

کاهش آفلاتوکسین M1 در شیر با استفاده از برخی ترکیبات جاذب شیمیایی و مطالعه تأثیر آنها بر ترکیب شیر

• ساحل سها

اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی واحد اراک، اراک - ایران

• محسن برجی (نویسنده مسؤل)

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، اراک - ایران

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۴

Email: mborji2001@yahoo.com

چکیده

این مطالعه برای بررسی اثر ترکیبات جاذب شیمیایی بر کاهش آفلاتوکسین M1 از شیر خام انجام شد. نمونه‌های شیر آلوده به آفلاتوکسین M1 از دو راس گاو شیری که در اواسط شیردهی بودند و با جیره‌های غذایی آلوده به آفلاتوکسین B1 برای یک دوره ۲۰ روزه تغذیه شدند تهیه شد. ترکیبات جاذب شیمیایی استفاده شده در این آزمایش انواعی از بنتونیت و سدیم کلسیم آلومینو سیلیکات هیدراته (HSCAS) بودند. نمونه‌های آلوده شیر (۸۷/۴ نانو گرم در لیتر آفلاتوکسین M1) در دو سطح این ترکیبات (۵/۰ و ۲ درصد) در دمای اطاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ دقیقه) آزمایش شدند. کاهش سم، ترکیبات شیر، pH شیر و بقایای بعضی از عناصر (آلومینیوم و سیلیسیوم) که ممکن است پس از فرآوری باقی مانده باشند، بررسی شدند. نوع ترکیبات جاذب شیمیایی، سطح استفاده شده و اثرات متقابل آنها کاهش قابل ملاحظه آفلاتوکسین در شیر را موجب شدند ($p < 0/01$). آفلاتوکسین در شیر به وسیله بنتونیت B1 تا بیش از ۹۰٪ کاهش یافت، اما کاهش آفلاتوکسین M1 به وسیله سدیم کلسیم آلومینو سیلیکات هیدراته و بنتونیت X به ترتیب ۷۷٪ و ۷۱٪ بود. ترکیبات شیر متشکل از پروتئین، چربی، لاکتوز، مواد جامد غیر چربی و کل مواد جامد تحت تأثیر افزودن بعضی از مواد جاذب به شیر قرار گرفتند ($p < 0/05$)، اگر چه مقدار افزایش یا کاهش اجزاء شیر از نظر عددی جزئی بود. نتایج به دست آمده حاکی از عدم وجود بقایای آلومینیوم در شیر بود، اما سطح پایینی از سیلیسیوم پس از فرآوری شیر با ترکیبات جاذب شیمیایی در نمونه‌ها باقی مانده بود. این مطالعه نشان داد که استفاده از ترکیبات جاذب شیمیایی راندمان بالایی برای سم زدایی آفلاتوکسین M1 در شیر دارد. چون این روش معمولاً متضمن تجزیه سم نیست، شیر احتمالاً آلوده به فرآورده‌های حاصل از تجزیه سم نبوده و برای مصرف مطمئن است. به علاوه امکان جدا کردن مواد افزوده شده به شیر پس از اینکه این مواد سم را جذب نمودند به آسانی وجود دارد. لذا برای تعیین اثرات این ترکیبات روی خصوصیات عملکردی شیر این روش بایستی به وسیله تحقیقات بیشتر توسعه یابد.

کلمات کلیدی: کاهش، آفلاتوکسین M1، مواد جاذب شیمیایی، ترکیب شیر

Pajouhesh & Sazandegi No 74 pp: 19-26

Reductions of aflatoxin M1 in milk utilizing some chemisorption compounds and study their effects on milk composition

By: S. Soha, Office of Standards and Industrial Research of Arak Unit, Arak-Iran.

M. Borji Research Center of Agriculture and Natural Resources of Markazy Province, Arak-Iran

This study was conducted to survey the effect of chemisorption compounds on decreasing of aflatoxin M1 from raw milk. Contaminated milk samples to aflatoxin M1 were obtained from two dairy cows that were in mid lactation and were fed with contaminated diets by aflatoxin B1 for a 20- days period. Chemisorption compounds used in this experiment were kinds of bentonite and hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS). The samples of contaminated milk (87.4 ng/lit aflatoxin M1) were tested in two levels (5% and 2%) of these compounds in room temperature (25°C, 30 minutes). Toxin decreasing, milk composition, milk pH and the residues of some elements (Al and Si) that may be present after treatment were surveyed. The kind of chemisorption compounds, applied level and their interaction had noticeable effects for decreasing of milk aflatoxin ($p < 0.01$). Milk aflatoxin was decreased more than 90% by bentonite B1, but decreasing of aflatoxin M1 by HSCAS and bentonite X was about 77% and 71% respectively. Milk composition consist of protein, fat, lactose, solid non fat and total solid were affected by addition of some adsorbents ($p < 0.05$), although values of increasing or decreasing of milk components were negligible. As a result, there were no residues of aluminium, but a low level of silicium was left in the samples that were treated with chemisorption compounds. This study showed that utilization of chemisorptions compounds had high efficiency for detoxification of aflatoxin M1 from milk. Because in this method does not usually involve degrading the toxin, milk may be free from toxin degradation products and is safe for consumption. In addition, the added material may be easily separated from milk after the substance adsorbs the toxin. Thus, this method should be developed by further researches for determining effects of these compounds on functional properties of milk.

Key words: Reduction, Aflatoxin M1, Chemisorption compounds, Milk composition**مقدمه**

به آفلاتوکسین M1 را بین ۴-۱ درصد (۹) و یا ۳-۱ درصد (۱۹) اعلام کرده‌اند ولی نسبت‌های تبدیل حتی تا ۶ درصد نیز در مصارف بالای روزانه سم آفلاتوکسین B1 گزارش شده است (۳۳). به طور خلاصه می‌توان گفت که خطرناکترین آفلاتوکسین که همان نوع B1 است در میکروزومال‌های کبدی^۱ و با دخالت اکسیدازهای چند کاره (۲۰) توسط گاوهای شیری عمدتاً به مشتق ۴- هیدروکسی خود تبدیل شده و آفلاتوکسین M1 را به وجود می‌آورد (۹، ۱۵).

اگر چه روشهای کاملاً قابل اعتمادی که بتوانند تضمینی را در زمینه جلوگیری کامل از آلودگی‌های آفلاتوکسینی محصولات کشاورزی ارائه دهند وجود ندارند، اما به طور کلی فرآیندهای سم زدایی شامل کاهش سم، تخریب ساختمانی سم یا غیر فعالی سازی سموم آفلاتوکسینی می‌باشد (۲۸).

در زمینه تقلیل سم آفلاتوکسین M1 نیز روش‌های متفاوتی به کار برده شده است، اما خلاصه تحقیقات نشان می‌دهد که محتوای سم M1 موجود در شیر طی عمل پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و خشک کردن غلظتی پایدار بوده و تغییر مشخص و قابل ملاحظه‌ای ندارد (۱۰، ۲۱، ۳۴).

نتایج تحقیقات انجام شده نشان داده که یکی از مهمترین شیوه‌ها

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها هستند که ممکن است دارای اثرات سمی، سرطان زایی، جهش زایی و ناقص الخلقه زایی باشند. در حال حاضر حدود ۱۵۰ نوع مختلف از مایکوتوکسین‌ها شناسایی شده‌اند که تفاوت‌هایی از نظر ساختمان در آنها مشاهده می‌شود (۳۵). آفلاتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات بسیار سمی از دسته مایکوتوکسین‌ها هستند که به راحتی در خلال رشد و انبار داری مواد غذایی به وجود می‌آیند. عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسین‌ها ممکن است به دو صورت ظاهر گردد. اول عوارض سریع مربوط به پدیده مسمومیت و دوم عوارض کند مربوط به خاصیت سرطانزایی (۳۵). حداقل ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته شده‌اند که در بین آنها آفلاتوکسین‌های G1، B2، B1 و G2 مهمتر هستند (۳۳).

کمی پس از کشف آفلاتوکسین‌های جدا شده از مواد غذایی محققین پیشنهاد کردند که احتمال وقوع باقیمانده‌های آفلاتوکسینی در شیر و دیگر فرآورده‌های حیوانی تهیه شده از دام‌هایی که از مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه کرده‌اند وجود دارد. این سم در شیر آفلاتوکسین M نام گرفت که انتخاب این نام مشخص کننده منبع جداسازی آن یعنی شیر بود (۳۴). اکثر تحقیقات میزان تبدیل آفلاتوکسین B1 موجود در جیره

(۱۸) به صورت کل جیره مخلوط (TMR) متشکل از ۴۰ درصد کنسانتره و ۶۰ درصد علوفه تغذیه می‌شدند. اجزای جیره شامل بخش کنسانتره‌ای جو، سبوس، نان خشک (با سبوس و نان خشک آلوده شده) و بخش علوفه‌ای کاه گندم و یونجه بود. احتیاجات غذایی گاوها با استفاده از جداول استاندارد تغذیه‌ای (۴) برای گاوهای کم تولید تنظیم شد. گاوها آزادانه به آب و نمک دسترسی داشته و شیر دوشی روزانه دو نوبت در ساعات ۶ و ۱۷ صورت گرفت.

یک دوره ۱۰ روزه به منظور عادت پذیری گاوها برای مصرف جیره آلوده در نظر گرفته شد، به این ترتیب که روزانه به میزان ۱۰ درصد از کنسانتره آلوده جایگزین کنسانتره معمول گردید. بعد از این مدت به مدت ۱۰ روز نیز اجازه داده شد تا گاوها جیره آلوده را به طور کامل و به صورت اختیاری مصرف نمایند. در روز بیستم وجود مقدار کافی سم با استفاده از روش تشخیص سریع الایزا تایید شد (۱۲). زمانی که میزان سم M1 در شیر بیشتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر بود، نمونه آلوده در نظر گرفته می‌شد (۱۴) و برای آزمایش افزودن مواد جاذب مورد استفاده قرار می‌گرفت.

مواد جاذب مورد استفاده و نحوه کاربرد: در این آزمایش از سه نوع ماده جاذب بنتونیت B1، بنتونیت X و سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته استفاده شد. دو نوع بنتونیت از معادن داخل کشور (کرمان) و سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته در پژوهشگاه مواد و انرژی تهیه شد. اثر سه نوع ماده جاذب در دو سطح (۵/۰ و ۲ درصد) بر روی کاهش میزان سم M1 شیر در ۲۵ درجه سانتیگراد برای ۳۰ دقیقه بررسی شد. برای انجام آزمایش میزان ۲۰ میلی لیتر شیر در ارلن‌های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد. غلظت سم قبل از افزودن مواد جاذب برای همه نمونه‌ها یکسان و ۸۷/۴ نانوگرم در لیتر بود. برای هر یک از مواد جاذب در هر سطح سه ارلن و سه ارلن نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم برای انجام واکنش شیر از ارلن‌های محتوی مواد جاذب خارج شده و برای تعیین میزان آفلاتوکسین و ترکیبات به ارلن‌های دیگر انتقال یافت. میزان سم در نمونه‌ها با استفاده از روش الایزا (۱۳) و کیت‌های مربوطه (R- Biopharm Germany - R 1101) تعیین شد.

سایر موارد تعیین شده در آزمایش: اثرات مواد جاذب بر ترکیبات تشکیل دهنده شیر شامل چربی، پروتئین، لاکتوز، کل مواد جامد و مواد جامد غیر چربی شیر با استفاده از دستگاه میکرواسکن (N Foss Group 133B) تعیین شد. pH شیر در نمونه‌های شاهد و نمونه‌هایی که مواد جاذب به آنها اضافه شده بود با استفاده از pH متر دیجیتال (Methrom 7B) تعیین گردید (pH شیر در همه نمونه‌ها قبل از افزودن مواد جاذب یکسان و برابر با pH نمونه شاهد بوده است).

برای اندازه‌گیری بقایای احتمالی عناصر تشکیل دهنده مواد جاذب در شیر از دستگاه جذب اتمی (Varian Spectra AA 20 plus) استفاده شد. برای آماده سازی نمونه‌ها ۲۰ میلی لیتر شیر محتوی ۵/۰ درصد هر یک از مواد جاذب در بوتله‌های چینی بر روی حمام آب گرم تغلیظ شد. نمونه‌های مذکور در دمای ۴۵۰ درجه سانتیگراد کوره الکترونیکی (Nabertherm L 3214) سوزانده و خاکسترگیری شدند. به خاکستر حاصل میزان ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ افزوده و نمونه به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. در نمونه آماده سازی شده دو عنصر آلومینیوم و سیلیسیوم بوسیله دستگاه جذب اتمی با استفاده از لامپ‌های موجود و محلول‌های

در کاهش بروز اختلالات مربوط به سموم آفلاتوکسینی یا جلوگیری از ورود این سموم در شیر، گوشت و تخم مرغ استفاده از مواد جاذب سم می‌باشد (۲۷). محققین نشان داده‌اند که مواد جاذب متفاوتی از دسته سیلیکاس‌ها^۲، آلومینوسیلیکات^۳ و آلومیناس^۴ ترکیباتی قوی برای اتصال با آفلاتوکسین‌ها در محیط مایع می‌باشند که نتیجه این اتصال جذب سم از محیط است (۲۶). به دلیل شباهت ساختمانی که دو سم آفلاتوکسین B1 و B2 با یکدیگر دارند، تحقیقات Applebaum و Marth بنتونیت را به عنوان یک عامل کاهنده سم M1 در شیرهایی که آلودگی طبیعی به این سم داشتند، معرفی نموده است (۸). علاوه بر خاک‌های جاذب از جمله بنتونیت، ورمیکولیت^۵، (۲۲)، و سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته (۲۴، ۲۵، ۲۹، ۳۰)، کربن فعال نیز به عنوان یک ترکیب جاذب با تمایل زیاد جهت جذب انواع سموم در محیط‌های محلول شناخته شده است (۱۱، ۱۶، ۱۸).

ظرفیت اتصال و پایداری ترکیبات تشکیل شده بین ماده جاذب و سم تا حدود زیادی متفاوت بوده و از شرایط دمایی و pH محیط نیز متأثر می‌شود (۲۶).

در خصوص تاثیر استفاده از مواد جاذب بر ترکیبات تشکیل دهنده شیر متاسفانه اطلاعات زیادی در دست نیست. Applebaum و Marth تاثیر مقدار بنتونیت به کار رفته بر روی محتوی پروتئینی شیر را ناچیز بیان کرده و حداکثر تقلیل محتوی پروتئینی در اثر مصرف این مواد را ۵ درصد ذکر کردند (۸)، در حالی که Ellis و همکاران نشان دادند که کاربرد مواد جاذب تاثیرات بسیار جزیی را در کیفیت تغذیه‌ای شیر برجای می‌گذارد (۱۴). در این تحقیق در نظر است که در مرحله اول توان جذب سم M1 در شیرهای خام در مورد بعضی از ترکیبات جاذب مورد ارزیابی قرار گیرد و در مرحله دوم اثرات استفاده از این مواد بر ترکیبات تشکیل دهنده شیر نیز مطالعه گردد.

مواد و روش کار

تهیه جیره‌های غذایی آلوده به شیوه تلقیح

برای این منظور اسپورهای دو کپک اصلی و یک کپک فرعی تولید کننده سم آفلاتوکسین B1 به نام‌های *Aspergillus flavus*، *A. niger* و *paraziticus* تهیه شد. خالص سازی اسپور این کپک‌ها توسط کشت متوالی کلنی کپک‌ها بر روی محیط کشت جهت حذف هر نوع کلنی مشکوک صورت گرفت. کپک‌ها به دو جزء از بخش کنسانتره‌ای جیره (شامل سبوس و نان خشک) اضافه شده و مواد برای مدت زمان کافی در شرایط مناسب محیطی (دمای ۲۸ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴۰ درصد و مدت زمان ۷ روز) نگهداری شدند. میزان سم B1 و کل سموم آفلاتوکسینی با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (۵) تحت کنترل قرار گرفت. زمانی مواد خوراکی برداشت و برای تهیه جیره مورد استفاده قرار گرفتند که میزان سم در کل جیره مخلوط به بیش از ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم (۲۰ ppb) (۱۴) می‌رسید.

دام‌های مورد استفاده: در این آزمایش از دو راس گاو گلپایگانی چند شکم زایش و با وزن ۱۰±۳۵۰ کیلوگرم که در اواسط شیر دهی قرار داشته و متوسط تولید شیر روزانه آنها ۵±۰/۵ کیلوگرم بود استفاده شد. گاوها در داخل جایگاه‌های انفرادی قرار داشتند که روزانه دو نوبت (ساعت ۷ و

استاندارد تعیین گردید(۵).

تجزیه و تحلیل‌های آماری طرح: در این مطالعه از یک طرح کاملاً تصادفی متعادل با آزمایش فاکتوریل استفاده شد. نوع ماده جاذب به عنوان فاکتور A، سطح کاربرد ماده جاذب به عنوان فاکتور B، اثرات متقابل آنها به عنوان تیمار (AB) و برای هر تیمار در آزمایش جذب سم ۳ تکرار و در آزمایش تاثیر مواد جاذب بر ترکیبات شیر ۴ تکرار در نظر گرفته شد (۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از مدل خطی عمومی و با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت (۳). در صورت معنی دار بودن اثرات هر یک از فاکتورها یا اثرات متقابل آنها (تیمارها) از آزمون چند مقایسه‌ای دانکن استفاده شد (۳۲).

نتایج و بحث

سه ماده جاذب از دسته خاکهای فیلولسیلیکاتی^۶ در این آزمایش در دو سطح (۰/۵ و ۲ درصد) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و زمان ۳۰ دقیقه به کار رفتند. نتایج مقایسه میانگین تیمارها در جداول ۱ نشان داده شده است.

همچنان که در جدول یک مشاهده می‌شود حداکثر کاهش سم را بنتونیت B ۱ داشته که میانگین مقدار سم را بیش از ۹۰ درصد کاهش داده و از آنجایی که بین دو سطح مصرفی حداقل و حداکثر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد می‌توان نتیجه گرفت که بنتونیت B ۱ در سطح حداقل مصرف (۰/۵ درصد) نیز جذب سم قابل توجهی داشته است. حداقل جذب سم در این آزمایش مربوط به کاربرد ۰/۵ درصد بنتونیت X می‌باشد که حدود ۴۹ درصد بوده است.

تاکون از روش‌های مختلفی برای تقلیل سم M ۱ شیر استفاده شده که از آن جمله می‌توان استفاده از سولفیت‌ها (۱، ۸)، پراکسید هیدروژن یا پراکسید هیدروژن همراه با ریبولوین یا لاکتوپراکسید (۷) سایر روش‌های فیزیکی و شیمیایی (۲۸) و بیولوژیکی (۳۱) را نام برد. اما از جمله موثرترین روش‌ها (در محیط مایع) استفاده از خاک‌های جاذب بوده است (۲۶).

البته اگر چه عمده تحقیقات انجام شده در مورد توانایی جذب سم به وسیله خاک‌های جاذب با استفاده از سم B ۱ انجام شده، اما به دلیل شباهت ساختمانی تحقیقات انجام شده نتایج مشابهی را برای سم M ۱ گزارش نموده‌اند (۲۶). در مطالعه Applebaum و Marth حداکثر بنتونیت به کار رفته ۲ درصد بوده که موجب کاهش ۸۹ درصدی در محتوای سم M ۱ از شیر شده است (۸) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. Phillips و همکاران عنوان نموده‌اند که خاکهای فیلولسیلیکاتی در سیستم محلول شیر توانایی جذب سم را دارند و هر میلی‌گرم از این خاک‌ها به خصوص نوع سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته قدرت جذب ۴۲۰ نانومول آفلاتوکسین B ۱ و ۱۵۶ نانومول آفلاتوکسین M ۱ را داشته است (۲۶). طبق این تحقیقات میزان ۲/۵ برابر جذب سم B ۱ نسبت به M ۱ مربوط به افزایش گروه هیدروکسی در ساختمان M ۱ است که منجر به افزایش اندازه ملکول و کاهش قابلیت دسترسی سم به جایگاه‌های قابل اتصال در لایه‌های داخلی خاکهای جاذب می‌شود.

تحقیقات انجام شده مشخص نموده که علاوه بر شکل ساختمانی، برخی از خواص دیگر این خاک‌ها مانند دانسیته، قابلیت تورم، ظرفیت

تبادل کاتیونی، اندازه و قطر ذرات نیز بر قدرت جذب سم آنها اثر دارد (۱۷). همچنین خاک‌هایی که تحت فرآوری حرارتی (۶۵۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۲۴ ساعت) قرار گرفتند آفلاتوکسین بیشتری را نسبت به آنهایی که فرآوری نشدند جذب می‌کردند (۲۲).

در کل ذکر این نکته ضروری است که مواد جاذب شیمیایی از دسته خاک‌های فیلولسیلیکاتی هستند که از نظر ساختمانی ترکیبات مشبک متشکل از لایه‌ها یا زنجیره‌های سیلیکاتی تکرار شونده با فضاهای خالی جهت به دام اندازی یک سری ترکیبات ثانویه نظیر سموم می‌باشند (۲۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های حاصل از بررسی تاثیر دو سطح کاربرد سه نوع ماده جاذب بر ترکیبات تشکیل دهنده شیر در جدول ۲ نشان داده شده است.

در ارتباط با تاثیر کاربرد مواد جاذب بر میزان پروتئین شیر، اگر چه هر دو سطح کاربرد سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته و سطح دو درصد بنتونیت X موجب کاهش معنی‌دار پروتئین شده ($p < 0.05$) از نظر عددی این کاهش قابل توجه نبود به نحوی که استفاده از ۲ درصد سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته، گرچه بیشترین تفاوت عددی با میزان پروتئین شیر نمونه شاهد را داشته، حداکثر میزان کاهش پروتئین توسط این ماده فقط ۲/۷ درصد بوده است. بیشترین میزان کاهش پروتئین برای بنتونیت B ۱ که در این مطالعه بهترین ماده جاذب سم بوده فقط ۰/۲۱-۰/۱۴ درصد بود که بسیار ناچیز می‌باشد. Applebaum و Marth حداکثر میزان کاهش پروتئین شیر در نتیجه کاربرد بنتونیت را ۵ درصد بیان کردند (۷). با توجه به اینکه نحوه قرارگیری آفلاتوکسین M ۱ در شیر از طریق برقراری ارتباط متقابل بین مناطق هیدروفوب کازئین با مناطق هیدروفوب سم می‌باشد، بعید نیست که استفاده از مواد جاذب برای جذب سم منجر به جذب پروتئین و تقلیل درصد پروتئین شیر گردد(۱۵).

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های حاصل از تاثیر مواد جاذب بر میزان چربی شیر نشان داد که فقط نوع ماده جاذب در این مورد دارای تاثیر بسیار معنی‌دار بوده ($p < 0.01$)، در حالیکه سطح کاربرد ماده جاذب و اثرات متقابل (نوع × سطح ماده جاذب) اثر معنی‌داری بر میزان چربی شیر نداشته است، اما مقایسه میانگین‌ها نتایج یکنواختی نشان نداد، به این ترتیب که با وجود عدم تفاوت سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته (در سطوح ۰/۵ و ۲ درصد) با شاهد، بنتونیت B ۱ و بنتونیت X (هر دو در سطوح ۰/۵ و ۲ درصد) تفاوت معنی‌داری با شاهد داشته‌اند ($p < 0.05$). اگر چه این تفاوت از نظر عددی قابل توجه نبوده و میزان کاهش برای بهترین ماده جاذب (بنتونیت B ۱) نسبت به شاهد ۱/۶ درصد بوده است (جدول ۲). علت این امر را نیز می‌توان ارتباط هیدروفوبی چربی با سم دانست(۳۴).

در خصوص لاکتوز، مواد جامد غیر چربی و کل مواد جامد نتایج تقریباً مشابهی به دست آمد به این ترتیب که هم نوع ماده جاذب و هم سطح کاربرد ماده جاذب و اثرات متقابل آنها اثرات کاملاً معنی‌داری را اعمال نمودند ($p < 0.01$). مقایسه میانگین‌های مربوط به میزان لاکتوز، مواد جامد غیر چربی و کل مواد جامد نشان داد که در نتیجه استفاده از مواد جاذب ترکیبات فوق‌الذکر شیر در مقایسه با شاهد در مورد بعضی از مواد جاذب یا سطوح کاربرد آنها بدون تغییر و در مورد برخی مواد جاذب یا سطوح دیگر موجب افزایش این ترکیبات شده است (جدول ۲) و اگر چه برخی از افزایشها معنی‌دار بوده ($p < 0.05$) نسبت افزایش قابل توجه نبوده است. ۲ درصد بنتونیت X با

جدول ۱: مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد).

تیمار	مقدار سم (mg/lit)	انحراف معیار مقدار سم	درصد کاهش نسبت به شاهد	گروه بندی براساس آزمون دانکن
شاهد	۸۷/۴۰	۰/۰۰۰	-	a
بنتونیت B۱- ۰/۵ درصد	۸/۲۳	۰/۰۵۷۷	۹۰/۵۸	f
بنتونیت B۱- ۲ درصد	۸/۱۷	۰/۰۵۷۷	۹۰/۶۵	f
سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته- ۰/۵ درصد	۳۷/۰۳	۰/۰۵۷۷	۵۷/۶۳	c
سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته - ۲ درصد	۱۹/۳۷	۰/۱۵۳	۷۷/۸۴	e
بنتونیت X- ۰/۵ درصد	۴۴/۴۷	۰/۰۵۷۷	۴۹/۱۲	b
بنتونیت X- ۲ درصد	۲۵/۱۳	۰/۰۵۷۷	۷۱/۲۵	d

میانگین‌هایی که دارای حروف غیر مشترک میباشند در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار هستند.

جدول ۲: مقایسه میانگین تاثیر کاربرد مواد جاذب بر میزان ترکیبات (درصد) شیر

ماده جاذب	پروتئین	چربی	لاکتوز	مواد جامد غیر چربی	کل مواد جامد
شاهد (بدون ماده جاذب)	۳/۴۲۰ a ± ۰/۰۰۰	۳/۶۲۰ a ± ۰/۰۰۰	۴/۷۶۰ f ± ۰/۰۰۰	۸/۸۵۰ d ± ۰/۰۰۰	۱۲/۵۱۰ d ± ۰/۰۰۰
بنتونیت B۱- ۰/۵ درصد	۳/۴۱۵ a ± ۰/۰۰۵۷	۳/۵۶۷ bc ± ۰/۰۰۹۵	۴/۸۷۵ b ± ۰/۰۱۷۳	۸/۸۱۰ c ± ۰/۰۰۸۱	۱۲/۵۷۸ b ± ۰/۰۰۰۵
سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته - ۰/۵ درصد	۳/۳۳۰ c ± ۰/۰۰۸۱	۳/۶۱۷ a ± ۰/۰۰۵۰	۴/۷۶۵ f ± ۰/۰۰۰۵	۸/۸۵۵ d ± ۰/۰۰۱۰	۱۲/۴۹۸ d ± ۰/۰۰۹۵
بنتونیت X- ۰/۵ درصد	۳/۴۲ a ± ۰/۰۰۸۱	۳/۵۷۷ b ± ۰/۰۰۰۵	۴/۸۱۰ d ± ۰/۰۰۸۱	۸/۹۵۰ b ± ۰/۰۰۱۰	۱۲/۵۸۵ b ± ۰/۰۰۵۷
بنتونیت B۱- ۲ درصد	۳/۴۱۲ a ± ۰/۰۰۰۵	۳/۵۶۰ c ± ۰/۰۰۵۷	۴/۸۳۵ c ± ۰/۰۱۲۹	۸/۹۸۳ a ± ۰/۰۰۰۵	۱۲/۵۶۳ c ± ۰/۰۰۹۵
سدیم کلسیم آلومینو سیلیکات هیدراته - ۲ درصد	۳/۳۲۵ c ± ۰/۰۰۵۷	۳/۶۲۰ a ± ۰/۰۰۰۱	۴/۷۸۰ e ± ۰/۰۰۰۸۱	۸/۸۵۳ d ± ۰/۰۰۰۵	۱۲/۵۰۳ b ± ۰/۰۰۹۵
بنتونیت X- ۲ درصد	۳/۴۰۰ b ± ۰/۰۰۰۸۱	۳/۵۶۵ bc ± ۰/۰۱۷۳	۴/۸۹۵ a ± ۰/۰۰۰۵۷	۸/۹۷۰ ab ± ۰/۰۰۰۸۱	۱۲/۷۸۵ a ± ۰/۰۱۲۹

میانگینهای دارای حروف غیر مشترک در هر ستون، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت آماری معنی دار دارند.

باشد که البته افزایش مذکور واقعی نمی‌باشد. از آنجایی که در این تحقیق از دستگاه میکرواسکن برای تعیین ترکیبات شیر استفاده شده و عواملی چون افزودنی‌ها، نمک‌ها و ... می‌تواند موجب تغییر حساسیت دستگاه شوند (۶) به نظر می‌رسد که این افزایش عددی به دلیل وجود متغیرهای ثانویه مذکور باشد، چرا که اندازه‌گیری خاکستر باقی مانده از نمونه شیر قبل و بعد از افزودن مواد جاذب شیمیایی مبین مطلب فوق می‌باشد (جدول ۳).

۲/۷ درصد افزایش لاکتوز، ۲ درصد بنتونیت B۱ با ۱/۵ درصد افزایش مواد جامد غیر چربی و مجدداً ۲ درصد بنتونیت X با ۲/۲ درصد افزایش در کل مواد جامد بیشترین تغییر در ترکیبات فوق‌الذکر شیر در مقایسه با نمونه شاهد را موجب شده‌اند. از آنجایی که استفاده از مواد جاذب موجب کاهش پروتئین و چربی و برعکس افزایش میزان لاکتوز شده می‌توان انتظار داشت که افزایش کل مواد جامد و مواد جامد بدون چربی شیر نیز مربوط به افزایش لاکتوز

X و سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته به ترتیب صفر، ۳ و ۶ قسمت در میلیون (ppm) تعیین شد. از آنجایی که حد مجاز وجود سیلیسیوم در غذای انسان تا ۵۰ ppm و حد خطر ساز آن جهت بروز مسمومیت سلنیومی ۷۰ ppm میباشد (۲۳) وجود باقیمانده عنصر مذکور بی خطر بوده و حتی می توان آنرا به عنوان یک ماده معدنی مفید تلقی نمود.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که استفاده از بنتونیت B ۱ (که از جمله مواد جاذب از دسته خاک های فیلوسیلیکاتی است) در سطح ۰/۵ درصد قبل از اعمال فرآوری های دیگر و یا بسته بندی شیر میتواند جهت کاهش آفاتوکسین M ۱ در شیر مورد استفاده قرار گرفته، میزان سم را از حدود غیر مجاز به میزان مطمئن (در حدود ۹۰ درصد) کاهش دهد. به علاوه مشخص شد که استفاده از این مواد تاثیر سوء قابل توجهی بر ترکیبات شیر نداشته و بقایای عناصر سمی خاص و قابل توجهی نیز در شیر باقی نمی گذارند. با توجه به امنیت غذایی پذیرفته شده در مصرف مستقیم مواد جاذب به عنوان افزودنی غذایی، قابلیت جداسازی آنها از شیر پس از جذب آفاتوکسین و همچنین تهیه و استفاده از صفحات و ستون های جاذب تهیه شده از این خاک ها لازم است که با تحقیقات هرچه بیشتر مسیر کاربرد عملی از این ترکیبات هموار گردد.

سپاسگزاری

به این وسیله از زحمات و حمایت های مالی مسئولین و همکاران مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان مرکزی که بودجه این تحقیق را فراهم نموده اند، همچنین از راهنمایی های ارزشمند اساتید محترم انیستیتوی تغذیه دانشگاه شهید بهشتی قدردانی می گردد.

پاورقی ها

- 1- Hepatic Microsomal
- 2- Silicas
- 3- Aluminosilicates
- 4- Aluminas
- 5- Vermiculite
- 6- Phyllosilicate clay
- 7- Gras

نتایج مربوط به کاربرد مواد جاذب بر pH شیر در شکل ۱ نشان داده شده است. مقایسه میانگین تیمارها بایکدیگر افزایش نسبی pH در نتیجه کاربرد مواد جاذب نسبت به شاهد را نشان می دهد که اگر چه از نظر آماری این اختلاف برای بعضی از مواد معنی دار بوده ($p < 0.05$)، مقادیر افزایش ناچیز و در حد ۰/۱۲ - ۰/۰۱ واحد حداقل و حداکثر تغییرات بوده است. از آنجایی که مواد جاذب متشکل از کاتیون های فلزات قلیایی خاکی و نیز پایه آلومینوسیلیکاتی هستند افزایش pH قابل پیش بینی است. از آنجایی که براساس نظر Phillips و همکاران $pH = 7$ در یک سیستم مایع شرایط مناسبی از جهت پایداری ترکیب سم و مواد جاذب ایجاد می کند (۲۶) و pH های تعیین شده در تحقیق حاضر نیز نزدیک به ۷ است می توان شرایط مناسبی برای جذب سم را پیش بینی نمود.

اگر چه ترکیبات فیلوسیلیکاتی مانند سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته و بنتونیت از نظر فهرست گرس ۷ کاربری مجاز در صنایع غذایی داشته، توسط سازمان غذا و داروی آمریکا پذیرفته شده اند و به طور معمول استفاده می شوند، اما چون این ترکیبات با پایه آلومینوسیلیکاتی می باشند احتمال باقیماندن دو عنصر آلومینیوم و سیلیسیوم در شیر به دلیل عدم اعمال هرگونه فرایند جدا سازی مواد جاذب مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج تعیین عناصر مذکور وجود هیچ گونه باقی مانده آلومینیومی را نشان نداد و باقیمانده سیلیسیوم در سه ماده جاذب بنتونیت B ۱، بنتونیت

جدول ۳: میزان خاکستر نمونه شیر قبل و بعد از کاربرد مواد جاذب

نوع نمونه	میانگین میزان خاکستر (درصد)
شاهد	۰/۷۱
بنتونیت B ۱	۰/۷۲
سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته	۰/۷۸
بنتونیت X	۰/۷۷

جدول ۴: میزان آلومینیوم و سیلیسیوم باقیمانده در نمونه شیر بعد از کاربرد مواد جاذب

نمونه	آلومینیوم (ppm)	سیلیسیوم (ppm)
شاهد	ND*	ND
بنتونیت B ۱	ND	ND
سدیم کلسیم آلومینوسیلیکات هیدراته	ND	۶
بنتونیت X	ND	۳

* غیر قابل تشخیص

N. 1998; Effect of chilling and heating on aflatoxin M1 content of contaminated Indian cow's milk. Egyptian Journal of Dairy Science, 26: 223-229.

11- Decker, W. J. 1980; Activated charcoal adsorbs aflatoxin B. Veterinary Human Toxicology, 22: 388-389.

12- Domagala, J. 1993; Determination of aflatoxins in feedstuff and milk by the ELISA enzyme- immunological technique. Przemysl Spozywczy, 47: 191-194(abs).

13- Dong, H. S., Sun, H. L., and Yin, W. L. 1997; An enzyme linked immunosorbent assay for aflatoxin M1 in cow's milk without cleans up procedure. Korean Journal of Food Science and Technology, 28: 1184-1187.

14- Ellis, J. A., Harvey, R. B., Kubena, L. F., Bailey R. H. Clement, B. A., and Phillips, T. D. 1990; Reduction of aflataxin M1 residues in milk utilizing hydrated sodium calcium alumino- silicate (abs). Toxicologist, 10: 163.

15- Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Fusconi, G., and Galvano, M. 1996; Reduction of carry over of aflatoxin from cow feed to milk by addition of activated carbon. Journal of Food Protection, 59: 551-554.

16- Gran, T. A. 1980. A review on activated charcoal. Western Michigan Poison Center, 3: 408.

17- Grant, P. G., and Phillips, T. D. 1998; Isothermal adsorption of aflatoxin B1 of HSCAS clay. Journal of Agriculture Food Chemistry, 46: 599-605.

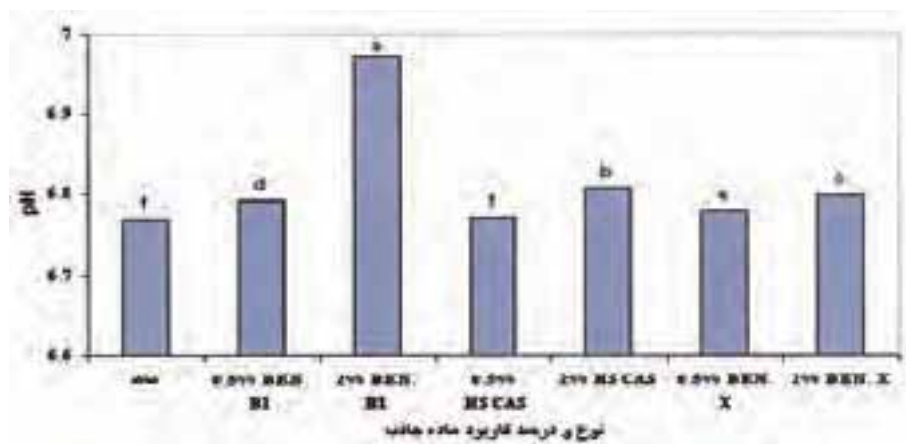
18- Hayden, W. J., and Comstock, E. G. 1975; Use of activated charcoal in acute poisoning. Clinical Toxicology, 8: 515-533.

19- Holzaphel, C. W., and Steyn, P. S. 1996; Isolation and structure of aflatoxins M1 and M2. Tetrahedron Letters, 25: 2799-2803.

20- Manahan, S. E. 1992; Toxicological chemistry. 2-end edition. Lewis publishers. Inc, Printed in the USA. 464 pages.

21- Martins, M. L., and Martins, H. M. 2000; Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature treated milk commercialized in Portugal. Food Additives and Contaminants, 17: 871-874.

22- Masimango, N., and Remacle, J., Ramaut, J. L. 1978; The role of adsorption in the elimination of aflatoxin B1 from contaminated media. European Journal of Applied



شکل شماره ۱- اثر نوع و سطح کاربرد ماده جاذب بر pH شیر

منابع مورد استفاده

۱- کریم، گ. و کامکار، ا. ۱۳۷۸؛ مطالعه تأثیر بی سولفیت سدیم بر روی آفلاتوکسین M1 در شیر. پژوهش و سازندگی، سال ۱۲، شماره ۴، ۱۱۲-۱۱۵.

۲- میر محمدی میبدی، ع. ۱۳۸۰؛ روش تحقیق در علوم زیستی با تأکید بر کشاورزی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه صنعتی اصفهان.

3- Anonymus. 1978; SAS. User's Guide Statistics, Version 6. SAS Inst., Inc., Carry, NC.

4- Anonymus. 1980; Agricultural Research Council. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. CAB Publications Slough

5- Anonymus. 1984; Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Washington, DC.

6- Anonymus. 2002; Protocol for the evaluation of milk analysers for ICAR approval. ICAR working group on milk testing laboratories. Available on: www. Icar.org.

7- Applebaum, R. S., and Marth, E. H. 1982a; Inactivation of M1 in milk using hydrogen peroxide and hydrogen peroxide plus riboflavin of lacto peroxide. Journal of food protection, 45: 557-560.

8- Applebaum, R. S., and Marth, E. H. 1982b; Use of sulphite or bentonite to eliminate aflatoxin M1 from naturally contaminated raw whole milk. Z. Lebensm Unters Forsch, 147: 303-305.

9- Chopra, R. C., Chhabra, A., Parsad, K. S. N., Dudhe, A., Hurthy, T. N., and Pprasad, T. 1999; Carry over of aflatoxin M1 in milk of cows fed aflatoxin B1 contaminated ration. Indian Journal of Animal Nutrition, 16: 103-106.

10- Choudhary, P. L., Sharma, R. S., and Borkhartria, V.

Microbiology and Biotechnology, 6: 101-105.

23- Mertz, W. 1986; Trace elements in human and animal nutrition. 5th edition. Academic Press. INC. 499 pages.

24- Phillips, T. D., and Kubena, L. F. 1988; Hydrated sodium calcium alumino- silicate: A high affinity sorbent for aflatoxin. Poultry Science, 67: 243-247.

25- Phillips, T. D., Clement, B. A., Kubena, L. F., and Harvey, R. B. 1991; Detection and detoxification of aflatoxin residues with hydrated sodium calcium alumino-silicate. Veterinary Human Toxicology, 32: 15-19.

26- Phillips, T. D., Sarr. A. B., and Grant, P. G. 1995; Selective chemisorptions and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. Natural Toxins, 3: 204-247.

27- Piva, G., Galvano, F., Pietri, A., and Piva, A. 1995; Detoxification methods of aflatoxins: A review. Nutrition Research, 15: 797-776.

28- Samarayeewa, U., Sen, A. C. Cohen, M. D., and Wel, C. I. 1990; Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. Journal of food Protection, 53: 489-501.

29- Sarr, A. B., Clement, B. A., and Phillips, T. D. 1990; Effects of molecular structure on the chemisorption of aflatoxin B1 and related compounds by hydrated sodium alumino-silicate (abs). Toxicologist, 10: 163.

30- Smith, J. E. 1994; Dietary hydrated sodium calcium alumino-silicate reduction of aflatoxin M1 residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. Journal of Animal Science, 72: 677-682.

31- Smith, J. E., and Bol, J. 1998; Biological detoxification of aflatoxin. Food Biotechnology, 3: 127.

32- Snedecor, G. W., and Cochran, W. G. 1980; Statistical methods, 7th ed. Iowa State University. Press, Ames.

33- Trucksess, M. W., and Pohland, A. E. 2000; Mycotoxin protocols, Series: Methods in molecular biology, Volume 157. Humana press.

34- Van Egmond, H. P., 1983; Mycotoxins in dairy products. Food Chemistry, 11: 289-307.

35- Van Egmond, H. P., 1995; Mycotoxins. Regulations, quality assurance and reference materials. Foods Additives and Contaminants, 12: 321-330.

