پژوهش و سازندگی
امور دام و آبزیان شماره ۷۵ تابستان ۱۳۸۶

بررسی فصلی آفلاتوکسین M1 در شیر خام ۱۵ کارخانه شرکت صنایع شیر ایران (پگاه)

• **مهرداد تاج کریمی**
استادیار شرکت صنایع شیر ایران
• **سیدسهیل قائم مقامی**
عضو هیأت علمی مؤسسه آموزش عالی علمی - کاربردی
• **عباسعلی مطلبی**
عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران
• **حسین پور سلطانی**، • **احمد صلاح نژاد** و • **فریبرز شجاعی**
کارشناسان آزمایشگاه مرجعان خاتم

تاریخ دریافت مردادماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: خردادماه ۱۳۸۵

Email: Mtajkarimi @ irandairy.ir

چکیده

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی با قابلیت‌های سرطان‌زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی به ویژه از طریق تاثیر بر روی ژن سرکوبگر P53[1] می‌باشند. از این گروه از سموم، آفلاتوکسین B_1 از طریق آلودگی خوراک دام به برخی از انواع گونه‌های قارچ آسپرژیلوس[2] که مهمترین آن‌ها گونه‌های فلاووس[3] و پارازیتیکوس[4] می‌باشند، می‌توانند به آفلاتوکسین M1 تبدیل شده و به مصرف کنندگان منتقل گردد. در این بررسی که در مدت یکسال اجرا شده است تعداد ۳۱۹ واحد نمونه‌ای از شیر در ۱۵ کارخانه تحت پوشش شرکت پگاه در سراسر کشور در دو فصل زمستان و تابستان با استفاده روش نمونه‌گیری اخذ گردید. برای‌اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 از ستون ایمونوافینیتی HPLC استفاده گردید. ۵۴٪ از نمونه‌ها آلوده تشخیص داده شدند و میانگین نمونه‌ها برابر با ۰/۰۵۶۴ppb و میانه آن برابر با ۰/۰۱۷۰ppb بوده است. انحراف معیار نمونه ۰/۱۳۶۸ و واریانس آن ۰/۰۱۸۷ بود. آلودگی بیش از ۴۴ درصد از نمونه‌ها کمتر از ۰/۰۱ppb و در حدود ۷۷ درصد از نمونه‌ها کمتر از ۰/۰۵ppb بودند. بر اساس تحلیل آماری، میزان آلودگی دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری با یکدیگر برابر بودند. عوامل فصل و محل کارخانه در میزان آلودگی تاثیر مستقیم داشتند و عامل نوع دامداری (مراکز جمع‌آوری یا دامداری صنعتی) به صورت غیر مستقیم و از طریق اثر متقابل با عامل فصل در میزان آلودگی اثر می‌گذارد.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین M1، شیر خام، آسپرژیلوس

Pajouhesh & Sazandegi: No 75 pp: 2-9

Seasonal survey in content M_1 aflatoxin in raw milk taken from 15 dairy factory

By: Tajkarimi M., Ghaemmaghami S.S. Motalebi A., Poursoltani H., Salahnejad, A and Shojaee F.

Aflatoxins, are secondary metabolites fungal products with carcinogenic and teratogenic effect especially with the effect on p 53 suppressor gene. From these groups of toxins, Aflatoxin B1 is produced from some species of Aspergillus (*Aspergillus flavous* and *A. parasiticus*) can contaminate animal feed, hydrolyzed and changed to the aflatoxin M_1 and transmit to the milk consumers. In one year seasonal survey, 319 randomly selected raw milk samples which obtained from dairy farms and milk collecting centers from 15 dairy plants were analyzed with validated immunoaffinity HPLC method. 54% of samples are contaminated with mean 0.0564 ug/Kg and median 0.0170 ug/Kg with SD=0.1368 and Variance = 0.0187, more than 44% of samples are below 0.01 ug/Kg and 77% of samples are below 0.05 ug/Kg. Based on the statistical analysis, the level of the contamination in dairy farms and milk collecting centers were similar. The level of contamination could be directly influenced on the season and the factory place parameters. The kind of the dairy farm and milk collecting centers are indirectly contributed on the level of contamination with bilateral effect with seasonal variation.

Key words: Aflatoxin M1, Raw Milk, Aspergillus

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها بالقوه ترکیبات سرطان‌زایی می‌باشند. اطلاعات در مورد وجود این سم در انواع مواد غذایی با استفاده از تشخیص با روش کروماتو گرافی لایه نازک[۵] بر روی غذاهای مشکوک انجام پذیرفت. آفلاکسین‌های M۱ و M۲ متابولیت‌های هیدروکسیله آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 می‌باشند که از طریق خوردن خوراک دام آلوده به این سموم وارد شیر می‌شوند (۱، ۳، ۵).

آفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1 و G_2 می‌توانند توسط سه گونه از قارچ‌های اسپرژیلوس به نام‌های *A. parasiticus, A. flavous* و *A. numius* تولید شوند (۲، ۴، ۱۴).

آخرین ارزیابی حد مجاز آفلاتوکسین M_1 نیز توسط کمیته تخصصی (JECFA)[۶]، در سال ۲۰۰۱ انجام پذیرفته است. براساس این ارزیابی‌ها با در نظر گرفتن حداکثر توان ایجاد سرطان و بالاترین میزان مصرف شیر بر اساس آمار مصرف سرانه سازمان بهداشت جهانی آلودگی شیر مابین حدود ۰/۵ و ۰/۰۵ ppb وجود داشته است. بر اساس استاندارد FDA آمریکا و نیز استاندارد Codex alimentarius حداکثر مجاز باقیمانده آفلاتوکسین M_1 در شیر ۵ ppb/. و خوراک دام ۲۰ppb می‌باشد (۸، ۱۱، ۱۲).

برای‌اندازه‌گیری آفلاتوکسین، روش‌های متفاوت ایمونواسی[۸] و اندازه‌گیری کمی وجود دارند. حسن استفاده از روش‌های ایمونواسی برای انجام آزمون‌های غربالگری و نیز پایش در زمینه شیر و فرآورده‌های آن در سطح کارخانجات توصیه می‌شود. نمونه‌گیری از شیر برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین بسیار ساده است ولی مشکل عمده نحوه جداسازی[۹] این سم از شیر و فرآورده‌های آن است. نکته مهم در زمینه استفاده از روش‌های ایمونواسی، انجام تایید آزمون با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری کمی مانند HPLC[۱۰] و TLC می‌باشد (۵، ۹، ۱۰). نکته مهم دیگر در استفاده از این آزمون‌ها انجام مراحل اعتبار برای اندازه‌گیری صحیح می‌باشد در این زمینه عواملی همچون تدوین روش اجرایی، انجام بررسی‌های لازم در مورد دقت[۱۱]، صحت[۱۲]، تکرارپذیری[۱۳] و تکثیرپذیری[۱۴] آزمون و مطابقت آن با حدود پذیرفته شده بین المللی و نیز استفاده از آزمونه‌های مرجع[۱۵] و دارا بودن سیستم‌های تضمین کیفیت انجام آزمون مانند ISO۱۷۰۲۵ و ارایه گزارش‌های تایید شده برای حدود قابل قبول بر روی آزمایش‌های در حال انجام توسط آزمایشگاه، می‌تواند اطلاعات اساسی در مورد اعتبار آزمایش‌ها را به محقق ارایه نماید(۱۳).

عواملی که در میزان تولید مایکوتوکسین‌ها موثر می‌باشند به عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک تقسیم شده‌اند.عوامل فیزیکی، عواملی را در بر می‌گیرد که بر روی وضعیت محیطی موثردر ایجاد کلنی‌های قارچی مانند دما، رطوبت نسبی و آلودگی با حشرات تاثیر گذار می باشد از اثرات شیمیایی می‌توان به کاربرد انواع قارچ کش‌ها اشاره نمود و از اثرات بیولوژیک می‌توان تاثیرات سایر گونه‌های قارچی در زمان رشد آسپرژیلوس اشاره نمود(۱۲).

انجام نمونه‌برداری فصلی برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین به دلیل شرایط و موقعیت خاص اکولوژیک و نیز عوامل تاثیر گذار منطقه مورد مطالعه، تنوع و گوناگونی دامداری‌ها در دو قالب سنتی و صنعتی و عوامل مختلف اقتصادی و فرهنگی تاثیرگذار در مورد نحوه تغذیه دام در هر یک از این دو گروه از دامداری‌ها در کشور ما، می‌تواند به عنوان عامل تاثیر گذار مهم دیگری در میزان دریافت آلودگی شیر در هر دو مقوله فوق می‌باشد. شیرهای پاستوریزه ۵ کارخانه تهران، شیراز، همدان، رشت و گرگان تحت عنوان بررسی فصلی آلودگی کارخانه‌های تهران، گرگان، همدان، فارس و گیلان در مقاله مذکور ارایه گردیده است.

هدف اصلی اجرای این مرحله از مطالعه، پاسخگویی به مجموعه‌ای از پرسش‌ها و فرضیات زیر می‌باشد:

- چـه تفاوتی میان آلودگی دامداری‌های صنعتـی و مراکز جمع‌آوری وجود دارد؟
- چه تفاوتی میان آلودگی دو فصل زمستان و تابستان وجود دارد؟
- چه تفاوتی میان آلودگی کارخانه‌های مختلف وجود دارد؟
- اثر هر یک از این عوامل چگونه است؟
- آلودگی در یک سـال گذشته چه میزان بوده است؟ آیا این میزان در محدوده قابل قبول بوده است یا خیر؟

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این تحقیق تعداد ۳۱۹ نمونه شـیر خام از تانکرهای حمل شیر در دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری شـیر طرف قرارداد و در گسـتره ۱۵ کارخانه تحت پوشـش صنایع شیر ایران (پگاه)، در سراسر کشور در دو فصل زمسـتان و تابسـتان جمع‌آوری گردید. تعداد نمونه‌های اخذ شده در فصل تابستان ۱۵۳ نمونه ودر فصل زمستان ۱۶۶ نمونه بود.تعداد نمونه‌های اخـذ شـده از هریک از کارخانه‌ها برمبنای میزان کل شـیر خـام دریافتی کارخانه‌های مختلف از مراکز جمع‌آوری شـیر و دامداریهـای صنعتی بود. نمونه‌های اخذ شـده از مراکز جمع‌آوری شـیر عموماً دامداری‌های کمتر از ۲۰ راس دام شـیری را شـامل می‌گردیـد. بنابراین نـوع نمونه‌های اخذ شـده از مراکز جمع‌آوری شیر شاخص مناسـبی برای نشان دادن وضعیت دامداری‌های سـنتی می‌باشـد. همچنیـن کارخانه‌هایی که دارای میـزان آلودگی بیشـتری در یک مرحله نمونه‌برداری بودند، در مرحله بعدی تعداد نمونه بیشتری از آن‌ها اخذ گردید. نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای و پلی اتیلنی ۲۵۰ تـا ۵۰۰ میلی‌لیتر اخذ، و در دمای ۴ درجه سـانتی گراد نگهداری و حداکثر ۲۴ ساعت بعد به آزمایشگاه منتقل و در همان زمان مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. روش نمونه‌برداری بر اساس روش استاندارد ملی نمونه‌برداری شیرموسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بود.

روش اندازه‌گیری

برای‌اندازه‌گیـری آفلاتوکسـین M_1 در نمونه‌هـا از روش HPLC بـا اسـتفاده از سـتون ایمونوافینیتی اسـتفاده گردید. روش انجام آزمایش به شرح ذیل بوده است:

سیستم HPLC مورد استفاده:

ستون: فازمعکوس ODS، ۵ میکرومتر، ۴/۶ × ۲۵۰ mm C۱۸ و نوع Column TSK-Gel (Toso Has)

حفاظ ستون:Guard Column Novapak C۱۸ Waters

فاز متحرک: استونیتریل : متانول: آب (۲۰:۲۰:۶۰)

سرعت جریان: یک میلی لیتر در دقیقه

حجم تزریق: ۱۰۰ میکرولیتر

شناساگر فلورسانس:

Waters ۲۴۷۵ fluorescence detector, excitation ۳۶۰ nm, emission ۴۴۰ nm

۱: Gain

۱۰۰۰: EUFS

سیستم HPLC: Pump Waters Breeze ۱۵۲۵

بـرای انجام آزمـون روی نمونه‌ها ابتدا ۱۲/۵ میلی لیتر از شـیر مایع به لوله مناسـب آزمایش منتقل و سـپس با دور ۱۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه و دو بار متوالی سـانتریفوژ شـد. آنگاه لایه چربی از روی شـیر جدا شـد و از شـیر بدون چربی حاصل برای انجام مراحـل بعدی آزمایش استفاده شد.

در مرحلـه بعـدی ابتـدا ۲۰ میلی لیتـر از محلـول PBS به طور کامـل از سـتون ایمونوافینیتـی آفلاتوکسـین M_1 عبـور داده شـده و سـپس ۲۰ میلـی لیتـر از شـیر بدون چربی، از سـتون عبـور داده شـده و محلول حاصل از این سـتون را با سـرعت ۱ تا ۲ قطره در هر ثانیـه تـا هنگام خـروج هوا از سـتون جمع‌آوری نموده سـپس بالای سـتون را از آب پـر نمـوده و ۱۰ میلـی لیتر از محلول را جداسـازی کـرده و با سـرعت یک تـا دو قطـره در ثانیـه در یک سـرنگ تمیز شیشـه‌ای جمـع‌آوری گردیـد. این عمل بـرای بار دوم تا خـروج هوا از سـرنگ انجام گردید. سـپس (مجدداً از این سـتون) ۱ میلی لیتر از اسـتونیتریل با سـرعت یک قطره در هر ۲ تا ۳ ثانیه عبور داده شده و ۱/۵ میلـی لیتر از این محلول جمع‌آوری گردید. این ویال در زیر بخار نیتروژن در ۴۰ درجه سـانتی گراد خشک شده و ماده خشک شده در یک میلی لیتر از فاز متحرک آفلاتوکسـین M_1 بازسـازی شده و از این محلول ۲۰۰ میکرولیتر از محلول آخر به HPLC تزریق گردید.

انجام آزمون‌های مربوطه در طی دو سـال بررسـی با استفاده از روش معتبر شده و مشخصات کیفی بوده است. بخشی از مراحل تعیین اعتبار به شرح ذیل می‌باشد.

تعییـن درصد بازیافت با اسـتفاده ازاندازه شـیرهای با چربـی کامل اسـپایک شـده در دواندازه ۰/۵ و ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر صـورت گرفته اسـت و همچنین توالی انجـام مراحل تعیین درصد بازیافـت در ۱۲ زمان مختلف انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نمونه‌ها با استفاده از روش تخصیص نیمن به شیوه نمونه‌گیری تصادفی طبقه بندی شده و با در نظر گرفتن شرایط جامعه آماری جمع‌آوری شده و مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به برآورد واریانس بدست آمده از نیم سـال اول مورد مطالعه، حجم نمونه‌های نیمسال بعد به منظور دستیابی به برآوردهای دقیق‌تر اصلاح گردید.

داده‌های حاصل از نمونه‌گیری توسـط آزمون آمـاری Kolmogrov-Smirnov مورد بررسـی قرار گرفته و این آزمون نشـان داد که این داده‌ها از توزیـع نرمال پیـروی نمی نماینـد و توزیع آنها منطبق بـر توزیع لاگ نرمال اسـت. از این رو برای تجزیه و تحلیل نهایی، داده‌های خام حاصل از نمونه‌گیری ابتدا تبدیل یافته و سپس در تحلیل‌های مورد نظر به کار گرفته شده‌اند.

نتایج

نتایـج تعیین اعتبار روش آزمون‌اندازه‌گیری آفلاتوکسـین نشـان داد کـه متوسـط درصـد بازیافـت در میـزان ۰/۵ ppb دارای میزان متوسـط ۷۰٪ با انحراف معیار ۷/۵ بوده است همچنین درصد بازیافت در میـزان ppb ۰/۰۵، و ۸۱/۵٪ با انحراف معیار ۲۰/۵ ارزیابی گردید. تاییدیـه کاربـرد آزمونه‌های مرجع، با اسـتفاده از مقدار تعیین شـده

۰/۲۶ میکروگرم در کیلوگرم و با در نظر گرفتن حدود قابل قبول در ۴ نوبت صورت پذیرفته است که تمامی نتایج رضایت بخش و قابل قبول بود.

در این مطالعه، میانگین میزان AFM[1] کل نمونه‌های اخذ شده از مراکز جمع‌آوری شیر و نیز دامداری‌های صنعتی برابر با ۰/۰۵۶۴ ppb و میانه آن برابر با ۰/۰۱۷۰ ppb، با انحراف معیار برابر با ۰/۱۳۶۸ ppb بود. در بررسی کلی داده‌ها، میزان آلودگی دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری با یکدیگر برابر هستند. عوامل فصل و کارخانه در میزان آلودگی تاثیر مستقیم دارند اما عامل نوع دامداری به صورت غیر مستقیم و از طریق اثر متقابل با عامل فصل در میزان آلودگی اثر می‌گذارد. در جداول شماره ۱و۲ به ترتیب میانگین کل داده‌های جمع‌آوری شده و نیز میانگین فصل‌های زمستان و تابستان این مطالعه ارایه گردیده است. در جدول شماره ۳ میانگین و فاصله اطمینان ۹۵٪ برای دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری برای فصل‌های زمستان و تابستان ارایه گردیده است. در جدول شماره ۴ میانگین کل آلودگی در کارخانه‌های مختلف ارایه شده است و در جداول ۵ و ۶ این میانگین به صورت نتایج فصلی ارایه گردیده است. میانگین کلی آلودگی در فصل تابستان ۰/۰۴ppb با میزان انحراف معیار ۰/۰۱۱ ppb و در فصل زمستان ۰/۰۶ ppb معیار با انحراف ۰/۱۵ ppb می‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده ۵۴٪ از نمونه‌ها آلوده تشخیص داده شدند. آلودگی بیش از ۴۴ درصد از داده کمتر از ۰/۰۱ ppb و در حدود ۷۷ درصد از داده‌ها کمتر ۰/۰۵ ppb بود. از طرفی با توجه به چولگی داده‌ها و تایید لوگ نرمال در بررسی آماری مقدار ۰/۰۱۰۸ppb را می‌توان به عنوان یک برآوردکننده نقطه‌ای مناسب برای میانگین جامعه به کار برد. بر اساس حد مجاز و قابل قبول تعیین شده در استاندارد کدکس و نیز استاندارد ملی ایران به میزان ۰/۵ ppb، تمامی ۳۱۹ نمونه اخذ شده از حد مجاز تعریف شده پایین‌تر بوده و در بسیاری از موارد (حدود ۹۰٪ از نمونه ها) با استاندارد اتحادیه اروپایی به میزان ۰/۰۵ ppb نیز مطابقت می‌نماید.

جدول شماره ۱: میزان آفلاتوکسین نمونه‌های اخذ شده از دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری برای فصل‌های زمستان و تابستان

محل نمونه‌برداری	نیم سال مورد بررسی(فصل)	تعداد نمونه	میانگین (ppb)	حد پایین (ppb)	حد بالا (ppb)
دامداری صنعتی	دوم (تابستان)	۸۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰
مرکز جمع‌آوری	دوم (تابستان)	۸۱	۰/۰۳۰	۰/۰۲۰	۰/۰۴۰
دامداری صنعتی	اول (زمستان)	۷۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۰
مرکز جمع‌آوری	اول (زمستان)	۸۱	۰/۰۰۷	۰/۰۱۱	۰/۰۲۰

جدول شماره ۲: میانگین کل آلودگی در کارخانه‌های مختلف (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)

کارخانه	تعداد نمونه	میانگین (مراکز جمع‌آوری و دامداری صنعتی) ppb	حد پایین (ppb)	حد بالا (ppb)
آذربایجان غربی	۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷
زنجان	۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۲۱
همدان	۱۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۱۱
گلپایگان	۱۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۱۳
تبریز	۱۹	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۰۱۹
لرستان	۱۱	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵	۰/۰۳۱
خراسان	۶۱	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵	۰/۰۲۱
فارس	۱۷	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۳۰
کرمان	۱۱	۰/۰۱۴	۰/۰۰۶	۰/۰۵۴
خوزستان	۸	۰/۰۱۶	۰/۰۰۴	۰/۰۳۶
مشهد	۱۲	۰/۰۱۶	۰/۰۰۷	۰/۰۴۶
اصفهان	۳۶	۰/۰۱۸	۰/۰۰۵	۰/۰۳۴
گیلان	۱۳	۰/۰۲۰	۰/۰۰۹	۰/۰۴۴
تهران	۷۳	۰/۰۲۴	۰/۰۱۶	۰/۰۳۶
گلستان	۱۷	۰/۰۴۳	۰/۰۲۲	۰/۰۸۱

جدول شماره۳:میانگین فصل زمستان برای کارخانه‌های مختلف (فاصله اطمینان ۹۵ درصد زمستان)

کارخانه	تعداد نمونه	میانگین مراکز جمع‌آوری و دامداری صنعتی (ppb)	حد پایین (ppb)	حد بالا (ppb)
زنجان	۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۹
آذربایجان غربی	۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۱۱
همدان	۱۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۱
گلپایگان	۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۱۴
تبریز	۱۶	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۰۲۰
لرستان	۸	۰/۰۱۴	۰/۰۰۶	۰/۰۳۴
فارس	۱۲	۰/۰۱۶	۰/۰۰۷	۰/۰۳۴
خوزستان	۵	۰/۰۱۷	۰/۰۰۵	۰/۰۶۰
گیلان	۵	۰/۰۲۶	۰/۰۰۴	۰/۱۵۶
کرمان	۶	۰/۰۲۹	۰/۰۰۶	۰/۱۳۵
مشهد	۷	۰/۰۳۶	۰/۰۱۲	۰/۱۰۶
گلستان	۱۱	۰/۰۳۶	۰/۰۱۶	۰/۰۷۹
خراسان	۲۰	۰/۰۴۲	۰/۰۱۸	۰/۰۹۴
تهران	۳۲	۰/۰۴۹	۰/۰۳۲	۰/۰۷۴
اصفهان	۱۵	۰/۰۶۱	۰/۰۲۷	۰/۱۳۵

جدول شماره۴:میانگین فصل تابستان برای کارخانه‌های مختلف(فاصله اطمینان ۹۵ درصد زمستان)

کارخانه	تعداد نمونه	میانگین مراکز جمع‌آوری و دامداری صنعتی (ppb)	حد پایین ppb	حد بالا ppb
آذربایجان غربی	۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۳
مشهد	۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۴
کرمان	۵	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۱۱
خراسان	۴۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۱
اصفهان	۲۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷
گلپایگان	۳	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۲۰
همدان	۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۰/۱۵
لرستان	۳	۰/۰۱۰	۰/۰۰۱	۱/۹
فارس	۵	۰/۰۱۰	۰/۰۰۶	۰/۱۶
تبریز	۳	۰/۰۱۱	۰/۰۰۱	۰/۸۱
تهران	۴۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۰۲۷
خوزستان	۳	۰/۰۱۵	۰/۰۰۹	۰/۲۳۱
گیلان	۸	۰/۰۱۷	۰/۰۰۵	۰/۰۵۱
زنجان	۳	۰/۰۲	۰/۰۰۷	۰/۷۲
گلستان	۶	۰/۰۵۹	۰/۰۱۳	۰/۲۶۱

علیرغم معنی داری اختلاف میزان آلودگی دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری در دو فصل زمستان و تابستان پس از تجمیع داده‌ها دو فصل هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. علت اصلی این موضوع این است که اثر آلودگی دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری در دو فصل عکس یکدیگر است. در فصل زمستان آلودگی دامداری‌های صنعتی (۷۰ درصد) بیشتر از مراکز جمع‌آوری (۳۰ درصد) است در حالی که در فصل تابستان الودگی همین دامداری‌ها (۳۲ درصد) کمتر از مراکز جمع‌آوری (۶۸ درصد) می‌باشد.

بحث

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۶۱ و با استفاده کروماتوگرافی لایه نازک در ۵۲ نمونه شیرخام و ۷ نمونه شیر پاستوریزه انجام گرفت، ۹۲/۳٪ از نمونه‌های شیرخام و نیز تمامی نمونه‌های شیر پاستوریزه مورد بررسی در این مطالعه، آلوده به آفلاتوکسین بودند. میزان آلودگی به ترتیب ۶ تا ۱۰ میکروگرم در لیتر و نیز ۱ تا ۵ میکرو گرم در لیتر گزارش گردید که این مقادیر ۱۰ تا ۲۰ برابر حد مجاز آلودگی افلاتوکسین بر اساس استاندارد بین المللی می باشند (۱). همچنین در مطالعه دیگری با استفاده از روش ELISA بر

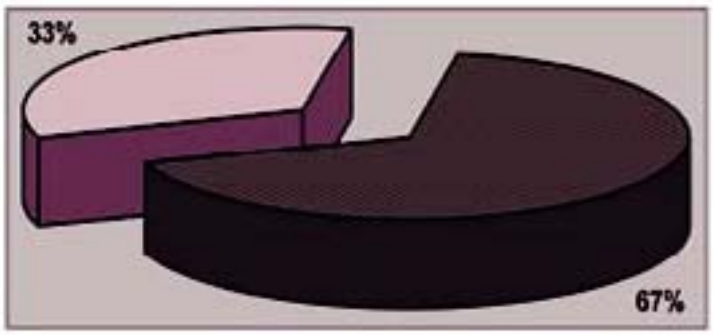
جدول شماره ۵ میزان نسبت‌های پراکندگی آلودگی

ردیف صدک	مقدار آلودگی(برحسب ppb)	ردیف صدک	مقدار آلودگی (برحسبppb)
۱۰	۰/۰۰۱	۵۹	۰/۰۱۴
۲۰	۰/۰۰۲	۶۰	۰/۰۲۰
۳۰	۰/۰۰۳	۷۰	۰/۰۳۰
۴۰	۰/۰۰۴	۸۰	۰/۰۳۸
۵۰	۰/۰۰۵	۹۰	۰/۰۴۷

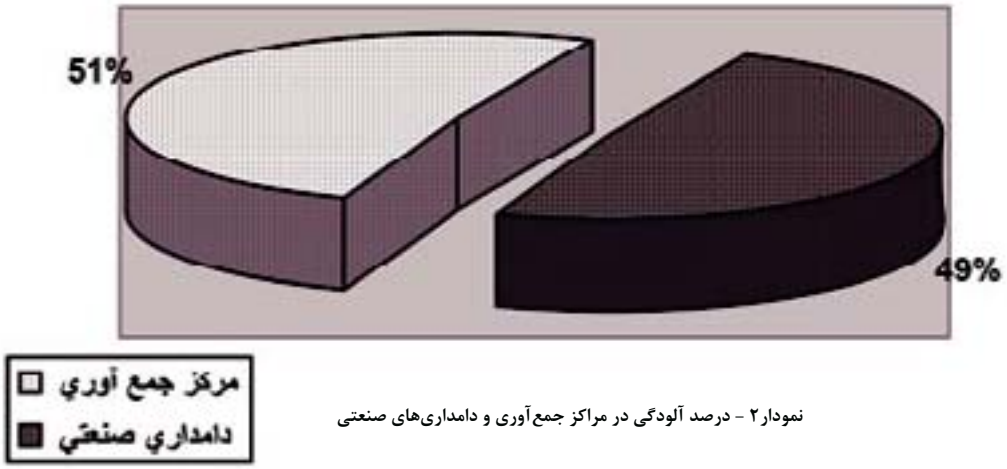
روی ۷۳ نمونـه شـیر ۸۲/۲٪ از نمونه‌ها با میانگین آلودگـی ۲۵۹ نانوگرم در لیتر آلوده تشـخیص داده شد که این میزان حدود نصف استاندارد ملی و نیز بین المللی اسـت (۲). در مطالعه دیگری که در شـیرهای خشک سه کارخانه تهـران، گرگان و مجتمع مغان با اسـتفاده از روش ELISA انجام گرفت، ۹۷٪ از نمونه‌ها آلوده تشـخیص داده شـد میانگیـن آلودگی ۷۷۰ نانوگرم در لیتر با حدود تغییرات ۱۷۹۴/۴ – ۱۳۱/۴ شناسـایی شدند(۳). در بررسـی‌های انجام شده توسط Nakajima و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی ۲۰۸ نمونه شیر پاستوریزه در ژاپن انجام گردیده است، میزان آلودگی شـیر به آفلاتوکسین در ۱۱ استان مورد بررسی در حدود ۰۲۹٪ تا ۰/۰۰۱ میکروگـرم در کیلو گـرم با میانگین ۰/۰۰۹ میکرو گـرم در کیلوگرم بوده اسـت در این تحقیق از روش مناسب تعیین اعتبار آزمون آزمایشگاهی نیز بهره برده شده است(۱۵).

در مطالعه دیگری توسـط Elgerbi در سـال ۲۰۰۳ در آفریقا با ۴۹ نمونه از شـیر خام و ۲۰ نمونه از پنیر تولید شـده در شـمال غربی لیبی انجام گرفته اسـت. در این بررسی نیز میزان درصد بازیافت در نمونه‌های آسپایک شده در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۱/۰ و ۳/۰ ppb به ترتیب برابـر بـا ۶۶/۸۵، ۲۹/۴۱، ۹۴/۷۲، ۹۷/۸۳ و ۹۸/۲۵درصـد بوده اسـت. میزان ضریب همبسـتگی در این آزمایش‌ها به ترتیب برابر ۷۷/۱۱، ۳/۴، ۱/۵۷، ۱/۲۹ و ۰/۵۴ درصد بوده اسـت. ۷۴/۱٪ از نمونه‌ها دارای آلودگی مابین ۰/۰۰۳ تا ۳/۱۳ نانوگرم در میلی لیتر بوده اسـت و درصد بازیافت در شـیرهای غیر آلوده شناسـایی شده با میزان آلودگی با اسـتاندارد به مقدارهـای ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۱/۰ و ۳/۰ نانو گرم در میلی لیتر میانگین درصـد بازیافت با مقادیـر ۶۶/۸۵، ۷۲/۴۱، ۸۳/۲۹، ۹۷/۹۴ و ۹۸/۲۵٪ را با میزان ضریب همبسـتگی۳/۷۷، ۴/۱۱، ۱/۵۷، ۱/۲۹ و ۰/۵۴٪ را نشان داده‌اند(۷). این اطلاعات مربوط بـه مقادیر تعیین اعتبار دقت و صحت و توجـه به این موضوع مهم در ارایه مقالات و نتایج پروژه‌های تحقیقاتی در زمینه آفلاتوکسین M۱ را نشان می‌دهد.

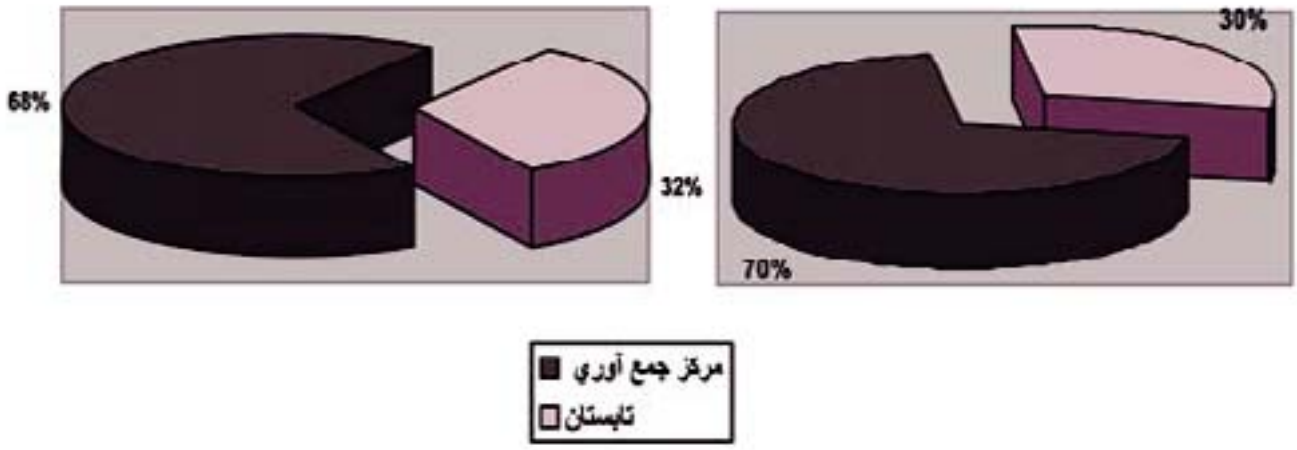
مطالعـه حاضـر به صورت بررسـی فصلـی و در چهار فصـل بر روی شـیرهای پاستوریزه ۵ کارخانه تهران، شیراز، همدان، رشت و گرگان انجام گردد. آزمون‌های مقایسه ی میانگین‌ها هیچ نوع اختلافی را میان، میانگین آفلاتوکسـین M_1 در سال گذشـته و به طور خاص زمستان سال گذشته و میانگین همین متغییر در مطالعات فعلی نشـان نمی دهد. براسـاس منابع فرآیند حرارتی تاثیر زیادی بر میزان آلودگی آفلاتوکسـین ندارد (۱۶، ۱۷). بنابرایـن دلیل خاصی بـرای توجیه اختلاف میـان دامداری‌های صنعتی و سـنتی و همچنین میان کارخانه‌های مختلف کـه در مناطق محتلف واقع شـده‌اند یافت نشـد. حتی در مورد نحوه ی اثر فرآیند پاسـتوریزه کردن شـیر بر کاهش میزان آلودگی آفلاتوکسـین M۱ ابهاماتی وجود دارد (۶). ایـن فقدان اطلاعات و عـدم حتمیت‌ها، تصمیم‌گیری در مورد شـیوه‌های مطلـوب برای آلودگـی زدایی و تعیین سـطح قابل قبـول از آلودگی رادر هـر منطقه و کارخانه را غیر ممکن سـاخته و پیش بینی میزان آلودگی را



نمودار۱- درصد آلودگی فصلی



نمودار۲ - درصد آلودگی در مراکز جمع‌آوری و دامداری‌های صنعتی



نمودار ۳- آلودگی دامداری‌های صنعتی و مراکز جمع‌آوری به تفکیک فصل

مشکل می‌سازد. اگر چه عواملی همچون نوع علوفه، شرایط اقلیمی، شیوه ذخیره‌سازی علوفه و تعدادی از عوامل دیگر در میزان این آلودگی مهم و اثرگذار خوانده می‌شوند، اما میزان و نحوه اثر هیچ یک از این عوامل به درستی مشخص نیست. لذا پاسخ دقیق به این پرسش به مطالعه‌ای خاص در این زمینه نیاز دارد.

با توجه به نیاز عمومی بین‌المللی در زمینه بهداشت مواد غذایی، آلودگی انواع مواد غذایی به مایکوتوکسین‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این مسئله منجر به تدوین و ارزیابی آلودگی شیر به آفلاتوکسین توسط کمیته تخصصی GECFA برای ارزیای تخصصی سم شناسی در این زمینه گردید.

کدکس به عنوان سازمان بین المللی وظیفه ایجاد تسهیلات مربوط به مقررات مربوط به مواد غذایی برای تسهیل در تبادلات تجاری را دارد و در این زمینه استاندارد آفلاتوکسین M_1 را در شیر در حد ۰/۵ ppb تدوین نموده است. با توجه به این موضوع و ارزیابی انجام شده خوشبختانه تمامی نمونه‌های اخذ شده در حد پایین‌تر از استاندارد ملی و نیز کدکس بین المللی بوده است. البته با توجه به رویه کشور در زمینه تولید و افزایش مصرف سرانه شیر به نظر می‌رسد که نیاز به انجام رویکردهای مناسب در زمینه مربوط به آلودگی زدایی خوراک دام برای ممانعت از ترشح و تولید انواع سموم قارچی در خوراک دام با توجه به اجرای شعار (پیشگیری بهتر از درمان است) ضروری به نظر می‌رسد.

پاورقی‌ها

1- p53/suppressor gene
2- Aspergillus
3- Flavous
4- Parasiticus
5- Thin Layer Chromatography
6- Joint Expert Committee of Food Additives WHO/FAO Codex Alimentarius Commission
7- GEMS Food Regional Diet WHO
8- Jmmunoassay
9- Extracting
10- High Performance Liquid Chromatography
11- Precision
12- Accuracy
13- Repeatability
14- Reproductibility
15- Certified Reference Material(CRM)

منابع مورد استفاده

۱ - کریم گیتی، پروانه ویدا و کردی جلال .۱۳۶۱؛ بررسی آلودگی شیر به آفلاتوکسین در منطقه تهران، مجله بهداشت ایران، سال یازدهم شماره ۲-۱.

۲ - کریم گیتی، بکائی سعید و خراسانی اکبر .۱۳۷۸؛ مطالعه میزان آلودگی شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M_1 با استفاده از روش ELISA، مجله پژوهش و سازندگی شماره ۴۰، ۴۱ و ۴۲ .

۳ - نواب پور ثریا، افشار پاد کامران، هاشمی جمال و صفا بخش سینا .۱۳۸۱؛ بررسی میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر خشک‌های صنعتی تولید داخل کشور، پایان نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به شماره ۵۱۳، سال تحصیلی ۸۱- ۱۳۸۰.

4- Adams Richard S; Kenneth B. Kephart; Virginia A. Ishler, Lawrence J. Hutchinson, Gregory W.Roth. .1993; Mold and mycotoxin problems in Livestock feeding. Colleege of Agricultural Science, Penn State University www. Das. Edu/ teamdairy.

5- Andrew Yu Zhadanov. 1999; Catalogue of the manufacturers and suppliers of analyting and measurement. www. Instruments. ru/

6-Bagley. V.Clell. 1999; Aflatoxins. Bulletim Ticnico No. 11. Extension veterinarian Utah State University. www. Utah. Edu/ pub. htm

7- Elgebri AM, AidooKE, Candlish AA, Tester RF. 2004; Occurrence of aflatoxin M_1 in randomly selected North African milk and cheese samples. Food Addit Contam, 21(6): 592-7.

8- European Community Comments for the Committee of Food Additives and Contaminants. .2000; Draft maximum level for aflatoxin M_1 in milk CL 1999/13- GEN- CX0016 FAC-Agenda item 16a. Beijing People's Republic of China, 20-24 March 2000.

9- FAO Publications. .1991; Manuals of food quality control training in mycotoxin analysis. 14 (10) 60-99.

10- Goodman T. Kuiper. 1999; Approaches to the risk analysis of mycotoxins in food supply. Third Joint FAO/ WHO/UNEP international conference on mycotoxins Tunis, Tunisia Myc- Conf/ 99/7 a.

11-Hussein S Hussein; Jeffery M. Brasel. 2001; Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology (167)101-134 www. Elsevier. Com/ locate/ toxicol

12- Ismair Y.;S. Ruston. .1996; Aflatoxin in food and feed: Occurrence, Legislation and inactivation by physical methods. Food chemistry 59 (1) 57-67.

13- Intemational Standard Organization. .2000; General requirements for the competence of testing and calibration Laboratories. ISO/DS/EN 17025: 2000 www/iso.org/ publications/ std/ Iso 17025

14- Kim EK; Shon DH; Ryu D; Park JW; Hwang HJ; Kim YB. .2000; Occurrence of aflatoxin M1 in Korean products determined by ELISA and HPLC. Food Additives and Contaminant 17 (1): 59-64

15-Nakajima M, Tabatas, Akiyma H.2004; Occurrence of aflatoxin M1 in domestic milk in Japan during the Winter season, Food Addit Contam, 21 (5): 472-8 12

16- Panariti, E. .2001; Seasonal variation of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania Arhiv za higijenu rada Toksikologiju 52(1) 37-42.

17- World Health Organization publication, Aflatoxins .2002; International Agency for Research on Cancer (IARC) Summaries & Evaluations VOL.: 82 p.171 www. Inchem. Org/documents/iarc/ monoval/eval.htm.