




Semnan University



Research Article

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 (Razavi Khorasan)

Hossein Radman¹, Ali Mahdavi^{1*} , Ashkan Jebelli Javan¹, Mahnoosh Parsaeimehr¹.

Abstract

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.

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 ELISA 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 ELISA kit. The obtained data were analyzed using SAS statistical software and GLM procedure in the form of completely random design. 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 . 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 $\mu\text{g}/\text{kg}$. 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..

1. Faculty of Veterinary Medicine- Semnan University, Semnan, Iran..

*Corresponding author: mahdavi@semnan.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2024.34153.1110](https://doi.org/10.22075/jvlr.2024.34153.1110)

Received: 11.04.2024

Accepted: 29.08.2024

How to Cite this Article:

Mahdavi, A., Radman, H., Jebelli Javan, A., & Parsaeimehr, M. (2024). 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. *Journal of Veterinary Medicine & Laboratory*, 16(1), 63-73
doi:10.22075/jvlr.2024.34153.1110



ارتباط غلظت آفلاتوکسین B₁ در اجزاء خوراک با آفلاتوکسین M₁ در شیر خام گاوداری‌های صنعتی شیری شهرستان جغتای (خراسان رضوی)

حسین رادمان^۱، علی مهدوی^{۱*}، اشکان جلی جوان^۱، مهنوش پارسائی مهر^۱.

خلاصه

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

در مطالعه حاضر به منظور بررسی آفلاتوکسین B و آفلاتوکسین M و تعیین ارتباط بین آن‌ها نمونه برداری از خوراک‌ها (کنسانتره، کنجاله سویا، سیلوی ذرت) و شیر در ۳ فصل زمستان، بهار و تابستان انجام شد. به منظور انجام این تحقیق نمونه‌های شیر خام از ۴ مرکز در شهرستان جغتای جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد و مقدار آفلاتوکسین M بر اساس دستورالعمل کیت ELISA اندازه‌گیری شد. همچنین از ۳ نوع خوراک (کنسانتره، کنجاله سویا، سیلوی ذرت) نمونه برداری شد. مقدار آفلاتوکسین B در نمونه‌های مورد بررسی بر اساس دستورالعمل کیت ELISA اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه ی GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند.

در این ارزیابی بیشترین میزان آلودگی آفلاتوکسین شیر بین سه فصل بررسی شده، مربوط به فصل تابستان با میانگین غلظت ۰/۰۳۹±۳/۰۰۰ نانوگرم در لیتر و کمترین میزان آلودگی آن مربوط به فصل زمستان با میانگین غلظت ۰/۰۱۳±۰/۰۰۳ 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 ۱۴/۴۹۷±۱۴/۶۶۶ میکروگرم در کیلوگرم و کمترین میزان آن در کنجاله سویا در فصل زمستان با میانگین غلظت ۳/۰۰±۰/۰۰ میکروگرم در کیلوگرم مشاهده شد. دامداران در فصل تابستان بیشتر از سیلوی ذرتی که نزدیک به یک سال گذشته استفاده می‌کنند پس میزان آفلاتوکسین که دام‌ها از چیره دریافت می‌کنند در فصل تابستان بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M، میکوتوکسین، الایزا، آفلاتوکسین B، خوراک، شیر.

۱. دانشکده دامپزشکی - دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

*نویسنده مسئول: mahdavi@semnan.ac.ir

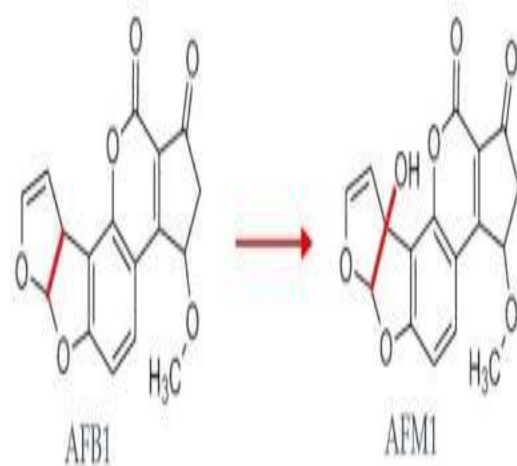
DOI: [10.22075/jvlr.2024.34153.1110](https://doi.org/10.22075/jvlr.2024.34153.1110)

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۳

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۸

مقدمه

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 (Rahimi et al., 2009). از میان مایکوتوکسین‌ها، آفاتوکسین‌ها به واسطه گستردگی فراوان در طیف وسیعی از غذاها و خاصیت بالقوه سرطان‌زایی در انسان، بیشترین توجه را به سوی خود جلب نموده‌اند (Sutton et al., 1998). آفاتوکسین‌ها 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 et al., 2007). 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 (الماسیان، ۱۳۸۶). آفاتوکسین‌ها انواع مختلفی دارند که شامل آفاتوکسین B_1 ، B_2 ، G_1 ، G_2 ، M_1 ، M_2 می‌باشند. آفاتوکسین M_1 یک ترکیب هیدروکسیل شده از آفاتوکسین B_1 می‌باشد که به عنوان فرآورده متابولیکی در شیر، ادرار و مدفوع حیوان ظاهر می‌گردد.



فرمول ساختاری آفاتوکسین 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

آفاتوکسین‌های M_1 و M_2 در شیر دفع می‌گردند. در واقع شکل‌گیری آفاتوکسین M_1 که متابولیتی از آفاتوکسین B_1 است در کبد صورت می‌گیرد و در غدد پستانی گاوهای شیری به درون شیر ترشح می‌شود آفاتوکسین M_1 اولین باقیمانده آفاتوکسین است که در بافت بدن گاوهای شیری مشاهده می‌شود (Rahimi et al., 2009).

دام‌هایی که از خوراک آلوده به آفاتوکسین B_1 تغذیه می‌کنند مشتق هیدروکسی آن، یعنی آفاتوکسین M_1 را در شیر دفع می‌کنند. آفاتوکسین B_1 می‌تواند به پروتئین‌ها مثل کازئین متصل شود، بنابراین می‌تواند در محصولات لبنی وجود داشته باشد (Martins et al., 2007). در مورد حداکثر مقدار مجاز آفاتوکسین B_1 و M_1 در کشورهای مختلف قوانین متنوعی وجود دارد اما میزان آفاتوکسین M_1 شیرخام در ایران ۵۰ نانوگرم در لیتر و حد مجاز آفاتوکسین B_1 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 (Fallah et al., 2016) مسیر متابولیک آفاتوکسین‌ها هنوز به درستی مشخص نشده است. بطور کلی متابولیسم ۷ مرحله‌ای آفاتوکسین‌ها پذیرفته شده است. در اولین مرحله، آفاتوکسین 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 آفاتوکسین‌ها است.

در مراحل بعدی متابولیک، آفاتوکسین‌ها به مواد شیمیایی دیگر تبدیل می‌شوند. برخی از این مواد شیمیایی در ادرار و خون قابل ردیابی هستند (Agag, 2004; Stroka & Petz, 2000).

ترکیب آفاتوکسین با DNA می‌تواند باعث ایجاد جهش در ژن سرکوب کننده 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

مواد و روش کار

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 سیوس، 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: $0/16 \pm 0/009$

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

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 ۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. لایه زیرین حاصل شده، با پیپت، داخل لوله شیشه‌ای تمیز ریخته شد و یک

می‌تواند باعث رشد غیرقابل کنترل سلول‌ها و ایجاد سرطان شوند. یکی از متابولیت‌ها آفلاتوکسین M₁ است که متابولیت اصلی یافت شده در شیر گاو می‌باشد. تقریباً یک تا سه درصد آفلاتوکسین B₁ بلع شده می‌تواند به عنوان آفلاتوکسین M₁ در شیر گاو ظاهر شود. آفلاتوکسین M₁ کمتر از آفلاتوکسین B₁ سمی است، با این وجود به علت مصرف بالا و اهمیت شیر در تغذیه انسان، بطور روتین اندازه‌گیری می‌شود (Agag, 2004; Stroka & Petz, 2000).

روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین‌ها در خوراک دام و مواد غذایی وجود دارد از جمله HPLC، ELISA و TLC. در این میان الیزا با توجه به امکانات موجود، دقیق، سریع و حساس بودن آن جهت اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین در خوراک دام کاربرد بیشتری می‌یابد (Sutton et al., 1998). نتایج مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که سطح آلودگی آفلاتوکسین B₁ در اقلام خوراک دام در نمونه‌های تابستان بطور قابل ملاحظه ای بیش از نمونه‌های زمستان بوده است (Rahimi et al., 2009). الزوپیر و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که بیشترین آلودگی در تابستان و کمترین آلودگی در زمستان رخ داده بود. بیشترین آلودگی مربوط به AFB₁ و بدنبال آن به ترتیب مربوط به AFG₁، AFB₂ و AFG₂ بود (Elzupir, et al., 2009). ارسالی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در ۴۳/۳۶ درصد از نمونه‌های خوراک دام میزان آلودگی از حد مجاز آفلاتوکسین B₁ 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 الیزا انجام گرفت.

میلی لیتر 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 چاه‌های کیت الایزا استفاده گردید. برای تعیین میزان آلودگی نمونه‌ها به آفلاتوکسین B₁ از کیت الایزای مربوطه، استفاده شد. پلیت موجود در کیت دارای ۹۶ خانه یا چاهک بود (۱۲×۸) که براساس مطالعات گذشته و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت Bio-Shield (شرکت Europroxima) میزان آفلاتوکسین B₁ نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در خاتمه میزان جذب نوری (OD) نمونه‌ها با قرائت‌کننده مخصوص الایزا در طول موج ۴۵۰nm قرائت گردید (Savari et al., 2013).

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 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 آفلاتوکسین MI (AFM₁) بر اساس دستورالعمل کیت Bio-Shield شرکت Prognosis Biotech کشور یونان 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 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 کونزوگه 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 متوقف‌کننده 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.

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 میانگین غلظت ۹/۷۵۰ میکروگرم در کیلوگرم در گروه دیگر قرار گرفت.

جدول ۱- 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 ± میانگین		
P = ۰/۰۰۶	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱۱ ^a ± ۰/۰۰۱	دی	شیر ^۱
	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱۳ ^a ± ۰/۰۰۲	بهمن	
	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱۷ ^b ± ۰/۰۰۲	اسفند	
P < ۰/۰۰۱	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰ ^a ± ۰/۰۰	دی	کنسانتره ^۲
	۳/۵۰	۳/۰۰	۳/۲۵۰ ^a ± ۰/۲۸۸	بهمن	
	۴/۰۰	۴/۰۰	۴/۰۰ ^b ± ۰/۰۰	اسفند	
P > ۰/۰۵	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰ ± ۰/۰۰	دی	کنجاله سویا ^۲
	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰ ± ۰/۰۰	بهمن	
	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰ ± ۰/۰۰	اسفند	
P < ۰/۰۰۱	۷/۰۰	۷/۰۰	۷/۰۰ ^a ± ۰/۰۰	دی	سیلو ^۲
	۸/۰۰	۷/۵۰	۷/۸۷۰ ^a ± ۰/۲۵۰	بهمن	
	۱۱/۰۰	۹/۰۰	۹/۷۵۰ ^b ± ۰/۹۵۷	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 خصوص آفلاتوکسین کنسانتره و کنجاله سویا بین ماه‌های موجود در سیلاژ ذرت و شیر بین ماه‌های مختلف فصل بهار اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت (P=۰/۲۷۴).

در (P=۰/۰۳۲) نشان داد.

جدول 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 ± میانگین		
۰/۰۳۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲۳ ^a ± ۰/۰۰۲	فروردین	شیر ^۱
	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲۴ ^b ± ۰/۰۰۵	اردیبهشت	
	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲۳ ^b ± ۰/۰۰۵	خرداد	
۰/۲۷۴	۴/۰۰	۴/۰۰	۴/۰۰ ^a ± ۰/۰۰	فروردین	کنسانتره ^۲
	۴/۰۰	۴/۰۰	۰/۰۵۰ ^a ± ۰/۰۵۷	اردیبهشت	
	۴/۱۰	۴/۰۰	۰/۰۵۰ ^a ± ۰/۰۵۷	خرداد	
۰/۱۱۵	۳/۱۰	۳/۰۰	۰/۰۲۵ ^a ± ۰/۰۵۰	فروردین	کنجاله سویا ^۲
	۳/۲۰	۳/۰۰	۰/۱۵۰ ^a ± ۰/۱۰۰	اردیبهشت	
	۳/۲۰	۳/۰۰	۰/۱۵۰ ^a ± ۰/۱۰۰	خرداد	
P < ۰/۰۰۱	۱۰/۵۰	۱۰/۰۰	۰/۱۲۵ ^a ± ۰/۲۵۰	فروردین	سیلو ^۲
	۱۱/۵۰	۱۱/۰۰	۰/۱۲۵ ^b ± ۰/۲۵۰	اردیبهشت	
	۱۱/۵۰	۱۱/۰۰	۰/۱۲۵ ^b ± 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 معنی-داری دارد ($P=0/102$). در خصوص آفلاتوکسین کنجاله سویا نیز بین ماه‌های مختلف فصل تابستان اختلاف آماری 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 ^۱
	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 ^۲
	4/3	3/9	4/12 ^a \pm 0/1	مرداد	
	4/00	4/00	4/00 ^a \pm 0/00	شهریور	
0/012	5/00	5/00	5/00 ^a \pm 0/00	تیر	کنجاله سویا ^۲
	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 ^۲
	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 سیلو ذرت

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 0/468	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 0/990	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 ۳-۳/۶ درصد آفلاتوکسین B_1 دریافتی از غذای آلوده توسط حیوانات به آفلاتوکسین M_1 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 M_1 در شیر نسبتاً سریع است به طوری که آفلاتوکسین M_1 ، ۱۲-۲۴ ساعت بعد از مصرف اولین جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین B_1 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 M_1 در شیرهای بسیاری از نقاط کشور گواه این موضوع است. مصری‌پور و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه ای که توسط Buzas و همکاران در سال ۲۰۲۳ در کشور مجارستان انجام شد در این پژوهش میزان آفلاتوکسین M_1 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 نمونه های شیر جمع اوری 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 (Buzás et al., 2023).

در اصفهان از ۹۷ نمونه مورد مطالعه ۱۹ نمونه (۵۸/۱۹ درصد) را آلوده به آفلاتوکسین B_1 گزارش کردند و بیشترین آلودگی را میان ۹۷ نمونه ذرت، گندم، جو، سیوس 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. الزوپیر 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 B_1 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 M_1 در شیر خام جمع اوری 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 et al., 2020). از دلایل غیر همسو بودن این مطالعه با تحقیق انجام شده می‌توان به روش های 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 B_1 در خوراک دام که ۲۰ ppb 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 B_1 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 B_1 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 نگاه 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 مایکوتوکسین‌ها در ذرات ریز و دانه‌های شکسته یا آسیب دیده حداکثر است. پس تمیز کردن می‌تواند به کاهش غلظت مایکوتوکسین‌ها کمک کند. انبارها باید مواد خوراکی را از باران و سایر منابع آبی حفظ کند. تهویه انبار غلات برای خشک نگاه 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 الایزا میزان آلودگی آفلاتوکسین M 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. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در تمام نمونه‌های شیر مورد بررسی غلظت آفلاتوکسین M₁ کمتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر بوده است. در توافق با نتایج این مطالعه،

کامکار و همکاران (۲۰۱۴)، نیز با بررسی غلظت AFM1 در ۱۲۰ نمونه شیر خام گاو و گاو میش (در استان خوزستان - شهر شوش) گزارش کردند که در تمام نمونه ها غلظت AFM1 کمتر از استاندارد ملی ایران و حد مجاز FDA (۵۰۰ نانوگرم در لیتر) بود (Kamkar et al., 2014).

در شهر سراب استان آذربایجان غربی در سال ۱۳۸۴ بر روی ۱۱۱ نمونه شیر خام با روش TCL آفلاتوکسین M₁ اندازه گیری شد. در ۷۶ درصد آنها وجود آفلاتوکسین تایید شد و ۴۰ درصد نمونه ها 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 می باشد و این احتمالاً به دلیل انباری بودن غذای دام در این دو فصل می باشد 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 می باشد (Kamkar, 2005). 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 نشان دهنده آلوده بودن جیره دامها به آفلاتوکسین B در فصل تابستان نسبت به دو فصل دیگر می باشد. دامداران در فصل تابستان بیشتر از سیلوی ذرتی استفاده می کنند که نزدیک به یک سال از برداشت آن میگذرد پس میزان آفلاتوکسین که دامها از جیره دریافت می کنند در فصل تابستان بیشتر است. از آنجایی که احتمالاً انبارها از نظر دما و رطوبت به خوبی کنترل نشده اند محیط مناسب برای رشد قارچهای مولد آفلاتوکسین B و در نتیجه پدیدار شدن آفلاتوکسین M₁ در شیر فراهم می شود. تولید آفلاتوکسین توسط قارچهای *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تحت تاثیر دما و رطوبت می باشد. به طوری که رطوبت بالای اتمسفر و رطوبت بالای نمونه به سرعت دمای نمونه را افزایش داده و شرایط برای تولید آفلاتوکسین B فراهم می شود.

علاوه بر این در محیط با رطوبت کمتر و دمای پایین تر نیز رطوبت نمونه با سرعت کمتری تبخیر شده و شرایط مطلوب دما و رطوبت برای تولید آفلاتوکسین B فراهم می شود.

نتیجه گیری کلی

غلظت آفلاتوکسین M₁ در شیر تحت تاثیر غلظت آفلاتوکسین B₁ در کنسانتره، به خصوص در تابستان، می باشد. به نظر می رسد عوامل دیگری علاوه بر غلظت آفلاتوکسین B₁ در خوراک، در میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر نقش داشته باشند، مانند:

- میزان مصرف خوراک: در این مطالعه به میزان مصرف خوراک توسط گاوها پرداخته نشده است.
- میزان متابولیسم آفلاتوکسین B₁ توسط گاو: گاوهای مختلف ممکن است توانایی متابولیسم آفلاتوکسین B₁ به آفلاتوکسین M₁ را با نرخهای متفاوتی داشته باشند.

برای کنترل میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر، لازم است به طور مداوم غلظت آفلاتوکسین B₁ در تمام اجزاء خوراک، به خصوص کنسانتره، در تمام فصول نظارت شود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می نمایند که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافی ندارند.

References

- Agag, B. (2004). Mycotoxins in foods and feeds: 1-aflatoxins. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res*, 7(1), 173-205 .
- Buzás, H., Szabó-Sárvári, L. C., Szabó, K., Nagy-Kovács, K., Bukovics, S., Süle, J., Szafner, G., Hucker, A., Kocsis, R., & Kovács, A. J. (2023). Aflatoxin M1 detection in raw milk and drinking milk in Hungary by ELISA– A one-year survey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 121, 105368 .
- Elzupir, A. O., Makawi, S., & Elhussein, A. M. (2009). Determination of Aflatoxins and Ochratoxin a in Dairy Cattle Feed and. *J. Anim. Vet. Adv*, 8, 2508-2511 .
- Elzupir, A. O., Younis, Y. M., Fadul, M. H., & Elhussein, A. M. (2009). Determination of aflatoxins in animal feed in Khartoum State, Sudan .
- Ersali, A., BAHA, A. B. F., & GHASEMI, R. (2009). Transmission of aflatoxins from animal feeds to raw and pasteurized milk in shiraz city and its suburbs .
- Fallah, A. A., Fazlollahi, R., & Emami, A. (2016). Seasonal study of aatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*, 68, 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.018>
- Kamkar, A. (2005). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food control*, 16(7), 593-599 .
- Kamkar, A., Yazdankhah, S., Nafchi, A. M., & Mozaffari Nejad, A. S. (2014). Aflatoxin M1 in raw cow and buffalo milk in Shush city of Iran. *Food Additives & Contaminants: Part B, Surveillance*, 7(1), 21-24. <https://doi.org/10.1080/19393210.2013.830277>
- Martins, H. M., Guerra, M. M. M., & Bernardo, F. (2007). Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal. *Rev Iberoam Micol*, 24, 69-71 .
- Messripour, M., & GHEISARI, M. M. (2010). Occurrence of aflatoxin B in some feedstuffs in Isfahan.
- Mohammedi-Ameur, S., Dahmane, M., Brera, C., Kardjadj, M., & Ben-Mahdi, M. H. (2020). Occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in raw cow milk collected from different regions of Algeria. *Veterinary world*, 13(3), 433–439. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.433-439>
- Rahimi, E., Kargar, A., & Zamani, F. (2008). Assessment of aflatoxin B1 levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal & Bakhtiari .
- Rahimi, E., Shakerian, A., Jafariyan, M., Ebrahimi, M., & Riahi, M. (2009). Occurrence of aflatoxin M1 in raw, pasteurized and UHT milk commercialized in Esfahan and Shahr-e Kord, Iran. *Food Security*, 1(3), 317-320 .
- 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 absorption ability. *Iranian Journal of Animal Science*, 44(1), 105-112.
- Stroka, J., & Petz, M. (2000). Determination of aflatoxins in food and feed with simple and optimised methods. In: Dissertation, Wuppertal, Bergische Universität-Gesamthochschule.
- Sutton, D. A., Fothergill, A. W., & Rinaldi, M. G. (1998). *Guide to clinically significant fungi* .