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

افشین نظری[1]، حسین نوروزی[2]، محمد موحدی[3]، مجتبی خاکساریان[1]
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

Ø 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.

Ø 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 ایمنوافینیتی بررسی شدند.

Ø یافته‌ها: 5 درصد نمونه های محلی در فصل تابستان با محدوده سمی **ng/ml** 0/046 – 0/017 و تمام نمونه های محلی فصل زمستان (100 درصد) با محدوده **ng/ml** 0/041-0/003 آلودگی به سم **AFM1** را نشان دادند. همچنین در نمونه های پاستوریزه، در تابستان، 55 درصد با محدوده سمی **ng/ml** 0/533-0/017 و تمام نمونه های زمستان با محدوده **ng/ml** 0/054-0/005 آلودگی به سم **AFM1** را نشان دادند. ازتمام نمونه ها در 2 فصل فقط یک نمونه با غلظت **ng/ml** 0/533 از پاستوریزه ها ی 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.

Ø بحث و نتیجه‌گیری: 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 بیشترتوصیه می شود

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

آدرس مکاتبه: خرم آباد، انتهای خیابان رازی ،مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان
پست الکترونیک: nazary257@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

مقدمه

آفلاتوکسین متعلق به گروهی از متابولیتهای ثانویه قارچی میکـو توکـسینها اسـت و بـه طـور عمـده توسـط آسـپرژیلوس فلاووس یا آسپر ژیلوس پارازیتیکوس تولید می شود (1). قـارچ آسپرژیلوس فلاووس به عنوان آلوده کننده هـای انـواع مختلـف غذاهای حیوانی و انسانی شناخته شده اسـت (2). آفلاتوکـسین گروهی از میکوتوکـسین هـا اسـت کـه دارای آثـار موتاژنیـک , سرطانزایی و سـرکوب کننـده سیـستم ایمنـی مـی باشـد (3). تقریبـا 20 نـوع آفلاتوکـسین از متابولیـت قارچهـایی ماننـد آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پاراسیتیکوس و آسـپرژیلوس نومینوس بـه وجـود مـی آیـد. اگـر چـه فقـط آفلاتوکـسینهای G1,B2,B1 وG2 در غذاها یافت می شود کـه در ایـن میـان B2 وG2 مـشتقات هیدروکـسیله ترکیبـات اصـلی شـان مـی باشند.در این میان آفلاتوکسینB1 جـزء پرقـدرت تـرین آنهـا محسوب می شود.(4) این سموم می توانند در مواد غذایی خـام مانند حبوبات,غلات،آجیل،گردو ,فندوق ,ادویـه جـات ,انجیـر و میـوه هـای خـشک بوجـود آینـد.آفلاتوکـسین M1 متابولیـت هیدروکسیله آفلاتوکسین B1 می باشد و وقتی حیوانات اهلـی مانند گاوها یا دیگر گیاهخواران خوراک آلوده به میکوتوکـسین ها رامصرف می کنند آفلاتوکسین B1 تا حدودی جـذب و بـه کبد منتقل و در آنجا توسط سیتوکروم P4501A2 متابولیزه و به ترکیبات هیدروکسیله تبدیل و وارد جریان خون سیستمیک می شوند و سپس توسط ادرار، صفرا یا شیر از بـدن خـارج مـی شود(5) و باعث آلودگی دیگـر محـصولات لبنـی ماننـد پنیـر و ماســت مــی شــود (6). آفلاتوکــسین M1 دارای قــدرت کارسینوژنیک قـوی در کبـد و کلیـه مـی باشـد (2). روشـهای آنالیزی مورد استفاده در سنجش مقـدار آفلاتوکـسین بـر پایـه TLC[1]، HPLC[2] و ELISA[3] می باشد. در بـین ایـن روشـها استفاده ازHPLC برای اندازه گیری سم از حـساسیت خاصـی برخوردار است وبرای آن از روش فاز معکوس استفاده می شود. روزانه مقدار زیادی ضـایعات نـان کپـک زده در سراسـر کـشور جمع آوری و مورد استفاده دامها به خصوص گاو مـی شـود کـه این موضوع به طور غیر مستقیم می تواند سبب آلودگی شـیر و گوشت گاوها و گوسفندها شود (7). با توجـه بـه مـوارد فـوق و اهمیت موضوع به لحاظ آنکه بهداشت جسمانی و روانـی افـراد جامعه بـا سـلامت غـذا ارتبـاط نزدیـک دارد و از آنجـایی کـه لبنیات از جمله شیر که از پر مصرف ترین مواد غذایی مـردم از جمله شهرستان خرم آباد می باشد ودر معرض آلـودگی فـراوان به سم آفلاتوکسین M1 از قارچ آسپرژیلوس فلاووس است که این قارچ به میزان زیاد از طریـق علوفـه (خـشک و مرطـوب) و نانهای خشک کپک زده وارد بدن گاو می شود. روی ایـن اصـل لازم دیـدیم شـیر محلـی و پاسـتوریزه از نظـر مقـدار سـم آفلاتوکسین مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

این تحقیق نوعی مطالعه توصـیفی تحلیلـی بـود و نمونـه گیری از طریق سرشماری صورت گرفت و نمونه ها از 21 مرکـز جمع آوری شیر شهرسـتان خـرم آبـاد از 182 روسـتای حومـه تامین شد. ابتدا با مراجعه به مراکـز جمـع آوری شـیر در طـول ایام ماه (اول، وسط و اواخر ماه) در دو فصل تابستان و زمـستان با استفاده از ظرفهای مخصوص، دربـسته و اسـتریل نـسبت بـه برداشت نمونه شیر اقـدام و بلافاصـله نمونـه هـا را در فلاکـس حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از سانتریفوژ و جدا کـردن چربی آنها، تـا هنگـام آنـالیز در یخچـال و دمـای 22 – درجـه سانتیگراد نگهداری شدند. همچنین همگام با نمونه گیری شـیر محلی، شیر پاستوریزه در طول ایام ماه (اول، وسط و اواخر مـاه) در دو فصل تابستان و زمستان به تعداد 20 نمونه در هـر فـصل در سطح شهر جمع آوری شد.

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

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

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

یک یا چند فیلتر کاغذی (Watman) عبور داده شد. آفلاتوکسین M1 توسط عبور از ستونهای ایمنوافینیتی 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 µg/ml آفلاتوکسین M1 در کلروفرم توسط سرنگ هامیلتون 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 ایمنوافینینی 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 پیپت به سرنگ مخزن دار اضافه شد و اجازه داده شد که نمونه به آهستگی با جریان 3-2 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 ثا نیه 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 [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 باخروج 440 نانومتر و ستون بکار رفته ODS (اکتا د سیل سیلان) 4/6 × 250 میلی متر به اضافه ستون محافظ بود.

سرعت عبور فاز متحرک توسط پمپ Water 1525 به میزان 8/ milt/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 % 5 ± به دست آمد. جهت ترسیم منحنی کالیبراسیون غلظتهای متفاوت و متوالی 10، 7/5، 5، 2/5، 2، 1، 0/5، 0/2 و 0/1 نانوگرم بر میلی لیتر 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±SDنمایش داده شدند.و برای مقایسه میانگین سموم در هر گروه در دو فصل ازآزمون t student استفاده شد.و P Value کمتر از 0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

نتایج

شناسایی منحنی آفلاتوکسین M1 در نمونه شیرازدو طریق قابل شناسایی بود.اول آنکه زمان بازداری[1] 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 ±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 غلظتppb 0/5، 68/8 درصد و ppb 0/05، 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 ng/ml ± 0/006 (انحراف معیار ± 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 در76/19 درصد کل نمونه ها کمتر از 0/003 ng/ml بود که در جدول، صفر منظور گردید(جدول1).

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 ng/ml ± 0/012 (انحراف معیار ± میانگین) بود و در تمام نمونه ها مورد آزمایش غلظت آفلاتوکسین M1 بیشتر از 0/003ng/ml مشاهده شد. بیشترین غلظت مربوط به نمونه 3 با غلظت 0/041 ng/ml بود (جدول2).

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 ng/ml ± 0/037 (انحراف معیار ± 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 0/003ng/ml بود که در جدول، صفر در نظر گرفته شد (جدول3).

تعیین فراوانی سم آفلاتوکسین M1 در نمونه های شیر پاستوریزه شهرستان خرم آباد در فصل زمستان1384

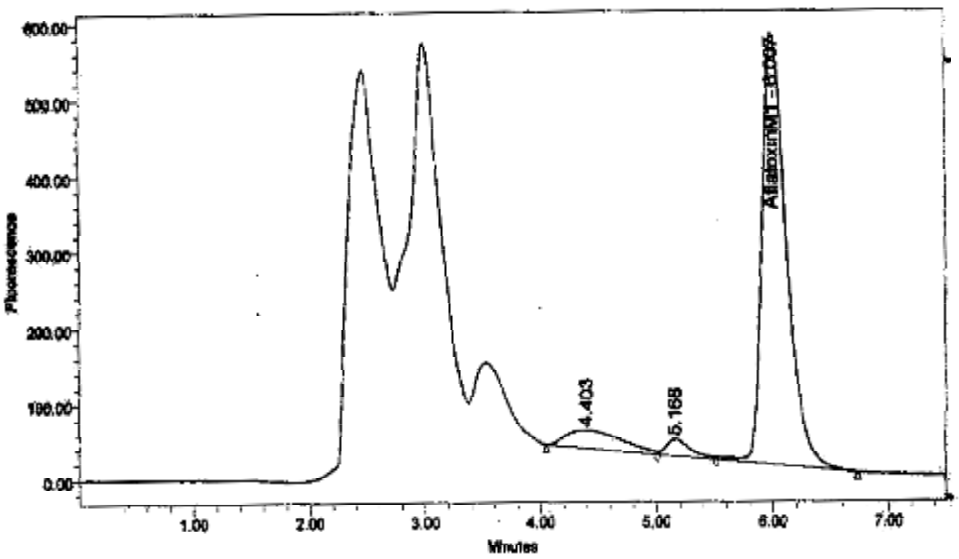
میانگین سم در کل نمونه ها 0/013 ng/ml ± 0/021 (انحراف معیار ± میانگین) بود. در تمام نمونه های مورد آزمایش غلظت آفلاتوکسین M1 بیشتر از 0/003ng/ml مشاهده شد. بیشترین غلظت سم 0/054 ng/ml و کمترین آن 0/005 ng/ml بود (جدول4).

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 ng/ml ± 0/006)و زمستان با میانگین (0/ 009 ng/ml ± 0/012) 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 ng/ml ± 0/037) و زمستان با میانگین(ng/ml 0/013 ± 0/021) با P = 0/5 تفاوت معنی دار از خود نشان نداد.

1. Retention Time

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]



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

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

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

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

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

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

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

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

بحث

می توان آلودگی به آفلاتوکسین ها را توسط بررسی غذای دریافتی مخصوصا" 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 ایمنوافینیتی بین 0/533 ng/ml – 0/003 بود که تقریبا" 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 روشHPLC بررسی شدند، 35 نمونه یا 71/4 درصد آنها با محدوده 3/11 ng/ml – 0/03 آلودگی به سم را نشان دادند.در بین نمونه های پنیر 15 نمونه یا 75 درصد آنهابا محدوده 0/52 ng/ml – 0/11 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 مارکاکیپ 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

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

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 0/117 ng/ml ± 0/037 با 55 درصد آلودگی و در زمستان 0/013 ng/ml ±0/021 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 آفلاتوکسینM1 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 متاسفانه بعلت بالا بودن هزینه انجام و محدودیت زمانی و مکانی صورت نگرفت اما آنچیزی 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.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]

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, Salminent 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. Gold blatt LA. "Aflatoxins". Academic Press, New York , 1969
8. Dragacci S,Grosso F. Determination of aflatoxin M1 mass concentration in row liquid milk by high performance liquid chromatography after clean-up immunoaffinity. CNEVA Paris Project SMT-CT96-2045, July1997; 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

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-22]