

ارتباط غلظت آفلاتوکسین B₁ در اجزاء خوراک با آفلاتوکسین M₁ در شیر خام گاوداری‌های صنعتی شیبری

شهرستان جغتای

حسین رادمان¹، علی مهدوی^{1*}، اشکان جبلی جوان¹، مهنوش پارسائی مهر¹

دانشکده دامپزشکی - دانشگاه سمنان

Determining the relationship between the concentration of aflatoxin B₁ in feed components and aflatoxin M₁ in raw milk of industrial dairy farms in Joghtai city

Hossein Radmen¹, Ali Mahdavi^{1*}, Ashkan Jebelli Javan¹, Mahnoosh Parsaeimehr¹

Faculty of Veterinary Medicine- Semnan University

components and aflatoxin M₁ in raw milk of industrial dairy farms in Joghatay city

Abstract

Introduction and purpose: Aflatoxin B has been considered more than any other mycotoxin in terms of its carcinogenic and severe toxic effects in humans and animals. Considering the importance of the topic, the present study was conducted with the aim of determining the relationship between the concentration of aflatoxin B₁ in feed components and aflatoxin M₁ in raw milk of industrial dairy farms in Joghtai city.

Materials and methods: In this study, in order to investigate aflatoxin B and aflatoxin M and determine the relationship between them, sampling of feed (concentrate, soybean meal, corn silage) and milk was done in 3 seasons: winter, spring and summer. In order to conduct this

research, raw milk samples were collected from 4 centers in Joghtai city and transported to the laboratory, and the amount of aflatoxin M was measured according to the instructions of the ELAISA kit. Also, three types of feed (concentrate, soybean meal, corn silage) were sampled. The amount of aflatoxin B in the examined samples was measured according to the instructions of the ELAISA kit. The obtained data were analyzed using SAS statistical software and GLM procedure in the form of completely random design

Results: In this evaluation, the highest level of aflatoxin contamination in milk between the three seasons was investigated, related to the summer season with an average concentration of 0.039 ± 3.00 ng/liter and the lowest level of contamination was related to the winter season with an average concentration of 0.013 ± 0.003 . was 0. Among the three analyzed feed samples, concentrate, soybean meal and corn silage, the highest amount of aflatoxin B1 contamination is related to corn silage in the summer season with an average concentration of 14.66 ± 1.497 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the lowest amount in soybean meal in the winter season with The average concentration was 3.00 ± 0.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Conclusion: Livestock farmers use more corn silage in the summer season than they have for the past year, so the amount of aflatoxin that animals receive from the ration is higher in the summer season.

Keywords: Aflatoxin M, ELISA, Aflatoxin B, Feed, Milk

چکیده

مقدمه و هدف: آفاتوکسین B به لحاظ اثرات سرطان زایی و سمی شدید در انسان و حیوانات بیش از هر مایکوتوکسین دیگری مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اهمیت موضوع مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط غلظت آفاتوکسین B1 در اجزاء خوراک با آفاتوکسین M1 در شیر خام گاوداری های صنعتی شیری شهرستان جغتای انجام شد.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر به منظور بررسی آفاتوکسین B و آفاتوکسین M و تعیین ارتباط بین آن ها نمونه برداری از خوراک ها (کنسانتره، کنجاله سویا، سیلوی ذرت) و شیر در ۳ فصل زمستان، بهار و تابستان انجام شد. به منظور انجام این تحقیق نمونه های شیر خام از ۴ مرکز در شهرستان جغتای جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شد و مقدار آفاتوکسین M بر اساس دستورالعمل کیت ELAISA اندازه گیری شد. همچنین از ۳ نوع خوراک (کنسانتره، کنجاله سویا، سیلوی ذرت) نمونه برداری شد. مقدار آفاتوکسین B در نمونه های مورد بررسی بر اساس دستورالعمل کیت ELAISA اندازه گیری شد. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه ی GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند.

نتایج: در این ارزیابی بیشترین میزان آلودگی آفاتوکسین شیر بین سه فصل بررسی شده، مربوط به فصل تابستان با میانگین غلظت 0.039 ± 0.003 نانوگرم در لیتر و کمترین میزان آلودگی آن مربوط به فصل زمستان با میانگین غلظت 0.013 ± 0.003 بود. در بین سه نمونه خوراک بررسی شده کنسانتره، کنجاله سویا و سیلوی ذرت بیشترین میزان آلودگی آفاتوکسین B1 مربوط به سیلوی ذرت در فصل تابستان با میانگین غلظت 14.66 ± 1.497 میکروگرم در کیلوگرم و کمترین میزان آن در کنجاله سویا در فصل زمستان با میانگین غلظت 3.00 ± 0.00 میکروگرم در کیلوگرم مشاهده شد.

نتیجه گیری: دامداران در فصل تابستان بیشتر از سیلوی ذرتی که نزدیک به یک سال گذشته استفاده می کنند پس میزان آفاتوکسین که دامها از جیره دریافت می کنند در فصل تابستان بیشتر است.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین M ، مایکوتوکسین ، الایزا ، آفلاتوکسین B ، خوراک ، شیر

UNCORRECTED ROOF

مقدمه

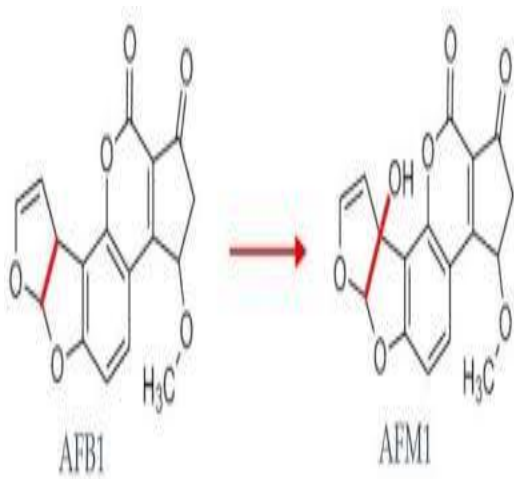
(الماسیان، ۱۳۸۶). آفلاتوکسین‌ها انواع مختلفی دارند که

شامل آفلاتوکسین B_1 ، B_2 ، G_1 ، G_2 ، M_1 ، M_2 می‌-

باشند. آفلاتوکسین M_1 یک ترکیب هیدروکسیل شده از

آفلاتوکسین B_1 می‌باشد که به عنوان فرآورده متابولیکی در

شیر، ادرار و مدفوع حیوان ظاهر می‌گردد.



فرمول ساختاری آفلاتوکسین B_1 و M_1

مطالعات نشان داده‌اند که تغذیه دام‌ها با استفاده از

خوراک‌های آلوده به کپک نه تنها باعث مسمومیت و تلفات

در دام می‌گردد بلکه در گوشت ذخیره شده و یا به صورت

آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 در شیر دفع می‌گردند. در

واقع شکل‌گیری آفلاتوکسین M_1 که متابولیتی از

مایکوتوکسین‌ها به عنوان یکی از بارزترین آلوده کننده‌های

مواد غذایی که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد

ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را

تحت تاثیر قرار می‌دهند مورد بررسی قرار می‌گیرند (رحیمی

و همکاران، ۱۳۸۷). از میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها

به واسطه گستردگی فراوان در طیف وسیعی از غذاها و

خاصیت بالقوه سرطان‌زایی در انسان، بیشترین توجه را به

سوی خود جلب نموده‌اند (Sutton, ۱۹۹۸). آفلاتوکسین‌ها

متابولیت‌های ثانویه شدیداً سمی، سرطان‌زا، تراتوژن،

جهش‌زا، تضعیف‌کننده سیستم ایمنی و هیپاتوتوکسیک در

انسان و حیوانات بوده که عمدتاً توسط قارچ‌های

آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و

آسپرژیلوس نومیوس به دنبال رشد روی اقلام غذایی تولید

می‌شوند (Martins, ۲۰۰۷). این سموم در مواد خوراکی

قبل از برداشت، در انبار و یا بعد از فرآیند در کارخانجات در

شرایط مطلوب درجه حرارت و رطوبت تولید می‌شوند

پذیرفته شده است. در اولین مرحله، آفلاتوکسین توسط یک آنزیم به نام اکسیداز چند عملکردی وابسته به سیتوکروم P450 به یک ماده شیمیایی فعال تبدیل می‌شود. این ماده شیمیایی فعال می‌تواند به DNA، RNA یا پروتئین‌های موجود در سلول‌های کبدی متصل شود.

یکی از این مواد شیمیایی فعال، ۸،۹-اپوکسید است. این ماده شیمیایی بسیار واکنش‌پذیر است و می‌تواند به DNA آسیب برساند. اعتقاد بر این است که ۸،۹-اپوکسید علت سمیت و سرطان‌زایی آفلاتوکسین‌ها است.

در مراحل بعدی متابولیک، آفلاتوکسین‌ها به مواد شیمیایی دیگر تبدیل می‌شوند. برخی از این مواد شیمیایی در ادرار و خون قابل ردیابی هستند (Stroka، ۱۹۹۸؛ Agag، ۲۰۰۴).

ترکیب آفلاتوکسین با DNA می‌تواند باعث ایجاد جهش در ژن سرکوب‌کننده تومور P53 شود. این جهش باعث می‌شود که تیمین به جای گوانوزین در DNA قرار گیرد.

این امر منجر به ترجمه غلط DNA و در نهایت تشکیل پروتئین‌های غیرطبیعی می‌شود. این پروتئین‌های غیرطبیعی می‌توانند باعث رشد غیرقابل کنترل سلول‌ها و ایجاد

آفلاتوکسین B₁ است در کبد صورت می‌گیرد و در غدد پستانی گاوهای شیری به درون شیر ترشح می‌شود. آفلاتوکسین M₁ اولین باقیمانده آفلاتوکسین است که در بافت بدن گاوهای شیری مشاهده می‌شود (رحیمی و همکاران، ۱۳۸۷).

دام‌هایی که از خوراک آلوده به آفلاتوکسین B₁ تغذیه می‌کنند مشتق هیدروکسی آن، یعنی آفلاتوکسین M₁ را در شیر دفع می‌کنند. آفلاتوکسین B₁ می‌تواند به پروتئین‌ها مثل کازئین متصل شود، بنابراین می‌تواند در محصولات لبنی وجود داشته باشد (Martins؛ ۲۰۰۷). در مورد

حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین B₁ و M₁ در کشورهای مختلف قوانین متنوعی وجود دارد اما میزان آفلاتوکسین M₁ شیرخام در ایران ۵۰ نانوگرم در لیتر و حد مجاز آفلاتوکسین B₁ در کنجاله‌ها و غلات در ایران ۲۰

میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد دلیل بالاتر بودن حد مجاز در شیر به علت این که محصول پر مصرف انسان می‌باشد و تمامی سنین افراد از آن مصرف می‌کنند (فلاح، ۲۰۱۶).

مسیر متابولیک آفلاتوکسین‌ها هنوز به درستی مشخص نشده است. بطور کلی متابولیسم ۷ مرحله‌ای آفلاتوکسین‌ها

زمستان رخ داده بود. بیشترین آلودگی مربوط به AFB_1 و بدنبال آن به ترتیب مربوط به AFG_1 ، AFB_2 و AFG_2 بود (Elzupir و همکاران، ۲۰۰۹). ارسالی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در ۴۳/۳۶ درصد از نمونه‌های خوراک دام میزان آلودگی از حد مجاز آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام که ۲۰ ppb می‌باشد و در ۳۸/۰۳ درصد از نمونه‌های شیر خام و ۱۴/۴۲ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه میزان آلودگی از حد مجاز تعیین شده در شیر یعنی ۰/۵ ppb بالاتر بود. همچنین میزان آلودگی در فصول تابستان و پاییز بیش از زمستان و بهار بدست آمد. کنترل و ارزیابی آفلاتوکسین‌ها در خوراک دام و مواد غذایی و مقایسه آن‌ها با حدود مجاز و استانداردها به منظور ارائه راهکارها و اقدامات جهت حذف یا کاهش این سموم در خوراک و مواد غذایی و تأمین امنیت غذایی، بهداشت و سلامت عمومی و اقتصاد ملی امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی حضور و تعیین میزان آفلاتوکسین در نمونه‌های خوراک و شیر گاو‌داری‌های شیری صنعتی شهرستان جغتای با روش الایزا انجام گرفت.

سرطان شوند. یکی از متابولیت‌ها آفلاتوکسین M_1 است که متابولیت اصلی یافت شده در شیر گاو می‌باشد. تقریباً یک تا سه درصد آفلاتوکسین B_1 بلع شده می‌تواند به عنوان آفلاتوکسین M_1 در شیر گاو ظاهر شود. آفلاتوکسین M_1 کمتر از آفلاتوکسین B_1 سمی است، با این وجود به علت مصرف بالا و اهمیت شیر در تغذیه انسان، بطور روتین اندازه‌گیری می‌شود (Stroka، ۲۰۰۰؛ Agag، ۲۰۰۴). روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین‌ها در خوراک دام و مواد غذایی وجود دارد از جمله HPLC، ELISA و TLC. در این میان الایزا با توجه به امکانات موجود، دقیق، سریع و حساس بودن آن جهت اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین در خوراک دام کاربرد بیشتری می‌یابد (Sutton، ۱۹۹۸). نتایج مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که سطح آلودگی آفلاتوکسین B_1 در اقلام خوراک دام در نمونه‌های تابستان بطور قابل ملاحظه ای بیش از نمونه‌های زمستان بوده است (رحیمی و همکاران، ۱۳۸۸). الزویبر و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که بیشترین آلودگی در تابستان و کمترین آلودگی در

مواد و روش‌ها

در این پژوهش به منظور بررسی آفلاتوکسین B و آفلاتوکسین M و تعیین ارتباط بین آن‌ها نمونه‌برداری از خوراک‌ها (کنسانتره، کنجاله سویا، سیلوی ذرت) که خود کنسانتره شامل مخلوطی از (ذرت، جو، سویا سبوس، کلزا و مکمل‌های دامی) و شیر در ۳ فصل زمستان، بهار و تابستان، از ابتدای دی ماه ۱۴۰۱ تا انتهای شهریور سال ۱۴۰۲ در شهرستان جغتای استان خراسان رضوی انجام شد. آزمایشگاهی که نمونه‌ها انتقال داده شد آزمایشگاه مینا میباشد تعیین حجم نمونه توسط فرمول کوکران محاسبه گردید. با توجه به میانگین سطح آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده در سطح مشهد در سال ۲۰۰۷ حجم نمونه ۴۵ تایی با اطمینان ۹۰٪ و دقت ۰/۰۰۲۸ را فراهم می‌نماید.

میانگین آفلاتوکسین: $0/009 \pm 0/16$

$$N = (1.96)^2 (0.009)^2 / (0.0028)^2 = 40$$

بدین منظور از ۳ نوع خوراک شامل کنسانتره، کنجاله سویا و سیلوی ذرت نمونه‌برداری انجام شد. در رابطه با کنجاله

سویا و کنسانتره ۱۰ نمونه از قسمت‌های مختلف انبار به میزان ۵۰۰ گرم برداشته شد و این نمونه‌ها بعد از برداشته شدن، برای همگن شدن باهم مخلوط شدند و در نهایت ۳ نمونه ۱۰۰ گرمی اخذ گردید و در بسته‌بندی‌های استریل شده به آزمایشگاه انتقال داده شدند. به منظور نمونه‌برداری از سیلوی ذرت در پایان هر ماه از سه نقطه مختلف سیلو به وسیله آگار از ۳ عمق مختلف نمونه‌برداری شد و در نتیجه ۹ نمونه حاصل شد که این ۹ نمونه با هم مخلوط شدند تا نمونه همگنی حاصل شود و در آخر ۳ نمونه ۱۰۰ گرمی برداشته شد و به آزمایشگاه ارسال گردید.

۲ گرم از نمونه آسیاب شده در لوله شیشه‌ای ریخته شد و به آن ۲ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان افزوده گردید. سپس به مدت ۰/۵ ساعت به روش سر و ته کردن مخلوط گردید. در مرحله بعد نمونه مخلوط شده فیلتر گردید، سپس ۴ میلی‌لیتر از محلول فیلتر شده برداشته شد و در دمای ۵ درجه سانتیگراد، تحت بخار ملایم نیتروژن قرار داده شد تا کاملاً تبخیر و خشک گردید. باقی‌مانده مرحله قبل در یک میلی‌لیتر بافر رقیق‌سازی حل شد و یک میلی‌لیتر هپتان اضافه گردید و ورتکس شد و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت

آزمایش در شیشه‌های تیره رنگ ریخته و در فریزر دمای ۲۰- نگهداری کرده و ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش دوباره نمونه‌ها را از فریزر به یخچال انتقال داده تا به تدریج و در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد از حالت انجماد خارج شوند.

مقدار آفاتوکسین (AFM₁) M1 بر اساس دستورالعمل کیت (ELISA (AESKULISA ساخت کشور المان بصورت ذیل اندازه‌گیری گردید. بر اساس دستورالعمل کیت ELISA، نمونه‌های شیر با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. لایه بالایی (خامه شیر) به طور کامل توسط یک پیپت پاستور حذف شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های شیرخامه گرفته شده را به طور مستقیم برای آزمایش ELISA استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر محلول استاندارد (غلظت‌های ۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر به صورت آماده شده در کیت) و نمونه‌های شیر بدون چربی به داخل چاهک‌های متفاوتی اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریک انکوباتور قرار گرفت. محتویات چاهک‌ها پس

۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. لایه زیرین حاصل شده، با پیپت، داخل لوله شیشه‌ای تمیز ریخته شد و یک میلی‌لیتر آن-هگزان اضافه گردید و ورتکس شد و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از لایه زیرین بدست آمده برداشته شد و برای چاهک‌های کیت الایزا استفاده گردید. برای تعیین میزان آلودگی نمونه‌ها به آفاتوکسین B₁ از کیت الایزای مربوطه، استفاده شد. پلیت موجود در کیت دارای ۹۶ خانه یا چاهک بود (۸×۱۲) که براساس مطالعات گذشته و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (Europroxima) میزان آفاتوکسین B₁ نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در خاتمه میزان جذب نوری (OD) نمونه‌ها با قرائت‌کننده مخصوص الایزا در طول موج ۴۵۰nm قرائت گردید. (سواری و همکاران ۱۳۹۱)

نمونه‌های شیر خام تهیه شده از ۴ مرکز جمع‌آوری شیر در شهرستان جغتای به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌برداری در ۳ فصل سال و در هر ماه دوبار انجام گرفت و نمونه‌ها در شرایط استریل و توسط کلمن یخچال‌دار به آزمایشگاه منتقل شد. از نمونه‌های تهیه شده به مقدار مورد نیاز برای

جذب نوری شاهد از جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها کسر شده، سپس با تقسیم میزان جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها در میزان جذب نوری استاندارد صفر که بیشترین جذب نوری را دارد، ضرب در صد، درصد جذب حاصل گردید.

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه (۲۰۰۹) و رویه GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه تحلیل شدند.

نتایج

براساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ در رابطه با غلظت آفلاتوکسین کنجاله سویا و شیر بین ماه‌های مختلف فصل زمستان اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت در خصوص آفلاتوکسین کنسانتره بین ماه‌های مختلف فصل زمستان اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.001$)؛ به طوری که ماه‌های دی و بهمن در یک گروه ولی ماه اسفند با میانگین غلظت ۴/۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در گروه دیگر قرار گرفت. در رابطه با آفلاتوکسین سیلاژ ذرت هم ماه‌های دی و بهمن با میانگین غلظت به ترتیب ۷/۸۷۰، ۷/۰۰ میکروگرم در کیلوگرم در یک گروه ولی ماه اسفند با

از ۳۰ دقیقه بیرون ریخته شد و سپس ۳ بار با محلول شستشو (۲۵۰ میکرولیتر) شسته شد. میکروپلیت به طور کامل وارونه شد و چندین بار روی حوله ضخیم ضربه زده شد. تا تمام محلول شستشو موجود در چاهک‌ها کاملاً تخلیه شود و کاملاً خشک گردد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه به هر چاهک اضافه گردید و به مدت چند ثانیه به وسیله شیکر مخلوط شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریک انکوبه شد. مجدداً، چاهک‌ها سه بار با محلول شستشو شسته شد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از

محلول سوپسترا در هر چاهک اضافه شد، به طور کامل مخلوط شد و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط تاریک انکوباسیون شد. در نهایت، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به هر چاه اضافه شد و عدد جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه (reader ELISA Bio-Tek Instruments, ELX800) خوانده شد. مقدار جذب نور توسط دستگاه الایزا ریدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و توسط نرم افزار مخصوص، میزان آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر محاسبه شد.

میانگین غلظت ۹/۷۵۰ میکروگرم در کیلوگرم در گروه دیگر

گرفت.

قرار

UNCORRECTED ROOF

مقایسه میانگین و پارامترهای آمار توصیفی غلظت آفلاتوکسین در شیر، کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده در فصل زمستان

مقادیر P	حداکثر	حداقل	انحراف معیار \pm میانگین		
$P = 0/006$	0/01	0/01	$0/011^a \pm 0/001$	دی	شیر ^۱
	0/02	0/02	$0/013^a \pm 0/002$	بهمن	
	0/02	0/02	$0/017^b \pm 0/002$	اسفند	
$P < 0/001$	3/00	3/00	$3/00^a \pm 0/00$	دی	کنسانتره ^۲
	3/50	3/00	$3/250^a \pm 0/288$	بهمن	
	4/00	4/00	$4/00^b \pm 0/00$	اسفند	
$P > 0/05$	3/00	3/00	$3/00 \pm 0/00$	دی	کنجاله سویا ^۲
	3/00	3/00	$3/00 \pm 0/00$	بهمن	
	3/00	3/00	$3/00 \pm 0/00$	اسفند	
$P < 0/001$	7/00	7/00	$7/00^a \pm 0/00$	دی	سیلو ^۲
	8/00	7/50	$7/870^a \pm 0/250$	بهمن	
	11/00	9/00	$9/750^b \pm 0/957$	اسفند	

۱- غلظت آفلاتوکسین شیر بر اساس واحد نانوگرم بر لیتر می‌باشد.

۲- غلظت آفلاتوکسین کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده بر اساس میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

*حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود آفلاتوکسین موجود در سیلاژ ذرت و شیر بین ماه‌های مختلف فصل بهار اختلاف آماری معنی داری نشان داد ($P=0/032$). در خصوص آفلاتوکسین کنسانتره و کنجاله سویا بین ماه‌های مختلف فصل بهار نیز اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($P=0/274$).

UNCORRECTED PROOF

جدول ۴-۲: مقایسه میانگین و پارامترهای آمار توصیفی غلظت آفلاتوکسین در شیر، کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت

سیلو شده در فصل بهار

مقادیر P	حداکثر	حداقل	انحراف معیار \pm میانگین		
۰/۰۳۲	۰/۰۲	۰/۰۲	$۰/۰۲۲^a \pm ۰/۰۰۲$	فروردین	شیر ^۱
	۰/۰۳	۰/۰۲	$۰/۰۲۴^b \pm ۰/۰۰۵$	اردیبهشت	
	۰/۰۳	۰/۰۲	$۰/۰۲۴^b \pm ۰/۰۰۵$	خرداد	
۰/۲۷۴	۴/۰۰	۴/۰۰	$۴/۰۰^a \pm ۰/۰۰$	فروردین	کنسانتره ^۲
	۴/۰۰	۴/۰۰	$۴/۰۵۰^a \pm ۰/۰۵۷$	اردیبهشت	
	۴/۱۰	۴/۰۰	$۴/۰۵۰^a \pm ۰/۰۵۷$	خرداد	
۰/۱۱۵	۳/۱۰	۳/۰۰	$۳/۰۲۵^a \pm ۰/۰۵۰$	فروردین	کنجاله سویا ^۲
	۳/۲۰	۳/۰۰	$۳/۱۵۰^a \pm ۰/۱۰۰$	اردیبهشت	
	۳/۲۰	۳/۰۰	$۳/۱۵۰^a \pm ۰/۱۰۰$	خرداد	
P < ۰/۰۰۱	۱۰/۵۰	۱۰/۰۰	$۱۰/۱۲۵^a \pm ۰/۲۵۰$	فروردین	سیلو ^۲
	۱۱/۵۰	۱۱/۰۰	$۱۱/۱۲۵^b \pm ۰/۲۵۰$	اردیبهشت	
	۱۱/۵۰	۱۱/۰۰	$۱۱/۱۲۵^b \pm ۰/۲۵۰$	خرداد	

۱- غلظت آفلاتوکسین شیر بر اساس واحد نانوگرم بر لیتر می‌باشد.

۲- غلظت آفلاتوکسین کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده بر اساس میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

*حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد

نتایج بدست آمده نشان داد که میزان آفلاتوکسین شیر در بین ماه‌های مختلف فصل تابستان اختلاف آماری معنی‌داری دارد ($P=0/102$). در خصوص آفلاتوکسین کنجاله سویا نیز بین ماه‌های مختلف فصل تابستان اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ($P=0/012$). همچنین آفلاتوکسین کنسانتره و سیلاژ ذرت هم بین ماه‌های مختلف فصل تابستان اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد ($P<0/001$).

(جدول ۳).

: مقایسه میانگین و پارامترهای آمار توصیفی غلظت آفلاتوکسین در شیر، کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده در فصل تابستان

مقادیر P	حداکثر	حداقل	انحراف معیار \pm میانگین		
0/102	0/04	0/04	$0/037^a \pm 0/002$	تیر	شیر ¹
	0/05	0/04	$0/042^a \pm 0/002$	مرداد	
	0/04	0/03	$0/038^a \pm 0/004$	شهریور	
0/28	4/00	4/00	$4/00^a \pm 0/00$	تیر	کنسانتره ²
	4/3	3/9	$4/12^a \pm 0/1$	مرداد	
	4/00	4/00	$4/00^a \pm 0/00$	شهریور	
0/12	5/00	5/00	$5/00^a \pm 0/00$	تیر	کنجاله سویا ²
	5/50	5/00	$5/30^b \pm 0/216$	مرداد	
	5/00	4/80	$4/950^a \pm 0/100$	شهریور	
P < 0/001	13/00	12/00	$12/750^a \pm 0/500$	تیر	سیلو ²
	16/00	15/00	$15/500^b \pm 0/577$	مرداد	
	16/00	15/00	$15/750^b \pm 0/500$	شهریور	

۱- غلظت آفلاتوکسین شیر بر اساس واحد نانوگرم بر لیتر می‌باشد.

۲- غلظت آفلاتوکسین کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده بر اساس میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

*حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیشترین میزان آلودگی آفلاتوکسین شیر بین سه فصل بررسی شده، مربوط به فصل تابستان با میانگین غلظت $0/039 \pm 3/00$ نانوگرم در لیتر و کمترین میزان آلودگی آن مربوط به فصل زمستان با میانگین غلظت $0/013 \pm 0/003$ بود. در بین سه نمونه خوراک بررسی شده کنسانتره، کنجاله سویا و سیلوی ذرت بیشترین میزان آلودگی آفلاتوکسین B₁ مربوط به سیلوی ذرت در فصل تابستان با میانگین غلظت $14/66 \pm 1/497$ میکروگرم در کیلوگرم و کمترین میزان آن در کنجاله سویا در فصل زمستان با میانگین غلظت $3/00 \pm 0/00$ میکروگرم در کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۴).

مقایسه میانگین و پارامترهای آمار توصیفی غلظت آفلاتوکسین در شیر، کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده بین فصول

مقادیر P	حداکثر	حداقل	انحراف معیار \pm میانگین		
P<0/001	0/02	0/01	0/013 ^a \pm 0/003	زمستان	شیر ^۱
	0/03	0/02	0/023 ^b \pm 0/001	بهار	
	0/05	0/03	0/039 ^c \pm 3/00	تابستان	
P<0/001	4/00	3/00	3/416 ^b \pm 0/0468	زمستان	کنسانتره ^۲
	4/10	4/00	4/033 ^a \pm 0/049	بهار	
	4/3	3/9	4/04 ^a \pm 0/12	تابستان	
P<0/001	3/00	3/00	3/00 ^a \pm 0/00	زمستان	کنجاله سویا ^۲
	3/00	3/20	3/108 ^a \pm 0/099	بهار	
	5/50	4/80	5/083 ^b \pm 0/203	تابستان	
P<0/001	11/00	7/00	8/208 ^a \pm 1/304	زمستان	سیلو ^۲
	11/50	10/00	10/791 ^b \pm 0/541	بهار	
	16/00	12/00	14/66 ^c \pm 1/497	تابستان	

۱- غلظت آفلاتوکسین شیر بر اساس واحد نانوگرم بر لیتر می‌باشد.

۲- غلظت آفلاتوکسین کنسانتره، کنجاله سویا و ذرت سیلو شده بر اساس میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

*حروف غیر مشابه در هر ستون بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد

بحث

بررسی‌ها نشان می‌دهد که تقریباً ۳/۶ درصد آفلاتوکسین B₁ دریافتی از غذای آلوده توسط حیوانات به آفلاتوکسین M₁ تبدیل شده که در حیوانات یک گله و در فصول مختلف سال متفاوت است. و سرنوشت مابقی آفلاتوکسینی که دام مصرف میکند یا از طریق مدفوع دفع میشود و یا وارد بافت بدن دام میشود و بر روی مکانیسم های مختلف بدن اثر منفی میگذارد. ترشح آفلاتوکسین M₁ در شیر نسبتاً سریع است به طوری که آفلاتوکسین M₁، ۱۲-۲۴ ساعت بعد از مصرف اولین جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین B₁ در شیر ترشح می‌شود و ۷۲ ساعت بعد از حذف جیره غذایی آلوده، آفلاتوکسین از شیر حذف می‌شود. میزان آفلاتوکسین بالا نشان‌دهنده آلودگی بالای جیره دام‌ها از جمله انبارمانی علوفه و نان خشک می‌باشد که دامداران در سراسر کشور توجه چندانی به این مسئله ندارند و وجود میزان بالای آفلاتوکسین M₁ در شیرهای بسیاری از نقاط کشور گواه این موضوع است. مصری‌پور و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای که توسط Buzas و همکاران در سال ۲۰۲۳ در کشور مجارستان انجام شد در این پژوهش میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر خام و آشامیدنی در یک دوره یک ساله مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین میزان آفلاتوکسین در شیر خام در فصل پاییز بود با میانگین ۳۹/۵ که در ۱۷/۵ درصد از نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده بالاتر از حد مجاز اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم در لیتر) بوده و کمترین میزان آفلاتوکسین مربوط به فصل تابستان با میانگین ۱۳/۲ بوده است. (Buzas و همکاران ۲۰۲۳)

در اصفهان از ۹۷ نمونه مورد مطالعه ۱۹ نمونه (۵۸/۱۹ درصد) را آلوده به آفلاتوکسین B₁ گزارش کردند و بیشترین آلودگی را میان ۹۷ نمونه ذرت، گندم، جو، سبوس برنج، علوفه خشک شده و نان خشک، مربوط به نمونه‌های نان خشک (۶۴ درصد) و علت آن را هم آلودگی بعد از تولید نان که مربوط به ضعف در امکانات نگهداری و ذخیره‌سازی می‌شد گزارش کردند. الزویبر و همکاران (۲۰۰۹) در سودان از ۹ نمونه خوراک مورد مطالعه، ۶ نمونه (۶۶/۶۷ درصد) را آلوده به آفلاتوکسین‌ها با غلظتی در محدوده ۱۳/۱۴۷-۷۹/۲ میکروگرم در کیلوگرم و ۵ نمونه (۵۵/۵۶ درصد) را آلوده به آفلاتوکسین B₁ گزارش کردند که ۵ نمونه از ۶ نمونه آلوده به آفلاتوکسین، غلظت آفلاتوکسینی بیش از حد مجاز (۲۰ میکروگرم در کیلوگرم) داشتند که بیشترین غلظت و آلودگی در فصل تابستان بود که آلودگی در ۷۸.۹۵ درصد نمونه‌ها تشخیص داده شد؛ به دنبال آن پاییز (۶۷/۶۶ درصد) و کمترین آلودگی هم در زمستان (۳۷/۴۳ درصد) بود که می‌تواند مربوط به شرایط آب و هوایی مطلوب مثل افزایش دما و افزایش رطوبت نسبی باشد.

نتیجه این مطالعه با پژوهشی که ما انجام دادیم همسو می‌باشد به این دلیل که بیشترین آلودگی در پژوهش ما مربوط به فصل تابستان و کمترین آلودگی مربوط به فصل زمستان بود.

در مطالعه‌ای که توسط Ameer و همکاران در سال ۲۰۲۰ در الجزایر انجام شد، بروز تغییرات فصلی آفلاتوکسین M₁ در شیر خام جمع آوری شده از مناطق مختلف این کشور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آفلاتوکسین شیر در فصل بهار بیشتر از پاییز بود (Ameer و همکاران، ۲۰۲۰) از دلایل غیر همسو بودن این مطالعه با تحقیق انجام شده می‌توان به روش‌های مختلف پرورش شرایط متفاوت در سیستم پرورش اختلاف در میزان بارندگی و اختلاف در دمای آب هوا و شرایط کشاورزی اشاره کرد. ارسالی و همکاران (۲۰۰۹) در شیراز گزارش کردند که در ۳۶/۴۳ درصد از نمونه‌های خوراک میزان آلودگی از حد مجاز آفلاتوکسین B₁ در خوراک دام که ۲۰ppb می‌باشد بالاتر بود که میزان آلودگی در فصول تابستان و پاییز بیش از زمستان و بهار است که می‌تواند ناشی از رطوبت بالا در پاییز و دمای بالا در تابستان باشد. بالاتر بودن میزان آفلاتوکسین B₁ در فصول سرد سال خصوصاً زمستان می‌تواند به علت عدم در دسترس بودن علوفه و غلات به صورت تازه و همچنین استفاده از علوفه انبار شده و عدم رعایت شرایط نگهداری مناسب در انبارها باشد. همچنین وجود رطوبت لازم برای رشد قارچ‌های آسپرژیلوس در فصل زمستان از دیگر علل بالاتر بودن میزان آلودگی به آفلاتوکسین B₁ نسبت به فصول دیگر می‌باشد. نتیجه این مطالعه با نتیجه بررسی انجام شده در تضاد است که دلیل آن به شرایط آب و هوایی مناطق مربوط می‌شود. عزیزی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که از میان ۹۶ نمونه مورد بررسی ۴۲ نمونه به علت رطوبت زیاد موجود در مناطق شمال ایران، بیش از حد مجاز استاندارد (۵ ppb) آلوده به آفلاتوکسین B بودند همچنین میزان آلودگی به آفلاتوکسین B₁ را در زمستان، بهار و تابستان به ترتیب (۳۸/۵۶، ۳۴/۴ و ۴/۷ درصد) گزارش کردند که بیشترین آلودگی در زمستان و به علت رطوبت بالا بود. بعضی مطالعات آلودگی بیشتری در نمونه‌های خوراک در فصل تابستان نشان داده‌اند که با نتایج حاصل از این مطالعه در توافق بود. آنها میزان آلودگی به آفلاتوکسین B₁ را در کنسانتره تفاله چغندر قند و کنجاله تخم پنبه به ترتیب (۸/۵۸، ۷/۴۳ و ۷/۲۶ درصد) گزارش کردند که بیشترین آلودگی مربوط به کنسانتره بود.

طبق مقایسه میزان آلودگی اقلام خوراکی بررسی شده در این پژوهش طی ۳ فصل زمستان، بهار، تابستان و با توجه به مطالعات گذشته این نتیجه حاصل شد که فصول مختلف هم می‌تواند روی میزان آلودگی تاثیر بگذارد، به نحوی که بیشترین غلظت آلودگی به آفلاتوکسین B در فصل تابستان و کمترین میزان آن در فصل زمستان بود که با برخی از مطالعات هم‌خوانی داشت. نتیجه حاصل در این پژوهش مقداری کم با نتایج مطالعات قبلی متفاوت بود که این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت در تعداد نمونه‌ها، تفاوت در pH و نوع خوراک، شرایط آب و هوایی منطقه، میزان آسیب وارده در زمان برداشت محصول زراعی، مدت زمان ذخیره کردن، فرآیندهای نگهداری از زمان درو تا زمان مصرف که در رشد قارچ‌ها و تولید آفلاتوکسین‌ها در خوراک دام نقش بسزایی دارند، باشد. بر این اساس میزان آلودگی از گاوداری تا گاوداری دیگر، از منطقه‌ای تا منطقه دیگر، از سال زراعی تا سال زراعی دیگر و از رقمی از خوراک تا رقم دیگر می‌تواند کاملاً متفاوت باشد. رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که سطح آلودگی به آفلاتوکسین B₁ در اقلام خوراک دام در نمونه‌های زمستان به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از نمونه‌های تابستان بوده است و علت این امر شاید شرایط مناسب رطوبت و دما جهت رشد قارچ‌ها و از طرفی استفاده از علوفه به صورت انباری در این فصل عنوان شد. همچنین در بررسی انجام شده روی میزان آلودگی سه نوع خوراک کنسانتره، کنجاله سویا و سیلو در فصول مختلف سال طبق ارزیابی آماری مقایسه میزان آفلاتوکسین بین جیره‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد. میزان آفلاتوکسین در سیلو به طور معنی‌داری بیشتر از کنسانتره و کنجاله سویا بود. بیشترین میزان آلودگی آفلاتوکسین مربوط به نمونه‌های سیلوی ذرت در فصل تابستان با میانگین غلظت $14/66 \pm 1/497$ میکروگرم در کیلوگرم و کمترین میزان آلودگی مربوط به نمونه‌های کنجاله سویا در فصل زمستان با میانگین غلظت $3/00 \pm 0/00$ میکروگرم در کیلوگرم بود. در مطالعات مختلف بسته به نوع نمونه‌های مورد آزمایش نتایج متفاوتی گزارش شده است. کنترل رشد کپک و تولید مایوتوکسین‌ها برای کارخانه‌های خوراک دام و دامداری‌ها بسیار مهم است کنترل رشد کپک در مواد خوراکی از طریق نگه داشتن مواد در رطوبت پایین استفاده از تجهیزات تمیز و بازدارنده‌های رشد کپک است. غلات و سایر مواد خوراکی خشک باید در رطوبتی کمتر از ۱۴ درصد نگهداری شوند. مایکوتوکسین‌ها با تاخیر در برداشت، بارندگی و آب و هوای سرد افزایش می‌یابند. غلظت مایکروتوکسین‌ها در ذرات ریز و دانه‌های شکسته یا آسیب دیده

حداکثر است. پس تمیز کردن می‌تواند به کاهش غلظت میکروتوکسین‌ها کمک کند. انبارها باید مواد خوراکی را از باران و سایر منابع آبی حفظ کند. تهویه انبار غلات برای خشک نگه داشتن مواد مهم است از انبار کردن مواد خوراکی مرطوب در نزدیکی مواد خوراکی خشک باید پرهیز شود هنگامی که کپک یا سایر میکروارگانیسم‌ها رشد می‌کنند گرمای حاصل باعث فساد می‌شود. نفوذ هوا پس از سیلو کردن می‌تواند به رشد میکروارگانیسم‌های مقاوم به اسید افزایش pH و سپس رشد کپک کمک کند. استفاده از بازدارنده‌های شیمیایی برای رشد کپک در صنعت خوراک حایز اهمیت است.

در بررسی که توسط رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۸ در شهرکرد و اصفهان صورت گرفت. با استفاده از روش الیزا میزان آلودگی آفلاتوکسین M₁ در شیرهای پاستوریزه و استریل مورد ارزیابی قرار گرفت که آفلاتوکسین در ۹۰/۳ درصد از نمونه‌های شیر وجود داشت و میانگین آفلاتوکسین M₁ در نمونه‌های شیر پاستوریزه ۵۶ نانوگرم بر لیتر گزارش گردید که از حد مجاز تعیین شده بالاتر می‌باشد. در شهر سراب استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۸۴ بر روی ۱۱۱ نمونه شیر خام با روش TCL آفلاتوکسین M₁ اندازه‌گیری شد. در ۷۶ درصد آنها وجود آفلاتوکسین تایید شد و ۴۰ درصد نمونه‌ها دارای غلظت آفلاتوکسین بیش از حد مجاز بودند. نتایج حاصل از بررسی میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر پاستوریزه نشان داد که میزان آفلاتوکسین M₁ در فصل زمستان و پاییز بیشتر از دو فصل بهار و تابستان می‌باشد و این احتمالاً به دلیل انباری بودن غذای دام در این دو فصل می‌باشد و با نتیجه تحقیق انجام شده در این پژوهش مغایرت دارد به دلیل اینکه بیشترین آلودگی آفلاتوکسین شیر مربوط به فصل تابستان و کمترین آلودگی مربوط به فصل زمستان می‌باشد (Kumar, ۲۰۰۴). با توجه به نتایج مطالعه حاضر میانگین آفلاتوکسین M₁ در شیرهای شهرستان جغتای در فصل تابستان به مراتب بالاتر از این مقدار در دو فصل دیگر بود که این خود نشان‌دهنده آلوده بودن جیره دام‌ها به آفلاتوکسین B در فصل تابستان نسبت به دو فصل دیگر می‌باشد. دامداران در فصل تابستان بیشتر از سیلوی ذرتی استفاده می‌کنند که نزدیک به یک سال از برداشت آن میگذرد پس میزان آفلاتوکسین که دام‌ها از جیره دریافت می‌کنند در فصل تابستان بیشتر است. از آنجایی که احتمالاً انبارها از نظر دما و رطوبت به خوبی کنترل نشده‌اند محیط مناسب برای رشد قارچ‌های مولد آفلاتوکسین B و در نتیجه پدیدار شدن آفلاتوکسین M₁ در شیر فراهم می‌شود. تولید آفلاتوکسین توسط قارچ‌های

آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تحت تاثیر دما و رطوبت می‌باشد. به طوری که رطوبت بالای اتمسفر و رطوبت بالای نمونه به سرعت دمای نمونه را افزایش داده و شرایط برای تولید آفاتوکسین B فراهم می‌شود. علاوه بر این در محیط با رطوبت کمتر و دمای پایین‌تر نیز رطوبت نمونه با سرعت کمتری تبخیر شده و شرایط مطلوب دما و رطوبت برای تولید آفاتوکسین B فراهم می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

غلظت آفاتوکسین M_1 در شیر تحت تاثیر غلظت آفاتوکسین B_1 در کنسانتره، به خصوص در تابستان، می‌باشد. به نظر می‌رسد عوامل دیگری علاوه بر غلظت آفاتوکسین B_1 در خوراک، در میزان آفاتوکسین M_1 در شیر نقش داشته باشند، مانند:

- میزان مصرف خوراک: در این مطالعه به میزان مصرف خوراک توسط گاوها پرداخته نشده است.
- میزان متابولیسم آفاتوکسین B_1 توسط گاو: گاوهای مختلف ممکن است توانایی متابولیسم آفاتوکسین B_1 به آفاتوکسین M_1 را با نرخهای متفاوتی داشته باشند.

برای کنترل میزان آفاتوکسین M_1 در شیر، لازم است به طور مداوم غلظت آفاتوکسین B_1 در تمام اجزاء خوراک، به خصوص کنسانتره، در تمام فصول نظارت شود.

منابع

سواری م؛ دهقان بنادکی م؛ رضا یزدی ک؛ جوان نیکخواه م. ۱۳۹۱. مقایسه ی جاذبه‌های معدنی زئولیت و بنتونیت با جاذب آلی

مایکوزورب و جاذب آلی- معدنی بیوتکس از لحاظ توانایی جذب آفاتوکسین B_1 . مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۴:۱۰۵-۱۱۲

Agag BI. 2004. Mycotoxins in foods and feeds. Ass. Univ. Bull. Environ. Res.

7(1):173-205.

Almasian, S., Hosseini, S.G.H.R., Sohani darban, A.R., Malekzadegan, F. 2008. Investigation of aflatoxin levels in inner corn grouts. 18th National Congress on Food Technology. (In Persian)

Azizi, IG., Ghadi, H., Azarmi, M. 2012. Determination of aflatoxin B1 levels of the feedstuffs in traditional and semi-industrial cattle farms in Amol, Northern Iran. Asian J. Anim. vet. Adv. 7(6):528-534.

Elzupir, AO., Makavi, SZA., Elhussein, AM. 2009. Determination of aflatoxins and ochratoxin a in dairy cattle feed and milk in Wad Medani, Sudan. J. Anim. Vet. Adv. 8(12) :2508-2511.

Elzupir, AO., Younis, YMH., Fadul, MH., Elhussein, AM. 2009. Determination of aflatoxins in animal feed in Khartoum state, Sudan. J. Anim. Vet. Adv. 8(5):1000-1003.

Ersali, AAA., Baha Aldin beygi, F., Ghasemi, R. 2009. Transmission of aflatoxins from animal feeds to raw and pasteurized milk in Shiraz city and suburbs. Journal of shahid sadoughi university of medical sciences and health services. 17(3):175-183. (In Persian).

Kumar, A. 2004. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in sarsb city of Iran. Food Control. 16 (7), 593-599.

Martins, H.M., Guerra, M.M.M., Bernardo, F.M.A. 2007. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal (199 -2004). Rev Iberoam Micol. 24:69-71.

Buzas H. Szabo-Sarvari LC. Szabo K. Nagy-Kovacs K. Bukovics S. Sule J. Szafner G.

Hucker A. Kocsis R. Kovacs AJ. (2023) Aflatoxin M1 detection in raw milk and

drinking milk in Hungary by ELISA – A one-year survey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 1;121

Messripour, M., Gheisari, MM. 2010. Occurrence of Aflatoxin B in Some Feedstuffs in Isfahan. *J. Res. Agric. Sci.* 6:49-55.

Rahimi, E., Kargar, A.R., Zamani, F. 2009. Assessment of aflatoxin B1 levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal & Bakhtiari. *Pajouhsh & Sazandegi*.79:66-71. (In Persian).

Rahimi, E., Shakerian, A., Jafariyan, M., Ebrahimi, M., Riahi, M. 2009. Occurrence of aflatoxin M1 in raw, pasteurized and UHTmilk commercialized in Esfahan and Shahr- e Kord, Iran *Food Sec.* 1:317–32.

Sarah Mohammedi-Ameur^{1,2}, Mohammedi Dahmane¹, Carlo Brera³, Moustafa Kardjadj^{1,2} and Meriem Hind Ben-Mahdi.²⁰²⁰. Occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in raw cow milk collected from different regions of Algeria. *Veterinary World*.1_7.

Savari, M., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K., Javan-Nikkhah, M. 2013. Comparison of zeolite and bentonite as inorganic adsorbents with Mycosorb as organic adsorbent and Biotex as organic-inorganic adsorbent in terms of aflatoxin B1 absorptionability. *SRJ, Agricultural Sciences of Iran - University of Tehran-* (In Persian).

Stroka, J. 2000. Determination of Aflatoxins in Food and Feed with Simple and Optimised Methods.

Sutton, D., Fothergill, A., Rinaldi, M. 1998. Guide to Clinically significant fungi.

Williams and Wilkins.