دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

استفاده از پرتوتابی گاما برای حذف آلودگی باکتریایی آغوز گاو

پروین شورنگ[۱]، محسن مرتهب[۲]، مهدی بهگر[۳]، فرحناز معتمدی سده[۳] و حامد عسکری[۴]

۱- استادیار، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای (نویسنده مسوول: pshawrang@nrcam.org)
۲- کارشناس، شرکت کشاورزی فجر اصفهان
۳ و ۴- استادیار و کارشناس، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۵

چکیده

به‌منظور سترون کردن آغوز گاو و رسم منحنی دز پایندگی آلودگی اشریشیا کولای و استافیلوکوکوس آرئوس، نمونه‌های آغوز با دزهای صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ کیلوگری پرتو گاما پرتوتابی شد. برای تعیین کیفیت آغوز قبل و بعد از پرتوتابی، ترکیبات شیمیایی، پروتئین حقیقی، الکتروفورز پروتئین، مقدار قند لاکتوز، مقدار پراکسید و pH نمونه‌های آغوز تعیین شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز شد. طبق نتایج به‌دست آمده اثر پرتوتابی بر آلودگی اشریشیا کولای و استافیلوکوکوس آرئوس معنی‌دار بود (p< ۰/۰۵). آلودگی اشریشیا کولای و استافیلوکوکوس آرئوس در تیمارهای پرتوتابی شده کاهش پیدا کرد و در دز ۲ کیلوگری به صفر رسید. پرتوتابی گاما اثری بر ترکیبات شیمیایی، پروتئین حقیقی، ترکیب اسیدهای چرب، مقدار پراکسید، pH و الگوی زیرواحدهای پروتئین آغوز نداشت (p> ۰/۰۵). باتوجه به نتایج این پژوهش دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی از جمعیت میکروبی اشریشیا کولای و استافیلوکوکوس آرئوس در نمونه آغوز به‌ترتیب ۰/۶۸ و ۱/۱۵ کیلوگری بود، بنابراین می‌توان از دزهای پایین پرتو گاما بدون اثرات منفی بر کیفیت آغوز برای حذف آلودگی اشریشیا کولای و استافیلوکوکوس آرئوس استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آغوز، پرتوتابی گاما، استافیلوکوکوس آرئوس، اشریشیا کولای، ترکیبات شیمیایی

مقدمه

اگرچه تغذیه آغوز در اوایل زندگی گوساله اهمیت زیادی دارد و همواره تأکید می‌شود در عین حال استفاده از آغوز آلوده می‌تواند منبع انتقال آلودگی به گوساله باشد. حضور آلودگی علاوه بر اثرات مستقیم بر سلامتی گوساله می‌تواند از طریق تداخل در جذب ایمنوگلوبولین‌های آغوز نیز به‌صورت غیرمستقیم برای سلامتی گوساله مضر باشد. پالسن و همکاران (۱۷) گزارش کردند که آلودگی میکروبی ۸۲ درصد نمونه‌های آغوز جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که استفاده از آغوز آلوده در گاوداری‌های تجاری یک رخداد معمول است (۱۴). پاستوریزاسیون آغوز راهی برای کاهش انتقال آلودگی از طریق آغوز به گوساله‌ها پیشنهاد شده است. استفاده از آغوز پاستوریزه امروزه مورد توجه گاوداران بوده و از عمل‌آوری حرارتی برای پاستوریزه کردن آغوز استفاده می‌کنند. تحقیقات نشان داده است که پاستوریزاسیون سریع (۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ ثانیه) علاوه بر این‌که سبب کاهش ۲۵ تا ۳۰ درصدی غلظت ایمونوگلوبولین G (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) شده است، مقبولیت آغوز به‌وسیله گوساله‌ها را نیز کاهش داده است (۱۰). کاهش دمای پاستوریزاسیون به ۶۳ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه اگرچه تغییر در ویسکوزیته آغوز را کمتر کرد ولی همچنان کاهش غلظت ایمونوگلوبولین G مشاهده شد (۱۱). مک مارتین و همکاران (۱۵) نشان دادند که آغوز تنها در دمای ۶۰ درجه به مدت ۱۲۰ دقیقه بدون تغییر در ویسکوزیته و غلظت ایمنوگلوبولین ها می‌تواند حرارت داده شود. گودن و همکاران (۱۲) نشان دادند که دمای پاستوریزاسیون ۶۰ درجه قادر به حذف پاتوژن‌های موجود در آغوز نیست ولی برای کاهش آلودگی می‌تواند استفاده شود. *اشریشیاکولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* از انواع آلودگی‌های باکتریایی شناسایی شده در آغوز می‌باشند. با توجه به این‌که آلودگی باکتریایی آغوز می‌تواند منجر به بیماری‌های گوساله بعد از تولد شود و با جذب غیرفعال آنتی‌بادی‌های آغوز تداخل ایجاد نماید ارزیابی کیفی و بهداشتی آن و مدیریت کاهش آلودگی باکتریایی آغوز از اهمیت بسزایی برخوردار است. پرتوتابی گاما یک فرآیند فیزیکی است که آن را سترون کردن سرد نیز می‌نامند. پرتوتابی گاما با توجه به‌مقدار دز، برخی یا همه باکتری‌ها را از بین می‌برد. پرتو گاما با دز کم‌تر از ۱۰ کیلوگری در افزایش ایمنی مواد خوراکی از طریق غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مؤثر است (۷). عاری شدن آغوز از باکتری‌ها در جلوگیری از تخمیر کربوهیدرات آن (لاکتوز) مؤثر بوده و از تغییر طعم و مزه آن جلوگیری می‌کند (۱۵). هدف مطالعه حاضر استفاده از پرتوتابی گاما برای کنترل آلودگی باکتریایی و مطالعه اثرات آن بر ترکیبات آغوز گاو بود.

مواد و روش‌ها

پرتوتابی نمونه‌های آغوز

نمونه آغوز به‌صورت مخلوط از گاوداری شرکت کشاورزی فجر اصفهان واقع در نطنز به مقدار ۲ لیتر در ظروف استریل جمع‌آوری شد. نمونه آغوز مخلوطی از اولین دوشش گاوهای تازه زا شکم اول، دوم و سوم بود. نمونه‌های آغوز در چهار ظرف ۵۰۰ میلی‌لیتری شیشه‌ای که از قبل در دستگاه اتوکلاو استریل شده بودند، ریخته شد. یکی از شیشه‌های آغوز به عنوان شاهد و سه شیشه دیگر جهت پرتوتابی به پژوهشکده کاربرد پرتوها (پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی) ارسال و با دزهای ۰/۵، ۱ و ۲ کیلوگری پرتوتابی شدند.

کشت باکتری و رسم منحنی دز/ پایندگی

محیط کشت‌های مورد استفاده جهت شمارش باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* Baird parker agar + egg yolk

و برای و*اشریشیاکولای* Eosin Methylene Blue (EMB) Agar بود. محیطهای کشت طبق توصیه شرکت سازنده (Merck) تهیه شد. کشت رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-10} نمونه‌های آغوز قبل و بعد از پرتوتابی به‌صورت کشت سطحی در محیط کشت‌های اختصاصی آماده شده برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* و *اشریشیاکولای* انجام شد. پس از تشخیص آلودگی‌های *اشریشیاکولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* منحنی دز/ پایندگی براساس دز پرتوتابی و عیار باکتری ترسیم شده و دز بهینه جهت کاهش این آلودگی‌ها محاسبه شد. دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی آلودگی به‌وسیله معادله زیر محاسبه شد:

$$D=(D_2 - D_1) /(\text{Log } N_1 - \text{Log } N_2)$$

در این معادله N_1 و N_2 به ترتیب تعداد سلول‌های زنده در دزهای D_1 و D_2 است. بنابراین برای تعیین دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی آلودگی ابتدا با استفاده از نرم‌افزار Excel معادله خطی $Y = aX + b$ برای هریک از باکتری‌ها به‌دست آمد. در این معادله Y لگاریتم عیار باکتری و X دز پرتوتابی است. پس از به‌دست آمدن معادله خطی، با فرض Y_1=۱ و Y_2=۴ مقادیر X_1 و X_2 تخمین زده شد. در نهایت دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی آلودگی از تقسیم تفاوت X_1 و X_2 بر تفاوت Y_1 و Y_2 محاسبه شد (۱۹).

ارزیابی کیفیت آغوز

برای تعیین اثرات پرتوتابی گاما بر ترکیبات آغوز، مقدار و کیفیت پروتئین آغوز، ترکیب اسیدهای چرب، مقدار مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها، مقدار قند لاکتوز، pH و ترکیبات شیمیایی آغوز اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پروتئین حقیقی از روش برادفورد (۴) استفاده شد. در این روش، ابتدا نمونه آغوز به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق و مقدار ۲۰ ماکرولیتر از آن در ۳ تکرار به لوله‌های آزمایش حاوی ۳ میلی‌لیتر معرف برادفورد شامل۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی بریلیانت بلو، ۴۰ میلی‌لیتر متانول و ۱۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک اضافه شد. در نمونه بلانک به‌جای نمونه آب مقطر اضافه شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر بعد از صفر کردن دستگاه با محلول بلانک در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. سپس با توجه به نمودار استاندارد با استفاده از آلبومین سرم گاوی، غلظت پروتئین حقیقی نمونه‌ها برآورد شد. مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان ترکیب شاخص پراکسیداسیون با استفاده از روش تیوباربیتوریک اسید تعیین شد (۶). در این روش یک مولکول تیوباربیتوریک اسید با دو مولکول مالون‌دی‌آلدئید واکنش داده تا به رنگ صورتی برسد و سپس در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. در این روش یک مولکول تیوباربیتوریک اسید با دو مولکول مالون‌دی‌آلدئید واکنش داده و رنگ صورتی نمایان می‌شود. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. رسم نمودار استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف مالون‌دی‌آلدئید خالص در برابر مقدار جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر انجام شد. آنالیز تقریبی نمونه‌های آغوز شامل ماده خشک، خاکستر، چربی خام طبق روش AOAC انجام شد (۳). تعیین pH نمونه‌های آغوز قبل و بعد از پرتوتابی به‌منظور سنجش تغییر اسیدیته در اثر پرتوتابی، با استفاده از pH متر صورت گرفت. اندازه گیری لاکتوز براساس سنجش قندهای احیا قبل و بعد از هیدرولیز نمونه‌های آغوز به‌وسیله اسید کلریدریک نرمال و حرارت و با توجه به میزان اتصال رنگ دی نیتروسالیسیلیک اسید به قندهای احیا انجام شد. از استاندارد لاکتوز در غلظت‌های مختلف برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و قرائت نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (۱۶). برای تعیین وضعیت زیر واحدهای پروتئین آغوز قبل و بعد از پرتوتابی، الکتروفورز پروتئین‌ها با استفاده از تکنیک الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید به روش لاملی (۱۳) انجام شد. جهت آماده‌سازی نمونه‌های آغوز برای انجام الکتروفورز، ابتدا چربی نمونه‌های آغوز با استفاده از سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور به‌مدت ۳ دقیقه) جدا شد و به نسبت مساوی با بافر نمونه مخلوط و به مقدار ۵ ماکرولیتر به چاهک‌ها تزریق شد. از دستگاه الکتروفورز عمودی سایز متوسط شرکت اختریان برای انجام الکتروفورز استفاده شد. ابعاد ژل ۱۴۰ × ۱۱۰ × ۱ میلی‌متر و شدت جریان ۲۰ میلی‌آمپر برای یک ژل بود. غلظت ژل زیرین ۱۲ درصد بود. از مارکر پروتئینی فرمنتاز[1] با مشخصات پروتئینی بتاگالاکتوزیداز (۱۱۶ کیلودالتون)، آلبومین سرم گاوی (۶۶/۲ کیلودالتون)، اُآلبومین (۴۵ کیلودالتون)، لاکتات دهیدروژناز (۳۵ کیلودالتون)، آندونوکلئاز (۲۵ کیلودالتون)، بتالاکتوگلوبولین (۱۸/۴ کیلودالتون) و لیزوزیم (۱۴/۴ کیلودالتون) برای تعیین وزن مولکولی زیرواحدهای پروتئین‌های مواد خوراکی مورد مطالعه استفاده شد. با توجه به حرکت نسبی پروتئین‌های مارکر وزن مولکولی زیر واحدهای پروتئین آغوز تعیین شد.

طرح آزمایشی، طرح کاملاً تصادفی و مدل آماری $Yij = \mu + Ti + eij$ بود. در این مدل Yij: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین، Ti: اثر تیمار i و eij: خطای آزمایش است. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شد و از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای مقایسه میانگین استفاده شد.

نتایج و بحث

بار میکروبی و منحنی دز/ پایندگی آلودگی‌های آغوز

طبق نتایج شمارش میکروبی آغوز (جدول ۱)، تفاوت بین تیمار شاهد و تیمار پرتوتابی شده با دزهای مختلف در کاهش و حذف آلودگی *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* معنی دار بود ($P< ۰/۰۵$). عیار باکتری *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* آغوز در نمونه‌های پرتوتابی شده نسبت به نمونه شاهد کاهش پیدا کرد. عیار باکتری *اشریشیا کولای* در نمونه‌های پرتوتابی شده با دز ۱ و ۲ کیلوگری صفر شد در حالی‌که شمارش باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* در نمونه‌های پرتوتابی شده با دزهای ۰/۵ و ۱ کیلوگری نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت و عیار باکتری در دز ۲ کیلوگری صفر شد. مقدار آلودگی *استافیلوکوکوس آرئوس* در آغوز پرتوتابی نشده تفاوت معنی‌دار با نمونه‌های پرتوتابی شده داشت ($p< ۰/۰۵$). بین دزهای مختلف پرتوتابی گاما نیز

1- Fermentas

تفاوت معنی‌دار (p< ۰/۰۵) از نظر مقدار آلودگی آغوز مشاهده شد. با افزایش دز پرتوتابی مقدار آلودگی کاهش پیدا کرد و در دز ۲ کیلوگری به صفر رسید. دزهای ۰/۵ و ۱ کیلوگری نسبت به دز صفر مقدار آلودگی را کاهش داد ولی قادر به حذف آلودگی نبود. معادله خطی تابعیت لگاریتم عیار باکتری از دز پرتوتابی برای باکتری *اشریشیا کولای* $y = -1.475x + 4.8$ با $R^2=0.93$ بود. با توجه به منحنی دز / پایندگی آلودگی *اشریشیا کولای* مقدار دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی ۰/۶۸ کیلوگری به‌دست آمد. برای باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* معادله خطی تابعیت لگاریتم عیار باکتری از دز پرتوتابی $y = -0.869x + 3.805$ با $R^2=0.91$ و مقدار دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی ۱/۱۵ کیلوگری بود. استفاده از پرتوتابی به‌دلیل سرعت عمل زیاد و امکان از بین بردن باکتری‌های مضر (از طریق تخریب دیواره سلولی) روشی است که در پاستوریزه و استریلیزه کردن سرد مواد خوراکی مورد توجه قرار گرفته است (۷). از بین رفتن باکتری‌ها با پرتوتابی الکترون توسط شانون و همکاران (۱۸) به اثبات رسیده است. اثرات مثبت پرتو گاما در حذف آلودگی‌های *بروسلا آبرتوس*[1]، *مایکوباکتریوم آویوم*، *اشریشیا کولای* و *سالمونلا تیفوموریوم* در بافر و محیط کشت گزارش شده است (۹). تحقیقات نشان داده است که پرتوتابی گاما در دز ۱۰ کیلوگری آلودگی باکتریایی مواد غذایی را به‌طور موفقیت آمیزی از بین می‌برد و استفاده از این دز برای استریلیزه کردن خون، پلاسما و مواد غذایی مجاز شناخته شده است (۷). گارین و همکاران (۹) گزارش کردند هنگامی‌که آغوزهایی که با *بروسلا آبرتوس*، *اشریشیاکولای* K_{99}، *سالمونلا دوبلین* و *مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس* تلقیح شده بودند، با دزهای ۳، ۷ و ۱۰ کیلوگری گاما پرتوتابی شدند، در دز ۱۰ کیلوگری تمامی پاتوژن‌ها از بین رفتند. تران و همکاران (۲۰) گزارش کردند که تغییرات بسیار اندکی در ایمونوگلوبولین G در مخلوط غنی از ایمونوگلوبولین در دز ۵ کیلوگری اتفاق می‌افتد. گاربارینو و همکاران (۸) پرتوتابی آغوز با دز ۵ و ۱۰ کیلوگری را با روش سترون کردن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۶۰ دقیقه مقایسه و گزارش کردند که پرتوتابی باعث کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های *مایکوپلاسما بوویس*، *اشریشیا کولای*، *سالمونلا انترایتیدیس*، *استافیلوکوکوس آرئوس* شد به‌طوری که در روش کشت هیچ کلونی مشاهده نشد. در این مطالعه مقدار ایمونوگلوبولین‌ها نیز کاهش نیافت.

جدول ۱- شمارش میکروبی آغوز قبل و بعد از پرتوتابی (log CFU/ml)

Table 1. Microbial counts of the pre-and post irradiated colostrums sample (log CFU/ml)

	اشریشیا کولای	*استافیلوکوکوس آرئوس*
شاهد	۲/۹۵[a]	۲/۶۸[a]
دز ۰/۵ کیلوگری	۲/۴۱[b]	۲/۲۵[b]
دز ۱ کیلوگری	۰/۰۰[c]	۱/۶۵[c]
دز ۲ کیلوگری	۰/۰۰[c]	۰/۰۰[a]
اشتباه معیار	۰/۰۳۴	۰/۰۶۳

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) می‌باشد.

ترکیبات شیمیایی آغوز

طبق نتایج این پژوهش، پرتوتابی تأثیری بر ترکیبات شیمیایی، مقدار پروتئین حقیقی، لاکتوز، پراکسید و pH آغوز نداشت (p> ۰/۰۵). امینی رباطی و همکاران (۲) گزارش کردند که پرتوتابی تأثیری بر ترکیب شیمیایی و تولید پراکسیدها ندارد. استفاده از پرتوتابی به‌دلیل سرعت عمل زیاد و امکان از بین بردن باکتری‌های مضر (از طریق تخریب دیواره سلولی) روشی است که در سترون کردن و استریلیزه کردن سرد مواد خوراکی مورد توجه قرار گرفته است. در این روش برخلاف روش‌های حرارتی، صدمه‌ای به ترکیبات آغوز بویژه ایمونوگلوبولین‌ها وارد نمی‌شود و باکتری‌های موجود در آن از بین می‌روند (۸). پرتوتابی یک روش مهم برای نگه‌داری مواد خوراکی است و اتلاف مواد مغذی، از سایر روش‌های فرآوری کمتر است (۷).

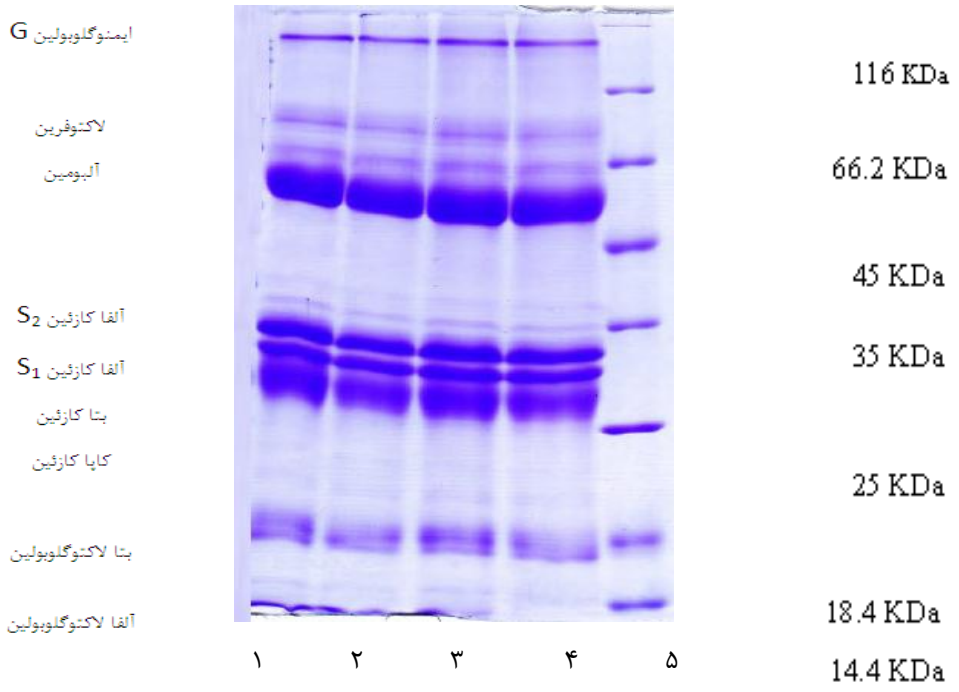
جدول ۲- ترکیبات شیمیایی آغوز قبل و بعد از پرتوتابی

Table 2. Chemical composition of the pre-and post irradiated colostrums sample

	ماده خشک (درصد)	خاکستر (درصد)	چربی (درصد)	پروتئین خام (درصد)	پروتئین حقیقی (درصد)	لاکتوز (درصد)	پراکسید (nmol/100ml)	pH
شاهد	۲۸/۵۷	۲/۵۵	۶/۶۴	۱۸/۵۴	۱۷/۳۴	۲/۷۴	۰/۰۲۲	۶/۴۳
۰/۵کیلوگری	۲۸/۹۷	۲/۱۸	۶/۵۲	۱۸/۶۵	۱۷/۴۸	۲/۸۴	۰/۰۱۸	۶/۴۱
۱کیلوگری	۲۸/۵۳	۲/۳۸	۶/۷۰	۱۸/۸۲	۱۷/۴۳	۲/۶۹	۰/۰۲۰	۶/۴۱
۲ کیلوگری	۲۹/۰۸	۲/۵۰	۶/۴۱	۱۸/۶۰	۱۷/۶۵	۲/۶۸	۰/۰۲۷	۶/۴۰
اشتباه معیار	۰/۱۳۵	۰/۰۹۶	۰/۰۷۹	۰/۰۱۴	۰/۱۱۲	۰/۰۲۷	۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۸

عدم درج حروف، نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن تفاوت‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

1- *Brucella abortus*



شکل ۱- الگوی زیرواحدهای پروتئین آغوز قبل و بعد از پرتوتابی. لاین ۱ صفر کیلوگری، لاین ۲ دز ۰/۵ کیلوگری، لاین ۳ دز ۱ کیلوگری، لاین ۴ دز ۲ کیلوگری و لاین ۵ مارکر وزن مولکولی

Figure 1. Electrophoretic pattern of proteins pre-and post irradiated colostrums. Line 1: 0 kGy, Line 2: 0.5 kGy, Line 3: 1 kGy, Line 4: 2 kGy, Line 5: Molecular-weight size marker

عاری شدن آغوز از باکتری‌ها در جلوگیری از تخمیر کربوهیدرات آن (لاکتوز) و افزایش ماندگاری آغوز مؤثر بوده و از تغییر طعم و مزه آن جلوگیری می‌کند. تنها عیب این روش از بین رفتن همه باکتری‌ها است، زیرا حضور باکتری‌های مفید در آغوز به جلوگیری از چسبیدن باکتری‌های مضر به مخاط روده گوساله کمک می‌کند. این مسئله نیز به روش کاربردی با افزودن پروبیوتیک به آغوز در زمان مصرف قابل حل است (۹). بنابر نتایج مطالعه تران و همکاران (۲۰) پرتوتابی گاما با دز ۵ کیلوگری اثری بر مقدار پروتئین آغوز نداشت.

الگوی زیرواحدهای پروتئین آغوز

الگوی زیرواحدهای پروتئین آغوز قبل و بعد از پرتوتابی در شکل ۱ نشان داده شده است. وزن مولکولی ۵ نوع پروتئین آغوز شامل ایمونوگلوبولینG، لاکتوفرین، آلبومین، کازئین با چهار زیرواحد و لاکتوگلوبولین با دو زیرواحد در جدول ۳ گزارش شده است. طبق نتایج الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید نمونه‌های آغوز، پرتوتابی گاما اثری بر الگوی زیرواحدهای پروتئین آغوز نداشت. گاربارینو و همکاران (۸) نیز گزارش کردند که پرتوتابی آغوز گاو با دزهای ۵ و ۱۰ کیلوگری، کیفیت پروتئین را کاهش نداد. پروتئین موجود در مواد خوراکی پرتوتابی شده با دز بیش از ۲۵ کیلوگری به‌دلیل اثرات پرتو بر پیوندهای غیرکوالانسی و تغییر ساختار واسرشت می‌شوند. دزهای کم تغییری در ساختار ایمونوگلوبولین‌ها و آرایش پیوندهای غیرکوالانسی ایجاد نمی‌کند (۵). کمبل و همکاران (۵) گزارش کردند پرتوتابی بر ساختمان ایمونوگلوبولین‌ها و مقدار جذب آن‌ها در گوساله در دز ۱۰ کیلوگری و کمتر اثری ندارد. نتایج مطالعه این محققان نشان داد که دز ۲۵ کیلوگری و بیشتر، از مقدار جذب ایمونوگلوبولین‌ها می‌کاهد.

جدول ۳- زیرواحدهای پروتئین آغوز و وزن مولکولی آن‌ها (کیلو دالتون)

Table 3. Colostrum protein subunits and their molecular weights (kDa)

زیرواحد	وزن مولکولی	زیرواحد	وزن مولکولی
ایمونوگلوبولین G	۱۵۰	بتا کازئین	۲۷
لاکتوفرین	۸۰	کاپا کازئین	۲۰
آلبومین	۶۶/۳	آلفا لاکتوگلوبولین	۱۴
آلفا کازئین S_1	۳۵	بتا لاکتوگلوبولین	۱۸
آلفا کازئین S_2	۳۲		

باتوجه به نتایج این پژوهش می‌توان از دزهای پایین پرتو گاما بدون اثرات منفی بر کیفیت آغوز برای حذف آلودگی *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* استفاده کرد.

دز لازم برای کاهش یک سیکل لگاریتمی از جمعیت میکروبی *اشریشیا کولای* و *استافیلوکوکوس آرئوس* در نمونه آغوز به ترتیب ۰/۶۸ و ۱/۱۵ کیلوگری است.

منابع

1. Amini-robati, E., P. Shawrang, F. Fattahnia and A. Mehrabi. 2013. The effect of irradiation on immunoglobulin G concentration in colostrums. Proceeding of National Congress on Animal and Poultry in North of Iran. Sari Agricultural Science and Natural Resources University, pp: 1614-1617 (In Persian).
2. Amini-robati, E., P. Shawrang, F. Fattahnia and A. Mehrabi. 2014. The comparison between irradiation and freezing effects on colostrum quality. The 6th Iranian Congress on Animal Science. The University of Tabriz, 113 pp (In Persian).
3. Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th edition Arlington, VA.
4. Bradford, M.M. 1997. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248.
5. Campbell, J.M., L.E. Russell, J.D. Crenshaw, E.M. Weaver, S. Godden, J.D. Quigley, J. Coverdale and H. Tyler. 2007. Impact of irradiation and immunoglobulin G concentration on absorption of protein and immunoglobulin G in calves fed colostrum replacer. Journal of Dairy Science, 90: 5726-5731.
6. Esterbauer, H. and K.H. Cheeseman. 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods in Enzymology, 186: 407-421.
7. Food and Agriculture Organization. 2003. General Standard for Irradiated Foods, CODEX STAN106-1983, Rev.1-2003, FAO/WHO, Rome.
8. Garbarino, C., G. Cammi, I. Archetti, M. Amadori, G. Panella, M. Ricchi, V. Tranquillo and N. Arrigoni. 2012. Heat treatment and gamma-irradiation of bovine colostrum: Impact on survival of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP) and other pathogens and on immunoglobulin content Proceedings of the 11th International Colloquium on Paratuberculosis. Sydney, Australia, 197.
9. Garin-Bastuji, B., B. Perrin, M.F. Thorel and J.L. Martel. 1990. Evaluation of γ-ray irradiation of cows' colostrum for *Brucella abortus, Escherichia coli K99, Salmonella dublin* and *Mycobacterium paratuberculosis* decontamination. Letters in Applied Microbiology, 11: 163-16.
10. Green, L., S. Godden and J. Feirtag. 2003. Effect of batch and high temperature-short time pasteurization on immunoglobulin G concentrations in colostrum. Journal of Dairy Science, 86 246 pp.
11. Godden, S.M., S. Smith, J.M. Feirtag, L.R. Green, S.J. Wells and J.P. Fetrow. 2003. Effect of On-Farm Commercial Batch Pasteurization of Colostrum on Colostrum and Serum Immunoglobulin Concentrations in Dairy Calves. Journal of Dairy Science, 86: 1503-1512.
12. Godden, S., S. McMartin, J. Feirtag, J. Stabel, R. Bey, S. Goyal, L. Metzger, J. Fetrow, S. Wells and H. Chester-Jones. 2006. Heat-Treatment of Bovine Colostrum. II: Effects of Heating Duration on Pathogen Viability and Immunoglobulin G. Journal of Dairy Science, 89: 3476-3483.
13. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680 pp.
14. McGuirk, S. and M. Collins. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. in Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. W.B. Saunders, New York, NY, 593-603.
15. McMartin, S., S. Godden, L. Metzger, J. Feirtag, R. Bey, J. Stabel, S. Goyal, J. Fetrow, S. Wells and H. Chester-Jones. 2006. Heattreatment of bovine colostrums. I: Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. Journal of Dairy Science, 89: 2110-2118.
16. Negrulescu, A., V. Patrulea, M.M. Mincea, C. Ionascu, B.A. Vlad-Oros and V. Ostafe. 2012. Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. Journal of the Brazilian Chemical Society, 23: 2176-2182.
17. Poulsen, K.P., F.A. Hartmann and S.M. McGuirk. 2002. Bacteria in colostrum: impact on calf health, in Proc. 20th American College of Internal Veterinary Medicine: Mira Digital Publishing. 773 pp.
18. Shannon, L.H., C. Vargas-Aburto, M.U. Roberto and C.J. Woolverton. 2005. Inactivation of Bacillus Endospores in envelopes by electron beam irradiation. Applied and Environmental Microbiology, 11-71.
19. Trampuz, A., K.E. Piper, J.M. Steckelberg and R. Patel. 2006. Effect of gamma irradiation on viability and DNA of Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli. Journal of Medical Microbiology, 55: 1271-1275.
20. Tran, H., K. Marlowe, K. McKenney, G. Petrosian, Y. Griko, W.H. Burgess, W.N. Drohan, MA. Imboden, C. Kempf, N. Boschetti and D.M. Mann. 2004. Functional integrity of intravenous immunoglobulin following irradiation with a virucidal dose of gamma radiation. Biologicals, 32: 94-104.

Application of Gamma Irradiation for Eliminating Bacterial Contamination of Bovine Colostrums

Parvin Shawrang[1], Mohsen Mortaheb[2], Mehdi Behgar[3], Farahnaz Motamedi-sede[3] and Hamed Askari[4]

1- Assistant Professor, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran (Corresponding Author: pshawrang@nrcam.org)
2- Experts, Fajr-Isfahan Agricultural Co
3 and 4- Assistant Professor and Expert, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran
Received: February 8, 2017 Accepted: November 6, 2017

Abstract

In order to colostrum pasteurization and creating of dose-response curve for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aurous*, the colostrum of cow was gamma irradiated at doses of 0, 0.5, 1 and 2 KGy. Chemical composition, true protein, electrophoretic pattern of proteins, lactose content, peroxide level and pH of colostrums samples before and after of irradiation were determinate. The obtained data were analysed using proc GLM of SAS software appropriate for completely randomized design. The effect of irradiation was significant on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aurous* contamination of colostrums ($p<0.05$). The *Escherichia coli* and *Staphylococcus aurous* contamination decreased as irradiation dose increased and reach to zero at dose of 2 kGy. Gamma irradiation had no effect ($p>0.05$) on chemical composition, true protein, fatty acid composition, peroxide level, pH and electrophoretic pattern of proteins and lactose content. Based on the results of this study, the appropriate dose for decrease in log cycle of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aurous* population in colostrum is 0.68 and 1.15 kGy respectively. Therefore, gamma irradiation at low doses can eliminate *Escherichia coli* and *Staphylococcus aurous* contamination without negative impact on colostrum quality.

Keywords: Colostrum, Chemical composition, *Escherichia coli*, Gamma irradiation, *Staphylococcus aurous*,