مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۳، دوره ۶۹، شماره ۳، ۲۹۰- ۲۸۳
Original Article
Journal of Veterinary Research. 69,3:283-290, 2014

مطالعه تجربی تأثیر روش‌های پخت بر پایداری باقیمانده تیل مایکوزین درگوشت مرغ

علی حشمتی [۱] جمیله سالار آملی [۲،۳*] ابوالفضل کامکار [۴] جلال حسن [۲،۳] غلامرضا جاهد [۵]

۱) گروه بیوشیمی و تغذیه دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان، همدان، ایران
۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران
۳) مرکز تحقیقات سم شناسی و مسمومیت‌های دامی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران
۴) گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران- ایران
۵) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران- ایران

(دریافت مقاله: ۱۲ خرداد ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۵ مرداد ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: باقیمانده آنتی بیوتیک‌ها در مواد غذایی نگرانی‌های متعددی از نظر سلامتی دارد. فرآیندهای بعد از کشتار و قبل از مصرف نظیر پخت می‌تواند بر مقدار باقیمانده تأثیر بگذارد. **هدف:** هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پروسه پخت آب پز و مایکروویو بر باقیمانده تیل مایکوزین است. **روش کار:** نمونه‌های گوشت مرغ حاوی مقادیر مختلف تیل مایکوزین با روش آب پز و مایکروویو پخته شدند. مقدار تیل مایکوزین بعد از پخت با روش HPLC اندازه‌گیری و مقدار درصد کاهش آن در نتیجه پخت محاسبه شد. تأثیر غلظت اولیه تیل مایکوزین و زمان پخت بر مقدار درصد کاهش آن بررسی شد. پس از پایان پخت دما نمونه‌ها اندازه گیری و مقدار کاهش وزن آنها محاسبه شد. **نتایج:** روش‌های پخت آب پز و مایکروویو منجر به کاهش معنی‌دار در مقدار تیل مایکوزین گوشت شدند. در روش آب پز، مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین با افزایش پخت بیشتر شد ولی نسبت عکس با غلظت اولیه تیل مایکوزین داشت. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین مقدار درصد کاهش و دمای پخت وجود داشت. ماکزیمم مقدار درصد کاهش باقیمانده تیل مایکوزین طی آب پز کردن گوشت ۶۹٪ بود. در روش مایکروویو مقدار کاهش تیل مایکوزین تحت تأثیر زمان و مقدار اولیه آن نبود. **نتیجه‌گیری نهایی:** به‌طور خلاصه، تیل مایکوزین طی پختن گوشت کاهش می‌یابد و در روش‌های مختلف پخت مقدار کاهش متفاوت است. با توجه به این مورد می‌توان گفت داده‌های حاصل از پایش تیل مایکوزین در مواد خام نظیر گوشت نمی‌تواند برای محاسبه دقیق مقدار دریافت روزانه این ترکیب در انسان هنگامی که محصول پخته را مصرف می‌نماید، مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آب پز، باقیمانده دارویی، گوشت، مایکروویو، تیل مایکوزین

مقدمه

تیل مایکوزین یکی از آنتی بیوتیک‌های گروه ماکرولیدی بوده که به مقدار زیاد در دامپروری‌ها و مرغداری‌ها استفاده می‌شود. این آنتی بیوتیک نیمه سنتزی بوده و از تایلوزین ساخته شده و دارای دو ایزومر سیس و ترانس به نسبت ۸۵ به ۱۵ می‌باشد و با اتصال به واحد 50S ریبوزوم باکتری‌ها مانع سنتز پروتئین و در نتیجه سبب توقف رشد آنها می‌گردد. تیل مایکوزین در صنایع مرغداری برای درمان و پیشگیری عفونت‌های تنفسی ناشی از مایکوپلاسما، پاستورلا و عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی که به تیل مایکوزین حساس هستند، استفاده می‌شود (۶). اگرچه با بکارگیری تیل مایکوزین یا سایر آنتی بیوتیک‌ها مزایایی نصیب تولیدکننده می‌گردد اما باقیمانده آنها در مواد غذایی برای مصرف کننده زیانبار است و مخاطراتی از جمله واکنش‌های آلرژیک، افزایش مقاومت میکروبی و تخریب فلور میکروبی مفید روده را به دنبال دارد (۲). به همین دلیل سازمان‌های نظارتی برای باقیمانده تیل مایکوزین و سایر داروها ماکزیمم حد مجاز (maximum residue limit) در محصولات دامی تعیین کرده‌اند. حد مجاز باقیمانده این آنتی بیوتیک در اتحادیه اروپا ۵۰ µg/kg در گوشت، چربی و شیر و ۱۰۰ µg/kg در کبد و کلیه است (۲۱). بدیهی است این محصولات به‌صورت خام مصرف نشده و قبل از مصرف پخته و یا در معرض سایر روش‌های فراوری قرار می‌گیرند. این تیمارها بویژه تیمارهای حرارتی می‌توانند مقدار باقیمانده‌ها را تحت تغییر قرار دهند. از آنجایی که حداکثر میزان مجاز باقیمانده (MRL) که برای تیل مایکوزین یا سایر داروها تعیین شده در ارتباط با مقادیر باقیمانده در مواد خام و عمل‌آوری نشده می‌باشد لذا تعیین تأثیر تیمارهای مختلف عمل‌آوری از جمله تیمارهای حرارتی بر میزان باقیمانده‌ها بسیار اهمیت دارد. اطلاعات به‌دست آمده در این زمینه برای ارزیابی صحیح میزان دریافت روزانه باقیمانده توسط مصرف‌کنندگان ضروری است و حتی ممکن است منجر به تغییر در MRL پذیرفته شده گردد. سازمان‌های بین المللی نظیر کدکس الیمنتاریوس (Codex Alimentarius) به اهمیت و تداوم مطالعات در این موضوعات تأکید دارند (۳).

تاکنون مطالعاتی در خصوص اثرات پخت بر بقایای آنتی بیوتیک‌های مختلف از جمله پنی سیلین G (۷،۱۶) تتراسیکین‌ها (۴،۸،۱۳)، استرپتومایسین (۹)، نئومایسین (۱۱)، جنتامایسین (۲۰)، سولفانامید (۵) و انروفلوکساسین (۱۴) انجام شده است. در یک مطالعه اثر تیمارهای حرارتی بر تعدادی از آنتی بیوتیک‌های ماکرولیدی در شیر بررسی شده است. (۲۲). تاکنون تحقیق گزارش شده‌ای در خصوص تأثیر حرارت بر

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۶۷۰۴-۰۲۱ نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: jsalar@ut.ac.ir

باقیمانده تیل‌مایکوزین انجام نشده است. هدف از این مطالعه بررسی تغییر بقایای این آنتی‌بیوتیک در گوشت طی پروسه پخت آب‌پز و مایکروویو است.

مواد و روش کار

منحنی کالیبراسیون: محلول ذخیره تیل‌مایکوزین (۱۰۰۰ ppm) با حل کردن تیل‌مایکوزین (شرکت سیگما، آمریکا) در آب آماده شد. محلول کاری نیز با غلظت ۱۰ ppm از محلول ذخیره تیل‌مایکوزین و محلول استاندارد با غلظت ۰/۰۵ppm، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ از محلول کاری تهیه شدند. پس از تزریق محلول‌های استاندارد به HPLC، نسبت به رسم منحنی کالیبراسیون اقدام شد. هر کدام از استانداردها سه بار تزریق و میانگین این دفعات محاسبه شد.

آماده سازی نمونه گوشت: گوشت مرغ تازه از سطح عرضه شهر تهران تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه مرکز تحقیقات سم‌شناسی و مسمومیت‌های دامی دانشگاه تهران، ران مرغ جدا و گوشت آن از استخوان تفکیک شد و کاملا با چرخ گوشت همگن و تا زمان تیمار حرارتی در فریزر $-20^{\circ}C$ نگهداری شد.

بازیابی تیل‌مایکوزین: برای بررسی بازیابی (recovery) روش آنالیز، تیل‌مایکوزین به مقادیر ۱، ۳ و ۸ µg به نمونه گوشت چرخ شده (۱۰g) اضافه شد (این مقادیر معادل غلظت ۱۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰ ppb تیل‌مایکوزین می باشد) و پس از همزدن و استخراج مقدار آن اندازه گیری شد. با تقسیم مقدار اندازه‌گیری شده به مقدار اضافه شده درصد بازیابی تعیین شد.

استخراج تیل‌مایکوزین از گوشت و آب: برای استخراج تیل‌مایکوزین از گوشت از روش مایع - مایع (Liquid-liquid) استفاده شد. بدین منظور به ۲ g از نمونه گوشت ۰/۵ mL بافر استات آمونیوم (۱۰ mM) و ۴ mL استونیتریل اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی همزده شد. سپس سانتریفوژ (۵۰۰۰ rpm به‌مدت ۵ دقیقه) و فاز فوقانی جدا و به آن ۰/۵ g کلرید سدیم اضافه و به‌مدت ۳۰ ثانیه به همزده و اجازه داده شد تا دو فاز گردد. از فاز فوقانی ۵۰۰ µL در داخل ویال ریخته شد و ۵۰۰ µL بافر استات آمونیوم (۱۰ mM) به آن اضافه و پس از همزدن ۲۰ µL از محلول به HPLC تزریق گردید.

با توجه به اینکه در موقع آب‌پز مقداری از آنتی‌بیوتیک وارد آب پخت می‌شود از این رو نسبت به اندازه‌گیری میزان آنتی‌بیوتیک وارد شده به گوشت نیز اقدام شد. در این مورد از آنجا که وارد شدن آنتی‌بیوتیک به آب موجب رقیق شدن آن می‌شود لذا اندازه‌گیری آن در آب به‌صورت مستقیم ممکن نیست. برای این منظور از روش تخلیص با بکارگیری کارتریج C18 (شرکت سیگما، آمریکا) استفاده بعمل آمد. ابتدا ۲ mL استونیتریل و سپس ۲ mL آب از درون کارتریج گذارنده شد تا برای استفاده آماده گردد (Conditioning). سپس آب پخت از روی آن عبور داده و برای شویش تیل‌مایکوزین سطح کارتریج، از متانول (۲mL) استفاده گردید. ۵۰۰ µL از محلول حاصل از شویش در داخل ویال ریخته شد و پس از اضافه کردن استات آمونیوم (۵۰۰ µL) مقدار تیل‌مایکوزین آن اندازه‌گیری گردید.

روش آنالیز تیل مایکوزین: تیل‌مایکوزین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) (شرکت Waters، آمریکا) با ستون C18 (طول ۱۵۰ mm و قطر داخلی ۳/۹ mm و اندازه ذرات ۴ µm) و آشکارساز فوتودیو آرای (Photodiode array detector) اندازه‌گیری شد. روش آنالیز به‌صورت ایزوکراتیک با فاز متحرک الف: استونیتریل و ب: استات آمونیوم (۱۰ mM) و ۱٪ تری فلوروا استیک اسید با نسبت ۳۰ (فاز الف) به ۷۰ (فاز ب) و با سرعت جریان ۱mL/min انجام گردید. حجم تزریق نمونه ۲۰ µL و طول موج تنظیم شده ۲۸۹ nm بود.

محاسبه LOD و LOQ: برای محاسبه حد تشخیص (of detection limit) و حد تعیین مقدار کمی (Limit of quantification) ابتدا سه بار نمونه شاهد به HPLC تزریق شد و با اندازه‌گیری سطح نوفه در محل پیک، انحراف معیار این سه بار تعیین گردید. با فرمول زیر LOD و LOQ محاسبه شدند.

$$LOD = 3 \times \text{انحراف معیار} / \text{شیب خط کالیبراسیون}$$

$$LOQ = 10 \times \text{انحراف معیار} / \text{شیب خط کالیبراسیون}$$

آماده سازی نمونه گوشت برای تیمار حرارتی: در زمان تیمارهای حرارتی گوشت چرخ شده از فریزر خارج و پس از قرار دادن آن در یخچال اجازه داده شد تا کاملاً دیفراست گردد. ابتدا گوشت چرخ شده از نظر باقیمانده تیل‌مایکوزین مورد بررسی قرار گرفت و مقدار این آنتی‌بیوتیک در آن اندازه گیری شد. از آنجا که مقدار تیل‌مایکوزین در گوشت خریداری شده کمتر از LOD روش اندازه‌گیری بود لذا مقدار آن در گوشت خام صفر در نظر گرفته شد. پس از یکنواخت کردن گوشت چرخ شده، نمونه‌هایی به وزن ۱۰ g توزین و آنتی‌بیوتیک تیل‌مایکوزین در سه مقدار ۱، ۳ و ۸ µg (این مقادیر معادل غظلت ۱۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰ ppb تیل‌مایکوزین می‌باشد) به آن اضافه شد (spiked). سپس نمونه گوشت تیمار شده جهت توزیع یکنواخت آنتی‌بیوتیک در آن کاملاً همگن و نمونه آماده شده به شکل کاملاً گرد و کروی در آمدند و در پایان تحت تیمارهای حرارتی قرار گرفتند.

تیمار حرارتی آب پز: در داخل بشر مقدار ۸۰ g آب اضافه و حرارت داده شد تا بجوش بیاید سپس نمونه گوشت در داخل توری فلزی قرار گرفت. و توری درون بشر فرو برده شد به‌طوری که نمونه کاملاً در آب غوطه ور بود. هر نمونه طی مدت زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه تحت تیمار حرارتی قرار گرفت.

تیمار حرارتی مایکروویو: ابتدا نمونه گوشت در داخل پلیت شیشه‌ای قرار داده شد و پس از گذاشتن درب پلیت در داخل مایکروو (شرکت Samsung، کره جنوبی) قرار گرفت. نمونه طی مدت زمان‌های ۱، ۱/۵ و ۲ دقیقه بوسیله مایکروویو با توان ۴۵۰ W پخته شد.

$$\text{درصد کاهش تیل مایکوزین} = \frac{\text{مقدار تیل مایکوزین نمونه پخته (µg)} - \text{مقدار تیل مایکوزین نمونه خام (µg)}}{\text{مقدار تیل مایکوزین نمونه خام (µg)}} \times 100$$

محاسبه مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین: برای بررسی تأثیر تیمارهای حرارتی بر تیل‌مایکوزین، مقدار آن قبل و بعد از تیمار حرارتی اندازه گیری و با فرمول زیر مقدار درصدکاهش محاسبه شد:

در این فرمول مجموع مقدار دو ایزومر سیس و ترانس تیل‌مایکوزین در نظر گرفته شد.

اندازه گیری دما و وزن: دمای درونی (مرکز) نمونه‌های گوشت در پایان زمان سرخ کردن بوسیله دماسنج دیجیتالی (شرکت GmbH، آلمان) اندازه‌گیری و ثبت شد و وزن هر نمونه قبل و بعد از پخت با ترازو (Gerhardt، آلمان) تعیین شد. مقدار درصد کاهش وزن با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{وزن نمونه بعد از تیمار حرارتی (g)} - \text{وزن نمونه قبل از تیمار حرارتی (g)}}{\text{وزن نمونه قبل از تیمار حرارتی (g)}} \times ۱۰۰ = \text{مقدار درصد کاهش وزن}$$

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه تیمارهای حرارتی سه بار تکرار گردیدند. برای انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS version 16.0 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها بررسی شد سپس در صورتی که داده‌ها نرمال بودند در هرکدام از تیمارها برای بررسی تفاوت بین مقدار تیل‌مایکوزین نمونه گوشت خام و پخته از آزمون تی تست جفتی (T test paired) استفاده شد. برای بررسی تأثیر زمان پخت و مقدار اولیه تیل‌مایکوزین بر مقدار درصد کاهش آن طی پخت روش آنالیز واریانس دو طرفه (two way ANOVA) بکار گرفته شد و برای مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. سطح معنی‌داری $p\leq ۰/۰۵$ برای آزمون‌های آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

اعتبار روش آنالیز (method validation): براساس کروماتوگرام حاصل از آنالیز با دستگاه HPLC، زمان بازداری ایزومر ترانس و سیس تیل‌مایکوزین به ترتیب حدود ۶/۵ و ۷/۳ دقیقه بود. منحنی کالیبراسیون تیل‌مایکوزین در محدوده ppm ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ خطی و از ضریب رگرسیون بالایی برخوردار بود. معادله خط کالیبراسیون عبارت است از:

$y=۳۰۴۷۴x+۲۸۹۴$ $R2=۰/۹۹۶$

LOD و LOQ روش آنالیز به ترتیب ppb ۱۰ و ۳۵ بود. بنابراین قطعی شد که روش آنالیز قادر به تعیین کمی تیل‌مایکوزین در کمتر از MRL آن می‌باشد. مقدار بازیابی تیل‌مایکوزین از گوشت در مقادیر ppb ۱۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰ به ترتیب ۱۱۵/۸٪، ۱۰۷/۰٪ و ۱۱۱/۹٪ (به‌طور متوسط ۱۱۱/۶٪) به‌دست آمد.

تغییرات دما و مقدار درصد کاهش وزن نمونه‌های گوشت: بعد از تیمار حرارتی مایکروویو و آب پز، وزن کلیه نمونه‌ها کاهش یافت. مقدار کاهش وزن برای دو روش مذکور به ترتیب در محدوده ۲۷/۶٪ - ۱/۲٪ و ۲۶/۲٪ - ۱۶/۸٪ قرار داشت (جدول ۱). دمای مرکز نمونه‌ها به تناسب مدت زمان پخت در روش‌های مایکروویو و آب پز متغیر و به ترتیب در محدوده ^{o}C ۹۶/۴ - ۹۴/۱ و ۹۱/۱ - ۸۹/۵ ^{o}C قرار داشت (جدول ۱).

جدول۱. مقدار تیل مایکوزین، وزن و دما مرکز نمونه‌ها پس از پخت. (*) مقدار تیل مایکوزین در نمونه گوشت خام به وزن g ۱۰. (**) وزن نمونه قبل از پخت g۱۰ بود. (a) حروف بالانویس غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین اعداد یک سطر می‌باشند.

روش پخت	زمان پخت (دقیقه)	مقدار تیل مایکوزین قبل از پخت (*) (µg)	مقدار تیل مایکوزین بعد از پخت (µg)	وزن نمونه بعد از پخت (**) (g)	مقدار درصد کاهش وزن	دمای مرکز نمونه (^{o}C)
مایکروویو	۱	۱^{a}	۰/۹^{a}	۹/۹	۱/۲	۹۰/۷
	۱	۳^{a}	۲/۴^{b}	۹/۸	۲/۵	۹۰/۱
	۱	۸^{a}	۶/۴^{b}	۱۰/۰	۶/۴	۸۹/۵
	۱/۵	۱^{a}	۰/۷^{a}	۹/۱	۸/۶	۹۴/۱
	۱/۵	۳^{a}	۲/۳^{b}	۹/۱	۹/۲	۹۲/۹
	۱/۵	۸^{a}	۶/۶^{b}	۸/۷	۱۲/۶	۹۳/۹
	۲	۱^{a}	۰/۹^{a}	۷/۴	۲۵/۶	۹۶/۶
	۲	۳^{a}	۲/۳^{b}	۷/۲	۲۷/۶	۹۵/۷
	۲	۸^{a}	۶/۴^{b}	۷/۴	۲۷/۴	۹۵/۵
آب پز	۱۰	۱^{a}	۰/۵^{b}	۸/۳	۱۶/۸	۹۱/۸
	۱۰	۳^{a}	۲/۰^{b}	۸/۲	۲۰/۵	۹۱/۷
	۱۰	۸^{a}	۵/۴^{b}	۸/۵	۱۷/۶	۹۱/۱
	۲۰	۱^{a}	۰/۵^{b}	۸/۱	۲۶/۲	۹۳/۴
	۲۰	۳^{a}	۱/۷^{b}	۸/۳	۲۲/۷	۹۳/۰
	۲۰	۸^{a}	۴/۵^{b}	۸/۶	۲۴/۶	۹۲/۴
	۳۰	۱^{a}	۰/۳^{b}	۷/۷	۲۳/۱	۹۳/۴
	۳۰	۳^{a}	۱/۲^{b}	۸/۰	۲۳/۶	۹۴/۱
	۳۰	۸^{a}	۴/۰^{b}	۸/۰	۲۵/۸	۹۳/۴

جدول ۲. مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین در گوشت پس از پختن آن با روش مایکروویو. (A) حروف بالانویس بزرگ یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بین اعداد یک سطر می‌باشد. (a) حروف بالانویس کوچک یکسان نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بین اعداد یک ستون می‌باشد.

زمان مایکروویو (دقیقه)	مقدار کاهش بر حسب درصد (میانگین ± انحراف معیار)			
	مقدار تیل مایکوزین در نمونه خام (ppb)			
	۱۰۰	۳۰۰	۸۰۰	میانگین
۱	۸/۳±۳/۲^{Aa}	۲۰/۴±۴/۹^{Aa}	۱۹/۵±۴/۸^{Aa}	۱۶/۱±۸/۰^{a}
۱/۵	۲۳/۹±۴/۵^{Aa}	۲۲/۹±۳/۷^{Aa}	۱۷/۸±۵/۳^{Aa}	۲۱/۵±۵/۷^{a}
۲	۱۱/۲±۳/۰^{Aa}	۲۲/۹±۲/۰^{Aa}	۲۰/۴±۵/۵^{Aa}	۱۸/۲±۷/۲^{a}
میانگین	A۱۴/۵±۹/۲^{B}	۲۲/۱±۴/۵^{A}	۱۹/۲±۵/۳^{AB}	۱۸/۶±۷/۲

تأثیر روش پخت مایکروویو بر تیل‌مایکوزین گوشت: بجز نمونه‌هایی که مقدار تیل‌مایکوزین آنها قبل از پخت یک میکروگرم (ppb ۱۰۰) بود و به‌مدت ۱ یا ۲ دقیقه تحت مایکروویو قرار گرفتند، در سایر نمونه‌ها مقدار تیل‌مایکوزین بعد از پخت به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کمتر از نمونه خام بود (جدول ۱). لذا این موضوع نشان می‌دهد روش مایکروویو سبب کاهش معنی‌دار در مقدار تیل‌مایکوزین گوشت می‌گردد. نتایج تأثیر دو فاکتورهای زمان پختن و غلظت اولیه تیل‌مایکوزین بر روی این مقدار

جدول ۳. مقدار کاهش تیل مایکوزین در گوشت پس از پختن آن با روش آب پز. [A] حروف بالانویس بزرگ غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بین اعداد یک سطر می‌باشند. [a] حروف بالانویس کوچک غیر یکسان نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بین اعداد یک ستون می‌باشند. [*] اعداد داخل پرانتز نشان دهنده درصدی از تیل مایکوزین اولیه است که پس از آب پز در آب پخت یافت شد.

زمان آب پزکردن(دقیقه)	مقدارکاهش بر حسب درصد (میانگین ± انحراف معیار) مقدار تیل‌مایکوزین در نمونه خام (ppb)			
	۱۰۰	۳۰۰	۸۰۰	میانگین
۱۰	۶۰/۴±۱/۸ ^{Ab} (۱۴/۲) *	۵۴/۷±۶/۷ (۱۶/۵) ^{ABa}	۴۸/۷±۱/۹ ^{Bb} (۱۶/۷)	۵۴/۶±۶/۲ ^{b}
۲۰	۶۲/۱±۴/۷ ^{Aab} (۱۲/۹)	۵۷/۵±۳/۳ ^{Aa} (۱۵/۸)	۵۶/۰±۲/۲ ^{Aa} (۱۹/۱)	**۵۸/۵±۴/۱ab**
۳۰	۶۹/۰±۲/۹ ^{Aa} (۱۱/۸)	۶۳/۴±۲/۶ ^{Aa} (۲۱/۲)	۵۵/۱±۲/۹ ^{Ba} (۱۹/۹)	**۶۲/۵±۶/۵a**
میانگین	**B**۶۳/۸±۴/۹ ^{A}	۵۸/۶±۵/۵	۵۳/۲±۴/۰ ^{C}	۴۸/۱±۱۱/۲

کاهش در جدول ۲ نشان داده شده است. چنانچه غلظت اولیه تیل‌مایکوزین در نمونه‌های خام ثابت باشد (ppb ۱۰۰، ۳۰۰ یا ۸۰۰) ولی زمان پختن آنها مختلف باشد (۱، ۱/۵ و ۲ دقیقه)، بین درصدی از تیل‌مایکوزین نمونه‌ها که در نتیجه فرآیند پخت کاهش می‌یابد تفاوت معنی‌دار وجود ندارد و چنانچه زمان پختن ثابت باشد (۱، ۱/۵ و ۲ دقیقه) ولی غلظت اولیه تیل‌مایکوزین در نمونه‌های خام مختلف باشد (ppb ۱۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰) باز هم بین درصدی از تیل‌مایکوزین که در نتیجه فرآیند پخت کاهش می‌یابد تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. لذا می‌توان گفت اگرچه در روش مایکروویو تیل‌مایکوزین کاهش می‌یابد اما زمان مایکروویو و غلظت اولیه تیل‌مایکوزین بر این مقادیر کاهش تأثیر معنی‌دار ندارد (جدول ۲).

تأثیر روش پخت آب‌پز بر تیل‌مایکوزین گوشت: مقدار تیل‌مایکوزین در تمامی نمونه‌های آب پز شده به‌طور معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) کمتر از نمونه خام بود (جدول۱). این بدین معنی است که طی آب پز مقدار تیل‌مایکوزین به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. نتایج تأثیر دو فاکتور زمان آب پز و غلظت اولیه تیل‌مایکوزین بر روی این مقدار کاهش در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس بیانگر این است که چنانچه غلظت اولیه تیل‌مایکوزین در نمونه‌های خام ppb ۱۰۰ باشد ولی زمان پختن آنها مختلف باشد (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) باشد بین درصدی از تیل‌مایکوزین نمونه‌ها که در نتیجه فرآیند پخت کاهش می‌یابد تفاوت وجود خواهد داشت ($p<۰/۰۵$). تفاوت بین نمونه‌های آب پز شده در مدت ۱ و ۲ دقیقه معنی‌دار بود. نتایج مشابهی برای نمونه‌های خامی که دارای ppb ۳۰۰ تیل‌مایکوزین بودند و آب پز شدند به‌دست آمد. اما در نمونه‌های خام که دارای ppb ۳۰۰ تیل‌مایکوزین بودند تفاوت معنی‌داری بین مقدار درصد کاهش تیل‌مایکوزین آنها بعد از ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه آب پز مشاهده نگردید. بیشترین مقدار درصد کاهش (۸۶/۹٪) در مورد نمونه‌ای بود که به مدت ۳۰ دقیقه آب پز شد و مقدار تیل‌مایکوزین اولیه آن ppb ۸۰۰ بود.

با آنالیز آب پخت مشخص شد طی آب پزکردن مقداری از تیل‌مایکوزین گوشت به آب منتقل می‌گردد. این مقدار بین ۱۹/۹- ۱۱/۸٪ تیل‌مایکوزین بود (جدول ۳).

بحث

فاکتورهای متعددی پس از کشتار بر مقدار باقیمانده دارو در فرآورده‌های دامی تأثیر دارند بویژه آن‌که مواد غذایی با منشأ دامی، قبل از مصرف فرآیندهای مختلفی را طی می‌نمایند. یکی از این فاکتورهای تأثیرگذار زمان نگهداری است که هم از نقطه نظر آنالیز و هم از نقطه نظر سم‌شناسی اهمیت دارد. فاکتور بعدی سرد یا منجمد کردن مواد غذایی است. چون داروها ترکیبات شیمیایی هستند و انجماد تجزیه مواد شیمیایی را به تأخیر می‌اندازد انتظار می‌رود باقیمانده دارو نیز از این شرایط تأثیر بپذیرد. مهمترین فاکتور پس از کشتار که می‌تواند بر مقدار باقیمانده دارو تأثیر بگذارد پختن یا تیمار حرارتی است. می‌توان گفت تمامی مواد غذایی با منشأ دامی قبل از مصرف در معرض تیمارهای حرارتی نظیر آب پزکردن، کباب‌کردن، سرخ کردن، پاستوزریزاسیون و استریلیزاسیون یا سایر روش‌های پخت قرار می‌گیرند. این تیمارها سبب دناتوراسیون پروتئین‌ها، افزایش دمای ماده غذایی، کاهش آب و تغییر مقدار چربی و pH آن می‌گردند در نتیجه این موارد غلظت، ماهیت شیمیایی و حلالیت باقیمانده دارو تغییر می‌کند و امکان دارد با سایر ترکیبات وارد واکنش شیمیایی شود. بعضی از داروها از لحاظ شیمیایی ترکیبات ناپایدار هستند و طی نگهداری، پختن یا فرآوری تجزیه می‌گردند (۱).

در اغلب تحقیقاتی که پایداری باقیمانده‌های دارو طی حرارت را بررسی نموده‌اند، زمان پخت به‌عنوان فاکتور تأثیرگذار در کاهش باقیمانده دارو گزارش شده است (۱،۵،۱۰). در این تحقیق نیز همچنان که از نتایج پیدا است زمان آب پزکردن بر مقدار درصد کاهش تیل‌مایکوزین گوشت تأثیرگذار شناخته شد و افزایش زمان پخت گوشت در این روش منجر شد مقدار درصد کاهش بیشتر گردد.

فاکتور بعدی که بر کاهش باقیمانده‌ها تأثیر دارد دمایی است که طی پختن، ماده غذایی در معرض آن قرار می‌گیرد. برای همین منظور در مطالعات، دمایی مرکز ماده غذایی را به‌عنوان معیاری برای دمای پخت قرار داده‌اند و نسبت به اندازه‌گیری دمای مرکز ماده غذایی پس از پختن اقدام شده است. گزارش شده مقدار درصد کاهش باقیمانده با افزایش

دمای مرکز ماده غذایی بیشتر می‌گردد(۱). نتایج تحقیق حاضر این موضوع را تائید کرده و نشان می‌دهد پس از پختن گوشت با روش آب پز، بین مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین با دمای مرکز همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد.

اثر مقادیر مختلف اولیه باقیمانده دارو بر مقدار درصد کاهش آن طی پخت در مطالعات مختلف، چندان مورد بررسی قرار نگرفته است. در یک بررسی که آنتی بیوتیک‌آنتی بیوتیک‌ها گروه تتراسیکلین به شیر خام اضافه شدند مشخص شد مقدار درصد کاهش باقیمانده هرکدام طی پروسه پاستوریزاسیون بستگی به مقدار آنها در شیر خام دارد و تفاوت‌هایی نیز از این بابت در بین آنها وجود دارد(۱۳). در تحقیق حاضر یکی از فاکتورهایی که اثر آن بر مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین پس از پخت بررسی شد مقادیر مختلف این آنتی بیوتیک در گوشت خام بود و هدف از این کار مشخص کردن تأثیر پذیری مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین بعد از پخت از مقدار اولیه آن در گوشت بود. نتایج به‌دست‌آمده موید آن است که مقدار درصد تیل مایکوزین بعد از آب پزکردن تحت تأثیر مقدار اولیه آن در گوشت بود و برای مقادیر مختلف اولیه مقادیر درصد کاهش متفاوتی به‌دست آمد. همبستگی بین این دو مقدار منفی و معنی‌دار بود ($p<0/05$). احتمال می‌رود علت اختلافات بین مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین با تغییر مقدار آن در نمونه‌ها ناشی از دقت در روش استخراج و اندازه گیری باشد و از آنجا که در مقادیر بالاتر آنتی بیوتیک، دقت روش استخراج و آنالیز بیشتر است لذا مقدار کاهش کمتر باشد.

در گوشت پخته شده با روش مایکروویو مقدار تیل مایکوزین کاهش یافت اما کاهش آن تابع زمان مایکروویو نبوده و غلظت اولیه تیل مایکوزین نیز در این خصوص بدون تأثیر بود. ماکزیمم مقدار درصد کاهش باقیمانده تیل مایکوزین طی فرآیند مایکروویو ۲۳/۹٪ بود. این مقادیر کمتر از مقدار درصد کاهش باقیمانده سایر داروهای دامی در شرایط تقریباً مشابه است. در مطالعه‌ایی طی فرآیند مایکروویو (۵ دقیقه) حدود ۹۰٪ باقیمانده سولفامتازین در گوشت Tilapia کاهش یافت (۱۲). تغییرات باقیمانده سولفادیازین، سولفامتوکسازول، سولفامونومتوکسین و سولفاکینوکسالین طی پخت گوشت مرغ با مایکروویو (یک دقیقه با توان W ۵۰۰) ۴۱-۳۵٪ بود(۵). مقدار کاهش پنی سیلین G در گوشت گاو پخته شده با مایکروویو (۳دقیقه با توان W ۷۰۰) حدود ۵۹٪ گزارش شده است (۱۶). Ibrahim در سال ۱۹۹۴ دریافت روش مایکروویو طی مدت زمان ۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه منجر به کاهش اکسی تتراسیکلین در گوشت بره به ترتیب به مقدار ۲٪، ۱۲/۲٪، ۴۴/۴٪ و ۶۰/۵٪ می‌گردد (۸). یافته‌های این مطالعه با نتایج بعضی از تحقیقات انجام شده در خصوص تأثیر مایکروو بر باقیمانده داروها تناقض دارد. Oxfendazole از جمله داروهای ضد انگلی است که تغییر باقیمانده آن طی مایکروویو بررسی شده و نتایج حکایت از این دارد طی پختن کبد با مایکروویو تخریب نشده بلکه تعادل بین آن با سایر ترکیبات نظیر oxfendazole sulphone و fenbendazole دستخوش تغییر می‌شود(۱۹) Rose و همکاران در سال ۱۹۹۷ دریافتند که در پختن گوشت گاو و خوک با مایکروویو نه تنها مقدار ivermectin و benzylpenicillin کاهش نمی‌یابد بلکه بعلت از دست دادن رطوبت افزایش نیز پیدا می‌کند(۱۵،۱۷). بنابراین می‌توان گفت تأثیر مایکروویو بر باقیمانده داروهای مختلف متفاوت بوده و در مورد برخی داروها باقیمانده آن پس از مایکروو یوافزایش و در مورد برخی کاهش می‌یابد و به ترکیبات دیگر تبدیل می‌گردند.

ماکزیمم مقدار درصد کاهش باقیمانده تیل مایکوزین طی آب پز کردن گوشت ۶۹٪ بود. کاهش باقیمانده سایر داروهای دامی طی آب پز نیز گزارش شده است. نتایج این تحقیق مشابه نتایج سایر تحقیقات انجام شده می‌باشد. Furusawa و Hanabusa در سال ۲۰۰۲ گزارش نمودند که مقدار باقیمانده سولفادیازین، سولفامتوکسازول، سولفامونومتوکسین و سولفاکینوکسالین در گوشت آب پز شده (۱۲ دقیقه) به ترتیب ۶۱٪، ۵۴٪، ۴۵٪ و ۴۷٪ کاهش می‌یابد. علت کاهش، انتقال سولفونامید از گوشت به آب می‌باشد(۵). مقدار کاهش تتراسیکلین در گوشت بره طی روش آب پزکردن با مدت زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه در دمای $100^{\circ}C$ به ترتیب ۱۶٪، ۳۹٪، ۶۴٪، ۸۰٪، ۹۱٪ و ۹۵٪ بود (۸). مقدار کاهش گزارش شده برای سایر داروهای دامی طی آب پزکردن کمتر از نتایج این تحقیق در خصوص تیل مایکوزین است (۱۸) اگرچه پنی سیلین G در مقابل حرارت پایدار است و طی آب پزکردن گوشت حدود ۴٪ آن از بین رفته و بخش زیادی از آن وارد آب می‌گردد (۵). باقیمانده Lasalocid در گوشت مرغ در طی آب پزکردن تغییرات اندک و به مقدار ۴/۳٪ کاهش یافت. در روش آب پز مقداری از دارو وارد آب می‌گردد. در تخم مرغ آب پز شده مقدار بیشتری از دارو و حدود ۲۷٪ کاهش یافت (۱۸). آب پزکردن تأثیری بر مقدار باقیمانده سولفامتازین گوشت ندارد اما طی آن سولفامتازین از گوشت به داخل مایع پخت مهاجرت می‌نماید(۱۶). آب پزکردن تأثیر بر مقدار باقیمانده استرپتومایسین تخم مرغ ندارد (۹). باقیمانده ivermectin در گوشت و کبد خوک و گاو و ماهی سالمون طی آب پزکردن پایدار بوده و به‌علت آنکه در آب نامحلول است طی آب پزکردن وارد محیط اطراف نمی‌گردد (۱۷).

علت کاهش تیل مایکوزین طی پخت در درجه نخست می‌تواند به‌علت انتقال از گوشت به آب باشد. در روش آب پز، با آنالیز آب گوشت مشخص شد مقداری از تیل مایکوزین در تمامی نمونه‌های که آب پز شدند به آب انتقال پیدا کرد. این مقدار بین ۱۱/۸٪ تا ۱۹/۹٪ تیل مایکوزین نمونه خام بود (جدول ۳). احتمال می‌رود مابقی کاهش تیل مایکوزین به‌علت تخریب و تجزیه آن طی حرارت و تبدیل به سایر ترکیبات باشد. تیل مایکوزین محلول در آب بوده و از آنجائی که موقع پختن گوشت آب از دست می‌دهد لذا می‌توان گفت بخشی از آنتی بیوتیک همرا با آب از گوشت خارج می‌شوند.

با توجه به اینکه افزایش زمان پخت سبب می‌شود دمای نمونه‌ها به

سطح بالاتر برسد و نمونه مدت طولانی تر در معرض دما بالا باشد و از آنجائیکه گفته شد تیل مایکوزین طی پختن تجزیه می گردد شاید به خاطر همین موضوع باشد که بین مقدار درصد کاهش تیل مایکوزین با دما نمونه ها همبستگی وجود دارد.

از این تحقیق چنین می توان نتیجه‌گیری نمود مقادیر تیل مایکوزین طی پختن گوشت کاهش می یابد و در روش های مختلف پخت مقدار کاهش متفاوت بوده که با توجه به این مورد می توان گفت داده‌های حاصل از پایش مواد خام نظیر گوشت نمی تواند برای محاسبه درست مقدار دریافت روزانه این ترکیب در انسان مورد استفاده قرار گیرد. از طرفی دیگر می توان گفت با روشن شدن این حقیقت که تیل مایکوزین طی پخت کاهش می یابد احتمال دارد MRL آن تحت تأثیر قرار گیرد البته این موضوع نیازمند مطالعات بیشتر است بخصوص ان که تحقیق حاضر در شرایط تجربی انجام شده است و لازم است جهت کاربردی شدن نتایج تحقیق، مطالعه با نمونه‌های گوشت که به‌طور طبیعی دارای تیل مایکوزین هستند مطالعه به صورت (in vivo) انجام شود. همچنین با توجه به اینکه در تحقیقات مربوط به اثر پروسه های فرآوری بر ترکیب اصلی باقیمانده‌ها از جمله تیل مایکوزین، یکی از موضوعات مهم محصولات حاصل از تجزیه آنها می باشد پیشنهاد می گردد در تحقیقات بعدی شناسایی این ترکیبات و ارزیابی اثرات سم شناسایی آنها مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت حمایت از این تحقیق و از مرکز تحقیقات سم‌شناسی و مسمومیت‌های دامی جهت فراهم نمودن امکانات انجام این پروژه، نهیت تقدیر و تشکر را دارد.

References

1. Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J. (2001) Stability of Residues During Food Processing. Drug residues in foods, pharmacology, food safety, and analysis. (1st ed.) Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
2. Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J. (2001) Benefits and risks of drug usage. In: Drug Residues in Foods, Pharmacology. Food Safety, and Analysis. (1st ed.) Marcel Dekker, Inc, New York, USA. p. 251-266.
3. Codex Alimentarius Commission. (2001) Committee on residues of veterinary drugs in foods, document control of veterinary drug residues in milk and milk products CX/RVDF, 01/8., Joint food and agriculture organization of the united nations-world health organization food standards programme, Rome, Italy.
4. Du, W.X., Marshall, M.R., Xu, D.H., Santerre, C.R., Wei, C.I. (1997) Retention of oxytetracycline residues in cooked channel catfish fillets. J Food Sci. 62: 119-122.
5. Furusawa, N., Hanabusa, R. (2002) Cooking effects on sulfonamide residues in chicken thigh muscle. Food Res Int. 35: 37-42.
6. Giguere, A., Prescott, J.F., Baggot J.D., Walker, R.D., Dowling, P.M. (2005) Antimicrobial Therapy. (5th ed.) Blackwell publishing. Iowa, USA.
7. Guay, R., Cardinal, P., Bourassa, C., Brassard, N. (1987) Decrease of Penicillin G residue incidence in milk: A fact or an artefact?. Int J Food Microbiol. 4: 187-196.
8. Ibrahim, A. (1994) Effect of cooking procedures on oxytetracycline residues in lamb muscle. J Agric Food Chem. 42: 2561-2563.
9. Inglis, J.M., Katz, S.E. (1978) Determination of streptomycin residues in eggs and stability of residues after cooking. J Assoc Off Anal Chem. 61: 1098-1102.
10. Ismail-Fitry, M.R., Jinap, S., Jamilah, B., Saleha, A.A. (2008) Effect of deep-frying at different temperature and time on sulfonamide residues in chicken meat-balls. J Food Drug Anal. 16: 81-86.
11. Katz, S.E., Levine, P.R. (1978) Determination of neomycin residues in eggs and stability of residues after cooking. J Assoc Off Anal Chem. 61: 1103-1106.
12. Lan, C.C., Hwang, B.S., Tu, M.F. (2001) Effect of microwave and roast treatment on the degradation of sulfamethazine residue in tilapia meat. J Food Drug Anal. 9: 102-106.
13. Loksuwa, J. (2002) The effect of heating on multiple residueso f tetracyclines in milk. Thammasat Int J Sci Technol. 7: 17-21.
14. Lolo, M., Pedreira, S., Miranda, J.M., Vazquez, B.I., Franco, C.M., Cepeda, A., Fente, C. (2006) Effect of cooking on enrofloxacin residues in chicken tissue. Food Addit Contam. 23: 988-993.

15. Rose, M.D., Bygrave, J., Farrington, W.H.H., George Shearer, G. (1997) The effect of cooking on veterinary drug residues in food. Part 8. Benzylpenicillin. Analyst. 122: 1095-1099.
16. Rose, M.D., Farrington, W.H.H., Shearer, G. (2000) The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 3. Sulphamethazine (sulphadimidine). Food Addit Contam. 12: 739-750.
17. Rose, M.D., Farringtona, W.H.H., Shearer, G. (1998) The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 7. ivermectin. Food Addit Contam. 15: 157-161.
18. Rose, M.D., Rowley, L., Shearer, G., Farrington, W.H.H. (1997) Effect of cooking on veterinary drug residues in rood. 6.Lasalocid. J Agric Food Chem. 45: 927-930.
19. Rose, M.D., Shearer, G., Farrington, W.H.H. (1997) The effect of cooking on veterinary drug residues in food;5. Oxfendazole. Food Addit Contam. 14: 15-26.
20. Sireli, U.T., Filazi, A., Cadirci, O. (2006) Effect of cooking and storage times on gentamicin residues in eggs. Ital J Food Sci. 18: 441-446.
21. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. (1996) Veterinary medicines Evaluation Unit: Tilmicosin, summary report. [DB/OL].
22. Zorraquino, M.A., Althaus, R.L., Roca, M., Molina, M.P. (2011) Heat treatment effects on the anti-microbial activity of macrolide and lincosamide antibiotics in milk. J Food Prot. 74: 311-315.

Experimental study of the effects of cooking methods on tilmicosin residues in chicken

Heshmati, A.[1], Salaramoli, J.[2,3*], Kamkar, A.[4], Hassan, J.[2,3], Jahed, Gh.[5]

[1]*Department of Biochemistry and Nutrition, Medicine Faculty, Hamadan University of Medical Sciences and Health Services, Hamadan-Iran*

[2]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

[3]*Department of Toxicology and Animal Poisoning Research Center, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

[4]*Department of Food Hygiene And Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran*

[5]*Department of Food Control and Hygiene, Faculty of Hygiene, Tehran University of Medical Sciences, Tehran-Iran*

(Received 2 June 2014, Accepted 16 August 2014)

Abstract:

BACKGROUND: Antibiotic residue in food is a major concern from a health point of view. Post-slaughter and pre-consumption processing such as cooking could affect residue. **OBJECTIVES:** The purpose of this study is to survey the effect of boiling and microwave on tilmicosin in chicken. **METHODS:** Chicken samples containing different tilmicosin amounts cooked in boiling water and in the microwave. After cooking, tilmicosin amount was determined by HPLC and its reduction percent amount due to cooking was calculated. Sample temperature and weight reduction amount were determined after cooking. **RESULTS:** Boiling and microwave resulted in significant tilmicosin reduction. In boiling method tilmicosin reduction percentage became more by time increase; however, it was inversely related to tilmicosin initial concentration. There was significant and positive correlation between sample central temperature and tilmicosin reduction percentage. In microwave mehod, tilmicosin reduction percentage was not influenced by time or tilmicosin initial concentration. **CONCLUSIONS:** Tilmicosin reduces during cooking and its reduction amount is different in various cooking method and, therefore surveillance data obtained from tilmicosin concentrations in raw tissue such as meat are not directly applicable for consumer exposure and dietary intake calculations when the whole cooked product is consumed.

Key words: boiling, drug residue, meat, microwave, Tilmicosin.

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Tilmicosin amount, weight and central temperature of samples after cooking. (*)Tilmicosin amount in raw sample (10 g). (**)Sample weight before cooking was 10 g. (a) Different small superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$) within each row.

Table 2. Reduction percentage amount of tilmicosin in meat after cooking by microwave. (A) The same capital superscript letters indicate no significant differences ($p<0.05$) within each row. a The same small superscript letters indicate no significant differences ($p<0.05$) within each column.

Table 3. Reduction percentage amount of tilmicosin in meat after boiling. (A) Different capital superscript letters indicate no significant differences ($p<0.05$) within each row. (a) Different small superscript letters indicate significant differences ($p<0.05$) within each column. Values in parenthesis indicate the first tilmicosin percentage found in broth.

***Corresponding author's email: jsalar@ut.ac.ir, Tel: 021-61117046, Fax: 021-66933222**