

شماره ۱۰۳، تابستان ۱۳۹۳

صص: ۵۴~۴۳

ارزیابی سطح آفلاتوکسین_{1B} در اقلام مختلف

خوراک دام گاوداری‌های استان خراسان رضوی

• امید صفری

استادیار، دانشگاه فردوسی مشهد

• معصومه مهربان سنگ آتش (نویسنده مسئول)

استادیار، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی

• محمد کاظم اکبری

کارشناس مدیریت امور دام، سازمان جهاد کشاورزی خراسان رضوی

• محمد محسن زاده

دانشیار، دانشگاه فردوسی مشهد

• فائزه تجلی

مربی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۵۱۸۸۳۲۳۶۰

• رضا کاراژیان

عضو گروه پژوهشی کیفیت و اینمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی

Email: mehraban@acecr.ac.ir

تاریخ دریافت: آبان ماه ۹۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۹۲

چکیده:

هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان آفلاتوکسین_{1B} در خوراک دام (ذرت سیلوشده، ذرت دانه‌ای، یونجه خشک، کنجاله پنبه دانه، پنبه دانه کامل، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله چغندرقند و کاه گندم) گاوداری‌های تحت رکوردگیری جهاد کشاورزی در سطح استان خراسان رضوی با تولید شیر خیلی بالا (بیشتر از ۱۰۰۰۰)، تولید بالا (۵۰۰۰۰-۱۰۰۰۰)، تولید متوسط (۵۰۰۰-۲۰۰۰) و تولید پایین (کمتر از ۲۰۰۰ کیلوگرم در روز) می‌باشد. نمونه برداری در فصول گرم (اول خرداد تا آخر تیر) و سرد (اول آذر تا آخر دی) انجام شد. نمونه‌های خوراک دام در بسته‌های زیپ کیپ استریل قرار داده شد و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ۱۸-۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مقدار آفلاتوکسین_{1B} با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج تفاوت آماری معنی‌داری را بین واحدهای گاوداری با میزان تولید شیر خیلی بالا، متوسط و پایین، از نظر میزان آفلاتوکسین_{1B} سنجش شده در کنجاله‌های پنبه دانه و کانولا، سبوس گندم، تفاله چغندر قند و کاه نشان داد ($P<0.05$). همچنین میزان آفلاتوکسین_{1B} موجود در تمام اقلام غذایی در فصل زمستان بیشتر از فصل تابستان بود. نتایج به دست آمده همچنین نشان داد که در ۲۱/۸۷ درصد از نمونه‌های خوراک کامل مورد مطالعه میزان آلدگی از حد مجاز آفلاتوکسین_{1B} بالاتر بود.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین_{1B}، خوراک دام، گاوداری‌های تحت پوشش رکوردگیری، خراسان رضوی.

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 103 pp: 43-54

Evaluation of aflatoxin B₁ levels in feedstuffs of dairy herds in Khorasan Razavi Province

Masoomeh Mehraban sangatash^{1,*}, Mohammad Mohsenzadeh², Faezeh Tajalli¹, Reza Karajian¹, Omid Safari³, Mohammad Kazem Akbari⁴, ¹Department of Food Quality and Safety, Food Science and Technology Research Institute, ACECR Mashhad Branch, Mashhad, Iran, ²Department of Food Hygiene and Aquaculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, ³Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, ⁴Agriculture-Jihad of Khorasan Razavi province, Mashhad, Iran, Corresponding Author; Tell: 0511-8832360, Email: mehraban@acecr.ac.ir

Received: November 2012**Accepted: May 2013**

The aims of the present study was to evaluate the level of aflatoxin B₁ (AFB1) in feedstuffs (corn silage, corn, dried alfalfa, cottonseed meal, cottonseed, soybean meal, canola meal, barley, wheat bran, concentrate, sugar beet pulp and wheat straw) that collected from dairy herds in Khorasan Razavi Province that classified according to milk yield in very high (>10000 Kg/day), high (5000-10000 Kg/day), intermediate (2000-5000 Kg/day) and low (<2000 Kg/day) milk production. Sampling was performed during cold (early December to late January) and warm (early June to late July) seasons. Feed samples were placed in sterile packages and were maintained until test at -18 °C. Aflatoxin B₁ levels were measured using ELISA. Results showed significant differences between the amount of aflatoxin B₁ in cottonseed meal, canola meal, wheat bran, sugar beet pulp and wheat straw among all dairy herd classes ($P<0.05$). The contents of aflatoxin B₁ in all feedstuffs during the cold seasons were higher than those of warm seasons. Results also showed that aflatoxin B₁ level in %21.87 of the total diet samples were higher than the maximum tolerance limit (50 ng/g).

Key words: Aflatoxin B₁, Animal feedstuffs, Dairy farms, Khorasan Razavi Province

مقدمه :

سه گونه آسپرژیلوس به نام‌های آسپرژیلوس فلاؤوس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و گونه‌هایی از آسپرژیلوس نومیوس آفلاتوکسین‌ها را تولید می‌کنند (Choudhary and Kumari, 2010). آفلاتوکسین B₁ یک متابولیت سلطان‌زاد است که توسط گونه‌های خاصی از آسپرژیلوس بر روی محصولات کشاورزی تولید می‌شود (AFM₁, 2009Dimitrokallis et al., 2009). آفلاتوکسین M₁ متابولیت هیدروکسیله شده آفلاتوکسین B₁ است که مشخص شده از طریق شیر و ادرار دام به سرعت دفع شده و سمیت آن پایین‌تر از ترکیب منشاء آن است (Zaghini et al., 2005). گرچه سمیت آفلاتوکسین M₁ نسبت به آفلاتوکسین B₁ کمتر می‌باشد ولی وجود آن در شیر به عنوان یک خطر بهداشتی محسوب می‌گردد؛ مخصوصاً برای کودکان که مصرف بالاتری از شیر و فلورومهای لبی را دارند، اهمیت‌یافته‌دار است.

مايكوتوكسین‌ها متابولیت‌های ثانویه استروژنیکی هستند که برای سلول‌های بدن دام و انسان به شدت سمی، سرطان‌زا و جهش‌زا بوده و به طور طبیعی در شرایط فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی مناسب و به طور کلی توسط قارچ‌های متعلق به سه جنس آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم و فوزاریوم، در دانه غلات و علوفه‌ها قبل، در طی و بعد از برداشت، خشک کردن و نیز در هنگام ذخیره‌سازی محصولات، در شرایط مختلف محیطی تولید می‌شوند (Michael et al., 2006; Agag, 2004; Yiannikouris and Jouany, 2002; Agag, 2005; Zaghini et al., 2005; Ruiqian et al., 2004; Haubruege et al., 2003) و بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Agag, 2004; Yazdanpanah, 2006). از میان مايكوتوكسین‌ها آفلاتوکسین‌ها به خاطر اثرات بالقوه سرطان زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی و جهش‌زایی اهمیت بیشتری دارند و در ایجاد سرطان کبد، هپاتیت مزمن و سیروز کبد مؤثرند (Agag, 2004).

G_1 و G_2 بdst آمده در جو، یونجه و ذرت سیلوشده به ترتیب برابر $0/227$ ، $0/236$ و $0/284$ نانوگرم در گرم بود که مقادیر بdst آمده از حد مجاز توصیه شده کمتر بود (Shadmani, 2005).

در بررسی ارسالی و همکاران (۱۳۸۸) از ۹۱ نمونه خوراک دام مورد آزمایش در فصول بهار، تابستان، پائیز و زمستان به ترتیب $15/78$ ، $56/25$ و $33/23$ درصد، آلدگی بالاتر از سطح مجاز را نشان دادند (Ersali et al., 2008). همچنین رحیمی و همکاران (۱۳۸۷) در تحقیق دیگری، گزارش نمودند که در $17/6$ درصد نمونه‌های خوراک دام مورد بررسی (یونجه خشک، ذرت، سیلوی ذرت، کنجاله تخم پنبه، جو و سبوس گندم) میزان آلدگی بیشتر از حد مجاز بود (Rahimi et al., 2008).

تاکنون مطالعه‌ای روی اقلام اولیه خوراک دام مصرفی در گاوداری‌های استان خراسان رضوی صورت نگرفته است. با توجه به اینکه منشاء آلدگی شیر به آفلاتوکسین₁، مصرف خوراک آلدود به آفلاتوکسین₁ توسط دام می‌باشد، می‌بایست روش‌های مناسب تولید و نگهداری به کار گرفته شود تا خوراک دام تا حد امکان از آلدگی مصون بماند.

جهت برنامه‌ریزی در این زمینه لازم است اطلاعات جامعی درخصوص وضعیت فعلی آلدگی اقلام خوراک دام به آفلاتوکسین₁ در دست باشد، لذا در این مطالعه وضعیت آلدگی اقلام مختلف خوراک دام (ذرت سیلوشده، ذرت دانه‌ای، یونجه خشک، کنجاله پنبه دانه، پنبه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله چغندرقد و کاه) از نظر وجود و مقدار آفلاتوکسین₁ در گاوداری‌های تحت پژوهش رکورددگیری استان خراسان رضوی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری

در این پژوهش نمونه‌برداری به صورت تصادفی خوشهای از گاوداری‌های تحت رکورددگیری جهاد کشاورزی در سطح استان خراسان رضوی انجام شد.

ابتدا گاوداری‌ها بر اساس میزان تولید شیر روزانه به چهار خوشه اصلی شامل گاوداری‌های با تولید شیر خیلی بالا (بیشتر از ۱۰۰۰ کیلوگرم)، گاوداری‌های با تولید شیر بالا (۱۰۰۰-۵۰۰۰ کیلوگرم)، گاوداری‌های با تولید شیر متوسط (۵۰۰۰-۲۰۰۰ کیلوگرم) و گاوداری‌های با تولید

با توجه به سمیت و خطرات بالقوه آفلاتوکسین‌ها سازمان‌ها و نهادهای نظارتی کشورهای مختلف از جمله FDA بیشترین سطح مجاز آفلاتوکسین₁ در خواراک دام و آفلاتوکسین₁ M_1 در شیر و فرآورده‌های لبنی را تعیین کرده‌اند و حضور آن را در زنجیره تولید و Holzapfel, 1996؛ (Choudhary and Kumari, 2010).

تاکنون مطالعات متعددی در زمینه‌ی بررسی میزان آفلاتوکسین در اقلام خوراک دام در شهرهای مختلف ایران (Abasifar, 2004؛ Ersali et al., 2008؛ Jamali Emam Ghedis and Moeini, 2010؛ Kazemi, 1999؛ Miah et al., 2007؛ Rahimi et al., 2008؛ Rasti Ardakani et al., 1997؛ Razavi Dehkordi, 1965؛ Shadmani, 2005؛ Tayebi Ammida et al., 2004) و در جهان (Tabuc et al., 2011) صورت گرفته است.

به طور مثال جمالی و معینی (۱۳۸۹) وضعیت آلدگی آفلاتوکسین در اقلام خوراک دام گاوداری‌های (کوچک، متوسط و بزرگ) استان کرمانشاه را مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد آلدگی نمونه‌های یونجه و ذرت در گاوداری‌های کوچک بیشتر بود که مهمترین علت آن نحوه مدیریت گاوداری‌ها بویژه روش ذخیره و نگهداری علوفه می‌باشد (Jamali Emam Ghedis and Moeini, 2010).

در این خصوص رضوی دهکردی (۱۹۶۵) میانگین میزان آلدگی به آفلاتوکسین در 147 نمونه پنبه دانه و 143 نمونه کنجاله پنبه دانه جمع آوری شده از سراسر ایران را 46 نانوگرم در گرم گزارش نموده است (Razavi Dehkordi, 1965).

عباسی‌فر (۲۰۰۴) نیز در مطالعه‌ای مشابه در زمینه بررسی آفلاتوکسین₁ خوراک دام در گاوداری‌های صنعتی اطراف شیراز نشان داد بالاترین سطح آلدگی به آفلاتوکسین₁ مربوط به کنجاله پنبه دانه، ذرت و تفاله چغندرقد بوده است (Abasifar, 2004).

در همین راستا در بررسی میزان آلدگی کنجاله پنبه دانه مصرفی در گاوداری‌های صنعتی اطراف اصفهان مشخص گردید که در 6 نمونه (40 درصد) میزان آلدگی به آفلاتوکسین بین 25 تا 50 نانوگرم در گرم (میانگین $39/16$ نانوگرم در گرم) بود (Kazemi, 1999). شادمانی (۱۳۸۴) نیز نشان داد که میانگین میزان آفلاتوکسین₁ B_2 ،

داده و به مدت ۱۰-۵ دقیقه سر و ته گردید. مخلوط حاصل، به مدت ۱۰ دقیقه و در $2000\times g$ سانتریفوژ شد و سپس لایه زیری صاف گردید. یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده به میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری منتقل گردید و در آون تحت خلا در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملاً تبخیر گردد.

با قیمانده در یک میلی‌لیتر بافر رقیق‌سازی استاندارد حل شد. سپس یک میلی‌لیتر هنگزان نرمال به آن اضافه شد و یک دقیقه ورتكس گردید و به مدت ۱۰ دقیقه و در $2000\times g$ سانتریفوژ شد.

۵۰ میکرو‌لیتر از لایه زیرین برای آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت. باید توجه داشت که بعضی ماتریس‌ها به چندین بار چربی‌زدایی نیاز دارند (EuroProxima Aflatoxin B₁, 2011).

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین نمونه‌ها به روش الایزا

مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، میزان آفلاتوکسین B₁ نمونه‌ها سنجش گردید (EuroProxima Aflatoxin B₁, 2011). ابتدا ۱۰۰ میکرو‌لیتر بافر رقیق‌سازی استاندارد در دوتکرار به چاهک‌های A₁ و A₂ (بلانک) اضافه شد.

سپس به ترتیب ۵۰ میکرو‌لیتر از محلول‌های استاندارد آفلاتوکسین B₁ و نمونه‌های استخراجی مرحله قبل در دو تکرار به چاهک‌های میکروپلیت افزوده شد. در مرحله بعد به ترتیب ۲۵ میکرو‌لیتر محلول کونتروگه و ۲۵ میکرو‌لیتر محلول آنتی‌بادی به همه چاهک‌ها به جز چاهک‌های مربوط به بلانک اضافه شد و میکروپلیت پس از دربندی و چند ثانیه تکان دادن، به مدت یک ساعت در جای تاریک و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد.

بعد از یک ساعت محلول موجود در میکروپلیت تخلیه و ۳ مرتبه با بافر بوسیله‌ی دستگاه الایزا وشر (بیوتک مدل Elx50، آلمان) شستشو شد. سپس ۱۰۰ میکرو‌لیتر محلول سوبسترا به همه‌ی چاهک‌ها ریخته شد و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه گذاری گردید و در نهایت پس از افزودن ۱۰۰ میکرو‌لیتر محلول بازدارنده به تمام چاهک‌ها، بلا فاصله میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر بوسیله‌ی الایزا ریدر (بیوتک مدل Elx808، آلمان) قرائت شد. با تغیریق میزان جذب استانداردها و نمونه‌ها از جذب محلول بلانک و تقسیم آن به میزان جذب استاندارد صفر، ضرب در ۱۰۰، درصد جذب حاصل شد. بر اساس درصد جذب محلول‌های استاندارد و غلظت آفلاتوکسین B₁ موجود در آن‌ها، منحنی استاندارد رسم گردید و بر

شیر پایین (کمتر از ۲۰۰۰ کیلوگرم) تقسیم‌بندی شدن و سپس ۱۰ درصد از گاوداری‌های هر خوش بصورت تصادفی جهت نمونه‌برداری انتخاب شدن (Zar, 1999; Lichon, 1996) و نمونه‌برداری از آن‌ها ۲ بار در سال در فصول گرم (اول خرداد تا آخر تیر) و سرد (اول آذر تا آخر ISIRI 12004، 2008). مطابق استاندارد ملی شماره ۱۲۰۰۴ انجام شد ().

در هر گاوداری علاوه بر مخلوط کل خوراک دام (خوراکی که آمده‌ی مصرف به وسیله‌ی دام می‌باشد)، از مهمترین اقلام خوراک (ذرت سیلوشده، ذرت دانه‌ای، یونجه خشک، کنجاله پنبه دانه، پنبه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کسانتره، تفاله چغندرقند و کاه) نیز نمونه‌برداری شد.

نمونه‌های خوراک دام را در بسته‌های زیپ کیپ استریل قرار داده و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای ۱۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آمده‌سازی و عصاره‌گیری از نمونه‌های خوراک دام

۱- اقلام خوراک دام بدون چربی

حدود ۵۰-۱۰۰ گرم نمونه‌ی خوراک دام، با استفاده از آسیاب چکشی و سایشی (شرکت Gelen Creston، انگلستان)، آسیاب و ساییده شده تا یک ترکیب هموژن نرم بدست آید. سپس ۳ گرم از نمونه‌ی فوق الذکر در یک لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری توزین و ۹ میلی‌لیتر متابول ۸۰ درصد به آن اضافه شد.

مخلوط فوق در دمای محیط چند دقیقه کاملاً تکان داده شد، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در $2000\times g$ سانتریفوژ شد. ۵۰ میکرو‌لیتر از محلول شفاف رویی با ۱۵۰ میکرو‌لیتر بافر رقیق‌سازی حاوی ۲۰ درصد متابول، رقیق‌سازی شد. سپس ۵۰ میکرو‌لیتر از محلول شفاف رویی رقیق‌شده برای آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت (EuroProxima Aflatoxin B₁, 2011).

۲- اقلام خوراک دام دارای چربی

حدود ۵۰-۱۰۰ گرم نمونه‌ی خوراک دام، با استفاده از آسیاب چکشی و سایشی (شرکت Gelen Creston، انگلستان)، آسیاب و ساییده شده تا یک ترکیب هموژن نرم بدست آید. سپس ۱ گرم از نمونه‌ی آسیاب شده در یک لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری توزین و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطعر به آن اضافه شد و ورتكس گردید.

۱۰ میکرو‌لیتر دی‌کلرومتان نیز به مخلوط فوق اضافه شد و کاملاً تکان

بیشترین میزان آفلاتوکسین₁ در سبوس گندم ($43/84 \pm 8/45$ نانوگرم در گرم) مصرف شده در واحدهای گاوداری با تولید روزانه شیر ۵۰۰۰ کیلوگرم بدست آمد (جدول ۱).

بیشترین میزان آفلاتوکسین₁ در تفاله چغندرقند مصرفی در واحدهای گاوداری با تولید روزانه شیر بیشتر از ۱۰۰۰ و $10000 - 5000$ کیلوگرم و کمترین میزان آفلاتوکسین₁ در کاه مصرف شده در واحدهای گاوداری با میزان تولید روزانه شیر $5000 - 2000$ کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۱).

میزان آفلاتوکسین₁ در اقلام غذایی خوراک دام (جز خوراک کامل دام) در فضول سرد بیشتر از فضول گرم سنجش گردید (جدول ۱). میانگین میزان آفلاتوکسین₁ در خوراک کامل، ذرت سیلو شده، ذرت دانه‌ای، یونجه، کنجاله پنه دانه، پنه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله چغندرقند و کاه در فضول سرد به ترتیب $35/71 \pm 5/23$ ، $48/10 \pm 5/17$ ، $19/82 \pm 3/84$ ، $3/811 \pm 1/100$ ، $3/877 \pm 3/73$ ، $9/86 \pm 5/85$ ، $45/29 \pm 3/92$ ، $38/73 \pm 2/46$ ، $32/03 \pm 1/77$ ، $44/50 \pm 5/03$ و $50/89 \pm 3/26$ در گرم و در فضول گرم به ترتیب $40/58 \pm 5/23$ ، $4/24 \pm 5/17$ ، $2/00 \pm 3/84$ ، $2/33 \pm 3/73$ ، $3/98 \pm 2/46$ ، $1/11 \pm 1/77$ ، $1/475 \pm 1/100$ و $1/85 \pm 1/45$ نانوگرم در گرم به دست آمد (جدول ۱).

میزان آفلاتوکسین₁ خوراک کامل دام تفاوت آماری معنی‌داری ($P < 0.05$) را بین گاوداری‌های با مقادیر مختلف تولید شیر نشان نداد (جدول ۱). در این ارتباط، کمترین میزان آفلاتوکسین₁ ($33/37$ نانوگرم در گرم) موجود در خوراک کامل دام در گاوداری‌های با تولید روزانه بیش از 10000 کیلوگرم و بیشترین میزان آفلاتوکسین₁ ($42/12$ نانوگرم در گرم) در گاوداری‌های با تولید شیر روزانه $5000 - 2000$ کیلوگرم مشاهده شد (جدول ۱).

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، میزان آفلاتوکسین₁ سنجش شده در کنجاله‌های پنه دانه و کانولا، سبوس گندم، تفاله چغندر قند و کاه تفاوت آماری معنی‌داری ($P < 0.05$) را در بین واحدهای گاوداری با میزان تولید شیر روزانه مختلف نشان داد.

اساس درصد جذب هر نمونه، میزان آفلاتوکسین₁ موجود در آن بر حسب نانوگرم در گرم محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این مطالعه، در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و بوسیله نرم افزار آماری PASW نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

پس از آنالیز واریانس، میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha = 0.05$ مقایسه شد و بر اساس آن نمودارها بوسیله نرم افزار Sigma PlotTM نسخه ۱۱ رسم گردید.

نتایج

نتایج حاصل از تعیین میزان آفلاتوکسین₁ در اقلام غذایی خوراک دام (ذرت سیلو شده، ذرت دانه‌ای، یونجه خشک، کنجاله پنه دانه، پنه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله چغندرقند و کاه) جمع آوری شده از گاوداری‌های تحت پوشش رکورددگیری جهاد کشاورزی در سطح استان خراسان رضوی در فضول گرم و سرد در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد میانگین میزان آفلاتوکسین₁ در اقلام غذایی خوراک دام شامل خوراک کامل، ذرت سیلو شده، ذرت دانه‌ای، یونجه، کنجاله پنه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله چغندرقند و کاه به ترتیب $38/15 \pm 5/17$ ، $26/17 \pm 5/17$ ، $18/05 \pm 3/73$ ، $26/65 \pm 3/92$ ، $7/55 \pm 5/85$ ، $10/91 \pm 3/84$ ، $24/22 \pm 5/03$ ، $21/36 \pm 2/46$ ، $16/57 \pm 1/77$ ، $2/64 \pm 1/100$ و $23/54 \pm 1/45$ و $26/15 \pm 3/26$ ، $12/65 \pm 0/71$ نانوگرم در گرم (ppb) می‌باشد.

کمترین میزان آفلاتوکسین₁ ($42/12$ نانوگرم در گرم) موجود در خوراک کامل دام در گاوداری‌های با تولید روزانه بیش از 10000 کیلوگرم و بیشترین میزان آفلاتوکسین₁ ($33/37 \pm 7/41$ نانوگرم در گرم) در گاوداری‌های با تولید شیر روزانه $5000 - 2000$ کیلوگرم وجود دارد (جدول ۱).

بیشترین میزان آفلاتوکسین₁ در کنجاله پنه دانه ($34/70 \pm 5/54$ نانوگرم در گرم) و کنجاله کانولا ($21/22 \pm 3/46$ نانوگرم در گرم) در گاوداری‌های با میزان تولید شیر روزانه بیش از 10000 کیلوگرم و

جدول ۱ - مقایسه بین انواع افق‌نموداری آفلاتوکسین B₁ (نالوگوم در گرم) اقلام خوارک دام

اقلام خوارک دام	گروهندی گاوداری های اساس میزان تولید شیر روزانه (کیلو گرم)	خطای	سطح معنی داری
فصل	گروه فصل	استاندارد	گروه استاندارد
>۱۰۰۰	۳۹/۹۰ ^a	۴۲/۱۱۳ ^a	۳۹/۹۰ ^a
<۱۰۰۰	۳۳/۳۷ ^b	۴۷/۱۷۳ ^a	۴۰/۵۸ ^a
۰/۵۱۷	۳۷/۱۷ ^a	۵/۳۳۰	۳۵/۷۱ ^a
۰/۵۱۷	۳۷/۱۷ ^a	۵/۳۳۰	۴۰/۵۸ ^a
۰/۳۵۸	۳۸/۰	۵/۱۶۶	۴/۱۱۰ ^b
۰/۳۸	۳۸/۰	۵/۱۶۶	۴/۱۲۴ ^a
۰/۱۰۰۱	۰/۱۰۰۱	۷/۳۰۴	۷/۳۰۴
۰/۱۰۰۰	۰/۱۰۰۰	۷/۳۰۴	۷/۳۰۴
۰/۱۵۹۴	۰/۱۰۰۴	۴/۱۸۶۵	۴/۱۸۶۵
۰/۱۵۹۴	۰/۱۰۰۴	۷/۱۰۰ ^a	۷/۱۰۰ ^a
۰/۰۸۰۸	۰/۰۰۰۱	۷/۱۱۸	۷/۱۱۸
۰/۰۸۰۸	۰/۰۰۰۱	۷/۱۱۸	۷/۱۱۸
۰/۰۶۸۵	۰/۰۶۸۵	۳/۷۳۵	۳/۷۳۵
۰/۰۶۸۵	۰/۰۶۸۵	۳/۷۳۵	۲/۱۳۳ ^a
۰/۰۶۳	۰/۰۰۰۱	۳/۹۱۵	۴/۰۲۹ ^b
۰/۰۶۳	۰/۰۰۰۱	۳/۹۱۵	۸/۰۰ ^a
۰/۰۶۵۳	۰/۰۶۵۳	۵/۱۸۴۶	۵/۱۳۳ ^a
۰/۰۶۵۳	۰/۰۶۵۳	۵/۱۸۴۶	۹/۳۱۵
۰/۰۶۸۴	۰/۰۶۸۴	۵/۱۳۳ ^a	۰/۱۰۰ ^a
۰/۰۶۸۴	۰/۰۶۸۴	۵/۱۳۳ ^a	۲/۱۳۳ ^a
۰/۰۸۴۱	۰/۰۱۲۸	۰/۴۱۷	۱/۱۰۳
۰/۰۸۴۱	۰/۰۱۲۸	۰/۴۱۷	۱/۱۰۳
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۳/۱۸۱۱ ^a	۱/۱۵۳ ^a
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۳/۱۸۱۱ ^a	۱/۱۵۳ ^a
۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۱/۱۱۱ ^a	۱/۱۱۱ ^a
۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۱/۱۱۱ ^a	۱/۱۱۱ ^a
۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۳/۲۰۳ ^b	۳/۲۰۳ ^b
۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۳/۲۰۳ ^b	۱/۱۱۱ ^a
۰/۰۱۶۳	۰/۰۱۶۳	۰/۲۸۷	۰/۲۸۷
۰/۰۱۶۳	۰/۰۱۶۳	۰/۲۸۷	۰/۲۸۷
۰/۰۹۳۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۴	۰/۰۲۸ ^b
۰/۰۹۳۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۴	۰/۰۲۸ ^b
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۸ ^b	۰/۰۲۸ ^b
سبوس گندم	سبوس گندم	۱۳/۱۵۳ ^a	۱۳/۱۵۳ ^a
کسانتره	کسانتره	۱۱/۸۹ ^b	۱۱/۸۹ ^b
تغله چمن‌قرنده	تغله چمن‌قرنده	۰/۰۵ ^a	۰/۰۵ ^a
کاه	کاه	۲/۶۹ ^a	۲/۶۹ ^a
۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۱/۱۸۵ ^a	۱/۱۸۵ ^a
۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۴/۵۲۳۳ ^b	۴/۵۲۳۳ ^b
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۱/۱۸۵ ^a	۱/۱۸۵ ^a

* ردیف‌های با حداکثر یک حرف غیر مشترک در سطح آماری درصد تفاوت آماری معنی داری با یکدیگر دارند.



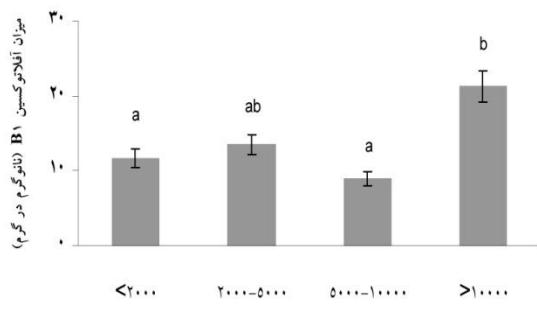
تعیین میزان آفلاتوکسین B_1 در برخی از اقلام

تفاله چند رقمی مصرفی در واحدهای گاوداری با تولید روزانه شیر بیشتر از ۱۰۰۰ و $1000-5000$ کیلوگرم بدست آمد که بطور معنی داری ($P<0.05$) بیشتر از این میزان در واحدهای گاوداری با تولید روزانه $2000-5000$ کیلوگرم (نحوه 0.052 نانوگرم در گرم) و کمتر از 2000 کیلوگرم (نحوه 20.6 نانوگرم در گرم) بود (شکل ۵).

کمترین میزان آفلاتوکسین B_1 (نحوه $2/69$ نانوگرم در گرم) در کاه مصرف شده در واحدهای گاوداری با میزان تولید روزانه شیر $2000-5000$ کیلوگرم مشاهده شد که تفاوت معنی داری ($P<0.05$) را با این میزان سم در بقیه واحدهای تولیدی ($18/53-24/37$ نانوگرم در گرم) نشان داد (شکل ۶).

میزان آفلاتوکسین B_1 خواراک کامل دام در فصول سرد ($35/71$) نانوگرم در گرم) و گرم ($40/58$ نانوگرم در گرم) تفاوت آماری معنی داری را با یکدیگر نشان نداد ($P>0.05$ ، هر چند که مقدار آن در فصل تابستان از نظر عددی بیشتر بود (جدول ۱).

میزان آفلاتوکسین B_1 موجود در تمام اقلام غذایی در فصل زمستان بیشتر از تابستان سنجش گردید (شکل ۷) که علت آن می تواند در دسترس نبودن علوفه تازه و همچنین استفاده از علوفه انبار شده و عدم رعایت شرایط نگهداری مناسب در انبارها باشد.



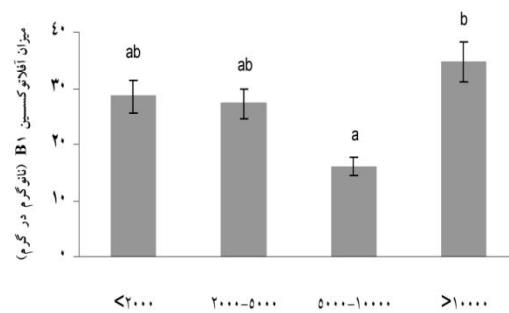
شکل ۲- میزان آفلاتوکسین B_1 در کنجاله کانولا

بیشترین میزان آفلاتوکسین B_1 در کنجاله پنه دانه (نحوه $34/70$ نانوگرم در گرم) در گاوداری های با میزان تولید روزانه شیر بیش از 10000 کیلوگرم بدست آمد که تنها با میزان آفلاتوکسین B_1 در کنجاله پنه دانه گاوداری های با میزان تولید روزانه شیر $10000-5000$ کیلوگرم (نحوه $16/07$ نانوگرم در گرم) تفاوت آماری معنی داری ($P<0.05$) را نشان داد (شکل ۱).

بیشترین میزان آفلاتوکسین B_1 در کنجاله کانولا (نحوه $21/22$ نانوگرم در گرم) در گاوداری های با میزان تولید روزانه شیر بیش از 10000 کیلوگرم سنجش گردید که تفاوت آماری معنی داری ($P<0.05$) را با میزان آفلاتوکسین B_1 کنجاله های کانولا مصرف شده در واحدهای گاوداری با میزان تولید روزانه شیر $10000-5000$ کیلوگرم (نحوه $8/91$ نانوگرم در گرم) و کمتر از 2000 کیلوگرم (نحوه $11/66$ نانوگرم در گرم) نشان داد (شکل ۲).

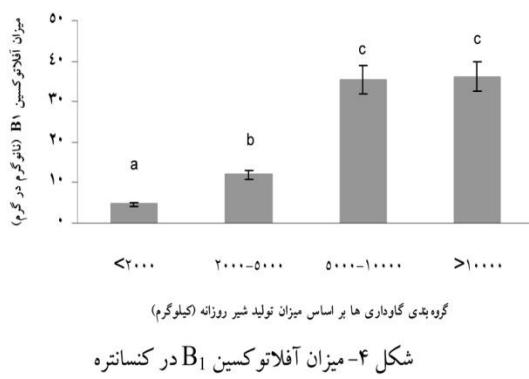
بیشترین میزان آفلاتوکسین B_1 در سبوس گندم (نحوه $43/84$ نانوگرم در گرم) مصرف شده در واحدهای گاوداری با تولید روزانه شیر $10000-5000$ کیلوگرم بدست آمد که بطور معنی داری ($P<0.05$) بیشتر از این میزان در واحدهای گاوداری با تولید روزانه شیر کمتر از 2000 کیلوگرم (نحوه $13/52$ نانوگرم در گرم) بود (شکل ۳).

بیشترین میزان آفلاتوکسین B_1 (نحوه $24/06-27/71$ نانوگرم در گرم) در

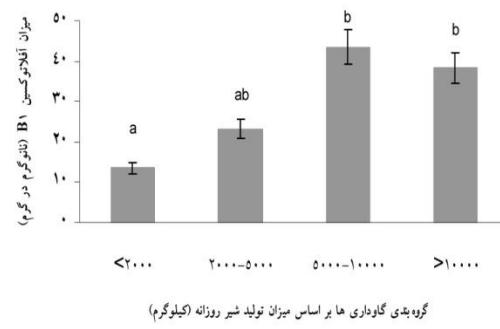


گروه بندی گاوداری ها بر اساس میزان تولید شیر روزانه (کیلوگرم)

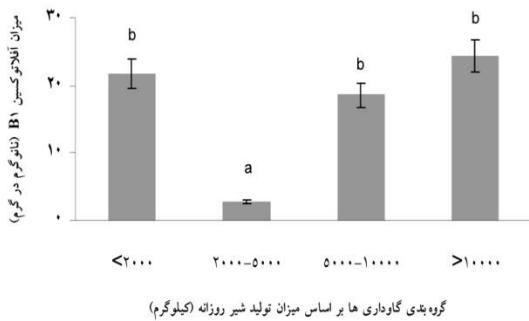
شکل ۱- میزان آفلاتوکسین B_1 در کنجاله پنه دانه



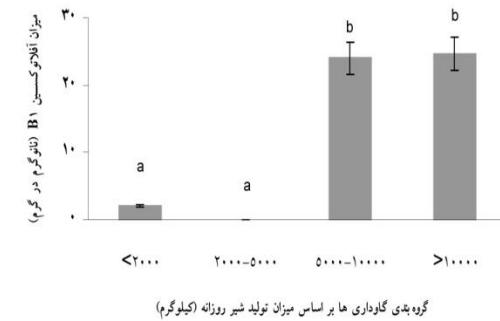
شکل ۴- میزان آفلاتوکسین B1 در کنسانتره



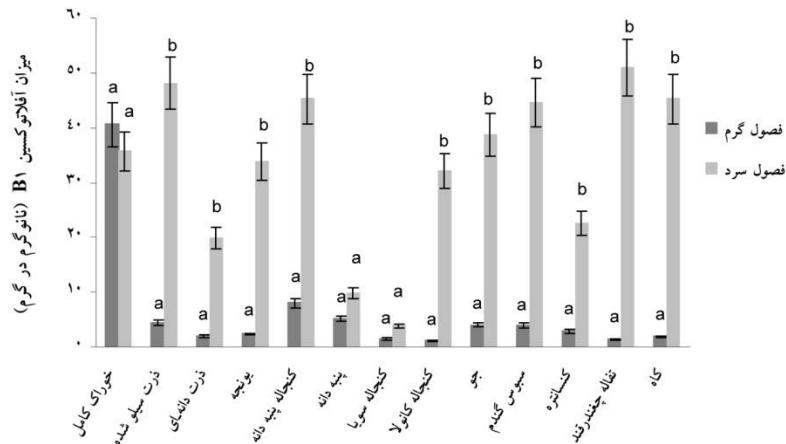
شکل ۳- میزان آفلاتوکسین B1 در سبوس گندم



شکل ۶- میزان آفلاتوکسین B1 در کاه



شکل ۵- میزان آفلاتوکسین B1 در تفاله‌ی چغدرقند



شکل ۷- مقایسه میزان آفلاتوکسین B1 در اقلام خوارک دام در فصول گرم و سرد

بdest آمد، اما نتایج نشان داد که در ۲۱/۸۷ درصد از نمونه‌های خواراک کامل مورد مطالعه میزان آلودگی از حد مجاز بالاتر بود که این امر نیز خود زنگ خطری در مدیریت پایش منظم این سم (و یا سوموم مشابه) در واحدهای تولیدی محسوب می‌شود.

میانگین میزان آفلاتوکسین B1 در ذرت سیلو شده و یونجه به ترتیب

بحث

حداکثر میزان مجاز آفلاتوکسین B1 در خواراک کامل دام طبق استاندارد ملی شماره ۵۹۲۵، ۵۰ نانوگرم در گرم گزارش گردیده است. هر چند، میانگین میزان آفلاتوکسین B1 سنجش شده ۴۲/۱۲-۴۲/۳۷ (۳۳/۳۷) نانوگرم در گرم) در گاوداری‌های مورد بررسی کمتر از حد مجاز

همکاران (۱۳۸۷) می‌باشد (Rahimi et al., 2008). مطالعه‌ای مشابه در این زمینه در گاوداری‌های صنعتی اطراف شیراز حاکی از آن است که بالاترین میزان آلدگی به آفلاتوکسین₁ مربوط به کنجاله پنهانه، ذرت و تفاله چغدرقند بوده است و سطح آلدگی در نمونه‌های جو، پنهانه دانه و ذرت سیلوشده کمتر از حد مجاز گزارش شده است (Abasifar, 2004).

حد بیشینه مجاز آفلاتوکسین₁ در سبوس گندم و کنجاله‌های سویا، آفتابگردان، کانولا و سایر کنجاله‌های دانه‌های روغنی مورد مصرف در ISIRI جیره غذایی گاو شیری، ۵ نانوگرم در گرم گزارش شده است (ISIRI 2002, 5925).

در مجموع با توجه به نتایج سنجش میزان آفلاتوکسین₁ بسته به توانایی جیره نویس در فرمولاسیون جیره غذایی و محدودیت‌های غذایی گاوهای شیری، اگر واحدهای گاوداری با میزان تولید شیر بیش از ۱۰۰۰ کیلوگرم (صنعتی یا نیمه صنعتی) از ترکیب غالب کنجاله‌های پنهانه دانه و سویا (و دیگر ترکیبات با حد زیاد این سم) در جیره غذایی استفاده نمایند، جیره‌های غذایی فرموله شده از لحاظ ایمنی (غذایی و زیستی) در شرایط مطلوبی قرار نخواهد داشت.

با توجه به وضعیت موجود آلدگی خوراک دام به آفلاتوکسین₁ توصیه می‌شود تا شرایط استاندارد جهت انبار خوراک دام رعایت گردد و به دامداران نیز آموزش‌های صحیح جهت نگهداری و انبار مناسب اقلام مختلف خوراک دام داده شود تا از آلدگی قارچی خوراک دام و به تبع آن آلدگی به آفلاتوکسین₁ جلوگیری نموده و سلامت دام و افراد مصرف کننده محصولات دامی تامین گردد (Jouany, 2007).

هر چند که مقدار میزان آفلاتوکسین₁ خوراک کامل دام در فصول گرم (۴۰/۵۸ نانوگرم در گرم) از نظر عددی بیشتر از فصول سرد (۲۵/۷۱ نانوگرم در گرم) بود اما تفاوت آماری معنی‌داری را با یکدیگر نشان نداد ($P < 0.05$).

همچنین میزان آفلاتوکسین₁ موجود در تمام اقلام غذایی در فصول سرد بیشتر از فصول گرم بود که علت آن می‌تواند در دسترس نبودن علوفه تازه و همچنین استفاده از علوفه انبار شده و عدم رعایت شرایط نگهداری مناسب در انبارها باشد. در همین راستا ارسالی و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند از میان ۹۱ نمونه خوراک دام موردن آزمایش در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب ۱۵/۷۸، ۱۵/۷۸ و ۷۵/۵۶ و Ersali et (al., 2008).

۱۷/۵/۱۷ و ۲۶/۰۵/۳ نانوگرم در گرم به دست آمد که بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط جمالی و معینی (۱۳۸۹) طی بررسی وضعیت آلدگی آفلاتوکسین در اقلام خوراک دام گاوداری‌های استان کرمانشاه (۲۲/۱۷ و ۱۱/۳۰ نانوگرم در گرم) می‌باشد (Jamali et al., 2010).

همچنین شادمانی (۱۳۸۴) میانگین میزان آفلاتوکسین در ذرت سیلوشده و یونجه را به ترتیب برابر ۰/۲۸۴ و ۰/۲۳۶ نانوگرم در گرم گزارش نمود که مقادیر بدست آمده از حد مجاز توصیه شده کمتر بود (Shadmani, 2005).

در این تحقیق میانگین میزان آفلاتوکسین₁ در ذرت دانه‌ای به ترتیب در فصول گرم و سرد سال ۱۹/۸۲±۳/۸۴ و ۲۰/۰±۳/۸۴ نانوگرم در گرم می‌باشد که مقدار آن کمتر از میزان گزارش شده بوسیله رحیمی و همکاران (۱۳۸۷) است. آنها میانگین غلظت آفلاتوکسین₁ در ذرت دانه‌ای را به ترتیب دز فصل تابستان و زمستان، ۱۶/۶۳ و ۳۷/۳۲ نانوگرم در گرم به دست آوردند (Rahimi et al., 2008).

در همین زمینه راستی اردکانی و همکاران (۱۳۷۶) در بررسی سطح آلدگی ذرت وارداتی و داخلی انبارهای مرکزی علوفه اصفهان نشان داند که آلدگی نمونه‌ها به آفلاتوکسین₁ در محدوده ۰-۹/۹ نانوگرم در گرم بوده است (Rasti Ardakani et al., 1997).

همچنین میانگین میزان آفلاتوکسین₁ در کنجاله پنهانه دانه ۲۶/۶۵±۳/۹۲ نانوگرم در گرم به دست آمد که هرچند کمتر میزان گزارش شده توسط رحیمی و همکاران (۳۷/۴۴ نانوگرم در گرم)، کاظمی (۳۹/۱۶ نانوگرم در گرم) و رضوی دهکردی (۴۶ نانوگرم در گرم) می‌باشد (Rahimi et al., 2008; Kazemi, 1999; Razavi Dehkordi, 1965). اما با توجه به اینکه حد بیشینه مجاز آفلاتوکسین₁ در کنجاله پنهانه دانه، ۱۵ نانوگرم در گرم است (ISIRI 2002, 5925) نتایج بدست آمده از این مطالعات با نتایج حاصل از تحقیق حاضر همخوانی دارد و مقادیر بدست آمده به مراتب بیشتر از مقدار توصیه شده می‌باشد.

میزان آفلاتوکسین₁ در سایر اقلام غذایی خوراک دام شامل پنهانه دانه، کنجاله سویا، کنجاله کانولا، جو، سبوس گندم، کنسانتره، تفاله، چغدرقند و کاه به ترتیب ۷/۵۵±۵/۸۵، ۲/۶۴±۱/۰۰، ۱۶/۵۷±۱/۷۷، ۲/۶۴±۱/۰۰، ۱۲/۶۵±۰/۷۱، ۲۴/۲۲±۵/۰۳ و ۲۶/۱۵±۳/۲۶ نانوگرم در گرم مشاهده شد که میزان آلدگی جو و سبوس گندم بسیار بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط رحیمی و

- Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz.
- Agag, B.I. (2004). Mycotoxins in Foods and Feeds: 1-Aflatoxins. *Auces. Ass. Univ. Bull. Environ. Res*, 7(1):173-206.
- Agag, B.I. (2005). Mycotoxins in Foods and Feeds: 4-Fumonisins. *Auces. Ass. Univ. Bull. Environ. Res*, 8(1):115-140.
- Ammida, H.S.N., Micheil, L. and Palleschi, G. (2004). Electrochemical immunosensor for determination of aflatoxin B1 in barley. *Analytica Chimica Acta*, 520(1-2):159-164.
- Bahri, S. (1998). Aflatoxin problems in poultry feed and its raw materials in Indonesia. *Media Veteriner*, 5(2):7-13.
- Choudhary, A.K. and Kumari, P. (2010). Management of mycotoxins contamination in preharvest and post harvest crops: Present status and future prospects. *Journal of Phytology*, 2(7):37-52.
- Dimitrokallis, V., Meimarglou, D.M. and Markaki, P. (2009). Study of the Effect of Methyl Jasmonate Concentration on Aflatoxin B₁ Biosynthesis by Aspergillus parasiticus in Yeast Extract SucroseMedium. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Microbiology*. Article ID 842626, 7 pages.
- Ersali, A., Grigoran, K., Bahi-Aldini, F., Ghasemi, R. and Ersali, M. (2008). Transition of Aflatoxin from Feedstuff to Animal Milk and Pasteurized Milk in Shiraz City and Suburbs (South Iran). *Iranian Journal of Toxicology*, 2(1):161-168.
- EuroProxima Aflatoxin B₁. 2011. A Competitive enzyme immunoassay for quantitative analysis of aflatoxin B1 in food and feed samples, Art. No: AFB5121 EuroProxima B.V., Arnhem, Netherlands, www.europroxima.com.
- Haubrige, E., Chasseur, C., Suetens, C., Mathieu, F., Begaux, F. and Malaisse, F. (2003). Mycotoxins in Stored Barley (*Hordeum vulgare*) in Tibet Autonomous Region (People's Republic of China). *Mountain Research and Development*, 23(3):284-287.

همچنین در تحقیق دیگری رحیمی و همکاران (۱۳۸۷) گزارش نمودند که میانگین سطح آلدگی آفلاتوکسین B₁ در اقلام خوراک دام در فصل زمستان به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از فصل تابستان بود (Rahimi et al., 2008).

از آنجایی که عوامل بسیار زیادی مثل دما، رطوبت محیط نگهداری، pH، ترکیب اقلام غذایی، میزان آسیب وارد شده در زمان برداشت، فرآوری و نگهداری محصولات کشاورزی و سایر عوامل در رشد، فارچها و تولید آفلاتوکسین در خوراک دام نقش قابل توجهی دارند، لذا حضور آفلاتوکسین، غلظت و حد آلدگی محصولات کشاورزی از محلی تا محل دیگر، از سال زراعی تا سال زراعی دیگر، از یک گاوداری تا گاوداری دیگر و از رقمی از محصول تا رقم دیگر کاملاً متفاوت است. از طرفی، اگر چه آفلاتوکسین‌ها اصولاً به عنوان یک مشکل بعد از برداشت محصول و ناشی از نگهداری نامناسب در مزرعه مدنظر هستند، اما آلدگی محصولات به مایکروکسین‌ها در خلال رشد فعال گیاه در مزرعه نیز اتفاق می‌افتد (Pitet, 1998) و در این زمینه، مقایسه نتایج بدست آمده از مطالعات مختلف، تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج مطالعات فوق، بایستی اقدام به برنامه‌ریزی مدونی برای شناسایی فارچ‌های موجود در جیره‌های مختلف دامی در مراکز تولید نمود و پس از شناسایی فارچ‌های توکسین‌زا و توکسین‌های حاصله، برنامه و دستورالعمل‌هایی را جهت کنترل فارچ‌های مذکور در جیره‌های غذایی دام تدوین کرد. آلدگی بالای اقلام مختلف خوراک دام به گونه‌های مختلف فارچی نیازمند مراقبت صحیح و نظارت بهداشتی جهت جلوگیری از آلدگی‌های فارچی و توکسین‌های فارچی دارد.

تشکر و قدردانی

نگارنده‌گان مقاله مراتب سپاس خود را از مدیریت محترم امور دام سازمان جهاد کشاورزی خراسان رضوی و کارشناسان این سازمان به خاطر زحمات بی‌دریغ در هماهنگی‌های لازم جهت نمونه‌برداری از گاوداری‌های استان خراسان رضوی ابراز می‌نمایند.

منابع

- Abasifar, A. (2004). Study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and aflatoxin B₁ in dairy cattle's feed of industrial dairy farms in Shiraz. D.V.M. thesis, Department of Food hygiene,

- Holzapfel, C.W. and steyn, P.S. (1996). Isolation and structure of aflatoxins M₁ and M₂. *Tetrahedron letters*, 25:2799-2803.
- ISIRI. (2002). Food and Feed- Mycotoxin-Maximum tolerated level. ISIRI No. 5925. 1st. Edition.
- ISIRI. (2008). Foods and agricultural products - Method of sampling for official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. ISIRI No. 12004. 1st. Edition.
- Jamali Emam Ghedis, N. and Moeini, M.M. (2010). Aflatoxin contamination occurrence in milk and feed in Kermanshah dairy farms by ELISA technique. *Veterinary Journal*, 87:25-31.
- Jelinek, C. F., Pohland, A. E. and Wood, G. W. (1989). Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds an update. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 72:223-230.
- Jindal, N., Mahipal, S.K. and Mahajan, N.K. (1993). Occurrence of aflatoxin in compound poultry feeds in Haryana and effect of different storage conditions on its production on its production. *Indian Journal of Animal Science*, 63:71-73.
- Jouany, J.P. (2007). Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins on feed. *Animal Feed Science and Technology*, 137:342-362.
- Kazemi, A.R. (1999). Aflatoxin contamination of cottonseed meal consumption in the industrial farms of Isfahan Province. D.V.M. thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Azad University of Shahrood Branch.
- Lichon, M.J. (1996). Sample preparation. In: Nollet, L.M.L. (Ed.), *Handbook of Food Analysis*. Volume 1. Marcel Dekker. New York. pp:1-19.
- Miahi, M., Razi Jalali, M. and Salamat, N. (2007). Isolation of Aspergillus and aflatoxin determination in fish meal, corn and soybean meal. *Journal of Science, Shahid Chamran University*, 17(part B):95-105.
- Michael, Z., Zheng, J., Richard, L. and Binder, J. (2006). A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161:261-273.
- Pitet, A. (1998). Natural occurrence of mycotoxins in feeds and feeds an updated review. *Revue de Medicine Veterinarian*, 149: 479-492.
- Purworko, H.M., Hald, B., and Wolsterup, J. (1991). Aflatoxin content and number of fungi in poultry feedstuffs from Indonesia. *Letter of Applied Microbiology*, 12:212-215.
- Rahimi, E., Kargar, A.R. and Zamani, F. (2008). Assessment of aflatoxin B₁ levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal & Bakhtiari. *Pajouhsh & Sazandegi*, 79:66-71.
- Rasti Ardakani, M., Samadi, A., Ghorbani, G. and Rasti Ardakani, J. (1997). Determination of aflatoxin B₁ contamination of corn silage in central storage of Isfahan Province. Proceeding of the First International Congress of Asia-Pacific Association of Medical Toxicology and the Fifth Iranian Congress of Toxicology and Poisonings, 27-30 Sep, 1997, Tehran, Iran.
- Razavi Dehkordi, M. (1965). Search and determination the amount of aflatoxin in cottonseed and cottonseed meal after oil press. Phd thesis of Pharmacy, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences.
- Ruiqian, L. Qian, Y. Thanaboripat, D. and Thansukon, P. (2004). Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *KMITL Science and Technology Journal*, 4(1):1-9.
- Shadmani, H. (2005). Detection of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ and total contamination and fungal flora of animal feeds in the dairy farms of Tehran province. MSc Thesis, Islamic Azad University of Saveh Branch, Department of Agriculture, Department of Animal Science.
- Shetty, S.N., Asuzu, I.U. and Anika, S.M. (1987). Aflatoxin contamination of animal feedstuffs in Arambra Satate. *Tropical Veterinary Journal*, 5:21-25.



- Tabuc, C., Taranu, L. and Calin, L. (2011). Survey of moulds and mycotoxin contamination of cereals in South-Eastern Romania in 2008-2010. *Archiva Zootechnica*, 14(4):25-38.
- Tayebi, J. and Abol-Fathi, M. (2001). Some corn hybrids infected with aflatoxins B1, B2 and productive mushroom farm. *Applied Entomology and Phytopathology*, 69(2):79-84.
- Yazdanpanah, H. (2006). Mycotoxin Contamination of Foodstuffs and Feedstuffs in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 1:9-16.
- Yiannikouris, A. and Jouany, J.P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *INRA, EDP Sciences. Anim. Res*, 51:81-99.
- Zaghini, A., Sardi, L., Altafini, A., Rizzi, L. (2005). Residues of aflatoxin B₁ and M₁ in different biological matrices of swine orally administered aflatoxin B₁ and *Saccharomyces cerevisiae*. *Ital. J. Anim. Sci*, 4(2):488-490.
- Zar, J.H. (1999). Biostatistical Analysis. New Jersey, USA. Prentice-Hall, Inc

▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪ ▪