مطالعه اثر سیستم لاکتوپراکسیداز و لاکتوپراکسیداز همراه ریبوفلاوین برروی آفلاتوکسین M_1 در شیر

دکتر گیتی کریم[1] دکتر ابوالفضل کامکار[1]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۵، شماره ۴، ۷-۵، (۱۳۷۹)

در این بررسی، نمونه‌های شیرخشک پس از بازسازی با آب به میزان دو ppb با آفلاتوکسین M_1 آلوده شده و اثر سیستم لاکتوپراکسیداز (شامل آنزیم لاکتوپراکسیداز در دو غلظت ۱۰ و ۳۰ ppm + تیوسیانات ۰/۲۵ میلی‌مول + هیدروژن پراکساید ۰/۲۵ میلی‌مول) و سیستم لاکتوپراکسیداز همراه ریبوفلاوین (۰/۲۵ میلی‌مول) بر کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 مطالعه گردید. در آزمونهای شماره ۱، ۲ و ۳ تمامی گروههای تیمار (شامل ۴ گروه ۱۵ تایی) و شاهد (شامل یک گروه ۱۵ تایی) به‌ترتیب در شرایط ۴ درجه سانتیگراد ۱۲ ساعت (گروه اول)، ۴ درجه سانتیگراد به‌مدت ۲۴ ساعت (گروه دوم) و ۶۵ درجه سانتیگراد به‌مدت ۳۰ دقیقه (گروه سوم) نگهداری شده و سپس میزان آفلاتوکسین M_1 موجود در آنها با استفاده از روش TLC-Scanner تعیین گردید. براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین میزان کاهش سم در گروههای شاهد آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۲/۸۴، ۲/۷۸ و ۳/۱۴ درصد بود. میزان کاهش سم به‌وسیله سیستم لاکتوپراکسیداز (غلظت ۱۰ppm) در آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۵۱/۸، ۵۴/۰۲ و ۵۷/۸ درصد بود. زمانی که غلظت آنزیم به سه برابر افزایش پیدا نمود (غلظت ۳۰ppm)، میانگین درصد کاهش سم در آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب به ۵۳/۷، ۵۷/۵ و ۶۷/۵ رسید. سیستم لاکتوپراکسیداز به‌علاوه ریبوفلاوین (LPS10+RIBO) کاهش بیشتری در مقدار سم در مقایسه با سایر روشها داشته به گونه‌ای که میانگین میزان کاهش سم توسط این سیستم ۹۱/۶۰۰، ۹۳/۷۶۰ و ۹۴/۴۶۰ درصد بود. زمانی‌که غلظت آنزیم لاکتوپراکسیداز به سه برابر افزایش پیدا نمود (LPS30+RIBO) میانگین درصد کاهش آفلاتوکسین M_1 در آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب به ۹۴/۴، ۹۴/۲ و ۹۸/۳ رسید. به‌طور کلی، میزان آفلاتوکسین M_1 شیر به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) به‌وسیله سیستم لاکتوپراکسیداز و سیستم لاکتوپراکسیداز به‌علاوه ریبوفلاوین کاهش پیدا می‌کند.

واژه‌های کلیدی : آفلاتوکسین M_1، لاکتوپراکسیداز، ریبوفلاوین، شیر.

با توجه به این که شیر و فرآورده‌های آن می‌توانند از دو طریق مستقیم و غیرمستقیم به آفلاتوکسینها آلوده شوند، لذا سلامتی مصرف‌کنندگان را به‌صورت جدی در معرض خطر قرار می‌دهد (۲۲، ۲۱، ۲۰، ۱۸، ۱۳، ۴). محققین در کشورهای مختلف تلاشهای گسترده‌ای را در جهت حذف و یا پایین‌آوردن میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر و فرآورده‌های آن مبذول نموده‌اند. این تلاشها عمدتاً به دوگروه تقسیم‌بندی می‌شوند. در دسته اول سعی پژوهشگران این بوده است که با پیشگیری یا پایین‌آوردن میزان آلودگی جیره غذایی دامهای شیری به قارچهای مولد سم میزان آلودگی شیر را به آفلاتوکسین M_1 پایین بیاورند (۲۴). در دسته دوم نیز به کمک انواع روشهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی به مبارزه با این سم خطرناک و سرطانزا در شیر رفته و سعی نموده‌اند که آن را از شیر حذف کرده یا سطح آن را در این ماده غذایی پایین آورند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که واکنش آفلاتوکسین M_1 در مقابل عوامل فوق‌الذکر متفاوت است به‌گونه‌ای که تاکنون روش مؤثر وکاملی در مورد آفلاتوکسین‌زدایی شیر ارایه نگردیده است (۲۳، ۱۹، ۱۷، ۱۵، ۱۴، ۱۲، ۹، ۸، ۶، ۵).

از آنجایی که استفاده از مواردی نظیر هیدروژن پراکساید برای نگهداری برخی از مواد غذایی مجاز شناخته شده است (۷) لذا استفاده از این ماده در شرایط متفاوت زمان و غلظتهای مختلف نتایج نسبتاً خوبی در رابطه با کاهش آفلاتوکسینها در کنجاله بادام زمینی و شیر داشته است (۲۶، ۲۵، ۲۴، ۲۰). ضمن اینکه استفاده از هیدروژن پراکساید به همراه سایر افزودنیها نتایج رضایتبخش‌تری داشته است. در مطالعات دیگر معلوم شده است که اثر کاهش‌دهنده سم هیدروژن پراکساید به تنهایی رضایتبخش نبوده و بهترین نتیجه زمانی به‌دست می‌آید که از این ماده به همراه حرارت (حرارت پاستوریزاسیون کند و تند) استفاده شود (۶).

با توجه به مطالب ذکرشده ما در این مطالعه از سیستم لاکتوپراکسیداز (با دو غلظت متفاوت آنزیم) و سیستم لاکتوپراکسیداز به‌علاوه ریبوفلاوین جهت کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر استفاده نموده و اثر کاهشی این دو سیستم را روی میزان آفلاتوکسین M_1 بررسی کردیم. شایان ذکر است که غلظتهای مورد استفاده آنزیم لاکتوپراکسیداز در حد مقدار طبیعی آن در شیر خام بود.

مواد و روش کار

در این مطالعه نمونه‌های شیر خشک اطفال (به‌دلیل نداشتن آلودگی به آفلاتوکسین M_1) پس از بازسازی، با آفلاتوکسین M_1 به میزان ۲ppb به‌صورت دستی آلوده شده و اثر سیستم لاکتوپراکسیداز، سیستم لاکتوپراکسیداز به‌علاوه ریبوفلاوین در روی آفلاتوکسین M_1 مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار : مقدار ۵گرم شیر خشک مخصوص اطفال را با تقریب ۰/۱ گرم در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتر توزین گردید و مقدار ۵۰ میلی‌لیتر آب با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد کم‌کم به آن اضافه شد (به‌طوری که ماده خشک شیر بازسازی‌شده معادل ماده خشک شیر مایع باشد) و مخلوط تا زمان به‌دست آمدن یک محلول همگن با یک میله شیشه‌ای به هم زده شد. سپس شیر بازسازی‌شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت و با آفلاتوکسین M_1 به میزان ۲ppb به‌صورت دستی آلوده و برای مدت ۳ دقیقه خوب به هم زده شد. لازم به ذکر است که این تحقیق روی ۷۵ نمونه شیر بازسازی‌شده و به‌صورت سه آزمون که هر آزمون شامل چهار گروه تیمار و یک گروه شاهد بود انجام گرفت که در ذیل به آنها اشاره می‌گردد :

در آزمون شماره یک مجموعاً تعداد ۲۵ نمونه مورد آزمایش قرار گرفتند. این مجموعه به پنج گروه تقسیم شد که در هر گروه ۵ نمونه ده میلی‌لیتری شیر مورد آزمایش قرار گرفت. تمامی نمونه‌های این آزمون در شرایط ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت نگهداری شده و سپس آزمون بازیافت نمونه‌ها از نظر میزان کاهش آفلاتوکسین M_1 صورت می‌گرفت، گروههای پنجگانه به‌ترتیب شامل این موارد بود : گروه اول : در این گروه به ازای هر نمونه (۱۰ml شیر) ده واحد آنزیم لاکتوپراکسیداز + ۰/۲۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن + ۰/۲۵ میلی‌مول تیوسیانات سدیم اضافه گردیده و بخوبی مخلوط می‌شد. گروه دوم : در این گروه به ازای هر نمونه (۱۰ml شیر) ۳۰ واحد آنزیم لاکتوپراکسیداز + ۰/۲۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن + ۰/۲۵ میلی‌مول تیوسیانات سدیم اضافه گردیده و بخوبی مخلوط می‌شد. گروه سوم : در این گروه به ازای هر نمونه (۱۰ml شیر) علاوه‌بر موارد اشاره‌شده در گروه یک ریبوفلاوین به میزان ۰/۲۵ میلی‌مول اضافه گردیده و مخلوط می‌شد. گروه چهارم : در این گروه به ازای هر نمونه (۱۰ml شیر) علاوه‌بر موارد اشاره‌شده در گروه دو ریبوفلاوین به میزان ۰/۲۵ میلی‌مول اضافه گردیده و مخلوط می‌شد. گروه پنجم : این گروه به‌عنوان گروه شاهد محسوب گردید و هیچ نوع ماده‌ای به آن اضافه نمی‌شد.

آزمونهای دوم و سوم از نظر تعداد کلی نمونه و تعداد گروهها و تعداد نمونه‌ها در هر گروهی دقیقاً مشابه آزمون اول بوده با این تفاوت که در آزمون دوم نمونه‌ها پس از آماده‌شدن، در شرایط ۴ درجه سانتیگراد و به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شده و سپس میزان آفلاتوکسین M_1 باقیمانده اندازه‌گیری می‌شد در حالی‌که در آزمون سوم نمونه‌ها پس از آماده‌شدن در شرایط ۶۵ درجه سانتیگراد به‌مدت

۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳۰ دقیقه نگهداری می‌گردید (پاستوریزاسیون کند) و سپس نمونه‌ها از نظر میزان کاهش AFM_1 آزمایش می‌شدند.

جهت بررسی و تعیین میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های مورد بررسی مطابق روش فدراسیون بین‌المللی شیر International Dairy Federation (IDF) (۱۶)، عمل عصاره‌گیری با استفاده از کلروفرم، تصفیه عصاره با استفاده از کروماتوگرافی ستونی، جداسازی به روش کروماتوگرافی لایه نازک و تعیین مقدار به روش TLC-Scanner صورت گرفت. دقت این روش جهت اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین M_1 روی صفحات کروماتوگرافی برابر با 5×10^{-4} نانوگرم است.

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات به‌دست آمده از روشهای آماری نظیر T-test و آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد.

نتایج

براساس اطلاعات موجود می‌توان برآورد فاصله‌ای (μ) و کاهش سم آفلاتوکسین M_1 را به‌وسیله LPS10، LPS30، LPS10+RIBO و LPS30+RIBO در هر یک از آزمونهای شماره یک (۴ درجه سانتیگراد، ۱۲ ساعت) شماره دو (۴ درجه سانتیگراد، ۲۴ ساعت) و شماره سه (۶۵ درجه سانتیگراد، ۳۰ دقیقه) محاسبه نمود. برآورد فاصله‌های (μ) کاهش سم آفلاتوکسین M_1 در گروههای اول (LPS10) آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۵۲/۵۵<μ<۵۱/۰۴، ۵۵/۰۰<μ<۵۳/۰۳ و ۵۸/۸۸<μ<۵۶/۷۵ درصد، می‌باشد و در گروههای دوم (LPS30) آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۵۴/۷۰<μ<۵۲/۶۵، ۵۸/۵۷<μ<۵۶/۳۴ و ۶۹/۰۲<μ<۶۵/۸۹ درصد، در گروههای سوم (LPS10+RIBO) آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۹۲/۳۵<μ<۹۰/۸۴، ۹۵/۲۸<μ<۹۲/۲۲ و ۹۵/۴۳<μ<۹۳/۴۸ درصد و در گروههای چهارم (LPS30+RIBO) آزمونهای شماره یک، دو و سه به‌ترتیب ۹۵/۵۴<μ<۹۳/۲۹، ۹۵/۴۶<μ<۹۳/۰۱ و ۹۹/۶۲<μ<۹۷/۰۱ درصد می‌باشد.

بنابراین در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت که درصد کاهش سم به‌وسیله LPS10 در شرایط ۴ درجه سانتیگراد با زمان نگهداری ۱۲ ساعت، و در همین دما با زمان نگهداری ۲۴ ساعت و ۶۵ درجه سانتیگراد با زمان نگهداری ۳۰ دقیقه به‌ترتیب بین ۵۱/۰۴، ۵۲/۵۵، ۵۳/۰۳، ۵۵/۰۰، ۵۶/۷۵ و ۵۸/۸۸ است. در موقع استفاده از سیستم لاکتوپراکسیداز با غلظت بالاتر (LPS30) و در همان شرایط به‌ترتیب بین ۵۲/۶۵، ۵۴/۷۰، ۵۸/۵۷، ۶۵/۸۹ و ۶۹/۰۲ درصد مشاهده شد و به‌وسیله LPS10+RIBO با همان شرایط به‌ترتیب بین ۹۰/۸۴، ۹۲/۳۵، ۹۲/۲۲، ۹۵/۲۹، ۹۳/۴۸ و ۹۵/۲۹ درصد بود و به‌وسیله LPS30+RIBO نیز با همان شرایط به‌ترتیب بین ۹۳/۲۹، ۹۵/۵۴، ۹۳/۰۱، ۹۵/۴۶، ۹۹/۶۲ و ۹۷/۰۱ درصد قرار دارد.

در آزمون t برای برابری میانگینهای کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 به‌وسیله هر یک از گروههای آزمایش با گروه شاهد و خود گروههای آزمایش در ۳ آزمون مختلف چون سطح معنی‌داری آزمون کوچکتر از میزان خطاست لذا فرضیه برابری میانگین کاهش AFM_1 توسط هر یک از روشهای تیمار در ۳ آزمون مختلف رد می‌شود.

توضیح اینکه با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان اظهار نمود که کمترین میانگین کاهش سم در یکی از گروههای آزمایشی با بقیه تفاوت معنی‌دار دارد. به‌همین دلیل جهت تعیین رتبه گروههایی که سبب رد فرضیه H شده‌اند از آزمون HSD استفاده شده است که براساس این آزمون ماتریس مقایسه گروهها تشکیل می‌گردد.

بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می‌توان میزان درصد کاهش AFM_1 به‌وسیله هر یک از گروههای آزمایش در سه آزمون مختلف را به‌ترتیب زیر اولویت‌بندی نمود: رتبه اول: گروه چهارم LPS30+RIBO، رتبه دوم: گروه سوم LPS10+RIBO، رتبه سوم: گروه دوم و اول LPS30 و LPS10.

بحث

براساس نتایج به‌دست آمده از مطالعات انجام‌گرفته در تهران بزرگ معلوم گردید که درصد نسبتاً بالایی از شیرهای تولیدشده در کشور آلوده به آفلاتوکسین M_1 بوده که در بعضی از موارد حد آلودگی آنها بالاتر از حد استاندارد موجود و مورد عمل در کشورهای اتحادیه اروپا (۵۰ppb-۱۰) می‌باشد (۳، ۲، ۱).

در این مطالعه به‌منظور کاهش‌دادن میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر از روشهای شیمیایی در شرایط مختلف نگهداری شیر استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در زمان استفاده از سیستم لاکتوپراکسیداز (LPS10) در شرایط نگهداری ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت، ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت و ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه میانگین کاهش سم به‌ترتیب ۵۱/۸۰۰، ۵۴/۰۲ و ۵۷/۸۲۰ درصد بود در حالی‌که زمانی که میزان آنزیم به سه برابر افزایش پیدا نمود (LPS30) میانگین کاهش سم افزایش پیدا نموده و به‌ترتیب به ۵۳/۶۸۰، ۵۷/۴۶۰ و ۶۷/۴۶۰ درصد رسید. از طرف دیگر اثر کاهشی سیستم لاکتوپراکسیداز به همراه ریبوفلاوین در کاهش‌دادن میزان آفلاتوکسین M_1 به مراتب بیشتر از سیستم لاکتوپراکسیداز به تنهایی بود به گونه‌ای که میانگین کاهش سم در زمان استفاده از سیستم لاکتوپراکسیداز (LPS10) به‌علاوه ریبوفلاوین (۰/۲۵mm) در شرایط ۴ درجه سانتیگراد و زمان ۱۲ ساعت، ۴ درجه سانتیگراد و زمان ۲۴ ساعت و بالاخره ۶۵ درجه سانتیگراد زمان ۳۰ دقیقه به‌ترتیب ۹۱/۶۰۰، ۹۳/۷۶۰ و ۹۴/۴۶۰ درصد بوده است، وقتی میزان آنزیم به سه برابر افزایش پیدا نمود (LPS30) در شرایط فوق‌الذکر و در حضور ریبوفلاوین میانگین کاهش سم به‌ترتیب به ۹۴/۴۲۰، ۹۴/۲۴۰ و ۹۸/۲۸۰ درصد رسید.

براساس اطلاعات موجود اولاً سیستم لاکتوپراکسیداز توانست میزان آفلاتوکسین M_1 را در شیر تا حدود قابل توجهی کاهش دهد، ثانیاً این قدرت زمانی به حداکثر خود رسید که میزان آنزیم به سه برابر افزایش پیدا نمود و توأم با درجه حرارت پاستوریزاسیون کند بود. اما زمانی که سیستم فوق‌الذکر به همراه ریبوفلاوین استفاده گردید، قدرت کاهش‌دادن آفلاتوکسین M_1 آن به مراتب بالاتر رفته به گونه‌ای که تا حدود ۱۰۰ درصد آفلاتوکسین M_1 را توانست کاهش دهد.

نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققین نیز به اثر کاهش مؤثر عوامل اکسیدکننده نظیر پراکسید هیدروژن در کاهش‌دادن میزان آفلاتوکسین M_1 اشاره دارد (۱۱ و ۱۰) ضمن اینکه گزارشات بیانگر این واقعیت است که این تأثیر در زمان استفاده از هیدروژن پراکساید به همراه سایر افزودنیها نظیر ریبوفلاوین و لاکتوپراکسیداز به مراتب بیشتر می‌شود. گزارشات محدودی نیز وجود دارد که استفاده از عوامل اکسیدکننده (نظیر پراکسید هیدروژن) به همراه حرارت (پاستوریزاسیون کند و تند) تأثیر بیشتری در مقایسه با زمانی داشته است که از هیدروژن پراکساید بدون حرارت‌دادن استفاده شده است.

با توجه به مطالب فوق‌الذکر و با عنایت به اینکه سیستم لاکتوپراکسیداز را می‌توان در شیر تنها با اضافه‌نمودن میزان مختصری هیدروژن پراکساید و تیوسیانات فعال نمود و امروزه در بعضی از کشورها به‌منظور کاهش بار میکروبی و افزایش طول عمر نگهداری شیر خام از آن استفاده می‌گردد علاوه‌بر آن می‌توان از این سیستم به‌عنوان یک عامل مهم در جهت کاهش‌دادن میزان آفلاتوکسین M_1 شیر قبل از پاستوریزاسیون آن استفاده نمود.

منابع

۱. پروانه، و.، شاهین، م.، کریم، گ. و کردی، ج. بررسی آلودگی پنیر سفید به آفلاتوکسین. مجله بهداشت ایران (۱۰)، ۴-۱، (۱۳۶۰).

۲. خراسانی، ا. بررسی میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه تهران با استفاده از روش الایزا. پایان‌نامه دکترای دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۹۹-۸۸.

۳. کریم، گ.، پروانه، و. و کردی، ج. بررسی آلودگی شیر خام به آفلاتوکسینها در منطقه تهران. مجله بهداشت ایران (۱۰)، ۴-۱، (۱۳۶۰).

4. Afzal, M., Cheems, R.A. and Chaudhary, R.A. Incidence of aflatoxins and aflatoxin producing fungi in animal feed stuffs. Mycopathologia 69: 144-151, (1979).

5. Allcroft, R. and Carnaghan, R.B.A. Groundnut toxicity: An

examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. Vet. Rec. 75: 259-263, (1963).

6. Aman, I.M. Stability of aflatoxin M_1 in milk Samples. J. chem. mikrobiol. technol. lebensm., Vol. 17, No. 5-6, pp: 161-163, (1995).

7. Anonymous Aflatoxin and other mycotoxins: An agricultural perspective. Council for Agricultural Science and technology, Report No. 80, Ames, IA. USA, (1979).

8. Applebaum, R.S. and Marth, E.H. Use of sulfite on bentonite to eliminate aflatoxin M_1 from naturally contaminated raw whole milk Z. Lebensm. Unters. Forsch, 174, 303-5, (1982).

9. Applebaum, R.S. and Marth, E.H. Inactivation of aflatoxin M_1 in milk using hydrogen peroxide and hydrogen peroxide plus riboflavin or lactoperoxidase. J. Food Prot., 45, 557-60, (1982).

10. Applebaum, R.S., Brachett, R.E., Wiseman, D.W. and Marth, E.H. Aflatoxins: Toxicity to dairy Cattle and Occurrence in milk and milk products. J. Food Prot. 45: 752-777, (1982).

11. Applebaum, R.S. and Marth, E.H. Biogenesis of the C_{20}-Polyketide, aflatoxin. Mycopathologia 76: 103-114, (1981).

12. bagni, A., Castagnetti, G.B., Chiavari, C., Ferri, G., Losi, G. and Montanari, G. Indagine sulla presenza delle aflatoxin M_1 ed M_2 nel latte bovine proveniente da allevamenti della provincia di Reggio Emilia. Ind. Latte 4: 55-66, (1993).

13. Barbieri, G., Bergamini, C., Ori, E. and Resca, P. Aflatoxin M_1 in parameason cheese: HPLC determination. J. of Food. Science, 59(6), 1313-1331, (1994).

14. Doyle, M.P. and Marth, E.H. Bisulfite degrades aflatoxin: Effect of temperature and concentration of bisulfite. J. Food Prot., 41, 774-80, (1978).

15. El Deeb, S.A., Zaki, N., Shoukry, Y.M.R. and Kheadr, E.E. Effect of some technological processes on stability and distribution of aflatoxin M_1 in milk. Egypt. J. Food Sci. (Suppl), 20: 29-42, (1992).

16. International Dairy Federation (IDF) Milk and dried milk. Determination of aflatoxin M_1 content. International IDF standard: 111 A: 1991. IDF, Saure vergote 41, B-1040, (1991).

17. Maryamma, K.L., Rajan, A., Gangadharan, B., Ismail, P.K., Valsala, K.V. and Manomohan, C.B. Reductiion of aflatoxin in milk by fermentation into curd, J. Vet. Anim. Sci. 21: 102-107, (1990).

18. Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W. and Goulden, M.L. Incidence of aflatoxin in southern corncereal. Sci. Today, 18: 192-195, (1973)

19. Shoukry, Y.M.R., Zaki, N., Kheadr, E.L. and Deeb, S.A. Effect of some amino acids on the growth rate and aflatoxin production by aspergilli: Egyptian Journal of Dairy Science, 20 (1), 101-110, (1992).

20. Stuart Jones, M.G. and Ewart, J.M. Effects of milk roduction associated with consumption of decorticated extracted groundnut meal contaminated with aflatoxin. Vet. Rec. 105: 492-493, (1979).

21. Van Egmond, H.P. Significance of Mycotoxin in dairy production publ. by: Elsevir Lindon ISBN 1-85, 166-369-X, pp: 15, (1989).

22. Van Egmond, H.P. and Paulsch, W.E. Mycotoxins in milk and milk products. Neth. Milk dairy J. 40: 175-186, (1986).

23. Wiseman, D.W. and Marth, E.H. Behavior of aflatoxin M_1 in yogurt, butter milk & kefir. J. Food Prot. 46:115-118, (1983).

24. Yousef, A.F. and Marth, E.H. Fate of AFM_1 during processing of mycotoxin in dairy production. Publ. by: Elsevir London ISBN 1-85166-369-X, pp: 129-156, (1969).

A study on the effect of Lactoperoxidase system (LPS) and LPS plus riboflavin on the aflatoxin M_1 in milk

Karim, G.[1], Kamkar, A.[1]

[1]*Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.*

Considering the existance and amount of aflatoxin M_1 in bulk cow's milk in Tehran area, the reconstituted milk was contaminated with 2ppb aflatoxin M_1 and the effect of lactoperoxidase system " LPS " (Lactoperoxidase enzyme with two different concentration, 10 and 30ppm, thiocyanate 0.25Mm, hydrogen peroxide 0.25 Mm) and LPS plus riboflavin (0.25Mm) on degradation of aflatoxin M_1 level were studied. In this study, the level of LPS system was the same as its indigenous level in milk. The experimental samples (4 groups with 15 samples for each group) and control (One group with 15 samples) classified into three separate groups varied in temperature, and holding time. In trials 1, 2, 3 all of the control and experimental groups were incubated in 4°C for 12h, 4°C for 24h and 65°C for 30min respectively and finally afflatoxin M_1 level was measured by TLC-Scanner. Regarding to the results of this study, M_1 reduction in control groups 1, 2, 3 was 2.84%, 2.78% and 3.14% respectively. The mean rate of toxin reduction by lactoperoxidase system (LPS10) in trials 1, 2, 3 was 51.800, 54.020 and 57.0820% respectively. Whenever enzyme concentration was increased three times in the system, the rate of toxin reduction was slightly increased in away that rates of aflatoxin M_1 reduction in trials 1, 2, 3 was 52.680%, 57.460% and 67.460%. Lactoperoxidase system (LPS10) plus riboflavin had more effectiveness on the aflatoxin M_1 reduction in comparison with other substances, so that the rates of aflatoxin M_1 reduction by this system and riboflavin in trials 1, 2, 3 was 91.600%, 93. 760% and 94.460%. LPS 30 in which enzyme concentration was 3U/ml milk plus riboflavin caused reduction of aflatoxin M_1 in trials 1, 2, 3 in the rates of 94.420%, 94.240% and 98.320%. In general, level of aflatoxin M_1 is significantly ($P<0.05$) reduced by lactoperoxidase system and riboflavin.

Key words : Aflatoxin M_1, Lactoperoxidase, Riboflavin, Milk.