

میزان سم آفلاتوکسین M1 در شیرهای گاو محلی و پاستوریزه شهرستان خرم آباد به روش HPLC

افشین نظری¹، حسین نوروزی²، محمد موحدی³، مجتبی خاکساریان¹

1- مربی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

2- استادیار، گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

3- استادیار، گروه اپیدمیولوژی ژنتیک دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره نهم / شماره 3 / پاییز 86 / مسلسل 33

چکیده

دریافت مقاله: 86/5/27، پذیرش مقاله: 86/7/29

مقدمه: آفلاتوکسین M1 فرم هیدروکسیله آفلاتوکسین B1 سمی است از قارچ آسپرژیلوس فلاووس که از طریق علوفه و نان کپک زده آلوده به این قارچ وارد بدن گاو یا سایر حیوانات علفخوار می شود و سپس در شیر ترشح می شود و دارای قدرت کارسینوژنیک قوی در کبد و کلیه می باشد. شیر که از پر مصرف ترین مواد غذایی در انسانها می باشد در معرض آلودگی زیادی به آن قرار دارد.

مواد و روشها: 42 نمونه از شیرهای محلی مراکز جمع آوری شیر و 40 نمونه از شیرهای پاستوریزه توزیع شده در شهرستان خرم آباد در سال 1384 در دو فصل تابستان و زمستان، از نظر سم آفلاتوکسین M1 (AFM1) با روش HPLC و ستونهای ایمنوآفینیتی بررسی شدند.

یافتهها: 5 درصد نمونه های محلی در فصل تابستان با محدوده سمی 0/046 - 0/017 ng/ml و تمام نمونه های محلی فصل زمستان (100 درصد) با محدوده 0/003-0/041 ng/ml آلودگی به سم AFM1 را نشان دادند. همچنین در نمونه های پاستوریزه، در تابستان، 55 درصد با محدوده سمی 0/017-0/533 ng/ml و تمام نمونه های زمستان با محدوده 0/005-0/054 ng/ml آلودگی به سم AFM1 را نشان دادند. از تمام نمونه ها در 2 فصل فقط یک نمونه با غلظت ng/ml 0/533 از پاستوریزه های تابستان بیشتر از حد مجاز بود و بقیه نمونه ها کمتر از این حد را نشان دادند. میانگین آلودگی در نمونه های پاستوریزه و محلی در دو فصل تفاوت معنی دار نداشتند.

بحث و نتیجه گیری: در نهایت نتایج حاصل از این پژوهش وجود آلودگی به سم AFM1 را در شیرهای پاستوریزه و محلی شهرستان خرم آباد را مطرح می کند هر چند که لزوم بررسی بیشتر توصیه می شود

کلید واژهها: آفلاتوکسین M1، شیر محلی، شیر پاستوریزه، خرم آباد، HPLC

مقدمه

آفلاتوکسین متعلق به گروهی از متابولیت‌های ثانویه قارچی میکو توکسینها است و به طور عمده توسط آسپرژیلوس فلاووس یا آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می شود (1). قارچ آسپرژیلوس فلاووس به عنوان آلوده کننده های انواع مختلف غذاهای حیوانی و انسانی شناخته شده است (2). آفلاتوکسین گروهی از میکوتوکسین ها است که دارای آثار موتاژنیک، سرطانزایی و سرکوب کننده سیستم ایمنی می باشد (3). تقریباً 20 نوع آفلاتوکسین از متابولیت قارچهایی مانند آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پاراسیتیکوس و آسپرژیلوس نومینوس به وجود می آید. اگر چه فقط آفلاتوکسینهای G1, B2, B1 و G2 در غذاها یافت می شود که در این میان B2 و G2 مشتقات هیدروکسیله ترکیبات اصلی شان می باشند. در این میان آفلاتوکسین B1 جزء پر قدرت ترین آنها محسوب می شود. (4) این سموم می توانند در مواد غذایی خام مانند حبوبات، غلات، آجیل، گردو، فندق، ادویه جات، انجیر و میوه های خشک بوجود آیند. آفلاتوکسین M1 متابولیت هیدروکسیله آفلاتوکسین B1 می باشد و وقتی حیوانات اهلی مانند گاوها یا دیگر گیاهخواران خوراک آلوده به میکوتوکسین ها را مصرف می کنند آفلاتوکسین B1 تا حدودی جذب و به کبد منتقل و در آنجا توسط سیتوکروم P450A2 متابولیزه و به ترکیبات هیدروکسیله تبدیل و وارد جریان خون سیستمیک می شوند و سپس توسط ادرار، صفرا یا شیر از بدن خارج می شود (5) و باعث آلودگی دیگر محصولات لبنی مانند پنیر و ماست می شود (6). آفلاتوکسین M1 دارای قدرت کارسینوژنیک قوی در کبد و کلیه می باشد (2). روشهای آنالیزی مورد استفاده در سنجش مقدار آفلاتوکسین بر پایه TLC¹، HPLC² و ELISA³ می باشد. در بین این روشها استفاده از HPLC برای اندازه گیری سم از حساسیت خاصی برخوردار است و برای آن از روش فاز معکوس استفاده می شود. روزانه مقدار زیادی ضایعات نان کپک زده در سراسر کشور

جمع آوری و مورد استفاده دامها به خصوص گاو می شود که این موضوع به طور غیر مستقیم می تواند سبب آلودگی شیر و گوشت گاوها و گوسفندها شود (7). با توجه به موارد فوق و اهمیت موضوع به لحاظ آنکه بهداشت جسمانی و روانی افراد جامعه با سلامت غذا ارتباط نزدیک دارد و از آنجایی که لبنیات از جمله شیر که از پر مصرف ترین مواد غذایی مردم از جمله شهرستان خرم آباد می باشد و در معرض آلودگی فراوان به سم آفلاتوکسین M1 از قارچ آسپرژیلوس فلاووس است که این قارچ به میزان زیاد از طریق علوفه (خشک و مرطوب) و نانهای خشک کپک زده وارد بدن گاو می شود. روی این اصل لازم دیدیم شیر محلی و پاستوریزه از نظر مقدار سم آفلاتوکسین مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

این تحقیق نوعی مطالعه توصیفی تحلیلی بود و نمونه گیری از طریق سرشماری صورت گرفت و نمونه ها از 21 مرکز جمع آوری شیر شهرستان خرم آباد از 182 روستای حومه تامین شد. ابتدا با مراجعه به مراکز جمع آوری شیر در طول ایام ماه (اول، وسط و اواخر ماه) در دو فصل تابستان و زمستان با استفاده از ظرفهای مخصوص، در بسته و استریل نسبت به برداشت نمونه شیر اقدام و بلافاصله نمونه ها را در فلاکس حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفوژ و جدا کردن چربی آنها، تا هنگام آنالیز در یخچال و دمای 22- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. همچنین همگام با نمونه گیری شیر محلی، شیر پاستوریزه در طول ایام ماه (اول، وسط و اواخر ماه) در دو فصل تابستان و زمستان به تعداد 20 نمونه در هر فصل در سطح شهر جمع آوری شد.

نمونه شیر منجمد شده قبل از استفاده توسط حمام آب گرم 37 درجه سانتیگراد گرم و سپس با سانتریفوژ مجدد با دور 2000 به مدت 10 دقیقه چربی اضافه آن گرفته شد. سپس از

1. Thin layer Chromatography
2. Height Performance Liquid Chromatography
3. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

[محلول استونیتریل آب 25 درصد (250 سی سی استونیتریل + 750 سی سی آب مقطر)] حل گردید.

متد HPLC

این روش بر اساس کروماتوگرافی با معکوس است. مواد مورد نیاز شامل آفلاتوکسین M1 (R-Biopharm France)، استونیتریل و اتانول مخصوص HPLC، کلروفرم، آب مقطرو گاز نیتروژن بود. سیستم HPLC با شناساگر فلوروسنس Water 2475 با تحریک پذیری 360 نانومتر و با خروج 440 نانومتر و ستون بکار رفته ODS (اکتاد سیل سیلان) $4/6 \times 250$ میلی متر به اضافه ستون محافظ بود.

سرعت عبور فاز متحرک توسط پمپ Water 1525 به میزان 8 ml/min بود. قبل از انجام کار خطی بودن منحنی کالیبراسیون و پایداری سیستم کروماتوگراف چک شد. به دفعات زیاد غلظت ثابتی از آفلاتوکسین M1 تزریق تا ارتفاع و سطح زیر منحنی ثابتی از سم با تفاوت $\pm 5\%$ به دست آمد. جهت ترسیم منحنی کالیبراسیون غلظتهای متفاوت و متوالی 0/1، 0/2، 0/5، 1، 2، 2/5، 5، 7/5، 10، از محلول استاندارد آفلاتوکسین M1 تهیه و تزریق شد و با توجه به سطح زیر نمودار، منحنی کالیبراسیون ترسیم شد. 200 میکرولیتر از محلول آماده شده به دستگاه تزریق شد. برای صحت داده ها بعد از هر 10 تزریق یک غلظت از محلول کالیبره تزریق شد. با توجه به سطح زیر منحنی پیک و قرار دادن در منحنی کالیبراسیون غلظت سم بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر مشخص شد.

نمونه ها پس از تعیین غلظت در هر گروه با استفاده از نرم افزار SPSS STATA Version 8 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین غلظت سموم در فصول مختلف در نمونه های محلی و پاستوریزه بر حسب $MEAN \pm SD$ نمایش داده شدند. برای مقایسه میانگین سموم در هر گروه در دو فصل از آزمون t student استفاده شد. P Value کمتر از 0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یک یا چند فیلتر کاغذی (Watman) عبور داده شد. آفلاتوکسین M1 توسط عبور از ستونهای ایمنوآفینیتهی استخراج شد. این ستونها حاوی آنتی بادی هایی بودند که به مواد داخل ستون متصل و وقتی که نمونه از ستون حرکت کرد آنتی بادیها به طور انتخابی به آنتی ژن آفلاتوکسین متصل و تشکیل آنتی بادی - آنتی ژن نمودند. دیگر ترکیبات نمونه ماتریکس شسته و خارج شدند. سپس آفلاتوکسین M1 به وسیله استونیتریل خالص از ستون خارج شد. بعد محلول خارج شده تغلیظ و مقدار سم توسط کروماتوگرافی مایع پیشرفته (HPLC) با آشکار ساز فلوریمتریک شناسایی شد. روش کار بر اساس استاندارد IDF 171:1995 انجام شد (8). برای تهیه محلول استوک، 50 μlit محلول کالیبره با غلظت 10 $\mu\text{g/ml}$ آفلاتوکسین M1 در کلروفرم توسط سرنگ هاملتون به داخل ویال منتقل و توسط جریان گاز نیتروژن خشک شد سپس باقیمانده در 500 μlit استونیتریل خالص حل و ورتکس شد. این محلول در ویال ضد نور و حرارت زیر 80 - درجه سانتیگراد نگهداری شد.

جهت آماده سازی نمونه به ستونهای ایمنوآفینیتهی اجازه داده شد که به حرارت محیط برسند سپس سرنگ های مخزن دار را به انتهای ستون متصل و مقدار 50 سی سی نمونه آماده شده آزمایش توسط پمپ به سرنگ مخزن دار اضافه شد و اجازه داده شد که نمونه به آهستگی با جریان 2-3 میلی لیتر در دقیقه از ستون عبور نماید. همچنین این عمل توسط جاذبه سیستم مکنده قابل کنترل بود. سپس سرنگ خارج و ستون با 20 سی سی آب مقطر با جریان ثابت شستشو داده شد. بعد از این مرحله با فشار هوا ستون خشک گردید. بعد سرنگ مخزن دار دیگری قرار داده شد و آفلاتوکسین M1 با عبور 4 سی سی استونیتریل خالص با جریان ثابت و آهسته از ستون جدا گردید. استونیتریل حداقل 60 ثانیه با ستون در تماس بود. محلول به دست آمده به لوله های مخروطی منتقل و با جریان ملایم نیتروژن خشک شد و باقیمانده در 200 μlit فاز متحرک

نتایج

شناسایی منحنی آفلاتوکسین M1 در نمونه شیراز دو طریق قابل شناسایی بود. اول آنکه زمان بازداری¹ یکسانی با استانداردهای شناخته شده داشتند و راه دوم اینکه نسبت جذب در طول موج مناسب، با ترکیبات شناخته شده یکسان بود. میانگین زمان بازداری سم با انحراف معیار آن $0/17 \pm 6/12$ دقیقه بود (کروماتوگرام 1). منحنی کالیبراسیون دارای معادله $y=5E+06x-27031$ بود. خطی بودن منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظت های بکار رفته از نظر آماری مطلوب بود ($R^2=0/9988$). برای بررسی صحت آزمون مقدار معینی از ماده آلاینده $0/26$ ppb، 4 بار مورد آزمون قرار گرفت و این چهار آزمون در حدود قابل قبول قرار داشتند و درصد بازیافت با افزودن نمونه های استاندارد آفلاتوکسین M1 در دو غلظت $0/5$ و $0/05$ ppb به نمونه شیر و درصد بازیافت آن مشخص گردید. که برای غلظت $0/5$ ppb، $68/8$ درصد و $0/05$ ppb، $81/58$ درصد بود.

تعیین میزان سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر محلی شهرستان خرم آباد در فصل تابستان 1384

میانگین سم در کل نمونه ها $0/0125 \pm 0/006$ ng/ml (انحراف معیار \pm میانگین) بود و از 21 نمونه مورد آزمایش آفلاتوکسین M1 فقط در 5 نمونه (شماره 1، 10، 11، 14 و 20) مشاهده شد و بیشترین غلظت مربوط به نمونه 10 با غلظت $0/046$ ng/ml بود. غلظت سم در $76/19$ درصد کل نمونه ها کمتر از $0/003$ ng/ml بود که در جدول، صفر منظور گردید (جدول 1).

تعیین میزان سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر محلی شهرستان خرم آباد در فصل زمستان 1384

میانگین سم در کل نمونه ها $0/009 \pm 0/012$ ng/ml (انحراف معیار \pm میانگین) بود و در تمام نمونه ها مورد آزمایش غلظت آفلاتوکسین M1 بیشتر از $0/003$ ng/ml

مشاهده شد. بیشترین غلظت مربوط به نمونه 3 با غلظت $0/041$ ng/ml بود (جدول 2).

تعیین میزان سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر پاستوریزه شهرستان خرم آباد در فصل تابستان 1384

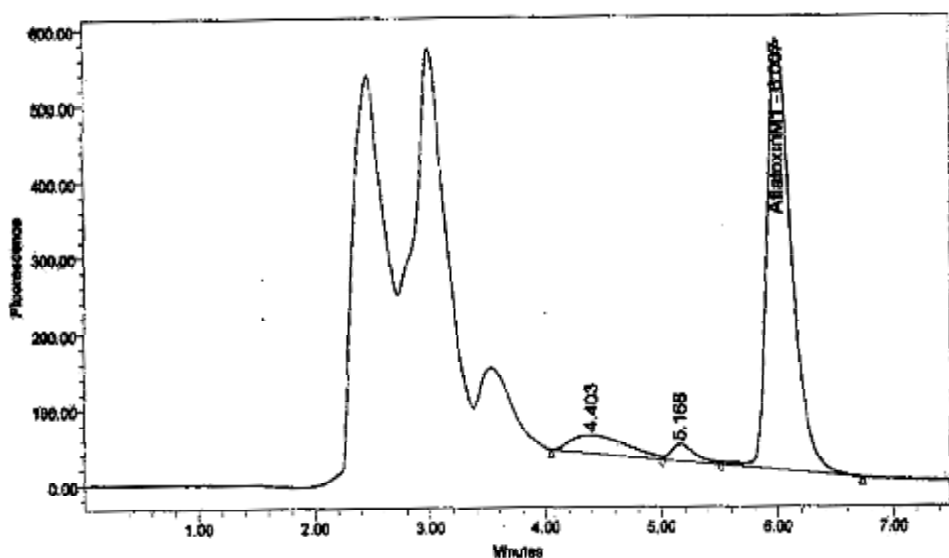
میانگین سم در کل نمونه ها $0/117 \pm 0/037$ ng/ml (انحراف معیار \pm میانگین) بود غلظت سم در 5 درصد نمونه های پاستوریزه در تابستان دارای آلودگی مساوی یا بالاتر از حد مجاز ($0/5$ ppb) بودند و 9 درصد نمونه ها کمتر از $0/003$ ng/ml بود که در جدول، صفر در نظر گرفته شد (جدول 3).

تعیین فراوانی سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر پاستوریزه شهرستان خرم آباد در فصل زمستان 1384

میانگین سم در کل نمونه ها $0/013 \pm 0/021$ ng/ml (انحراف معیار \pm میانگین) بود. در تمام نمونه های مورد آزمایش غلظت آفلاتوکسین M1 بیشتر از $0/003$ ng/ml مشاهده شد. بیشترین غلظت سم $0/054$ ng/ml و کمترین آن $0/005$ ng/ml بود (جدول 4).

مقایسه میانگین آلودگی شیر های محلی و پاستوریزه در دو فصل تابستان و زمستان

تفاوت میانگین آلودگی در نمونه های شیر محلی در دو فصل تابستان با میانگین ($0/0125 \pm 0/006$ ng/ml) و زمستان با میانگین ($0/009 \pm 0/012$ ng/ml) با $P = 0/1$ تفاوت معنی دار از خود نشان نداد. همچنین تفاوت میانگین آلودگی در نمونه های شیر پاستوریزه در دو فصل تابستان با میانگین ($0/117 \pm 0/037$ ng/ml) و زمستان با میانگین ($0/013 \pm 0/021$ ng/ml) با $P = 0/5$ تفاوت معنی دار از خود نشان نداد.



کروماتوگرام 1- استاندارد آفلاتوکسین M1، پیک زمان 6/007 دقیقه را نشان می دهد

جدول شماره 1- میزان سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر محلی شهرستان خرم آباد در فصل تابستان 1384

| | تعداد و درصد نمونه های شیر محلی آلوده به آفلاتوکسین M1 در غلظتهای مشخص شده بر حسب (ng/ml) | | | | | | تعداد کل نمونه های آنالیز شده |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------------------------|
| | 0/046 | 0/024 | 0/023 | 0/021 | 0/017 | 0 | |
| تعداد | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 16 | 21 |
| درصد | 4/76 | 4/76 | 4/76 | 4/76 | 4/76 | 76/19 | 100 |

جدول شماره 2- شیوع سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر محلی شهرستان خرم آباد در فصل زمستان 1384

| | تعداد و درصد نمونه های شیر محلی آلوده به آفلاتوکسین M1 در غلظتهای مشخص شده بر حسب (ng/ml) | | | | | | | | | | | | | | تعداد کل نمونه |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------|
| | 0/041 | 0/032 | 0/018 | 0/016 | 0/014 | 0/013 | 0/011 | 0/01 | 0/009 | 0/008 | 0/007 | 0/006 | 0/005 | 0/003 | |
| تعداد | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 21 |
| درصد | 4/76 | 4/76 | 4/76 | 4/76 | 9/52 | 4/76 | 14/29 | 9/52 | 4/76 | 4/76 | 9/52 | 4/76 | 14/29 | 4/76 | 100 |

جدول شماره 3- شیوع سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر پاستوریزه شهرستان خرم آباد در فصل تابستان 1384

| | تعداد و درصد نمونه های شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین M1 در غلظتهای مشخص شده بر حسب (ng/ml) | | | | | | | | | تعداد کل نمونه |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|----|-------------------|
| | 0/533 | 0/027 | 0/026 | 0/022 | 0/021 | 0/02 | 0/018 | 0/017 | 0 | |
| تعداد | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 9 | 20 |
| درصد | 5 | 5 | 5 | 10 | 5 | 15 | 5 | 5 | 45 | 100 |

جدول شماره 4- میزان سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر پاستوریزه شهرستان خرم آباد در فصل زمستان 1384

| تعداد کل نمونه | تعداد و درصد نمونه های شیر پاستوریزه آلوده به آفلاتوکسین M1 در غلظتهای مشخص شده بر حسب (ng/ml) | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0/005 | 0/006 | 0/008 | 0/009 | 0/015 | 0/018 | 0/019 | 0/022 | 0/025 | 0/026 | 0/029 | 0/031 | 0/034 | 0/045 | 0/054 |
| 20 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| 100 | 5 | 15 | 10 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 15 | 5 | 5 | 5 |

بحث

می توان آلودگی به آفلاتوکسین ها را توسط بررسی غذای دریافتی مخصوصاً "شیر که از پر مصرف ترین مواد غذایی است تعیین نمود (5) و در معرض قرار گرفتن شیر خوراکی به آفلاتوکسین M1 بایستی به حداقل مقدار خود برسد. بررسی های انجام شده در این مطالعه که از شیرهای محلی مراکز جمع آوری شیر و شیرهای پاستوریزه سطح شهرستان خرم آباد بدست آمد وجود آلودگی را در چند مورد نشان داد. محدوده تشخیص سم از طریق HPLC با ستونهای ایمونوآفینیتی بین 0/003 – 0/533 ng/ml بود که تقریباً قابل مقایسه با نمونه های بررسی شده در کشورهای آفریقای شمالی (9)، مکزیک (10)، کویت (11)، کره (12) و حتی بیشتر از محدوده سم تعیین شده در کشور یونان (13) بود. در مطالعه ای در شمال غربی لیبی از 49 نمونه شیر گاو خام جمع آوری شده که از نظر سم آفلاتوکسین M1 به روش HPLC بررسی شدند، 35 نمونه یا 71/4 درصد آنها با محدوده 0/03 – 3/11 ng/ml آلودگی به سم را نشان دادند. در بین نمونه های پنیر 15 نمونه یا 75 درصد آنها با محدوده 0/11 – 0/52 ng/ml آلودگی به سم را نشان دادند و در نهایت غلظت این سم در محصولات پنیر کمتر از نمونه های شیر خام بود (9). در کشور مکزیک مصرف زیاد شیر نیاز مبرم به بررسی آفلاتوکسین M1 را نشان داد. بررسی 290 نمونه شیرپاستوریزه از طریق HPLC وجود آلودگی را تایید نمود و غلظت آفلاتوکسین M1 در سطوح بیشتر در فصول گرم مشاهده شد (10). در مطالعه ای دیگر در کشور کویت که قسمتی از آن روی بررسی آلودگی های

محیطی در مواد غذایی بخصوص شیر بود، 28 درصد نمونه های شیر آلوده به سم آفلاتوکسین M1 بودند و غلظت سم در 6 درصد آنها بیشتر از 0/2 ng/ml بود (11).

در مطالعه ای که توسط کیم ایک و همکارانش در سال 2000 در کشور کره انجام شد، شیوع آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه و محصولات لبنی توسط روشهای ELISA و HPLC بررسی شد. در میان 180 نمونه جمع آوری شده از پایتخت سئول 76 درصد نمونه های شیر پاستوریزه با میانگین 18 pg/g آلوده به سم بودند (12). همچنین مارکاکپ و همکارانش در سال 1997 در شهر آتن از کشور یونان 81 نمونه شیر پاستوریزه تجاری را از نظر آفلاتوکسین M1 بررسی نمودند. 32 نمونه با محدوده 0/5-5 ng/l آلوده به سم بودند. 31 نمونه حاوی مقدار اندک 0/5-1 ng/l آفلاتوکسین بودند و در 9 نمونه هیچ سمی مشاهده نشد (13). در مطالعه حاضر 23/81 درصد نمونه های محلی و 55 درصد نمونه های شیر پاستوریزه در فصل تابستان آلوده به سم آفلاتوکسین M1 بودند و 100 درصد نمونه های محلی و پاستوریزه در فصل زمستان آلوده به سم بودند اما میانگین آلودگی در دو فصل تفاوت معنی دار با هم نداشتند ($p < 0/05$). آلودگی به میکوتوکسین ها در تولیدات گیاهی در شرایط گرم و مرطوب بیشتر است (14). در این مطالعه درصد نمونه های آلوده هم در شیر محلی و هم در پاستوریزه در فصل زمستان بیشتر بود. از آنجایی که غذای گاوها در این فصل از علوفه خشک یا نان خشکی است که انبار می شود و به علت اقامت طولانی و شرایط مناسب جهت رشد قارچها اعم از رطوبت، تاریکی و

شاید گرما علت درصد آلودگی بیشتر در این فصل باشد اما میانگین غلظت سم در دوفصل تفاوت معنی داری با هم نداشتند که با توجه به محدودیت در تعداد نمونه ها احتمال دارد با افزایش تعداد نمونه ها غلظت سم در نمونه های فصل زمستان نیز با توجه به موارد بالا بیشتر باشد. در میان نمونه های آلوده، یک نمونه یا 5 درصد نمونه های پاستوریزه تابستان آلودگی (0/533 ng/ml) بیشتر از حد مجاز 0/5 ng/ml طبق دستورالعمل FDA (15) و کمیسیون جامعه اروپا (16) و جامعه آمریکا (2) را نشان داد. بقیه نمونه های آلوده میزان سم، کمتر از حد مجاز 0/5 ppb بود. در بررسی حاضر میانگین آلودگی به سم آفلاتوکسین M1 در شیرهای پاستوریزه در فصل تابستان $0/037 \pm 0/117$ ng/ml با 55 درصد آلودگی و در زمستان $0/021 \pm 0/013$ ng/ml با 100 درصد آلودگی بود و بیشترین غلظت سمی در پاستوریزه ها وجود داشت. در مطالعات انجام شده کریستالهای آفلاتوکسین در غیاب نور حتی در درجه بیش از 100 درجه سانتیگراد پایدار می باشند (6). در مطالعه ای که در سال 2003 میلادی توسط کارواگال و همکارانش در این زمینه صورت گرفت، روند پاستوریزاسیون باعث کاهش آلودگی به سم آفلاتوکسین M1 نشد (10) و همچنین مطالعاتی مشابه در کشور کره (12) و یونان (13) وجود آلودگی آفلاتوکسین M1 را در شیرهای پاستوریزه را تایید نمودند. با توجه به مطالعه حاضر وشواهد فوق این طور به نظر می رسد که روند پاستوریزاسیون قادر به از بین بردن سم نمی باشد و نیاز به اعمال روشهای جدید و تکنولوژی بهتر جهت رفع این معضل می باشد. در تحقیق حاضر به دلیل اینکه شیرهای محلی جمع آوری شده توسط کارخانه شیر شهرستان خرم آباد از شهرستانهایی غیر از خرم آباد نیز تامین می شد و به دلیل هزینه بالا جهت نمونه گیری از این شهرستانها، فقط اکتفا به خرم آباد شد در نتیجه نتوانستیم که مقایسه ای بین شیر قبل از پاستوریزاسیون و بعد از آن در همان نمونه ها

انجام دهیم همچنین در مورد صحت داده ها بخصوص یکی از آنها در نمونه های پاستوریزه که میزان آلودگی بیشتر از حد مجاز بود لازم به تکرار مجدد نمونه ها بود که این مورد نیز متأسفانه بعلت بالا بودن هزینه انجام و محدودیت زمانی و مکانی صورت نگرفت اما آنچه‌ی که مشهود است شیر با وجودیکه روند پاستوریزاسیون بر آن اعمال شد دارای سم بود.

نتیجه گیری

در نهایت نتایج حاصل از این پژوهش وجود سم آفلاتوکسین M1 در شیرهای محلی و پاستوریزه را مطرح می کند و درصد آلودگی نمونه ها (محلی و پاستوریزه) در فصل زمستان بیشتر از تابستان بود هر چند که ضرورت انجام مطالعات تکمیلی توصیه می شود ولی نباید تدابیر پیشگیری کننده به منظور جلوگیری از ورود این سم را از نظر دور داشت، لذا می توان با استفاده از تکنولوژی برتر توسط متخصصین و اعمال قوانین و مقرراتی در ارتقاء کیفیت شیردریافتی جامعه و غذای حیوانی مقدار سم را کنترل و حتی کاهش داد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی سازمان مدیریت و برنامه ریزی استان لرستان انجام شده است و در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به تصویب رسیده است. همچنین از زحمات آقایان مهندس حبیب ا. صادقی و سید سامان سیف از سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان و خانم سیما سپهوند از دانشگاه علوم پزشکی لرستان در جمع آوری نمونه ها و دکتر احمد گلشن مسئول آزمایشگاه بیمارستان تامین اجتماعی خرم آباد که در ویرایش مقاله همکاری نموده اند تشکر و قدردانی می گردد.

References

- 1- زینی فریده، مهبد امیر سید علی، امامی مسعود. قارچ شناسی پزشکی جامع. انتشارات دانشگاه تهران، 1377 صفحه: 318
2. Cathey CG, Huang ZG, Sarr AB, Clement BA, Phillips TD. Development and Evaluation of a Minicolumn Assay for the Detection of Aflatoxin M1 in Milk. *J Dairy Sci*, 1994; 77: 1223-1231
3. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B1 Binding by Dairy Strains of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *J Dairy Sci*, 2001; 84: 2152-2156
4. Wood GE. Aflatoxin in domestic and imported foods and feeds. *J AOAC*, 1989; 72:543-548
5. Pietri A, Bertuzzi P, Piva G. Aflatoxin M1 occurrence in samples of Grana Padano. *Food Additives and Contaminants*, 1997; 14(4): 341-344
6. The Aflatoxins, <http://www.micotoxinas.com.br/afsslafacts.pdf>
7. Goldblatt LA. "Aflatoxins". Academic Press, New York, 1969
8. Dragacci S, Grosso F. Determination of aflatoxin M1 mass concentration in raw liquid milk by high performance liquid chromatography after clean-up immunoaffinity. CNEVA Paris Project SMT-CT96-2045, July 1997; 0551A-97
9. Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese sample. *Food Addit Contam*, 2004 Jun; 21(6):592-7
10. Carvajal M, Bolanos A, Rojo F, Mendez I. Aflatoxin M1 in Pasteurized and ultrapasteurized milk with different content in Mexico. *J Food Prot*, 2000; 66(10): 1885-92
11. Srivastava VP, Bu-Abbas A, Alaa-Basuny, Al-Jahar W, Al-Mufti S, Siddiqui MK. Aflatoxin M1 contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. *Food Addit Contam*, 2001 Nov; 18(11):993-7
12. Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit Contam*, 2000 Jan; 17(1):59-64
13. Markaki P, Melissari E. Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Addit Contam*. 1997 Jul; 14(5): 451-6
14. Hesseltine CW. Condition leading to mycotoxin contamination of food and feeds. In *Mycotoxins and Fungal Related Food Problems*. Edited by J.V. Rodricks. American Chemical Society, Washington, DC. 1976; pp: 1-22
15. Council for Agriculture Science and Technology; *Mycotoxins: Economic and Health Risks*. Task Force Rep. Counc Agric Sci. No 116. 1989
16. Commission of The European Communities. Official Journal of the EC. 1991; EC Directive 91/126, 13.02: L60.17