

## بررسی میزان آفلاتوکسین $M_1$ در شیر خام مراکز جمع آوری شیر شهرهای چالوس و رامسر

احمدرضا برامی<sup>۱\*</sup>، محمدرضا پور علمی<sup>۲</sup>، مهرداد ایرانی<sup>۳</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، گروه علوم آزمایشگاهی، چالوس، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، گروه علوم دامی، چالوس، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر، گروه علوم دامی، قائم‌شهر، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: Dr.sharifi\_m@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۰/۹/۲۳ پذیرش نهایی: ۹۱/۳/۱۰)

### چکیده

آفلاتوکسین  $M_1$  در اثر مصرف غذای آلوده به آفلاتوکسین  $B_1$  توسط گاو، در شیر ظاهر می‌شود. در این مطالعه آلودگی شیر خام مراکز جمع‌آوری شیر خام شهرهای چالوس و رامسر به آفلاتوکسین  $M_1$  بررسی شد. تعداد ۲۰۰ نمونه شیر خام در طول دو فصل زمستان (دی و بهمن) و تابستان (تیر و مرداد) از مراکز جمع‌آوری شیر خام تهیه گردید و به روش الیزا مورد بررسی قرار گرفت. آفلاتوکسین  $M_1$  در ۱۰۰ و ۵۹/۷۹ درصد از نمونه‌های اخذ شده فصل زمستان به ترتیب در رامسر و چالوس ردیابی شد. از این میان ۴۵ درصد از نمونه‌های رامسر و ۳۰ درصد از نمونه‌های چالوس بیش از حد قابل قبول (۵۰ نانوگرم در لیتر) استاندارد ملی و استاندارد اتحادیه اروپا به آفلاتوکسین  $M_1$  آلوده بودند. تفاوت بین میانگین مقدار آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های فصول زمستان و تابستان معنی‌دار نبود ( $P < 0/05$ ) در حالی که بین شهرهای چالوس و رامسر نتایج بدست آمده در هر دو فصل تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0/05$ ). همچنین در طول مطالعه آلوده‌ترین ماه تحقیق، ماه بهمن تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین  $M_1$ ، شیر خام، چالوس، رامسر، الیزا.

### مقدمه

مواد غذایی را دارند عمدتاً از سه جنس مهم *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم* و *پنی‌سیلیوم* می‌باشند. مهمترین و نگران‌کننده‌ترین مایکوتوکسین آفلاتوکسین نام دارد (Letutour et al., 1983). این مایکوتوکسین به وسیله بعضی از سویه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus*)

کلمه مایکوتوکسین (Mycotoxin) دارای ریشه یونانی می‌باشد و از دو کلمه Mykes به معنی قارچ و کلمه لاتین Toxicum به معنی تیر سمی گرفته شده است (Razavilar, 2001). قارچ‌هایی که توانایی تولید سم در

حدود یک دهم برابر آفلاتوکسین  $B_1$  است. ولی اهمیت قضیه وقتی مشخص می‌شود که بدانیم بیشتر مصرف شیر مربوط به نوزادان و افراد سالخورده و بیماران می‌باشد که هر سه این گروه‌ها سیستم ایمنی ضعیفی دارند و جزو گروه‌های آسیب‌پذیر جامعه محسوب می‌شوند (Rszavilar, 2001). در برخی منابع گزارش شده است که سمیت آفلاتوکسین  $M_1$  در واقع معادل آفلاتوکسین  $B_1$  می‌باشد (Buchi and weinreb, 1969; Oliveria et al., 1997; Purchase, 1963; Purchase, 1963; Sefidgar et al., 2008). هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان درصد آلودگی شیر خام شهرستان‌های چالوس و رامسر به آفلاتوکسین  $M_1$  در دو فصل زمستان و بهار بود.

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری

در مجموع ۲۰۰ نمونه شیر خام از مراکز جمع‌آوری شیر در دو شهرستان چالوس و رامسر بطور تصادفی جمع‌آوری شد. نمونه برداری در دو فصل زمستان (سال ۱۳۸۹) و تابستان (۱۳۹۰) انجام گرفت. قبل از انجام آزمایش وسایل و مواد مورد نیاز جهت نمونه‌گیری با مواد شوینده شستشو شده تا آلودگی احتمالی از بین برود و سپس به وسیله دستگاه اتوکلاو سترون گردید؛ پس از سترون کردن و آماده شدن وسایل، از جایگاه‌های مختلف جمع‌آوری شیر شهر چالوس و رامسر به طور همزمان به مدت ۶ روز نمونه برداری تصادفی انجام گرفت و در شرایط استریل و توسط کلمن یخچال دار به آزمایشگاه انتقال داده شد.

و اکثر سویه‌های آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus flavous*) تولید می‌شود و به عنوان سردسته تمامی سموم قارچی محسوب می‌شوند، به همین دلیل بیش از سایر سموم قارچی مورد توجه محققین و مراجع بهداشتی قرار گرفته‌اند (Razavilar, 2001). آفلاتوکسین‌ها قابلیت سرطان‌زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی به ویژه از طریق تاثیر بر روی ژن سرکوبگر P53 را دارا می‌باشند لذا برای سلامت عمومی جامعه یک تهدید محسوب می‌گردند (Razavilar, 2001).

چهار تیپ عمده آفلاتوکسین عبارتند از:  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$ ،  $G_2$ . از میان آنها انواع  $B_1$  و  $G_1$  بیشترین اهمیت را دارند. که در بین آنها آفلاتوکسین  $B_1$  از همه خطرناکتر می‌باشد (Hussein and Brasel, 2001; Ismail and Ruston, 1996; You-min, 1996). هنگامی که مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین‌های  $B_1$  و  $B_2$  توسط گاوهای شیری مصرف می‌شوند این ترکیبات در کبد هیدروکسیله شده و به آفلاتوکسین‌ها  $M_1$  و  $M_2$  تبدیل می‌شوند که در شیر آنها قابل ردیابی می‌باشد. میزان سمی بودن آفلاتوکسین  $M_1$  نسبت به آفلاتوکسین  $B_1$  کمتر است ولی به دلیل بالا بودن مصرف سرانه شیر، وجود مقادیر کم این سم هم اهمیت پیدا می‌کند (Hussein and Brasel, 2001; You-min, 1996). آفلاتوکسین‌های  $B_1$  و  $M_1$  دارای اثرات سمی ناقص‌الخلقه‌زایی و سرطان‌زایی هستند، به گونه‌ای که آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان آنها را به عنوان ترکیبات سرطان‌زا در انسان و حیوانات معرفی نموده است (Lafont et al., 1989; Sefidgar et al., 2008). بررسی‌ها نشان داده است که سمیت آفلاتوکسین  $M_1$

**آماده‌سازی نمونه**

نمونه شیر سرد در سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و لایه چربی بالای شیر خارج شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه شیر بدون چربی جهت بررسی وجود آفلاتوکسین  $M_1$  جدا گردید. و مشابه تحقیق سفیدگر ( Sefidgar et al., 2008) آزمایش انجام شد.

**مراحل انجام آزمایش**

در این تحقیق از کیت تشخیص آفلاتوکسین  $M_1$  (Aflatoxin  $M_1$  detector, Europroxima<sup>®</sup>, ) (Netherland) که قدرت تشخیص آن ۰/۰۵ نانوگرم در لیتر بود استفاده گردید. و نتایج توسط دستگاه قرائت کننده الایزا (ELAIZA reader)، (Labsystems<sup>®</sup>) قرائت گردید (Kamkar, 2008).

آنالیز آماری نتایج با نرم افزار SPSS (version 16) با تست توکی (تجزیه واریانس یک طرفه) One way ANNOVA با سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام گردید. برای مقایسه درصد آلودگی بین دو فصل و همچنین مقایسه درصد آلودگی دو شهر چالوس و رامسر از آزمون کا (Chi-square) استفاده گردید.

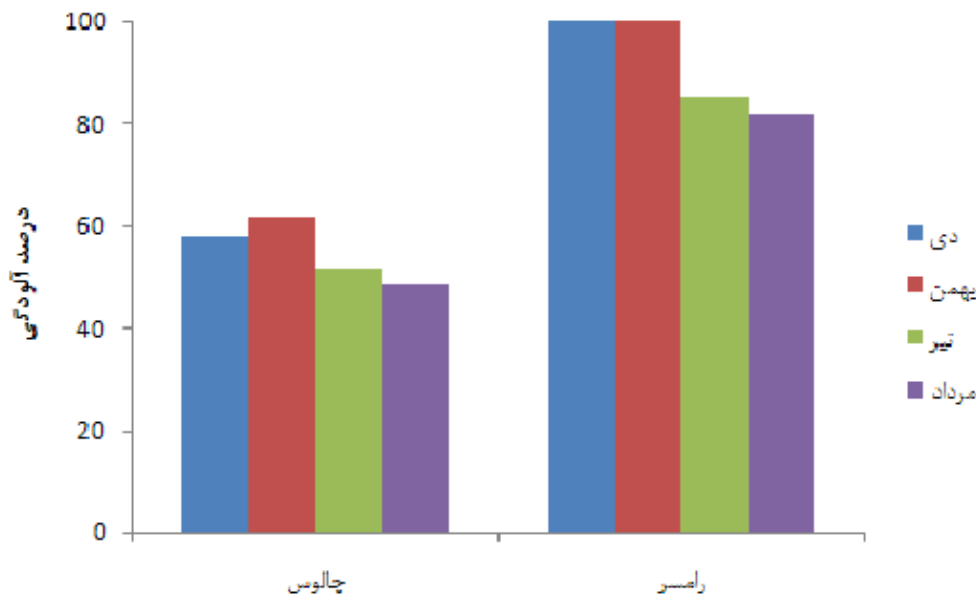
**یافته‌ها**

درصد آلودگی شیر خام در فصول زمستان و تابستان در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج بدست آمده که

به تفکیک شهرستان در ماه‌های دی، بهمن، تیر و مرداد رسم گردیده است نشان می‌دهد که آلودگی در فصل زمستان بیشتر از تابستان بوده است. همچنین درصد آلودگی شیرخام شهرستان رامسر به آفلاتوکسین  $M_1$  (۹۱/۷۶ درصد) نسبت به آلودگی شیر خام شهرستان چالوس (۵۴/۹۴ درصد) بیشتر بود. بیشترین آلودگی در هر دو شهر مربوط به ماه بهمن بوده است.

نتایج نشان داد (نمودار ۱) که درصد آلودگی بین شهرهای چالوس و رامسر اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) دارد. همچنین نتایج بدست آمده از ماه بهمن (نمودار ۱) نشان داد که درصد آلودگی شیر خام بین شهرهای چالوس و رامسر دارای اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) است. همچنین میزان آلودگی شیر خام شهرهای چالوس و رامسر به آفلاتوکسین  $M_1$  در تیرماه و مرداد همانند ماه‌های پیشین درصد آلودگی شهرستان رامسر بیشتر از شهرستان چالوس می‌باشد. که تجزیه و تحلیل نتایج نشان می‌دهد که اختلاف بین این دو شهر معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) است (نمودار ۱).

مطابق نمودار ۱، بیشترین آلودگی مربوط به شهر رامسر و در ماه‌های زمستان به خصوص بهمن دیده شده است که احتمالاً به دلیل رطوبت بالا که باعث تقویت رشد قارچ می‌شود و همچنین استفاده‌ی بیشتر دام‌های منطقه از نان خشک کپک زده می‌باشد.



نمودار ۱: درصد آلودگی شیر خام شهرستان‌های مورد بررسی در ماه‌های مختلف به آفلاتوکسین  $M_1$

آفلاتوکسین  $M_1$  تاثیر مستقیم داشت؛ همچنین شهرستان رامسر آلودگی بیشتری نسبت به چالوس داشته و آلوده‌ترین ماه، بهمن ماه بوده است. بر اساس نتایج این تحقیق؛ میزان آلودگی شیرهای خام به آفلاتوکسین  $M_1$  در شهرستان چالوس در فصل زمستان و تابستان به ترتیب ۵۹/۷۹ و ۵۰/۱ درصد بوده است و برای شهرستان رامسر میزان آلودگی در زمستان حدود ۱۰۰ درصد و در تابستان ۸۳/۵۲ درصد بود. اعداد به دست آمده از شهرهای چالوس و رامسر، با نتایج سایر محققین که روی آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین  $M_1$  در داخل کشور کار کرده‌اند قرابت دارد. ولی درصد آلودگی در منطقه مورد تحقیق نسبت به شهر بابل که به لحاظ اقلیمی مشابه شهرهای فوق می‌باشد و توسط سفیدگر در سال ۸۷ مورد بررسی قرار گرفت، به مراتب

بطور کلی، ماه بهمن بیشترین میزان آلودگی را دارد (۶۱/۸ درصد چالوس و ۱۰۰ درصد رامسر) و ماه مرداد کمترین میزان آلودگی را در میان ماه‌های مورد پژوهش در این دو شهرستان داراست (۴۸/۵۶ درصد چالوس و ۸۱/۹۲ درصد رامسر).

## بحث و نتیجه‌گیری

گزارشات مختلفی در مورد شیوع آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین  $M_1$  وجود دارد و مطالعات قبلی در ایران نیز در بیشتر موارد درصد بالایی از آلودگی مشخص شده است. در این تحقیق؛ میزان آلودگی شیرهای خام به آفلاتوکسین  $M_1$  در شهرهای چالوس و رامسر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که عامل فصل در میزان آلودگی شیر خام به

لیتر آلوده تشخیص داده شد (Riazipour et al., 2010). در مطالعه کامکار در سال 2005؛ تمامی نمونه‌های مورد مطالعه از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> مثبت بودند و از میان ۸۰/۷ درصد از کل نمونه‌ها آلودگی بالاتر از حد استاندارد را نشان می‌دادند (Kamkar, 2005).

در مطالعه دیگری که در سال 2008 توسط کریم و همکاران روی شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران و با استفاده از روش الیزا بر روی ۷۳ نمونه شیر انجام گرفت، ۸۲/۲٪ از نمونه‌ها با میانگین آلودگی ۲۵۹ نانو گرم در لیتر آلوده تشخیص داده شد که این میزان حدود نصف استاندارد ملی و نیز بین المللی است (Kamkar, 2008). در مطالعه تاج کریمی که در سال 2007 بر روی شیر خام انجام شد که ۵۴٪ از نمونه‌ها آلوده تشخیص داده شدند (Tajkarimi et al., 2007). در مطالعه غلامپور در بابل در سال 2007 مشخص شد که میزان آلودگی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> شیر پاستوریزه در ماه‌های دی، بهمن و اسفند همگی ۱۰۰٪ بود (Gholampour et al., 2007). نتایج این مطالعه مشابه نتایج سفیدگر (Sefidgar et al., 2008) بود و با مقایسه این دو با نتایج بدست آمده از شهرستان‌های چالوس و رامسر می‌توان به این نتیجه رسید که شیر خام شهرستان چالوس با آلودگی ۵۴/۹۴ درصدی و رامسر با آلودگی ۹۱/۷۶ درصدی، آلودگی کمتری نسبت به بابل که به لحاظ شرایط اقلیمی مشابه چالوس و رامسر است دیده می‌شود. همچنین نتایج نشان داد که تنها ۳۰ درصد از نمونه‌های چالوس و ۴۵ درصد از نمونه‌های رامسر آلودگی بیشتر از حد استاندارد به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> را داشتند.

کمتر بود؛ سفیدگر میزان آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> شهر بابل را ۱۰۰٪ اعلام نموده است (Sefidgar et al., 2008). همچنین ۳۰ درصد از نمونه‌های شهر چالوس و ۴۵ درصد از نمونه‌های شیر خام شهر رامسر آلودگی بیش از حد مجاز یعنی ۵۰ نانوگرم در لیتر در لیتر را داشتند.

گزارشات مختلفی در مورد شیوع آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> وجود دارد و مطالعات قبلی در ایران نیز در بیشتر موارد درصد بالایی از آلودگی را نشان داده‌اند. به طوری که کریم و همکاران، در مطالعه‌ای ۸۲/۲٪ (Karim et al., 1982) و در مطالعه‌ای دیگر ۹۲/۳٪ (Karim et al., 1998) از نمونه‌های شیر تهران را آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> گزارش کردند. مطالعه کامکار نشان داد که ۷۶٪ نمونه‌های شیر آزمایش شده به این مایکوتوکسین آلوده هستند (Kamkar, 2005). در مطالعه غیثیان، میزان آلودگی شیر خام به آفلاتوکسین M<sub>1</sub>، ۶۴٪ گزارش شد (Ghiasian et al., 2007). همچنین البرزی، در مطالعه‌ی ۶۲۴ نمونه شیر پاستوریزه شهر شیراز (Alborzi et al., 2006)، اویسی با مطالعه‌ی ۱۲۸ نمونه شیر پاستوریزه شهر تهران (Rostogi et al., 2004)، تاجیک با مطالعه‌ی ۱۴۴ نمونه شیر خام و پاستوریزه شهر ارومیه (Tajik et al., 2007) و نعمتی با بررسی ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه در اردبیل (Nemati et al., 2010) نشان دادند که ۱۰۰٪ نمونه‌ها به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> آلودگی بودند.

در مطالعه‌ی ریاضی پور و همکاران که روی شیرهای خشک سه کارخانه تهران، گرگان و مجتمع مغان در سال 2010 و با استفاده از روش الیزا انجام گرفت، ۹۷٪ از نمونه‌ها با میانگین آلودگی ۷۷۰ نانو گرم در

بر اساس استاندارد FDA (Food and Drug Association) آمریکا و نیز استاندارد کدکس (Codex Alimentarius) حداکثر مجاز باقیمانده آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر ۵ میکروگرم در لیتر و خوراک دام ۲۰ میکروگرم در لیتر می‌باشد (Hussein and Brasel, 2001; Ismail and Ruston, 1996).

در این مطالعه مشخص شد که آلودگی شیر خام به آفلاتوکسین  $M_1$  بدون در نظر گرفتن منطقه مورد تحقیق در زمستان بیشتر از تابستان بوده است؛ به خصوص در ماه بهمن که سرمای هوا بیشتر می‌باشد، یکی از دلایلی که زمینه ساز این واقعت شد این است که در این ماه دام‌ها به دلیل سرمای زمستان در مناطق بسته نگاه‌داری می‌شوند و به جای چرای آزاد توسط غذاهای انبار شده که عموماً به دلیل رطوبت بالای زمستان کپک‌زده هستند تغذیه می‌گردند. دوم اینکه در این ماه دسترسی به علوفه تازه امکان‌پذیر نیست و دامداران محلی از نان خشک جهت تغذیه دام‌های خود استفاده می‌کنند. و همانطور که قبلاً اشاره شد رطوبت هوای زمستانی و هوای معتدل حاکم بر این منطقه، شرایط را برای رشد و تولید سم آفلاتوکسین در علوفه و نان خشک کپک‌زده فراهم می‌آورد.

علت تفاوت آلودگی در میزان آلودگی شیر خام شهرهای چالوس و رامسر در ماه‌های مشابه مربوط به منطقه نگهداری دام و مراکز جمع‌آوری شیر در آنهاست. شیر شهرستان چالوس بعلت نزدیک دریا و کوه به یکدیگر و کم بودن حومه شهری عموماً از مناطق کوهستانی کلاردشت است در حالی که در شهر رامسر شیر را از مناطق حومه شهر و روستاهای کوهستانی دوردست جمع‌آوری می‌کنند. دسترسی کمتر دام‌هایی

شروع بالای آلودگی در دیگر کشورها نیز مشاهده می‌شود. به عنوان مثال Martins با مطالعه روی شیرهای خام و استریل شده در پرتغال نشان داد که  $83/2\%$  نمونه‌ها به آفلاتوکسین  $M_1$  آلودگی دارند (Martins and Martins, 2000). و Galvano نیز گزارش کرد که  $78\%$  نمونه‌های شیر در ایتالیا به آفلاتوکسین  $M_1$  آلوده هستند (Galvano et al., 2001). اما Oruc، تنها  $10\%$  نمونه‌های شیر مورد آزمایش خود در ترکیه را آلوده به این میکوتوکسین تشخیص داد (Oruc and Sonal, 2001). در حالی که مطالعه دیگری در همان سال در ترکیه،  $87/8\%$  نمونه‌های شیر را آلوده گزارش کرد (Bakirici, 2001). Rostogi و همکارانش در سال ۲۰۰۳ با استفاده از روش الیزا نشان دادند که وجود آلودگی به آفلاتوکسین  $M_1$  در شیر و فرآورده‌های شیری مخصوص نوزادان در هندوستان  $87/3\%$  درصد بود (Rostogi et al., 2004). Caravajal و همکاران (۲۰۰۳) در یک مطالعه در مکزیکوسیتی میزان آفلاتوکسین را روی نمونه شیر بررسی کردند و غلظت آفلاتوکسین را در  $40\%$  نمونه‌ها بیشتر یا مساوی  $0/05$  میکروگرم در لیتر و در  $10\%$  نمونه‌ها بیشتر یا مساوی  $0/5$  میکروگرم در لیتر گزارش نمودند (Caravajal et al., 2003). و در مطالعه‌ی دیگر در همین شهر  $40\%$  نمونه‌های جمع‌آوری شده بیشتر از  $0/05$  میکروگرم در لیتر حاوی آفلاتوکسین  $M_1$  بودند (Caravajal et al., 2003). با توجه به مطالب فوق و نتایج بدست آمده از تحقیق پیش رو می‌توان این گونه نتیجه گرفت که آلودگی شهرستان چالوس به آفلاتوکسین  $M_1$  نسبت به بسیاری از نقاط دنیا کمتر بوده است.

در خاتمه بحث پیشنهاد می‌گردد تا مسئولین جهاد کشاورزی و سایر سازمان‌ها راهکارهای مناسب برای کاهش میزان آلودگی در مراکز جمع‌آوری شیر را از قبیل کنترل خوراک دام و وضعیت انبار و نگهداری علوفه و غذای دام فراهم آورند. بنابراین نظارت دقیق و مستمر بر نحوه کنترل و نگهداری علوفه و خوراک دام بویژه در شش ماهه دوم سال در مراکز جمع‌آوری شیر ضروری به نظر می‌رسد. همچنین پیشنهاد می‌شود که با انجام تحقیقات لازم، مناسب‌ترین روش حذف و یا کاهش مایکوتوکسین‌ها از ضایعات نان، که یکی از مهمترین منابع مایکوتوکسین در خوراک دام می‌باشد انجام گیرد تا میزان این متابولیت قارچی در شیر و فرآورده‌های آن کاهش یابد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری بسیار ارزشمند جناب مهندس ذکی پور، مهندس لطف‌علی پور، سرکار خانم مهندس کرات‌احمدی، مهندس بهاره کیا، مهندس ویسی و مهندس حکیم داود صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از تعاونی گاوداران استان مازندران مهندس احمدی و تعاونی گاوداران رامسر و چالوس که در امر این پژوهش یاری رسانده‌اند تشکر می‌نمایم.

که در حومه شهرها نگهداری می‌شوند به علوفه تازه و استفاده بیشتر دامداران این مناطق از نان خشک و غذاهای انباری (همانطور که گفته شد کپک‌زده هستند) از یک سو، و دقت کمتر دامدارانی که در مناطق روستایی دوردست زندگی می‌کنند به نگهداری بهداشتی علوفه و ظروف جمع‌آوری و حمل شیر از سوی دیگر باعث شده تا میزان آلودگی شیر خام شهرستان رامسر بیشتر از شهرستان رامسر باشد.

با توجه به مناسب بودن شرایط رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین توسط آنها در ماه‌های فصل زمستان، انتظار می‌رود که آلودگی در این فصل بیشتر باشد. در این فصل دمای معتدل و رطوبت بالا به رشد قارچ بر روی علوفه انباری و یا نان خشک و غلات انباری کمک می‌کند. در حالی که در فصل تابستان به دلیل کوچ دام‌ها به مناطق بیلاقی که چرای آزاد از علوفه تازه را برای دام فراهم می‌آورد و خشک بودن نسبی هوای ارتفاعات در کاهش رشد و تولید سم آفلاتوکسین در شیر نقش بسزایی دارد و باعث کاهش میزان آلودگی شیر خام در تابستان نسبت به زمستان می‌گردد.

با توجه به مطالبی که عنوان شد می‌توان بالا بودن میزان آلودگی شیر خام شهرستان رامسر نسبت به چالوس در هر دو فصل تابستان و زمستان را پی برد.

### منابع

- Alborzi, S., Pourabbas, B. and Rashidi, M. (2006). Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in pasteurized milk in Shiraz. Food Control, 17: 582-594.
- Bakirici, I. (2001). A study on the occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van of turkey. Food Control, 12(1): 47-51.

- Buchi, G. and Weinreb, S.M. (1969). Total synthesis of racemic Aflatoxin M<sub>1</sub> (milk toxin). *Journal of the American Chemical Society*, 91(19): 5408-5409.
- Caravajal, M., Bolanos, A., Rojo, F. and Mendez, I. (2003). Aflatoxin M<sub>1</sub> in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. *Journal of Food Protection*, 66: 1885-92.
- Caravajal, M., Rojo, F., Mendez, I. and Bolanos, A. (2003). Aflatoxin B<sub>1</sub> and its interconverting metabolite aflatoxin in milk: the situation in Mexico. *Food Additives and Contaminants*, 20: 1077-1086.
- Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De angelis, A. and Galvano, G. (2001). Survey of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Additives and Contaminants*, 18(7): 644-656.
- Ghiasian, S.A., Maghsood, A.H., Neyestani, T. and Mirhendi, S.H. (2007). Occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. *Journal of Food Safety*, 27: 188-198.
- Gholampour, A.I., Khoushnevis, S.H. and Hashemi, S.J. (2007). Aflatoxin M<sub>1</sub> level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. *Tehran University Medical Journal*, 65: 20-24 [In Farsi].
- Hussein, H.S. and Brasel, J.M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals, *Toxicology*, 167: 101-134.
- Ismail, Y. and Ruston, S. (1996). Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1): 57-67.
- Kamkar, A. (2008). Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> in powdered milk samples by ELISA. *Pajouhesh-va-Sazandegi*, 79: 174-180
- Kamkar, A. (2005). A study on the occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in sarab city of iran. *Food Control*, 16(7): 593-599.
- Karim, G., Bokaei, S. and Khorasani, A. (1982). Study on the contamination of milk with Aflatoxin in Tehran. *Jouranal of Iran Public Health*, 11: 19-23 [In Farsi].
- Karim, G., Bokaei, S. and Khorasani, A. (1998). Contamination of raw milk with Aflatoxin M<sub>1</sub> in Tehran using ELISA. *pajoohesh Journal*, 40(3): 163-5 [In Farsi].
- Lafont, P., Siriwardana, M. and Lafont, J. (1989). Genotoxicity of hydroxyl-Aflatoxins M<sub>1</sub> and M<sub>4</sub>. *Microbiology Alimentarius Nutrition*, 7: 1-8.
- Letutour, B., Tantaovi, A. and Ihal, L. (1983). Simulaneous detection of alfaroxin B<sub>1</sub> andochratoxin A in olive oil. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 60(4): 835-837.
- Martins, M.L. and Martins, H.M. (2000). Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Additives and Contamination*, 17: 871-874.
- Nemati, M., MesgariAbbasi, M., Parsa, H. and Ansarin, M.A. (2010). Survey on the occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk samples in Ardabil, iran. *Food Control*, 21(7): 1022-1024.
- Oliveria, C.A., Germano, P.M., Bird, C. and Pinto, C.H. (1997). Immunochemical assessment of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk powder consumed by infants in Sao Paulo, Brazil. *Food additives and contaminants*, 14(1): 7-10.
- Oruc, H.H. and Sonal, S. (2001). Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in cheese and milk consumed in bursa, Turkey. *Veterinary and human Toxicology*, 43(5): 292-303.
- Oveisi, M.R., Jannat, B., Sadeghi, N., Hajimahmoodi, M. and Nikzad, A. (2007). Presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and infant milk production Tehran, iran. *Food Control*, 18: 1216-1218.



- Purchase, F.H. (1963). Acute toxicity of Aflatoxins M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub> in one-day-old Ducklings. Food and Cosmetics Toxicology, 5: 339-342.
- Razavilar, V. (2001). Pathogenic Microorganisms in Foods and Epidemiology of Food Poisoning. (2001). Tehran University Press, Tehran, Iran, pp. 189-240 [In Farsi].
- Riazipour, M., Tavokoli, H.R., Razzaghi-Abyaneh, M., Rafati, H. and Sadr Momtaz, M.T. (2010). Measuring the amount of M<sub>1</sub> Aflatoxin in pasteurized milk. Kowsar Medical Journal, 15: 89-93 [In Farsi].
- Rostogi, S., Dwivedi, D.P. and Khanna, K.S. (2004). Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. Food Control, 15: 287-290.
- Sefidgar, S.A., Azizi, G., Khosravani, A.R. and roudbar, M.S. (2008). Presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk at cattle farms in babol, iran. Pakistan Journal of Biological Science, 99(3): 484-486.
- Tajik, H., Rohani, S.M. and Moradi, M. (2007). Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and commercial pasteurized milk in urmia, iran. Pakistan Journal of Biological Science, 10(22): 4103-4107.
- Tajkarimi, M., Ghaemmaghami, S.S., Motalebi, A., Poursoltani, H., Salahnejad, A. and Shojae, F. (2007). Seasonal survey in content M1 Aflatoxin in raw milk taken from 15 dairy factory. Pajouhesh-va-Sazandegi, 75: 2-9 [In Farsi].
- You-min, F.U. (1996). Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and product using immuno-affinity column and fluorescence measurements. Journal of Food and Drug Analysis, 4(2): 175-183.