

# مطالعه میزان آلودگی شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با استفاده از روش ELISA

● گیتی کریم، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ● سعید بکانی، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ● اکبر خراسانی، دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران  
تاریخ دریافت: آبانماه ۱۳۷۷

## مقدمه

علیرغم موارد مایکوتوکسیکوزیس گزارش شده در انسان، تا سال ۱۹۶۰ میلادی اهمیت زیادی برای این گونه بیماریها قائل نمی‌شدند. این طرز تفکر زمانی تغییر یافت که بیماری همه‌گیر بوقلمونها در انگلستان رخ داد و در ظرف مدت کوتاهی منجر به تلفات زیاد گردید (۲). این بیماری ابتدا به نام بیماری ایکس (X) نامیده شد که انگیزه پژوهش‌های بسیاری در جهت تعیین علت آن گردید و مشخص شد که عامل به وجود آورنده این بیماری بعضی از گونه‌های جنس اسپریلوس می‌باشند که تولید سمی به نام آفلاتوکسین می‌نمایند. اطلاعات بیشتر در مورد سم مذکور با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک در روی غذاهای مشکوک به دست آمد و انواع آفلاتوکسین شناسایی گردید. در بررسی‌های بعدی معلوم شد که این ترکیبات دارای قدرت سرطانزایی زیادی می‌باشند و افزایش آگاهی در باره این سم منجر به تدوین قوانینی جهت اندازه‌گیری سم در غذای آلوده و کنترل آن گردید به طوری که در حال حاضر اکثر کشورها دارای قوانین مواد غذایی برای سموم قارچی می‌باشند که شامل حد مجاز و قابل قبول آنها در غذای انسان و دام است.

با وجود اینکه بعد از شناخت آفلاتوکسینها مقالات بیشتری در زمینه چگونگی پیدایش سموم قارچی مختلف در غذا منتشر شده است ولی احتمالاً به ندرت می‌توان یک ماده خوراکی را پیدا کرد که کاملاً از آلودگی به این سموم پاک باشد، زیرا سموم قارچی از هنگام تولید غذا در مزرعه تا زمان درو، فرآوری، ذخیره‌سازی و حمل و نقل می‌توانند تولید شوند. وجود آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های آن و رهیافت سم به غذای انسان به دو صورت انجام پذیر است:

- ۱- آلودگی غیر مستقیم: آلوده شدن غذای دام به آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> و تغذیه حیوان با غذای آلوده به سم و تبدیل آن به آفلاتوکسین‌های M<sub>1</sub> و M<sub>2</sub> و بالاخره خارج شدن سم با شیر دام.
- ۲- آلودگی مستقیم: آلوده شدن فرآورده‌های شیر به اسپور قارچها (کپکها) و تولید سم توسط جنس و گونه‌های خاص کپکها. تعداد کپکهایی که مولد آفلاتوکسین می‌باشند زیاد است ولی سم عمدتاً توسط جنس اسپریلوس و گونه‌های *A. parasiticus* و

## ✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 40, 41, 42 PP: 163-165

**Study on the contamination of raw bulk milk with Aflatoxin M<sub>1</sub> in Tehran area using ELISA method.**

*By: Karim G., Professor of Veterinary Faculty of Tehran University. Bokaiee S., Associate Professor of Veterinary Faculty of Tehran University. Khorasani A., Educated in the Veterinary Faculty of Tehran University.*

Aflatoxins are fungal secondary metabolites which are potentially carcinogenic, teratogenic and mutagenic. Among the known aflatoxins, aflatoxin B<sub>1</sub> is the strongest and has most acute toxicity effects. Its hydroxylated derivative aflatoxin M<sub>1</sub> can be seen in the milk of the cows fed with aflatoxin B<sub>1</sub> contaminated feed. Considering toxicity of aflatoxin M<sub>1</sub>, its presence in milk can be considered as a health hazard. In this study 73 milk samples delivered to Tehran milk pasteurisation plants were analyzed for the presence of aflatoxin M<sub>1</sub> applying ELISA which is a rapid and sensitive method. Out of 73 samples 13(17.8%) were sound and 60(82.2%) were contaminated. All contaminated samples had a level of aflatoxin M<sub>1</sub> above the European countries standard that is 50 ng/lit. Regarding the results obtained in this study, the following suggestions are made: 1- Prevention of feed contamination with aflatoxin B. 2- The necessity of standard compilation for the limit value of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products. 3- The application of effective methods of detoxification and reduction of aflatoxins for contaminated feed and dairy products.

## چکیده

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که دارای اثرات بالقوه سرطانزایی، ناقص الخلقه‌زایی و موتاژنی می‌باشند. در بین آفلاتوکسین‌های شناخته شده، آفلاتوکسین B<sub>1</sub> دارای اثرات سمی شدید است. مشتق هیدروکسیله این سم آفلاتوکسین M<sub>1</sub> می‌باشد که در شیر گاوهایی که از غذای آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> تغذیه شده‌اند وجود دارد. با اینکه سمیت این آفلاتوکسین نسبت به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> کمتر است ولی وجود آن در شیر را می‌توان یک خطر بهداشتی محسوب نمود. در این مطالعه با استفاده از روش الایزا تعداد ۷۳ نمونه شیرهای تحویل شده به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران از نظر وجود و مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub> مورد آزمایش قرار گرفت. از مجموع نمونه‌های آزمایش شده ۱۳ مورد (۱۷/۸ درصد) بدون آلودگی به سم و تعداد ۶۰ نمونه (۸۲/۸ درصد) آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به میزانی بیش از حد مجاز استاندارد مورد استفاده در اتحادیه اروپا یعنی ۵۰ نانوگرم در لیتر بودند. با توجه به یافته‌ها در این تحقیق می‌توان گفت که جلوگیری از آلودگی غذای دام شیرده به کپک‌ها و در نتیجه تولید سم توسط آنها یکی از اقدامات اساسی پیشگیری است که باید به طور جدی مورد توجه مسئولان قرار گیرد. پیشنهاد می‌گردد که استاندارد حد مجاز آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> مورد توجه قرار داده شود و علاوه بر آن جهت حذف و کاهش آفلاتوکسین در غذای دام و در شیر و فرآورده‌های آن پژوهش‌های قابل اجرا صورت پذیرد.



جدول شماره ۱- شاخص‌های آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (برحسب نانوگرم در لیتر) براساس اسیددیده در شیرهای تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه تهران

شاخص اسیددیده (درینیک)	حداقل آلودگی نانوگرم در لیتر	میانگین آلودگی نانوگرم در لیتر	حداکثر آلودگی نانوگرم در لیتر	خطای معیار میانگین	تعداد نمونه
< ۱۵	۱۰۱	۲۴۷/۳	۴۴۳	۲/۶	۲۱
۱۵-۱۶	۹۳	۲۶۲	۴۵۸	۱۶/۷	۳۵
> ۱۶	۵۶	۲۳۱	۳۸۶	۷۰/۸	۴

P=۰/۶۲۸

جدول شماره ۲- شاخص‌های آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (برحسب نانوگرم در لیتر) براساس نتایج آزمایش ردوکتاز در شیرهای تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه تهران

شاخص احیاء براساس ساعت ردوکتاز	حداقل آلودگی نانوگرم در لیتر	میانگین آلودگی نانوگرم در لیتر	حداکثر آلودگی نانوگرم در لیتر	خطای معیار میانگین	تعداد نمونه
< ۱	۱۶۳	۱۷۵	۱۸۹	۷/۵	۳
۱-۳	۵۶	۱۹۳	۳۸۶	۲۲/۹	۱۸
> ۳	۱۰۱	۲۵۶	۴۴۳	۱۷/۳	۳۹

P=۰/۶۶

جدول شماره ۳- شاخص‌های آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (برحسب نانوگرم در لیتر) براساس میزان شیر تولیدی گله (لیتر) در شیرهای تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه تهران

شاخص تولید برحسب (لیتر)	حداقل آلودگی نانوگرم در لیتر	میانگین آلودگی نانوگرم در لیتر	حداکثر آلودگی نانوگرم در لیتر	خطای معیار میانگین	تعداد نمونه
< ۲۵۰۰	۱۰۳	۲۶۱/۷	۴۴۳	۳۷/۷	۱۱
۲۵۰۰-۱۵۰۰۰	۹۳	۲۲۴/۲	۴۳۱	۱۵/۷	۳۶
> ۱۵۰۰۰	۵۶	۲۳۷	۴۴۹	۳۴/۴	۱۳

P=۰/۳۸۳

جدول شماره ۴- شاخص‌های آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> (برحسب نانوگرم در لیتر) براساس تعداد رأس دام شیری در دامداری‌هایی که شیر تولیدی خود را تحویل کارخانه شیر پاستوریزه تهران می‌دهند.

شاخص تعداد گاوهای شیری تعاونی	حداقل آلودگی نانوگرم در لیتر	میانگین آلودگی نانوگرم در لیتر	حداکثر آلودگی نانوگرم در لیتر	خطای معیار میانگین	تعداد نمونه
صنعتی < ۱۰۰	۵۶	۱۷۹	۳۸۶	۲۸/۷	۱۰
صنعتی ۱۰۰-۱۵۰۰	۱۶۶	۲۶۹/۲	۴۴۳	۴۵/۵	۶
صنعتی > ۱۵۰۰	۹۳	۲۳۰/۳	۴۵۸	۱۹/۳	۳۱
	۱۱۷	۲۶۸	۴۴۹	۲۸/۳	۱۳

P=۰/۹۶۰

در لیتر باشد (حد مجاز) که مورد قبول اکثر کشورهاست. بنابراین جیره آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در گاوهای شیری سبب ترشح آفلاتوکسین M<sub>1</sub> به میزان ۲-۱ درصد کل آفلاتوکسین B<sub>1</sub> دریافتی در شیر آنها می‌شود (۵). این امر از گاو به گاو دیگر و از روزی به روز دیگر و حتی از یک دوشش به دوشش بعدی متغیر است. از آنجائیکه اثرات سرطان‌زایی، ناقص الخلقه‌زایی و ترانسوژنیکی آفلاتوکسین‌ها شناخته شده است و آفلاتوکسین M<sub>1</sub> متابولیت هیدروکسیله شده آفلاتوکسین B<sub>1</sub> است که خطرناکترین نوع آفلاتوکسین شناخته شده می‌باشد این بررسی جهت تعیین وجود و مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای تحویل شده به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران که توسط دامداری‌های صنعتی، نیمه صنعتی و سنتی صورت می‌گیرد انجام پذیرفت.

### مواد و روش‌ها

برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در نمونه‌ها از روش ELISA استفاده گردید. کیت‌های مورد استفاده از

*A. flavus* تولید می‌گردد که گونه فلاووس مولد آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> می‌باشد و گونه پارازیتیکوس آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> و G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> را تولید می‌کند.

در سال ۱۹۶۶ ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین M مشخص گردید و با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک آفلاتوکسین‌های M<sub>1</sub> و M<sub>2</sub> از یکدیگر تمیز داده شدند و معلوم گردید که این سموم مشتقات ۴- هیدروکسی آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> می‌باشند (۶).

در سال ۱۹۸۶ Lafont و همکاران طی بررسی‌های خود متابولیت دیگری را در زیر مجموعه آفلاتوکسین M شناسایی کردند و آن را آفلاتوکسین M<sub>4</sub> نامیدند. سمیت این آفلاتوکسین بیشتر از B<sub>1</sub> و M<sub>1</sub> است. آفلاتوکسین M نسبت به عوامل مختلف و دمای فراوری شیر نسبتاً مقاوم است. براساس مطالعات مختلف اگر گاو در روز شش کیلوگرم جیره غذایی حاوی ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B<sub>1</sub> دریافت کند و در روز ۲۰ لیتر شیر تولید داشته باشد باید انتظار داشت که غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر حدود ۰/۰۲ تا ۰/۰۷ میکروگرم

شرکت bioform R- آلمان تهیه شد که دارای دقتی کمتر از ۱۰ نانوگرم در لیتر (۱۰ ppt) می‌باشد. میزان بازیافت آفلاتوکسین با این روش حدود ۹۵ درصد (P.r=۰/۹۵) با ضریب خطای ۱۵ درصد (C.V=۰/۱۵) است. پادتن علیه آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در کف حفره‌های میکروپلیت کیت قرار گرفته است که به آفلاتوکسین موجود در نمونه مورد آزمایش یا استاندارد اضافه شده و یا به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> کونژوگه شده به آنزیم متصل می‌گردد و بعد از اضافه کردن سوبسترا و کروموزن به آن واکنش رنگی ایجاد می‌گردد.

در این مطالعه اطلاعات کاملی از کلیه دامداران و تعاونی‌هایی که شیر را به کارخانه تحویل می‌دادند تهیه شد. این اطلاعات شامل تعداد دامداری‌های صنعتی، نیمه صنعتی، سنتی و تعدادی تعاونی‌ها و مراکز جمع‌آوری شیر در تهران و شهرستان‌هایی بود که به تهران شیر ارسال می‌کنند. بدین ترتیب و پس از تهیه فهرست دامداران و تعاونی‌های مذکور واحد نمونه‌گیری تانکر حمل شیر تعیین گردید. هنگامی که تانکر حمل شیر در پای سکوی دریافت شیر قرار می‌گرفت ابتدا از روی کارت مشخصات راننده اطلاعات مربوط به دامداری یا تعاونی ارسال کننده شیر در پرسشنامه درج می‌گردید سپس شماره پرسشنامه بر روی لوله‌های نمونه‌برداری یادداشت می‌شد از آنجائیکه هر راننده موظف است به تعداد مخازن تانکر خود پس از همگن نمودن شیر هر کدام، نمونه به آزمایشگاه تحویل دهد ابتدا از هر پیمانته تحویلی مقداری شیر داخل یک بشر ریخته و سپس ۱۰۰ CC از شیر بشر مذکور را جهت آزمایشات مربوطه برداشت می‌نمودیم، بنابراین موضوع در این مطالعه تلاش گردید که از تمامی شیرهای تحویلی به کارخانه نمونه تهیه شود که بر این اساس ۷۳ نمونه شیر در مدت یک هفته تهیه گردید.

نمونه‌های شیر بعد از تهیه، از نظر دما، میزان اسیددیده، وزن مخصوص، چربی و ردوکتاز آزمایش می‌شدند. سپس هر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه و حداکثر در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد سانتریفوژ می‌شد (۳) و لایه چربی آن به وسیله پمپ خلاء خارج می‌گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول استاندارد آفلاتوکسین و نمونه مورد آزمایش به حفره‌های میکروپلیت اضافه و به مدت یک ساعت به دور از نور قرار می‌گرفت. موادی که بعد از آن مدت در واکنش شرکت نکرده بودند از طریق شستشو با ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر خارج می‌شدند عمل شستشو سه بار تکرار می‌گردید و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه در روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می‌گرفت تا کاملاً باقیمانده آب مقطر خارج شود سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین کونژوگه شده با آنزیم به حفره وارد و به مدت یک ساعت دیگر در گرمخانه قرار می‌گرفت. در این مرحله پادتن‌هایی که در مرحله قبل به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> احتمالی موجود در نمونه متصل نشده بودند به آفلاتوکسین کونژوگه متصل می‌شدند و بعد شستشو انجام می‌گرفت. سپس سوبسترا و کروموزن (به میزان ۵۰ میکرولیتر از هر یک) به حفره‌ها اضافه و به مدت نیم ساعت گرمخانه‌گذاری می‌شدند و در پایان واکنش رنگی صورت می‌گرفت بدین صورت که در نبود آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در نمونه (منفی بودن نمونه) واکنش رنگی با رنگ آبی مشخص می‌گردید که شدت رنگ با



در فصول سرد سال بهترین راه پیشگیری است. هر چند که تحقیق در مورد روش‌های سالمسازی غذایی حیوان از نظر رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین یا حذف سم از ضروریات برنامه‌های پژوهشی محسوب می‌گردد.

یکی از گمانه‌های ما در این بررسی وجود نان خشک کپک زده در جیره غذایی حیوانات شیرده بود در حالی که یافته‌ها نشان داد که کپک در شرایطی که غذا حاوی کربوهیدرات زیاد و فعالیت آب (aw) بالا باشد بسیار خوب می‌تواند رشد کند و تکثیر یابد و این امر منحصر به نان خشک نیست بلکه آرد ذرت، آرد ماهی و علوفه سیلو شده محیط‌های بسیار مناسبی برای ازدیاد کپک و تولید سم می‌باشند که با کنترل رطوبت و دمای محیط نگهداری آنها و نامساعد کردن شرایط رشد قارچ می‌توان از تولید آفلاتوکسین جلوگیری نمود (Y). در خاتمه با توجه به مصرف سرانه شیر در کشور (۷۳ لیتر در سال ۱۳۷۲) پیشنهاد می‌گردد که استاندارد حد مجاز آلودگی شیر مایع برای آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بر پایه استاندارد اتحادیه اروپا تدوین گردد.

### سیاسگزاری

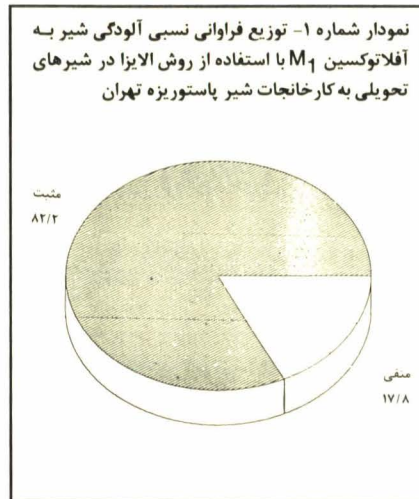
نویسندگان مقاله از معاونت محترم تشخیص و درمان و همکاران ارجمند شبکه دامپزشکی برای در اختیار قرار دادن امکانات آزمایش نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### باورقی

#### 1- Thin Layer Chromatography

#### منابع مورد استفاده

- ۱- کریم‌گیتی، پروانه ویدا و کردی جلال (۱۳۶۱) بررسی آلودگی شیر به آفلاتوکسین در منطقه تهران، مجله بهداشت ایران، سال یازدهم شماره ۱-۲.
- 2- Asveda, I.G. 1994. Mycoflora and aflatoxigenic species of aspergillus isolated from sorted maize. Rev. Microbiol 25(1), 46-50.
- 3- Czerwieck, L. 1983. Aflatoxin M<sub>1</sub> determination in milk. Roczniki panstwowego, 34(3) 277-285.
- 4- Fukal, L. and Brezina, P. 1991. Immuno assay determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. Nahrung, 35(7) 745-748.
- 5- Heesch, W. and Nijhuis, H., 1983. Aflatoxin M. Formation analysis. Deutsch, Molkererie, zoitong 104(46) 1434-1440.
- 6- Van Egmond, H.P 1989. Significance of mycotoxins in dairy production. Publ. By Elsevier, London PP: 1-5.
- 7- Van Egmond. H.P., 1989. Introduction of alfatoxin M<sub>1</sub> mycotoxin in dairy production. Elsevier, London PP: 11-12.
- 8- Van Egmond, H. P. 1989. Carry over of aflatoxin B<sub>1</sub> in Milk. Elsevier, london PP: 13-16.



اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) منظور گردید که در این صورت می‌توان آلودگی صد در صد نمونه‌های مورد مطالعه را بالاتر از حد مجاز دانست. با توجه به دقت روش الایزا نسبت به روش TLC (تعیین مقدار در روش TLC با مشاهده چشمی و بدون استفاده از ابزار بوده است) می‌توان گفت که در فاصله ۱۵ سال بین دو مطالعه انجام شده در سطح تهران با اینکه هنوز میزان آفلاتوکسین در شیر خام بالا می‌باشد ولی هم در درصد آلودگی و هم در مقدار آن کاهش دیده می‌شود. میزان آلودگی در شیرهایی که در گاودارهای صنعتی تولید می‌شوند عمدتاً توسط دامداری‌های سنتی تولید می‌شوند اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین شیرهایی که در زمان تحویل دارای اسیدپتیه بالا و ردوکتاز کوتاه مدت بودند (نشانه کیفیت بهداشتی بد) نیز اختلاف معنی‌داری با شیرهای دارای کیفیت خوب بهداشتی نداشتند.

با اینکه در جدول شماره ۳ میزان آلودگی در دامداری‌های که تولید شیر آنها کمتر است بالاتر می‌باشد ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نیست.

گزارش‌های موجود نشان می‌دهد که اگر بخواهیم شیرهایی با آلودگی کمتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر آفلاتوکسین داشته باشیم باید در روی جیره غذایی مورد مصرف دام‌ها دقت زیاد نماییم که مقدار آلودگی به آفلاتوکسین‌های B و G بیش از ۲-۳ میکروگرم در هر کیلوگرم نباشد (۸).

در بررسی انجام شده بوسیله Fukal و همکاران در سال ۱۹۹۱ مشاهده گردید که میزان آلودگی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای پائیز بیش از بهار است که ما نیز به همین نتیجه دست یافتیم (۴).

ناب شده که منشأ آفلاتوکسین M<sub>1</sub> آلودگی اجزاء غذایی حیوانات شیرده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> است که در بدن حیوان هیدروکسیله شده و از طریق شیر و ادار دفع می‌شود. با توجه به اثرات سمی و سرطانی این سم پاکسازی و حذف سم از شیر و فرآورده‌های آن از ضروریات است. در حال حاضر به علت مشکلات زیاده‌ار تباط با سهم‌دایی در شیر پیشنهاد می‌گردد که فراهم آوردن یک جیره سالم و عاری از آلودگی قارچی به ویژه

مقدار آفلاتوکسین موجود در رابطه غیرمستقیم داشت بدین معنی که با افزایش مقدار سم در حفره‌ها از شدت رنگ کاسته می‌شد و حفره‌های بیرنگ معرف وجود آفلاتوکسین بودند. در نهایت برای توقف واکنش محلول قطع واکنش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره‌ها اضافه می‌شد و رنگ آبی موجود نیز به رنگ زرد تغییر می‌یافت. خواندن میکروپلیت با اسپکتروفوتومتر مخصوص انجام می‌گردید و اطلاعات مربوط به میزان جذب (OD) هر حفره به تفکیک در روی صفحه نمایشگر رایانه مشاهده می‌شد این اطلاعات شامل منحنی استاندارد، میزان جذب حفره‌ها و غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بر حسب نانوگرم در لیتر (PPT) برای نمونه‌های مثبت بود. پس از ثبت داده‌های مربوط به هر نمونه در کامپیوتر ضمن تهیه جداول توصیفی براساس متغیرهای در نظر گرفته شده، براساس روشهای آماری T-student و آنالیز واریانس یک طرفه نتایج جداول به دست آمده تحلیل گردید.

### نتایج

براساس استاندارد اروپا از ۷۳ نمونه شیر تحویلی به کارخانه ۸۲/۲٪ آنها بیش از حد مجاز به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> آلوده بوده و مابقی (۱۷/۸٪) از این نظر منفی تشخیص داده شدند (نمودار ۱). از ۶۰ نمونه آلوده ۵۰ نمونه (۸۳/۳٪) مربوط به گاودارهای صنعتی و ۱۰ نمونه (۱۶/۷٪) مربوط به تعاونی‌هاست که معمولاً شامل شیر گاودارهای سنتی و یا نیمه صنعتی می‌شود، علی‌رغم بالاتر بودن متوسط آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر گاودارهای صنعتی نسبت به شیر تعاونی‌ها، آزمون T-student این اختلاف را معنی‌دار ندانست. با وجود آنکه میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بر اساس تغییرات اسیدیته و ردوکتاز از جنبه توصیفی تغییراتی را نشان می‌دهد لکن آزمون آنالیز واریانس یک طرفه این تغییرات را معنی‌دار نمی‌داند (جدول ۱ و ۲). از طرفی اگر چه متوسط آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در گاودارهای کوچک و یا با تولید شیر کمتر نسبت به دامداری‌های بزرگتر و یا با تولید شیر بالاتر بیشتر است لکن آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در این موارد نیز اختلاف موجود را تأیید نمود (جدول ۳ و ۴).

### بحث

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۶۱ با استفاده از TLC در روی ۶۱ نمونه شیر (۵۲ نمونه شیر خام و ۷ نمونه شیر پاستوریزه) در ایران صورت گرفت آلودگی شیرهای خام به آفلاتوکسین M برابر ۹۲/۳ درصد مشاهده گردید و همچنین در تمام نمونه‌های شیر پاستوریزه آلودگی دیده شد. میزان آلودگی در شیرهای خام ۱۰-۶ میکروگرم در لیتر و در شیرهای پاستوریزه ۵-۱ میکروگرم در لیتر گزارش گردید (۱).

در بررسی اخیر و با استفاده از روش الایزا آلودگی شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> ۸۲/۲ درصد تعیین شده است که میانگین مقدار آن ۲۵۹/۵ نانوگرم در لیتر می‌باشد. از آنجائیکه در حال حاضر استاندارد ملی در مورد حد مجاز آلودگی آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های آن در کشور وجود ندارد لذا در این بررسی شاخص آلودگی استاندارد