): 57-67.
13. Tadi PP, Teel RW, Lau BH. Organosulfur compounds of garlic modulate mutagenesis, metabolism, and DNA binding of aflatoxin B1. Nutr Cancer . 1991; 15(2): 87-95.
14. Bommakanti AS, Waliyar F. Importance of Aflatoxins in human and livestock health. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics: Telangana, India; 2000.
15. Cassel EK. Aflatoxins, Hazards in Grain: Aflatoxicosis and Livestock: South Dakota State University; 2001.
16. Allame AA, Razzaghi Abyane M. Mycotoxins: University Emam Hosiyn Spreading Abroad; 2000.
17. Hwang J, Chun H, Lee K. Aflatoxins in foods-analytical methods and reduction of toxicity by physicochemical processes. Appl Biol Chem 2004; 47(1): 1-16.
18. Commission CA. Comments submitted on the draft maximum level for aflatoxin M1 in milk. Codex Committee on Food Additives and Contaminants 33rd Session, Hague, The Netherlands Commission Regulation (EC) No. 2001; 257.
19. Commission E. Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001. setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Brussels: European Commission; 2001.
20. Commissions CA. Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk. Codex Committee on foog Addites and Contaminant 33rd sessions, Hauge, the Netherlands 2001.
21. Iran IoSaIRo. Maximum validity Maycotoxins in human food. Iran IoSaIRo: Karaj, 2001.
22. Aycicek H, Aksoy A, Saygi S. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. Food Control 2005; 16(3): 263-266.
23. Cole RJ. Modern methods in the analysis and

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

structural elucidation of mycotoxins. Florida: Academic Press; 2012. p. 415-457.

24. 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 Control 2004; 15(4): 287-290.
25. Rodriguez Velasco M, Calonge Delso M, Ordonez Escudero D. ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M 1 in raw cow's milk. Food Addit Contam 2003; 20(3): 276-280.
26. Yaroglu T, Oruc H, Tayar M. Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. Food Control 2005; 16(10): 883-885.
27. Available from: http://www.kaj.maj.ir/portal/home/default.aspx. Accessed December 11, 2015.
28. Khaksar R, Karim G, Kamkar A, Shojaee F, Ferdousi R, Bokaii S, et al. Validation method for measuring Of aflatoxin M1 in Iranian white cheese By using of high-performance liquid chromatography and purification with immunoaffinity columns. Iran J Nutr Sci Food Technol 2008;4(1): 73-78.
29. ISIR Org. Milk and milk powder-Determination of aflatoxin Ml content -Clean up by immunoaffonity chromatography and determination by high performance liquid chromatography-test Method. 7133. ISIR Org, 1998.
30. Long GL, Winefordner JD. Limit of detection A closer look at the IUPAC definition. Anal Chem 1983; 55(7): 712A-724A.
31. Millar JN, Miller JC. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. 6th ed. Hrlow: Prentice Hall; 2000.
32. Ibrahim R, kargar AR, Zamani F. Assess the level of aflatoxin B1 in animal feed, dairy cattle farms in the province of Chahar Mahal and Bakhtiari. Pajohesh and Sazandegi 2008; 79: 66-71.
33. Zheng N, Sun P, Wang J, Zhen Y, Han R, Xu X. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk and pasteurized milk in China market. Food Control 2013; 29(1): 198-201.
34. Siddappa V, Nanjegowda DK, Viswanath P. Occurrence of aflatoxin M 1 in some samples of UHT, raw & pasteurized milk from Indian states of Karnataka and Tamilnadu. Food Chem Toxicol 2012; 50(11): 4158-4162.
35. Unusan N. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. Food Chem Toxicol 2006; 44(11): 1897-1900.
36. Takdastan A, Mehrdadi N, Torabian A, Azimi AA. Investigation of excess biological sludge reduction in sequencing Bach reactor Journal Asian Journal of Chemistry 2009; 21(3): 2419-2423.
37. Sadeghi E, Almasi A, Bohloli Oskoi, Mohammadi M. to assess the level of aflatoxin M1 in raw milk collected for the delivery of milk to the factory in Kermanshah in 2015. Zahedan J Res Med Sci 2010 (in Press).
38. Azizi G, Khoushnevis SH, Hashemi SJ. Aflatoxin M1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran Univ Med J (TUMJ) 2008; 65(13): 20-24.
39. Takdastan A, Azimi A. Jaafarzadeh N. Biological excess sludge reduction in municipal wastewater treatment by chlorine. Asian Journal of Chemistry 2010; 22(3): 1665-1670.
40. Ersali AA, Bahaodin Beigi F, Ghasemi R. Aflatoxin transfer from animal feed to milk and pasteurized milk in the city of Shiraz and around. J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci 2009; 17(3): 183-175.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]