

تأثير الأشعة فوق البنفسجية على أعداد البكتريا و بعض أنواع السموم الفطرية في حليب الأبقار

جوان خالد محي خالد * (1) وموفق محمود احمد(1) وغانم محمود حسن (1)

(1) قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل ، العراق.

(*للمراسلة: الدكتور جوان خالد . البريد الالكتروني: Jwan.khaled84@gmail.com)

تاريخ الاستلام: 2022 /03/14 تاريخ القبول: 2022/08/1

الملخص:

هدف البحث إلى دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية بجرعات 23 و 46 و 69 ميلي جول 10^{-1} مل $^{-1}$ وسرعات تمرير الحليب 1 و 2 و 3 لترا دقيقة في أعداد الأحياء المجهرية وبعض أنواع السموم الفطرية في الحليب البقري (3% دهن) والحليب الفرز المبسترين وفي الحليب الخام . استعملت ثلاثة أنواع من الحليب: النوع الأول الحليب الخام الطازج غير المبستر (3% دهن) والنوع الثاني الحليب المبستر (3% دهن) والنوع الثالث الحليب الفرز المبستر تم دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية، فقد تم إضافة كل من سم الافلاتوكسين توكسين B₁ وسم الأوكراتوكسين A إلى كل من الحليب 3% دهن والحليب الفرز بكميات معلومة أيضاً وتم تمريرهما من خلال وحدة الأشعة بجرعة 69 ميلي جول 10^{-1} مل $^{-1}$ فقط وتم تقدير المتبقي من هذه السموم بتقانة الأليزا. بينت النتائج أن الأشعة أدت إلى تحطيم سمي الافلاتوكسين B₁ والاوراتوكسين A بنسبة 66.5 و 71.5%، على التوالي وذلك عندما كانت سرعة تمرير الحليب بمقدار لترا دقيقة في الحليب 3% دهن وان نسبة تحطيم سم الاوراتوكسين A بلغت 83% في الحليب الفرز. أما في الحليب الخام الملوث بصورة طبيعية، فقد أدت الأشعة الفوق البنفسجية إلى خفض كل من سمي الافلاتوكسين M₁ والاوراتوكسين A بنسبة 82 و 77.7%، على التوالي، تحت ظروف التجربة نفسها، ونسب التحطيم هذه هي جيدة جداً إذ أدت إلى خفض كمية السموم إلى الحد المسموح به بالحليب. اما بالنسبة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية في الأحياء المجهرية في الحليب الخام فقد تم التعرف على ثلاثة أنواع رئيسية من البكتريا في حليب الابقار الخام غير المبستر وهذه البكتريا هي S. aureus و L. monocytogenes و E. coli بأعداد $10^5 \times 0.5$ و $10^5 \times 1.0$ و $10^5 \times 2.0$ وحدة تكوين مستعمرة (و.ت.م) / مل، على التوالي. وعند تمرير الحليب في الجهاز بالسرعات الثلاثة تبين في المرحلة الأولى أي باستعمال أشعة فوق بنفسجية بجرعة 23 ميلي جول 10^{-1} مل $^{-1}$ أن بكتريا الليستريا لم تتأثر فكانت النسبة المئوية للقتل صفر في حين أن بكتريا القولون تأثرت بصورة أكبر فوصلت نسبة القتل إلى ما يقرب من

50% وذلك عند تمرير الحليب بسرعة 2 لتراً دقيقة. أما استعمال الأشعة بجرعة 46 ملليجول ثا⁻¹ مل⁻¹ كان التأثير أكبر وبصورة خاصة عند سرعة تمرير لتراً دقيقة إذ وصلت نسبة القتل إلى 100% لأنواع البكتريا الثلاثة بالمقارنة مع سرعات التمرير 2 و 3 لتراً دقيقة التي كان فيها نسبي القتل أقل من جهة أخرى كانت أفضل قوة أشعة في القتل هي قوة 69 ميلي جول التي كانت فيها نسب القتل 100% لأنواع البكتريا الملوثة للحليب.

الكلمات المفتاحية: أشعة فوق بنفسجية، الحليب *E. coli*، *S. aureus*، *L. typhi. monocytogenes* الافلاتوكسين والاوكراتوكسين.

المقدمة :

السموم الفطرية (Mycotoxins) هي السموم الطبيعية التي تنتجها الفطريات بما في ذلك بعض أجناس الأعفان وبصورة خاصة الفطريات الناقصة (*Fungi imperfecti*) ، و السموم الفطرية هي عبارة عن مركبات أيضية ثانوية تنتج من قبل سلالات محددة من الأعفان وهي توجد على فستق الحقل (فول السوداني) والحبوب والذرة والمكسرات وأعلاف الحيوانات نتيجة نمو هذه الأعفان على هذه المحاصيل الزراعية. كما أن هذه السموم ممكن أن تنتقل إلى حليب الماشية كمنتجات أيضية عند تغذية الحيوانات على أعلاف ملوثة بهذه السموم. وهناك عدد كبير جداً من السموم الفطرية تعد جميعها خطراً على صحة الإنسان والحيوان.

ويعد النظام الغذائي الطريق الرئيس الذي يسبب التسمم الذي يتعرض له البشر والحيوانات بسموم الافلاتوكسين ، ويمكن أن يكون التعرض لهذه السموم عند تناول الحليب الملوث بسم الافلاتوكسين M_1 ، وتعتمد قابلية أنواع سموم الافلاتوكسين بشكل رئيسي على أنظمة إزالة السموم من الكبد والتركيب الجيني والعمر والعوامل الغذائية الأخرى (Balina وآخرون، 2018). وقد أشارت العديد من الدراسات إلى وجود علاقة ايجابية بين تلوث الغذاء بسموم الافلاتوكسين وحالات سرطان الكبد في الإنسان والتهاب الكبد الفيروسي B وينتشر سرطان الكبد بدرجة كبيرة في المناطق التي تكون فيها الظروف الجوية وظروف تخزين الأغذية مساعدة على نمو فطر الـ *Aspergillus* (Adebayo-Tayo وآخرون، 2013). وجود سموم الافلاتوكسين في الحليب ومنتجات الألبان : إن مستويات سم الافلاتوكسين M_1 في الحليب ومنتجات الألبان في مختلف البلدان متغيرة. ويمكن أن يكون مرتبطاً بحالة المناخ في كل منطقة جغرافية والاختلافات في نظام تغذية ماشية الألبان لذلك يجب خفض مستوى السم في الحليب من خلال خفض مستويات السموم في الأعلاف الحيوانية ويجب تقييمها بشكل مستمر في كل من الحليب والأعلاف الحيوانية (Giovati وآخرون، 2015).

تجد سموم الافلاتوكسين طريقها إلى الحليب من خلال تلوث أنواع الحبوب كالقمح والذرة والرز وبعض البذور كقول الصويا والفول السوداني وغيرها من تلك التي تدخل في أعلاف الحيوانات، بعد أن تصاب بفطريات الـ *Aspergillus* حينما تتوفر لها درجة الحرارة الدافئة والرطوبة المرتفعة والحموضة المناسبة وتفرز فيها سمومها بتركيز عالية والتي غالباً ما تتجاوز الحد الأقصى المسموح به الذي أقرته المنظمات التي تعنى بالأغذية مثل الـ FAO و WHO لتقليل الآثار الخطيرة للسموم الفطرية على صحة الإنسان والحيوان وحماية الإنسان من خلال تعديل محتوى السموم الفطرية في الطعام والأعلاف (Mohammadi، 2011).

وجد Guo وآخرون (2016) في دراسة لهم للأعوام من 2012 لغاية 2014 على 530 عينة من حليب الأبقار ، أن 52.8% منها ملوثة بسم الافلاتوكسين M1 بمتوسط 0.07 ميكروغرام/كغ وبمدى 0.01-0.2 ميكروغرام/كغ. من ناحية أخرى، فقد وجد Espitia و Diaz (2006) سم الافلاتوكسين M₁ في 241 عينة من الحليب في بوكوتو وكولومبيا وقد بلغت نسبة العينات التي وجد فيها السم 69,2%. كما وجد Shundo وآخرون (2009) سم الافلاتوكسين M₁ في 119 عينة من 125 عينة (95,2%) من الحليب المجفف والمبستر والحليب المعامل بالحرارة بمدى 10-200 نانوغرام/كغ وبمعدل 31 نانوغرام/كغ. كما وجد هذا السم في حليب الأمهات أيضاً، فقد وجد Sadia وآخرون (2012) سم الافلاتوكسين M₁ في 232 عينة من الحليب تم جمعها في ولاية البنجاب في باكستان حيث وجد سم الافلاتوكسين بنسبة 76,3% وبمعدل بلغ 0,252 ملغم/لتر. كما دلت دراسة أخرى في نيجيريا للباحثين Anthony وآخرون (2016) على وجود سم الافلاتوكسين M1 في حليب الأمهات بنسبة تلوث 77% من العينات (50 عينة) وبمدى 0.001-0.601 ميكروغرام/كغ.

أما بالنسبة لمنتجات الألبان، فإن هذا السم يوجد في منتجات الألبان المختلفة، فقد وجد في الأجبان المختلفة واللبن والحليب المجفف وغيرها. إن تلوث الجبن بسموم الافلاتوكسين يمكن أن يعزى إلى ثلاث أسباب محتملة: السبب الأول هو وجود سم الافلاتوكسين IM في الحليب الخام نتيجة تلوث الأعلاف بسم الافلاتوكسين B1 ، والسبب الثاني هو تكوين نمو الفطريات على الجبن ومن ثم تكوين سموم الافلاتوكسين المختلفة وأيضاً بعض أنواع السموم الفطرية الأخرى وبصورة خاصة في الأجبان ذات المحتوى المنخفض من الكربوهيدرات. أو قد يرجع السبب إلى استعمال الحليب المجفف الملوث بسم الافلاتوكسين M1 لذلك يراعى عدم زيادة تركيز السم في الحليب للحد الأقصى المسموح به وهو 0.05 ملغم/كغ حليب واستخدام برامج السيطرة والمراقبة الصحية.

تؤثر العمليات الأخرى لتصنيع منتجات الألبان في ثباتية سم الافلاتوكسين فقد وجد أن عملية تحويل القشدة إلى زبد قد أدت إلى التخلص من قسم من هذه السموم إذ إنها تزال مع الحليب الخض والماء المستخدم في غسيل الزبد، أما في الحليب المجفف فإن هذه السموم تقاوم حرارة التجفيف إلا أن مستواها يقل إلى حد ما أثناء التجفيف. وتعد هذه السموم مستقرة نسبياً في عمليات البسترة وتبقى موجودة في المنتج النهائي وتظهر سميتها على الإنسان عند تناول المنتجات الملوثة بها (Bakirci، 2001).

وبسبب خطورة هذه السموم على الإنسان فقد وضعت العديد من الدول قوانين صارمة لتحديد التراكيز المسموح بها لوجود السموم الفطرية في الحليب ومنتجاته واعتبر التركيز 0.05 ميكروغرام/ كغ (0.5 جزء بالليون) هو المسموح بوجوده كحد أقصى في الحليب (Pennington، 2012).

سموم الاوكراتوكسين (Ochratoxins) وهي من السموم الفطرية التي ينتجها جنسان رئيسيان من الفطريات هما *Aspergillus* مثل *A. Niger* و *A. Ochraceus* و *Penicillium* مثل *P. verrucosum*. هناك ثلاثة من سموم الاوكراتوكسينوهي A و B و C تختلف قليلاً من الناحية الهيكلية عن بعضها البعض، إذ إن سم الاوكراتوكسين A مكلور وهو الأكثر سمية ويليهما سم الاوكراتوكسين B وفيه يستبدل الكلوريد بذرة هيدروجين في جزء الكومارين وهو أقل سمية في حين أن سم الاوكراتوكسين C يحتوي على جزيئة الأثيلين وهو ذات سمية ضئيلة أو معدومة (Dietrich و O'Brien، 2005). وهو يسبب الفشل الكلوي كما إنه يؤثر في تمثيل الكربوهيدرات ويؤثر في صحة الإنسان عن طريق تأثيره في الكلى

إذ يسبب التهابات مزمنة كما يؤدي إلى انكماش الكلى وأورام في القناة البولية، كما يُعدّ مسؤولاً عن ظهور الدهون على الكبد (Fatty liver) وتلف خلايا الكبد. وهو جزيء مستقر يمكن أن يبقى بدون تغيير في الغذاء حتى بعد المعاملة الحرارية وقد لوحظ لحوم الحيوانات والدجاج التي التي اعتمدت تغذيتها قبل الذبح على الأعلاف التي احتوت على مستويات منخفضة من السم (Ketney وآخرون، 2017). كما ارتبط سم الاوكراتوكسين A بالسمية المناعية والسمية الجينية والسمية العصبية وأن السمية الكلوية تعد الأكثر سمية، وعلى الرغم من أن سم الاوكراتوكسين A عرضة للتحلل في الكرش، إلا أنه تم العثور عليه في حليب البقر، وقد ذكر أنه يمكن زيادة القدرة المطهرة لسم الافلاتوكسين IB في حالات وجوده مع سم الاوكراتوكسين A في بعض المحاصيل الزراعية (Ostry وآخرون، 2017).

الحدود القصوى المسموح بها من قبل المفوضية الأوروبية (الاتحاد الأوروبي) لسم الاوكراتوكسين A هو 5 نانوغرام/غم في الحبوب الخام و 3.0 نانوغرام/غم في الحبوب المصنعة و 10 نانوغرام/غم في القهوة والفواكه المجففة و 2 ميكروغرام/لتر في النبيذ و 0.5 نانوغرام/غم في أغذية الأطفال القائمة على الحبوب (Duarte وآخرون، 2010).

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في اختزال السموم وخفض نسبتها في الحليب : وجد الباحث Khoori وآخرون (2020) عندما استخدم الأشعة فوق البنفسجية في معالجة الحليب المدعوم ببكتريا *L. acidophilus* ، ان السموم الفطرية من نوع (M1) انخفضت نسبتها 84.61 % بينما انخفضت المجموعة الكلية للسموم الفطرية بنسبة 86.76 % عند استخدام قوة 5 جول / سم² بينما وجد الباحث Kurup وآخرون (2021) أن استخدام الأشعة فوق البنفسجية قلل بشكل معنوي من الأفلاتوكسين في الحليب كامل الدسم بنسبة بالمقارنة مع عينة الحليب الشاهدة ($P < 0.05$) ، ، اذا أدى التعرض الأقصى للأشعة فوق البنفسجية إلى خفض تركيزات 1AFB و 1AFM إلى 78.2 % عند 836 ميلي جول / سم و 65.7 % عند 857 ميلي جول / سم 2 على التوالي .

بينما في دراسة أخرى على الماء النقي للباحث Stanley وآخرون (2020) تم رفع التركيز المعروفة للأفلاتوكسينات في الماء وتم تعريضها للإشعاع بجرعات UV-A تتراوح من 0 إلى 1200 ميلي جول / سم² انخفض تركيز الافلاتوكسينات بشكل كبير في الماء النقي بالمقارنة مع عينة الشاهد ، بجرعة 1200 ميلي جول / سم 2 ، اذا أدى التعرض الى أشعة ال UV إلى خفض تركيزات الافلاتوكسينات AFB1 و AFM1 بنسبة 70 و 84 % على التوالي . بين الباحثون Ward وآخرون (2019) انه عند استخدام سلسلة من جرعات الأشعة فوق البنفسجية بقوة (0-168.33 ميلي جول / سم²) فقد وجد انخفاض نسبة السموم لأكثر من 5 لوغاريتمات .

وجد الباحثان Hussein و Hassan (2017) في دراسة على الحليب المعلب المبستر للتأكد من وجود الافلاتوكسين من نوع M1 اذ جمعت 25 عينة من الحليب المعلب المبستر بشكل عشوائي من بعض الأسواق المحلية العراقية وتم فحصها بتقنية أليزا . اذ تم العثور على السموم في 21 عينة ، بتركيز (0.25-50 جزء في البليون) . تم استخدام الأشعة فوق البنفسجية (طول موجة 365 نانومتر) لإزالة السموم الافلاتوكسين توكسين 1M من العينة ذات التركيز الأعلى (50 جزء بالبليون) من الافلاتوكسين M1 في حجمين مختلفين (25 و 50 مل) لوقتتين مختلفين (15 و 30 دقيقة) وبمسافة 30 ، 60 ، 90 سم بين المصباح والحليب . أظهرت النتائج ان المسافة بين المصباح وطبقة الحليب كان العامل الأكثر فعالية في تقليل الافلاتوكسين M1 اذ انخفضت بحدود 73% من تركيزها اعتماداً على سرعة التدفق والطبقة المعرضة للإشعاع

وبين الباحثون Jin وآخرون (2016) عند تعريض وتمير زيت فول الصويا من خلال جهاز الأشعة فوق البنفسجية أدى إلى إزالة 96% من اصل 128 جزءاً من البليون عند تعرضه لطول موجي 365 nm لمدة 30 دقيقة .

مواد البحث وطرائقه:

عينات الحليب: أستخدم نوعين من الحليب: النوع الأول حليب ذو (3% دهن) والنوع الثاني حليب خام فرز. تم الحصول على الحليب الخام من حقول تربية الأبقار في منطقة زاخو (من عدة حقول في مراعي منطقة شينافا) وبصورة مباشرة من الحيوانات بعد 15 يوماً من الولادة وتم جمع العينات ما بين الساعة السابعة والتاسعة صباحاً وقد أخذ قرابة 20 لتراً في كل عملية اختبار على الحليب ووضعت في علب معقمة مسبقاً بعد ذلك وضعت العينات في الصندوق مبرد الذي احتوى على مسحوق الثلج ونقلت مباشرة إلى المختبر وحفظت بالتبريد على درجة حرارة 4 م⁺ (الثلاجة) لحين إجراء الاختبارات عليها بمدة زمنية 1-2 ساعة. وقد حضر الحليب الفرز وذلك بفرز الحليب الخام بوساطة الفراز وتم تبريده لحين الإستعمال.

تقدير السموم الفطرية (سموم الافلاتوكسين والأوكراتوكسين) : تم تقدير كمية السموم الفطرية أستخدم طريقة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) Enzyme-Linked Immuno Sorbant Assay باستعمال طاقم قياس سموم الافلاتوكسين والاوركاتوكسين الكلي الذين تم الحصول عليهما من شركة Veratox Neogen الأمريكية. وقد استعمل جهاز الأيلايزا من نوع سندويتش (Sandwich ELISA Protocol) نموذج (Pathscan signal Nodes Multi-Target Sandwich) (7272 ELISA). واتبعت تعليمات الشركة في طريقة العمل والحسابات.

تقدير اعداد البكتريا

قدرت أعداد بكتريا المكورات العنقوديات الذهبية في مل واحد من عينات الحليب قبل وبعد المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية بطريقة الأطباق المصبوبة المذكورة في FDA (2001)،

اذ انتخبت 3 إلى 4 من المستعمرات النامية على الوسط الغذائي اغار المانيتول المشابهة في صفاتها لبكتريا Staphylococcus aureus وزرعت بطريقة التخطيط (Streak) على الوسط نفسه لغرض تنقيتها والحصول على مستعمرات منفردة نقية ونقلت مستعمرة منفردة وزرعت بطريقة التخطيط في أنابيب احتوت على وسط الحفظ أغار تريبيتكاز صويا (Trypticase soy agar) المائل ثم حضنت الأنابيب على درجة حرارة 37م⁺ لمدة 24 ساعة ثم حفظت بالثلاجة على درجة حرارة 4 م⁺ لحين استخدام . اما اعداد بكتريا الليستيريا فقد قدرت وفقاً لما ذكره Schoder وآخرون (2011). في حين قدرت اعداد بكتريا القولون بطريقة العد بالأطباق المصبوبة والمذكورة وفق الطريقة المبينة في AOAC (2000).

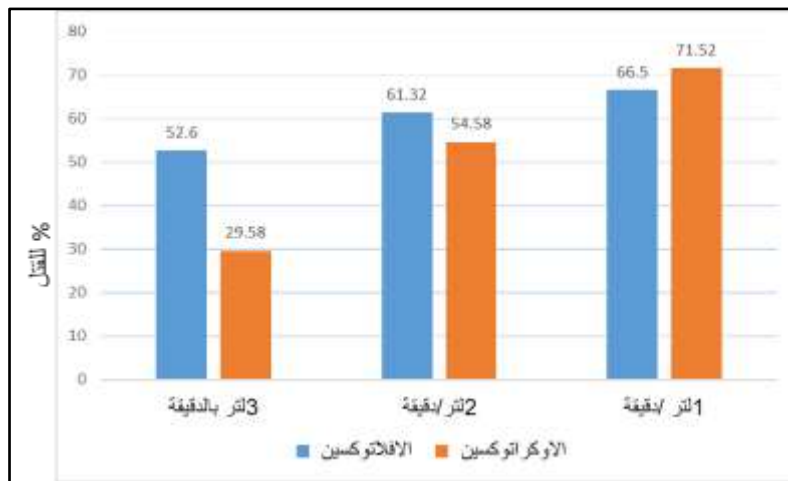
النتائج والمناقشة:

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في حليب الأبقار:

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في الحليب المبستر (3% دهن):

يظهر في الشكل (1) تأثير الأشعة فوق البنفسجية (48 واط) في تحطيم سم الافلاتوكسين B₁ بكمية 23.4 جزء بالبليون (ppb) وسم الاوكراتوكسين A بكمية 7.2 ppb المضافين كلاً على حدة إلى الحليب الطازج المبستر (3% دهن). يلاحظ من النتائج أن الأشعة فوق البنفسجية قد أدت إلى تحطيم سم الافلاتوكسين B₁ بنسبة 52.6 % عندما كانت سرعة تمرير الحليب في الجهاز 3 لتر/دقيقة وزادت النسبة المئوية للتحطيم كلما قلت سرعة التمرير ووصلت نسبة التحطيم الى 66.5

% عندما قلت سرعة تمرير الحليب إلى 1 لتر/دقيقة وكذلك الحال مع سم الاوكراتوكسين A الذي زادت فيه النسبة المئوية للتخطيط لتصل إلى 71.5% عندما كانت سرعة تمرير الحليب 1 لتر/دقيقة بعد أن كانت نسبة التخطيط 29.6% عند مرور الحليب في الجهاز بسرعة 3 لتر/دقيقة. وتطابقت النتائج مع ما وجدته Stanley وآخرون (2020) الذين وجدوا انخفاضاً في تركيز سم الافلاتوكسين بشكل كبير بالمقارنة مع عينة الشاهد ، بجرعة 1200 ميلي جول /سم²، إذ أدت الأشعة فوق البنفسجية إلى خفض تركيزات 1AFB و 1AFM بنسبة 70 و 84%، على التوالي. كما اتفقت النتائج مع Kurup, وآخرون (2021) الذين ذكروا أن استعمال الأشعة فوق البنفسجية خفض سموم الافلاتوكسين في الحليب الكامل الدسم بالمقارنة مع عينة حليب الشاهد ، إذ أدى التعرض الأقصى للأشعة فوق البنفسجية إلى خفض تركيزات 1AFB و 1AFM إلى 78.2 و 65.7% عند 857 ميلي جول /سم²، على التوالي. واتفقت أيضاً مع نتائج الباحثين Hassan و Hussein (2017) في دراسة لهم على الحليب المعلب المبستر للتأكد من وجود سم الافلاتوكسين (IM) إذ انخفض السم بحدود 73% اعتماداً على سرعة تدفق الحليب وسمك طبقة الحليب المعرضة للأشعة فوق البنفسجية. واتفقت أيضاً مع نتائج Jin وآخرون (2016) الذين وجدوا انخفاض نسبة سموم 1AFB لأكثر من 90% عند تعريض زيت فول الصويا إلى الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي 365nm لمدة 30 دقيقة،



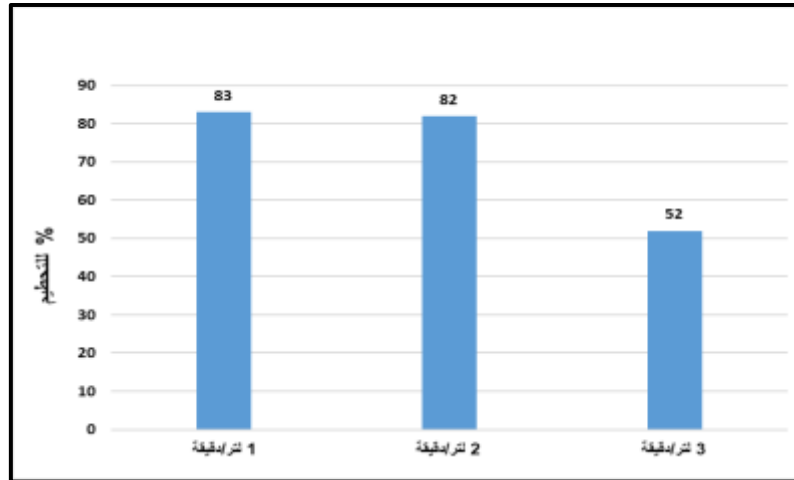
الشكل (1) تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 69 ميلي جول على تحطيم الافلاتوكسين B1

والاوكراتوكسين المضافة الى الحليب الخام 3% دهن

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في الحليب الفرز المبستر:

يبين الشكل (2) تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 48 واط في تحطيم سم الاوكراتوكسين A المضاف بكمية 7.2 ppb لحليب الفرز البقري، إذ يوضح الشكل أن نسبة تحطيم سم الاوكراتوكسين A كانت 83 و 82% عند تمرير الحليب بسرعة 1 و 2 لتر/دقيقة، أما عند سرعة تمرير 3 لتر/دقيقة فقد كانت نسبة التخطيط 52% فقط. وهذا يبين أنه كلما كانت سرعة تمرير الحليب أقل كلما زادت نسبة التخطيط وذلك لتعرض الحليب لمدة زمنية أكبر للأشعة مما يؤدي إلى تأثير أكبر للأشعة في التخطيط. وبمقارنة الشكل 2 مع الشكل 1 الخاص بتأثير الأشعة فوق البنفسجية في تحطيم سم الاوكراتوكسين A في الحليب 3% دهن، يلاحظ بأنه في حليب الفرز كانت نسبة التخطيط أكبر وذلك بسبب أن الدهن الموجود في الحليب يعمل على حماية جزيئات السم من التخطيط إذ يعمل الدهن على تشتت الأشعة في الحليب مما يقلل من التأثير. وهذا يتفق مع ما

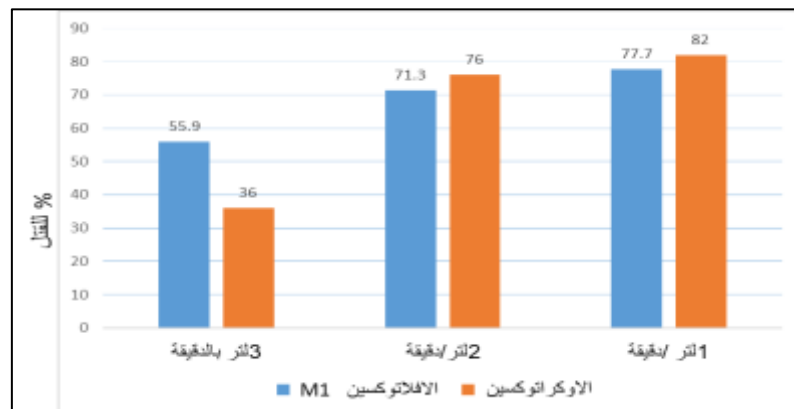
ذكره Ward وآخرون (2019) الذين وجدوا انخفاض نسبة السموم في الحليب الفرز بنسبة كبيرة عند استعمال سلسلة من جرعات الأشعة فوق البنفسجية بقوة (0-168.33 ميلي جول / سم²) في التحطيم.



الشكل (2) تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 48 واط على تحطيم OTA المضاف الى الحليب الفرز الطازج

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في الحليب الخام (3% دهن):

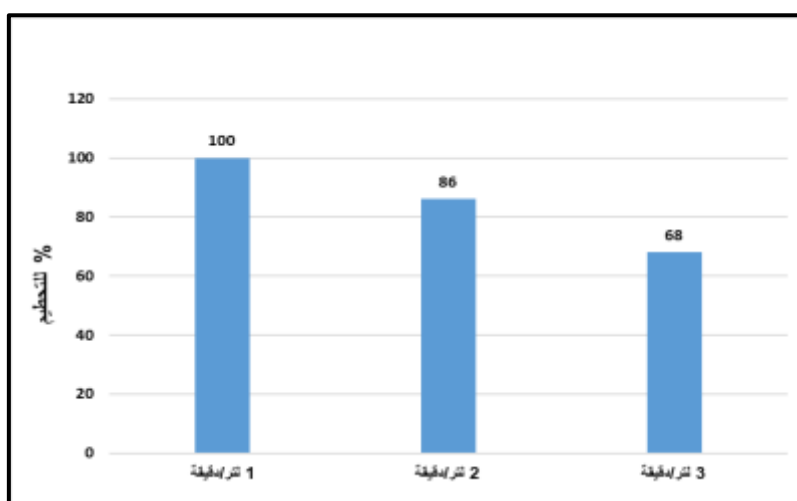
تم كشف كميات قليلة من السموم الفطرية وهي سم الاوكراتوكسين A بكمية 0.5 ppb و سم الافلاتوكسين M₁ بكمية 2.2 ppb في الحليب الخام المأخوذ من الحقول وقد عرضت للأشعة فوق البنفسجية بقوة 48 واط بسرعات 1 و 2 و 3 لتر/دقيقة. تبين النتائج في الشكل 3 تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في الحليب الخام الذي احتوى على 3% دهن، إذ يظهر انخفاض كمية السموم الفطرية في الحليب، إذ كانت نسب تحطيم سم الافلاتوكسين B₁ في الحليب 36 و 76 و 82% في سرعات التميرير 3 و 2 و 1، على التوالي، وهذا يدل أيضاً على أن نسبة التحطيم تزداد في الحليب كلما قلت سرعة تميريره في الجهاز. أما الشكل 13 فيبين تأثير الأشعة فوق البنفسجية في تحطيم سم الافلاتوكسين M₁ في الحليب، ويتضح من الشكل أن نسبة تحطيم سم الافلاتوكسين M₁ كانت أقل مما عليه في جميع سرعات التميرير، إذ بلغت نسب التحطيم 77.7 و 71.3 و 55.9 في سرعات التميرير 1 و 2 و 3 لتر/دقيقة، إلا أن نسب التحطيم هذه هي جيدة جداً فقد أدت إلى خفض كميات السموم إلى الحدود المسموح بوجودها في الحليب.



الشكل (3) تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 69 ميلي جول على تحطيم الافلاتوكسين (M₁) والاوكراتوكسين الحليب الخام

تأثير الأشعة فوق البنفسجية في السموم الفطرية في الحليب الفرز الخام.

يبين الشكل 4 تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 48 واط في تحطيم سم الافلاتوكسين M₁ في الحليب الفرز، فقد كانت كمية السم في الحليب الفرز قبل المعاملة بالأشعة 0.22 ppb، وتبين النتائج في الشكل أن نسبة تحطيم السم في الحليب بلغت 100% عند سرعة تمرير الحليب 1 لتر/دقيقة وقلت نسبة التحطيم بزيادة سرعة التمرير إلى 2 و 3 لتر /دقيقة ووصلت إلى 86 و 68%، على التوالي. وبمقارنة النتائج في الشكل 4 مع نتائج الشكل 3 يلاحظ أن نسب التحطيم قد إزدادت بشكل معنوي وذلك يرجع إلى خلو الحليب الفرز من الدهن الذي يعمل كعامل حماية لمكونات الحليب من الأشعة ومنها السموم الفطرية.

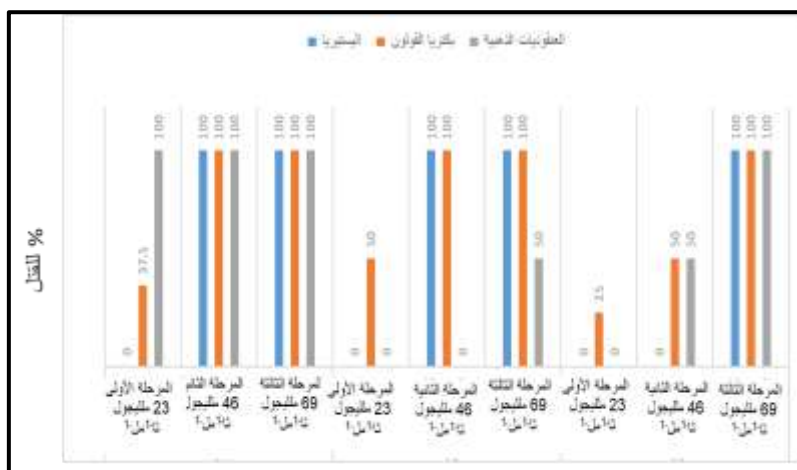


الشكل (4) تأثير الأشعة فوق البنفسجية بقوة 48 واط على تحطيم IAFM في الحليب الخام (غير مضافة اليها السموم)

وقد اتفقت النتائج مع نتائج Hussein و Hassan (2017) دراستهما لتأثير الأشعة فوق البنفسجية على الأفلاتوكسين M₁ في الحليب المعلب المبستر، إذ انخفض السم بحدود 73% اعتمادًا على سرعة تدفق الحليب وسمك طبقة الحليب المعرضة للأشعة فوق البنفسجية. واتفقت أيضًا مع ما وجدته Khoori وآخرون (2020) عندما استعملوا الأشعة فوق البنفسجية في معاملة الحليب المدعم بالبكتريا المنتجة لحمض البروبيونيك (Propionic acid) إذ انخفض سم الافلاتوكسين M₁ بنسبة 84.61% في حين انخفض مجموع السموم الفطرية الكلية (AF و IAFM) بنسبة 86.76%. تأثير الأشعة فوق البنفسجية في الأحياء المجهرية في الحليب الخام.

تم التعرف على ثلاثة أنواع رئيسية من البكتريا في حليب الابقار الخام غير المبستر وهذه البكتريا هي *S. aureus* و *L. monocytogenes* و *E. coli* بأعداد $10^5 \times 0.5$ و $10^5 \times 1.0$ و $10^5 \times 2.0$ و.ت.م./مل، على التوالي، ولدراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية في الأحياء المجهرية في الحليب الخام غير المبستر فقد تم تمرير هذا الحليب في جهاز الأشعة فوق البنفسجية بالمراحل الثلاثة وبسرعات تمرير ثلاثة أيضًا. يتبين الشكل 5 تأثير الأشعة فوق البنفسجية بجرعة 23 و 46 و 69 ميلي جول ثا⁻¹ مل⁻¹ وسرعات تمرير الحليب 1 و 2 و 3 لتر/دقيقة في الأحياء المجهرية في الحليب الخام. وعند تمرير الحليب في الجهاز بالسرعات الثلاثة تبين في المرحلة الأولى أي باستخدام أشعة فوق بنفسجية بجرعة 23 ميلي جول ثا⁻¹ مل⁻¹ أن بكتريا الليستيريا لم تتأثر فكانت النسبة المئوية للقتل صفر في حين تأثرت بكتريا القولون، (حذف بصورة أكبر)

فوصلت نسبة القتل إلى ما يقرب من 50% وذلك عند تمرير الحليب بسرعة 2 لترًا دقيقة. أما باستخدام الأشعة بجرعة 46 ميلي جول ثا^{-1} مل $^{-1}$ كان التأثير أكبر وبصورة خاصة عند سرعة تمرير 1 لترًا دقيقة إذ وصلت نسبة القتل إلى 100% لأنواع البكتريا الثلاثة بالمقارنة مع سرعات التمرير 2 و 3 لتر/ دقيقة التي كان فيها نسبي القتل أقل فيلاحظ وصول نسبة القتل لبكتريا العنقوديات الذهبية والقولون 50%، وبنسبة قتل صفر % لبكتريا الليستيريا. من جهة أخرى كانت أفضل قوة أشعة في القتل هي 69 ميلي جول التي كانت نسب القتل فيها 100% لأنواع البكتريا الملوثة للحليب. إن ارتفاع نسب قتل البكتريا في الحليب الخام غير المبستر ربما يعزى إلى أن العدد الأولي للبكتريا كان منخفضًا مقارنة بأنواع الحليب الأخرى التي جرى فيها إضافة البكتريا بعدد أكبر مما قلل نسب القتل. تبين أيضًا، بصورة عامة، أن بكتريا الليستيريا كانت أكثر مقاومة للأشعة فوق البنفسجية من نوعي البكتريا العنقوديات الذهبية والقولون. كما يتبين أنه كلما كانت قوة الأشعة فوق البنفسجية أكبر وكانت سرعة تمرير الحليب بالجهاز أقل ازدادت نسب القتل. إن هذه النتائج تؤيد ما وجدته Reinemann وآخرون (2013) الذين ذكروا بأن معاملة حليب الإبقار الخام بالأشعة فوق البنفسجية قد خفض عديد البكتريا الكلية بمقدار لوغاريتم 3.



الشكل 5: تأثير الأشعة فوق البنفسجية في أعداد الأحياء المجهرية في الحليب الخام

الاستنتاجات:

- أدت معاملة الحليب البقري بالأشعة فوق البنفسجية إلى خفض أعداد البكتريا الموجودة فيه بصورة معنوية وقد زاد الانخفاض بزيادة جرعة الأشعة وببطء تمرير الحليب بالجهاز. وكان تأثير الأشعة في الأحياء المجهرية في الحليب الفرز أكبر منه في الحليب الذي احتوى على 3% دهن.
- أدت معاملة الحليب بالأشعة إلى تحطيم كل من سموم الأفيلا B_1 و M_1 والأوكرا A سواءً المضافة للحليب أم الملوثة للحليب بصورة طبيعية وزادت النسبة المئوية للتحطيم بزيادة جرعة الأشعة وقلت سرعة تمرير الحليب، وكان تأثير الأشعة أكبر في التحطيم في الحليب الفرز عنه في الحليب 3% دهن.

المراجع :

- Adebayo-Tayo BC, Ofosiata UC, Ebenezer AA (2013). Evaluation Of Microbiological Quality And Aflatoxin Mi (AFM1) Contamination Of Milk Powder Samples Sold In Nigeria Market. *Academia Arena*: 5(1):1 – 9
- Anthony, M. H., Ojochenemi, A. D., Mulunda, M., Oriyomi, S. T., Jidefor, N. F., Tunde, O., ... & Isah, A. (2016). Aflatoxin M1 in breast milk, cow milk and milk products in Minna, Nigeria and their predisposing factors. *Biochemistry & analytical biochemistry*, 5(4), 1-6.
- AOAC, H. W. (2000). *International A: Official Methods of Analysis of the AOAC International*. The Association: Arlington County, VA, USA.
- Bakirci, I. (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food control*, 12(1), 47-51.
- Balina, A., Kebede, A., & Tamiru, Y. (2018). Review on Aflatoxin and its Impacts on Livestock. *Journal of Dairy and Veterinary Sciences*, 6, 555685.
- Duarte, S. C., Pena, A., & Lino, C. M. (2010). A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food microbiology*, 27(2), 187-198.
- FDA, U. (2001). Code of federal regulations. 21 CFR Title 21 Volume 3. 21 cfr part 179. 39. Irradiation in the production, processing and handling of food.
- Giovati, L., Magliani, W., Ciociola, T., Santinoli, C., Conti, S., & Polonelli, L. (2015). AFM1 in milk: Physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. *Toxins*, 7(10), 4330-4349.
- Guo, L. Y., Zheng, N., Zhang, Y. D., Du, R. H., Zheng, B. Q., & Wang, J. Q. (2016). A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Tangshan region of China during 2012–2014. *Food Control*, 69, 30-35.
- Hassan, F. F., & Hussein, H. Z. (2017). Detection of aflatoxin M1 in pasteurized canned milk and using of UV radiation for detoxification. *Int. J. Adv. Chem. Eng. Biol. Sci*, 4, 130-133.
- Jin, S., A. Modfidi, and K. Linden. 2006. Polychromatic UV fluence measurements using chemical actinometry, biodosimetry, and mathematical techniques. *J. Environ. Eng. Sci*. 132:831–843.
- Ketney, O., Santini, A., & Oancea, S. (2017). Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. *International journal of dairy technology*, 70(3), 320-331.
- Khoori, E., Hakimzadeh, V., Mohammadi Sani, A., & Rashidi, H. (2020). Effect of ozonation, UV light radiation, and pulsed electric field processes on the reduction of total aflatoxin and aflatoxin M1 in acidophilus milk. *Journal of food processing and preservation*, 44(10), e14729
- Kurup, A. H., Patras, A., Pendyala, B., Vergne, M. J., & Bansode, R. R. (2021). Evaluation of UV-A LED technology on the reduction of spiked aflatoxin B1 and aflatoxin M1 in whole milk: toxicity analysis using liver hepatocellular cells. *bioRxiv*.
- Mohammadi, H. (2011). A review of aflatoxin M1, milk, and milk products. *Aflatoxins–biochemistry and molecular biology*. (Ed. DRG Guevara-Gonzalez) pp, 397-414.

- O'Brien, E., & Dietrich, D. R. (2005). Ochratoxin A: the continuing enigma. *Critical reviews in toxicology*, 35(1), 33-60.
- Ostry, V., Malir, F., Toman, J., & Grosse, Y. (2017). Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin research*, 33(1), 65-73. [CrossRef]
- Pennington AJ (2012). Aflatoxin M1 in Milk. University of Arkansas, United States Department of Agriculture, and County Governments Cooperating retrieved from web site at: <http://www.uaex.edu> accessed on 01/12/2018
- Reinemann, D. J., Gouws, P., Cilliers, T., Houck, K., & Bishop, J. R. (2013). New methods for UV treatment of milk for improved food safety and product quality. In 2006 ASAE Annual Meeting (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Sadia, A., Jabbar, M. A., Deng, Y., Hussain, E. A., Riffat, S., Naveed, S., & Arif, M. (2012). A survey of aflatoxin M1 in milk and sweets of Punjab, Pakistan. *Food control*, 26(2), 235-240.
- Schoder, D., Melzner, D., Schmalwieser, A., Zangana, A., Winter, P., & Wagner, M. (2011). Important vectors for *Listeria monocytogenes* transmission at farm dairies manufacturing fresh sheep and goat cheese from raw milk. *Journal of Food Protection*, 74(6), 919-924.
- Diaz, G.J. & Espitia, E.(2006). Occurrence of aflatoxin M1 in retail milk samples from Bogota, Colombia. *Food Additives and Contaminants*, 23(8), 811-815.
- Shundo, L., Navas, S.A., Lamardo, L.C.A., Ruvieri, V., & Sabino, M. (2009). Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control*, 20(7), 665-657.
- Stanley, J., Patras, A., Pendyala, B., Vergne, M. J., & Bansode, R. R. (2020). Performance of a UV-A LED system for degradation of aflatoxins B1 and M1 in pure water: kinetics and cytotoxicity study. *Scientific reports*, 10(1), 1-12.
- Ward, D. M., Patras, A., Kilonzo-Nthenge, A., Yannam, S. K., Pan, C., Xiao, H., & Sasges, M. (2019). UV-C treatment on the safety of skim milk: Effect on microbial inactivation and cytotoxicity evaluation. *Journal of Food Process Engineering*, 42(4), e12944.

Effect of ultraviolet radiation on bacteria and some types of Aflatoxin (M₁, B₁) in cow's milk

Jwan Khaled Mohi Khaled ⁽¹⁾ *, Mufaq Mahmoud Ahmed⁽¹⁾, and Ghanim Mahmood Hasan⁽¹⁾

(1) Faculty of Agriculture and Forestry, University of Mosul, Iraq.

(*Corresponding author: Dr. Jwan Khaled, E-mail: Jwan.khaled84@gmail.com).

Received: 14/03/2022

Accepted: 1/08/2022

Abstract

The was used as the killing rate reached 100% for the three bacteria compared to the flow rates of 2 and 3 L/min. in which the killing rate was less. On the other hand, UV dose of 69 mJ s⁻¹ ml⁻¹ was the best as the killing rate was 100% for all types of bacteria. The purposes of this study were to investigate the effect of ultraviolet (UV) radiation at doses of 23, 46, and 69 mJ s⁻¹ ml⁻¹ and flow rates of 1, 2, and 3 L/min on microorganisms and on some mycotoxins in pasteurized bovine milk (3% fat) and skimmed milk and in raw milk. Aflatoxin B₁ (AFB₁) and ochratoxin A (OTA) were added at known amounts to 3% fat milk and skimmed milk and passed through the UV unit at a dose of 69 mJ s⁻¹ ml⁻¹ and the residual toxins were determined using the ELISA technique. Results showed that the UV radiation decreased AFB₁ and OTA by 66.5 and 71.5, respectively, in 3% fat milk at a flow rate of 1 L/min, and OTA by 83% in skimmed milk. In raw milk, however, aflatoxin M₁ (AFM₁) and OTA were detected as contaminants, and the UV radiation resulted in 82 and 77.7% reduction, respectively, under the same conditions. This appeared to be a good result as the UV radiation decreased these mycotoxins to acceptable levels. In the effect of UV radiation on microorganisms in raw milk study, three bacteria were detected in raw unpasteurized milk and those were *S. aureus*, *L. monocytogenes*, and *E. coli* and their counts were 0.5x10⁵, 1.0x10⁵, and 2.0x10⁵ CFU/ml, respectively. After milk samples were passed through the UV unit at 23 mJ s⁻¹ ml⁻¹ at the three flow rates the *Listeria* bacteria did affect and the killing rate was 0%, while the killing rate of *coli* bacteria was near 50% at flow rate 2 L/ min. When UV radiation dose of 46 mJ s⁻¹ ml⁻¹ was used, it was more powerful especially when the flow rate of 1 L/min.

Key words: ultraviolet rays, milk, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. typhi*, aflatoxin, and ochratoxin.