

بررسی آلودگی شیر به آفلاتوکسین در منطقه تهران

دکتر گیتی کریم

دکتر ویدا پروانه

دکتر جلال کردی

خلاصه:

در این بررسی ۵۲ نمونه شیر خام مخلوط دامداریهای اطراف تهران که به کارخانجات شیر پاستوریزه تحویل میشود و ۹ نمونه شیر پاستوریزه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین به روش کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography (T.L.C) آزمایش گردید .
۹۲/۳۱ درصد شیرهای خام و تمام شیرهای پاستوریزه به آفلاتوکسین (M_1, M_2) آلوده بودند . آلودگی به آفلاتوکسین های B و G مشاهده نگردید .

حداکثر آلودگی در نمونه های شیر خام 23 g/lit و در شیرهای پاستوریزه $20/1 \text{ g/lit}$ اندازه گیری گردید . چون شیر خام باعث آلودگی شیر تجارتي و سایر فرآورده های شیر میگردد در این مقاله توصیه های بهداشتی برای جلوگیری از آلودگی شیر خام بعمل آمده است .

مقدمه:

مطالعات مختلف نشان داده است که شیر گاوهای که با مواد غذائی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه میشوند حاوی سم مشابهی است که به آن آفلاتوکسین M می گویند و متابولیت آفلاتوکسین های نوع B_1 و B_2 موجود در اغذیه بوده و بصورت آفلاتوکسین M_1 و M_2 معرفی میشوند (۵) . سمیت آفلاتوکسین M کمتر از B بوده ولی تمام عوارض ایجاد شده بوسیله آفلاتوکسین B را باعث میشود (۸) . منشاء آلودگی شیر

خام تغذیه دام بوسیله کنجاله و دانه‌های روغنی، غلات، علوفه سیلو شده کپک زده و آلوده به فارچ می‌باشد: وجود رطوبت و گرما و عوامل مساعد دیگر در سیلو و انبارهای نگهداری غذای دام رشد انواع کپک‌های ایجادکننده آفلاتوکسین را تشویق و تسریع می‌نماید و در نتیجه میزان آلودگی شیر بخصوص در فصولی که حیوان بیشتر از علوفه خشک و انبار شده استفاده می‌نماید بیشتر است (۷-۴-۱). آلودگی به آفلاتوکسین‌های نوع B و G در شیر خام و شیر تجارتي بسیار کمیاب و نادر گزارش گردیده است (۳-۴). از آنجائیکه شیر خام منشاء آلودگی سایر فرآورده‌های شیر می‌باشد برای اطلاع از چگونگی وضع شیر خام در منطقه تهران این بررسی ابتدا در روی شیر خام انجام گرفت.

تجارب انجام شده و روش کار:

در این مطالعه جمعا ۶۱ نمونه شیر مورد آزمایش قرار گرفت. ۵۲ نمونه شیر خام مخلوط متعلق به دامداریهای اطراف تهران در محل تحویل به کارخانه شیر پاستوریزه بطور اتفاقی نمونه برداری گردید و از ۹ نمونه شیر پاستوریزه ۷ نمونه از تانک شیر پاستوریزه در محل کارخانه و ۲ نمونه شیر پاستوریزه پاکتی در سطح شهر تهیه گردید.

برای استخراج آفلاتوکسین از حلالهای هگزان و کلروفرم استفاده شد و جهت تفکیک و تشخیص آن از روش کروماتوگرافی لایه نازک روی صفحات سیلیکاژل وبا استفاده از حلالهای کلروفرم - استن و ایزوپروپانول به نسبت (۵ + ۱۰ + ۸۵) استفاده شده و با مقایسه با استانداردهای آفلاتوکسین $M_2, M_1, G_2, G_1, B_2, B_1$ لکه‌های جدا شده در زیر اشعه ماوراء بنفش، تشخیص داده شد. برای آزمایش کمی نمونه‌های آلوده، ابتدا غلظت محلولهای استاندارد بوسیله اسپکتروفتومتر مدل Pye Unicam SP500 تعیین شد و با مقایسه لکه‌های کروماتوگرافی نمونه‌های مجهول با استاندارد معلوم میزان آلودگی اندازه‌گیری شد (۶-۲):

نتیجه:

نتایج حاصل از این بررسی در سه جدول منعکس گردیده است.

جدول شماره یک و دو میزان آلودگی را در نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه بر حسب میکروگرم در لیتر (ppb) نشان میدهد.

بطوریکه در جدول شماره ۳ مشاهده می‌گردد ۵۱ درصد از نمونه‌های شیر خام دارای آلودگی بین ۱۰-۶۰ g/lit. می‌باشند و میانگین مقدار آفلاتوکسین ۹/۳۹ اندازه‌گیری شده

است. در نمونه‌های شیر پاستوریزه در حدود ۸۶ درصد از نمونه‌ها حاوی ۵ - ۱ g/lit آفلاتوکسین بودند که میانگین آلودگی ۶/۴۴ محاسبه گردید.

بحث:

در این بررسی ۹۲/۳۱ درصد شیرهای خام و ۱۰۰ درصد شیرهای پاستوریزه مورد آزمایش آلوده به آفلاتوکسین‌های M بودند. آلودگی به آفلاتوکسین‌های B و G مشاهده نگردید. البته این نتیجه مورد انتظار بود. معمولاً آلودگی شیر مایع به آفلاتوکسین‌های B و G بسیار نادر می‌باشد (۳) چون بعلت فساد پذیری شیر و جهت جلوگیری از ترش شدن هر چه زودتر تحویل کارخانه شده و سپس بدست مصرف کننده میرسد و در ضمن با توجه به اینکه تولید شیر در اطراف تهران آنقدر بالا نیست که شیر خام یا پاستوریزه در محل کارخانه ذخیره شود لذا این نوع آلودگی که در نتیجه رشد مستقیم قارچ می‌باشد در شیر مایع معمولاً مشاهده نمی‌گردد. نمونه‌های آزمایش شده در اواخر زمستان و اوایل بهار تهیه گردیدند و چون در منطقه تهران در این موقع از سال تغلیف گاوهای شیری با علوفه خشک و انبار شده انجام میشود رشد و نمو کپک‌های موجد آفلاتوکسین بسهولت و راحتی در مجاورت رطوبت و گرمای سیلو و انبار امکان پذیر بوده و آلودگی شیر حیوان را موجب میشود. در این مطالعه وضع بهداشتی دامداریها و نمرات بهداشتی که از طرف کارخانجات شیر پاستوریزه به آنها داده میشود با میزان آلودگی شیر خام این دامداریها مورد بررسی قرار گرفت و هیچگونه ارتباط قابل تفسیر و مشخصی بدست نیامد. در تغذیه دام در زمستان، علاوه بر علوفه خشک از کنجاله دانه‌های روغنی، سپوس، نان خشک و غیره استفاده میشود که بعلت شرایط نامناسب نگهداری خیلی زود آلودگی قارچی پیدا میکند و همینطور در بسیاری موارد موادیکه بعنوان غذای دام و طیور از خارج از ایران تهیه میشود بعلت طولانی بودن زمان حمل بوسیله کشتی و نیز شرایط نامناسب نگهداری در بنادر اکثراً دارای آلودگی قارچی بوده و حاوی آفلاتوکسین و احتمالاً سایر سموم قارچی می‌باشند و این موضوع با آزمایشات متعدد و مکرری که بخصوص بر روی مخلوط غذای دام و طیور در آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی بعمل آمده است ثابت شده است. از اینرو امکان آلودگی مواد غذایی دام بخصوص در فصل زمستان بسیار زیاد بوده و در نتیجه این آلودگی بصورت آفلاتوکسین نوع در شیر ظاهر میشود و چنانچه نتایج این بررسی نشان میدهد این آلودگی در سطح وسیعی در شیر تولید شده در گاو داریها وجود داشته و چگونگی وضع بهداشتی دامداری ارتباط چندانی با وجود و یا میزان آلودگی

آفلاتوکسین در شیر ندارد .

از نظر مقایسه آلودگی شیر خام و پاستوریزه و اثر حرارت پاستوریزاسیون روی آلودگی آفلاتوکسین ۹ نمونه شیر پاستوریزه از محل تانک‌های ذخیره شیر پاستوریزه در کارخانه و شیر پاکتی از سطح شهر تهیه گردید . تمام نمونه‌ها آلوده بوده و بیشترین میزان آلودگی $20/1 \text{ g/lit}$ اندازه‌گیری شد و بی تاثیر بودن حرارت پاستوریزاسیون در روی میزان آلودگی آفلاتوکسین تأیید گردید (۱) . با توجه به استانداردهای بین المللی و مقررات و قوانین مواد غذایی بخاطر سمیت شدید آفلاتوکسین میزان آلودگی غذای مخلوط دام نباید از $0/02$ میلی گرم در هر کیلوگرم تجاوز نماید (۵) . حال آنکه گاهی بقدری آلودگی شدید است که بعد از تبدیل نوع آفلاتوکسین در بدن حیوان میزان سم در شیر بسیار بالاست و با توجه به نتایج این بررسی بالاترین میزان آلودگی در شیر خام (ppb) ۲۳ و در شیر پاستوریزه $20/1 \text{ ppb}$ مشاهده گردید که ارقام بسیار بالایی از نظر این آلودگی است .

اگر منحنی توزیع نرمال آلودگی را در نظر بگیریم با توجه به میانگین میزان آلودگی در شیر (\bar{X}) و انحراف معیار (S) ، $85/71$ در صد نمونه‌های شیر خام و $73/46$ در صد نمونه‌های شیر پاستوریزه در حدود $\bar{X} \pm S$ قرار دارند که با در نظر گرفتن این مطلب که نسبت ایجاد آفلاتوکسین M به آفلاتوکسین موجود در غذای دام $0/3 - 0/8$ در صد می باشد (۵) مشخص میگردد که تا چه حد غذای دام آلوده به این سم می باشد .

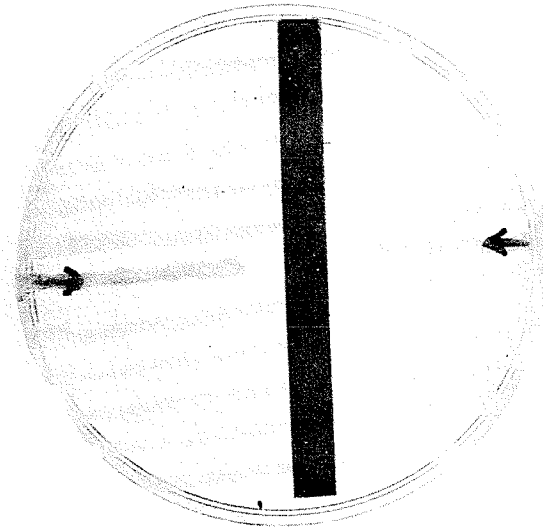
در بعضی کشورها مثل انگلستان وجود هر مقدار جزئی آفلاتوکسین در شیر و لبنیات غیر قابل مصرف تشخیص داده میشود و با توجه به اینکه شیر خام آلوده باعث آلودگی اکثر فرآورده‌های شیر میگردد اگر شیری حاوی مقدار جزئی آفلاتوکسین مثلاً $1/30 - 1/63 \text{ g/lit}$ باشد شیر خشک تهیه شده از این شیر حاوی $10 - 13 \text{ g/lit}$ آفلاتوکسین خواهد بود که بالاتر از حد مجاز یعنی 10 g/lit می باشد و چنین شیر خشکی غیر قابل مصرف است (۵) . شیر خام آلوده باعث آلودگی شیر تجارتنی پنی ، شیرهای تخمیر شده و خامه میگردد . بنابراین مسئله مهم جلوگیری از آلودگی شیر خام می باشد . در درجه اول کنترل غذای دام از محل دامداری باید انجام پذیرد . طرز انبار کردن ، محل و شرایط انبار باید مورد مراقبت قرارگیرد و تمام عوامل مساعد برای رشد کپک از میان برداشته شود و بالاخره در تهیه آرد سویا غلات ، دانه‌های روغنی و پودر ماهی و غیره که بعنوان غذای دام مورد استفاده قرار میگیرد مراقبت بعمل آید که از محل مطمئن و بعد از اخذ گواهی سلامت خریداری شود . در خاتمه پیشنهاد میگردد که استاندارد ملی برای میزان آلودگی آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های آن و همچنین غذای دام تهیه و تدوین گردد .

تشکر:

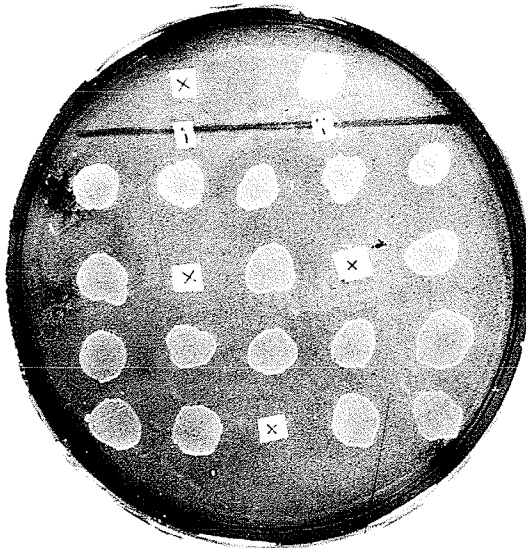
قسمتی از هزینه این بررسی با استفاده از اعتبار وزارت فرهنگ و آموزش عالی انجام شد که بدینوسیله قدردانی میشود. همچنین از زحمات خانم میترا کرامتی کارشناس گروه بهداشت مواد غذایی و آقای عباس بیاناتی در انجام کاری آزمایشگاهی تشکر می‌نماید.

REFERENCES

- 1 - کریم - گیتی (۱۳۵۸) آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به آفلاتوکسین نامه دانشکده دامپزشکی ، دوره سی و پنج ، شماره ۴ و ۳ ، صفحه ۷ - ۱ .
2. Barnes, J. M. (1970), Aflatoxin as a health hazard, J. Appl. Bact., 33, 285-298.
3. Brewington, C.P. and Weihrauch J. L. (1970) Survey of commercial milk samples for aflatoxin M. J. Dairy Sci. 53: 1509-1510.
4. Goldblatt, Leo, A. (1969). Aflatoxin, Academic Press New York & London, p. 4-7.
5. International Dairy Federation (1977). Significances of Aflatoxin in the Dairy Industry. Annual Bulletin, Document No. 98.
6. Jones, B.D. (1972). Methods of Aflatoxin Analysis, Tropical Products Institute Report, 21-35.
7. Kiermeier, M. (1974). Influence of aflatoxins in feeds on their secretion in milk. XIX Int. Dairy Congress. 1974-IE 104-105.
8. Purchase, J.F.H. (1971). Aflatoxin Residues in food of animal origin, Fd. Cosmet. Toxicol. 10, p. 531-544.



عکس ۱ - آنتی بیوگرام بطریقه خطی با استفاده از نوارهای حاوی آنتی بیو تیک (کانامایسین) . خطی که با فلش علامت گذاشته شده (← →) سوس کنترل حساس میباشد.



عکس ۲ - آنتی بیوگرام بطریقه گذاشتن قطره روی پلیت حاوی سولفامید . علامت‌های x نشانه سوسهای حساس و شماره ۱ کنترل حساس و شماره ۲ کنترل مقاوم میباشد .

جدول شماره يك - مقادير آفلاتوكسين 10^3 بر حسب ميكروگرم در ليتر (10^3) در نمونههاي شهر خاسام

شماره نمونه	مقدار آفلاتوكسين (10^3)	شماره نمونه	مقدار آفلاتوكسين (10^3)	شماره نمونه	مقدار آفلاتوكسين (10^3)	شماره نمونه	مقدار آفلاتوكسين (10^3)	شماره نمونه
1	8/00	11	7/1	21	8	31	3/2	41
2	8/00	12	7/1	22	16/1	32	8	42
3	43	13	7/1	23	8	33	8	43
4	8/00	14	20/13	24	3/2	34	8	44
5	8/00	15	3/23	25	3/2	35	8	45
6	43	16	20/1	26	7/1	36	8	46
7	8/00	17	17	27	8/00	37	8/00	47
8	8/00	18	98	28	8/00	38	8/00	48
9	8/00	19	19	29	3/2	39	12/00	49
10	16/1	20	20	40	3/2	40	12/00	50
M	*	01	M	02	*	M	*	M

* در نمونههاي شماره 02 و 01 آزياتيش كمي انجام نند و تنها وجود آفلاتوكسين هاي M مشخص گرديد .

جدول شماره ۳- مقایسه آنتی‌توکسین - مانگین و انحراف معیار آن‌ها در نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه

درصد χ^2	تعداد		مقایسه آنتی‌توکسین (P _{0.05})
	شماره پاستوریزه	شماره خام	
-	۸/۱۱	-	۰
۸۵/۷۰	۱۴/۲۸	۶	۱-۵
-	۵۱/۰۲	-	۶-۱۰
-	۴/۰۸	-	۱۱-۱۵
-	۱۴/۲۸	-	۱۶-۲۰
۱۴/۲۸	۸/۱۱	۱	۲۱-۲۵
۹۹/۹۸	۹۹/۹۸	۷	جمع
		۶/۴۴	مانگین
		$\pm ۵/۱۸$	انحراف معیار
		۱۰۰	درصد نمونه‌های مثبت
		۷/۶۹	درصد کل نمونه‌های منفی

جدول شماره ۲ - مقدار آفلاتوکسین M بر حسب میکروگرم در لیتر (ppb)
 در نمونه های شهر استویرسزه

مقدار آفلاتوکسین (ppb)	شماره نمونه	مقدار آفلاتوکسین (ppb)	شماره نمونه
۲۰/۱	۷	۴	۱
M	۸	۴	۲
M	۹	۴	۳
		۴	۴
		۴	۵
		۴	۶

M = مشخص و آزمایش کمی انجام نشد