

# بررسی آلودگی آفلاتوکسین $M_1$ در شیرهای پاستوریزه ی بسته بندی شده در کارخانه های شهر مشهد و گناباد با استفاده از روش الایزا

وحید حکیم زاده<sup>۱</sup>، عصمت خوری<sup>۲\*</sup>، مرضیه خوری<sup>۳</sup>

۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۳- دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

## چکیده

آفلاتوکسین ها ترکیباتی سمی هستند که در مقابل فرایندهای حرارتی مقاوم بوده و غالباً در شیر و فرآورده های آن یافت می شود، از این رو بررسی احتمال حضور آفلاتوکسین در شیر، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی شیرهای پاستوریزه بسته بندی شده نسبت به آفلاتوکسین به روش الایزا است در این مطالعه مقطعی، تعداد ۸۰ نمونه شیر پاستوریزه بسته بندی شده از کارخانه فرآورده های لبنی شهر گناباد و مشهد مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار آفلاتوکسین در نمونه های شیر کارخانجات شهر مشهد و گناباد بترتیب بین  $0.021 \pm 0.007$ ،  $0.040 \pm 0.011$  ppb و  $0.022 \pm 0.003$  و  $0.050 \pm 0.008$ ،  $0.024 \pm 0.019$  ppb و  $0.027 \pm 0.021$  و  $0.031 \pm 0.029$  بود. در بین ۸۰ نمونه ی مورد آزمایش حدود ۱۳ درصد نمونه ها دارای آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز بودند. نتایج نشان داد که میانگین غلظت آفلاتوکسین در نمونه های مورد آزمایش کمتر از حد قابل قبول در اتحادیه اروپا و موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بود. همچنین محاسبات آماری نشان داد که تفاوت معنی داری بین نمونه های شیر دو شهر از نظر غلظت آفلاتوکسین وجود ندارد.

کلید واژگان: آفلاتوکسین  $M_1$ ، شیر، الایزا

\* مسئول مکاتبات: khoorie1@thums.ac.ir

## ۱- مقدمه

آفاتوکسین‌ها متابولیت‌های بسیار سمی قارچ‌ها و جزء مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که سرطان‌زا و جهش‌زا بوده و باعث ناهنجاری‌های مختلف در مصرف‌کننده می‌شوند [۱، ۲]. انواع مختلفی از آفاتوکسین‌ها در طبیعت شناخته شده‌اند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> اشاره کرد [۳]. آفاتوکسین B<sub>1</sub> در شیر و فرآورده‌های آن توسط آنزیم‌های اکسیداز هیدروکسیله شده و به نوع M<sub>1</sub> متابولیزه می‌شوند [۴]. اگرچه سمیت آفاتوکسین M<sub>1</sub> از پیش‌ساز آن کمتر است اما هر دو سرطان‌زا بوده و سلامت مصرف‌کننده را تهدید می‌کنند [۶]. حضور آفاتوکسین در جیره غذایی دام (بالاتر از مقدار قابل قبول) در حیوان و حتی انسان با ورود به مایعات بدن باعث کاهش قدرت باروری و مشکلات تولید مثلی می‌شود [۷].

از طرفی شیر به عنوان یکی از کامل‌ترین غذاهای طبیعت به شمار می‌رود و آلودگی آن می‌تواند خطر جدی برای جامعه محسوب شود. آفاتوکسین M<sub>1</sub> به بخش پروتئینی شیر یعنی کازئین باند می‌شوند [۹]. این نکته حائز اهمیت است که فرایندهای مختلف از جمله حرارت دادن، انجماد، تغلیظ و خشک کردن سبب کاهش و یا نابودی آفاتوکسین نمی‌شوند و این ماده به دلیل داشتن مقاومت بالا، پس از فرایند پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون نیز در مواد غذایی باقی می‌ماند [۱۰، ۱۱]. یکی از راه‌های کنترل آفاتوکسین تخمین آن و جلوگیری از توزیع و مصرف مواد آلوده در جامعه می‌باشد. به همین منظور در کشورهای مختلف، مطالعات زیادی در زمینه آلودگی شیر به آفاتوکسین انجام گرفته است. در اروپا میزان مجاز آفاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر ۰/۰۵ ppb و در آمریکا ۰/۵ ppb اعلام شده است [۱۲، ۱۳]. در استرالیا و سوئیس این متابولیت در مواد غذایی کودکان نباید از ۰/۰۱ ppb تجاوز نماید [۱۴]. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران حداکثر مقدار قابل قبول مصرف آفاتوکسین را در شیر و فرآورده‌های لبنی مشخص کرده است که به شرح زیر می‌باشد: شیر و شیرخشک: ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر، کره: ۰/۰۲ میکروگرم در کیلوگرم، پنیر و کشک: ۰/۲۵ میکروگرم در کیلوگرم، ماست و دوغ: ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر [۲]. روش‌های متعدد ایمونواسی و اندازه‌گیری کمی برای سنجش آفاتوکسین M<sub>1</sub> وجود دارد، از جمله این روش‌ها می‌توان به کروماتوگرافی لایه نازک

(TLC)<sup>۱</sup>، کروماتوگرافی مایع و روش ELISA<sup>۲</sup> و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)<sup>۳</sup> [۱۴ و ۱۵] اشاره نمود. استفاده از روش‌های ایمونواسی مانند ELISA برای انجام آزمون‌های غربالگری و نیز پایش در زمینه شیر و فرآورده‌های آن در سطح کارخانجات توصیه می‌شود. در صورت استفاده از روش‌های ایمونواسی، به منظور تایید آزمون استفاده از روش‌های اندازه‌گیری کمی مانند کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نیز صورت می‌پذیرد [۱۶ و ۱۷].

از آن جا که ایران از نظر جغرافیایی در منطقه نیمه گرمسیری وجود دارد و گرما و رطوبت از عوامل تاثیرگذار بر میزان آفاتوکسین می‌باشند [۱۸]، هدف اصلی از انجام این تحقیق بررسی غلظت آفاتوکسین در شیرهای بسته بندی شده از کارخانه‌های دو شهر مشهد و گناباد به روش ELISA<sup>۴</sup> و تطابق آن با مقدار قابل قبول اداره استاندارد ایران و اروپا بوده است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- آماده سازی و تهیه نمونه‌ها

در این آزمایش از شیرهای بسته بندی پاستوریزه توسط سه کارخانه در سطح شهر گناباد و چهار کارخانه در سطح شهر مشهد جهت نمونه‌برداری استفاده شد و نمونه‌برداری کاملاً به صورت تصادفی انجام گرفت.

### ۲-۲- تعیین میزان آفاتوکسین

ابتدا چربی نمونه شیر به وسیله سانتریفوژ با سرعت ۳۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد و مایع زیرین باقی‌مانده برای آزمون الایزا مورد بررسی قرار گرفت. میزان آفاتوکسین M<sub>1</sub> موجود در نمونه‌ها با روش الایزا و با استفاده از کیت آفاتوکسین AFM1 (Aflatoxin M1-R-Biopham, Germany-kit) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده کیت طی مراحل زیر صورت گرفت: ۱۰۰μl آنتی‌بادی آفاتوکسین رقیق شده درون میکروپلیت‌ها ریخته و ۱۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد، سپس محتوای میکروپلیت‌ها بیرون ریخته شدند. در مرحله بعد ۲۵۰μl محلول شست‌شو در هر

1. Thin-layer chromatography (TLC)
2. Enzyme-linked Immunosorbent Aassay (ELISA)
3. High-performance liquid chromatography (HPLC)
4. Enzyme-linked Immunosorbent Aassay (ELISA)

گرفت. نتایج توسط دستگاه الایزا (Biotek 806) در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

### ۳-۲- تجزیه و تحلیل آماری

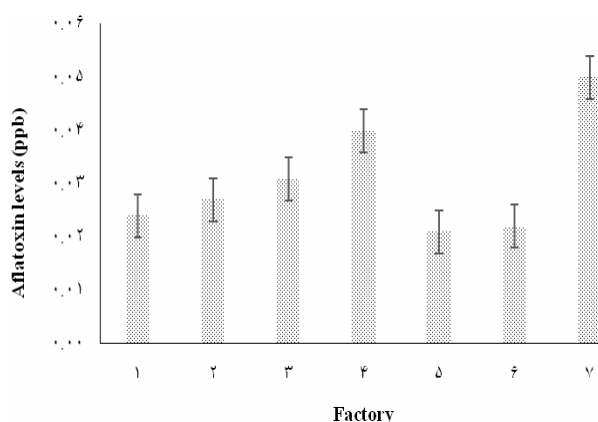
نمونه‌ها پس از تعیین غلظت با استفاده از نرم افزار Excel 2013 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. همچنین برای بررسی معنی‌دار بودن اختلاف ( $P \geq 0.05$ ) بین میانگین مقدار آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های آنالیز شده به روش الایزا از آزمون Tukey در Minitab 17 استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

در جدول ۱ میزان آفلاتوکسین  $M_1$  پاکت شیر بسته بندی شده توسط چهار کارخانه در سطح شهر مشهد و سه کارخانه در سطح شهر گناباد به طور کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱).

**Table 1** Concentration of Aflatoxin  $M_1$  in packaged milk prepared from Mashhad and Gonabad cities

| City     | Factory   | Aflatoxin levels (ppb)   |
|----------|-----------|--------------------------|
| Goonabad | Factory A | 0/024±0/019 <sup>a</sup> |
|          | Factory B | 0/027±0/021 <sup>a</sup> |
|          | Factory C | 0/031±0/029 <sup>a</sup> |
| Mashhad  | Factory A | 0/040±0/015 <sup>a</sup> |
|          | Factory B | 0/021±0/007 <sup>a</sup> |
|          | Factory C | 0/022±0/003 <sup>a</sup> |
|          | Factory D | 0/050±0/008 <sup>a</sup> |



**Fig 1** Comparison of Aflatoxin  $M_1$  concentration in packaged milk of Mashhad and Gonabad cities with European Union and the Iranian Institute of Standards acceptable values

میکروپلیت ریخته و سپس خالی شد و این عمل دوبار تکرار گردید. سپس ۱۰۰  $\mu$ l از محلول‌های استاندارد در میکروپلیت‌ها ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی قرار گرفتند (۶ استاندارد و ۶ میکروپلیت). همزمان ۱۰۰  $\mu$ l از نمونه‌ها درون میکروپلیت‌ها ریخته و ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. مجدداً عمل خالی شدن محتوای میکروپلیت‌ها تکرار شد. این بار هم دو بار ۲۵۰  $\mu$ l محلول شست و شو در هر میکروپلیت ریخته و سپس خالی شد. در گام بعدی ۱۰۰  $\mu$ l از محلول کانژوگه رقیق درون میکروپلیت‌ها ریخته و ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و عمل بیرون ریختن محتوای میکروپلیت‌ها نیز تکرار شد. در این مرحله، افزودن ۲۵۰  $\mu$ l محلول شست و شو در هر میکروپلیت و سپس خالی شدن محتوای آن نیز دوبار تکرار گردید. سپس ۱۰۰  $\mu$ l از محلول کروموزن درون میکروپلیت‌ها ریخته و ۱۵ دقیقه در تاریکی قرارداده شد. روی همان محلول ۱۰۰  $\mu$ l از محلول استاپ سولوشن درون میکروپلیت‌ها ریخته و ۱۵ دقیقه در محیط قرار

میزان آفلاتوکسین  $M_1$  در نمونه‌های شیر مورد ارزیابی به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار در جدول ۱ گزارش شده است. دامنه غلظت آفلاتوکسین در سه کارخانه مورد ارزیابی سطح شهر گناباد به ترتیب کمتر از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۶۰، کمتر از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۵۸، کمتر از ۰/۰۰۵ تا ۰/۰۶۰ بود. همچنین دامنه غلظت آفلاتوکسین شیرهای بسته‌بندی شده از کارخانجات سطح شهر مشهد از ۰/۰۱۴ تا ۰/۰۵۱، ۰/۰۱۴ تا ۰/۰۳۸، ۰/۰۱۶ تا ۰/۰۲۵ و ۰/۰۴۲ تا ۰/۰۶۰ ppb مشاهده شد. مطابق نتایج میانگین میزان آفلاتوکسین شیرهای آزمایش شده کمتر از حد مجاز پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا و استاندارد ایران (۰/۰۵ ppb) بود (شکل ۱).

میزان آفلاتوکسین حدود ۱۳ درصد (یازده نمونه از ۸۰ نمونه) بالاتر از حد قابل قبول بود و در این بین فقط یک نمونه بالاتر از ۰/۰۸ ppb حاوی آفلاتوکسین مشاهده شد (جدول ۲). نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از ارزیابی آفلاتوکسین شیر در ایتالیا تطابق داشت [۱۸، ۱۹].

همانطور که در جدول ۲ نیز مشاهده می‌شود، طبق روش الایزا در ۲۶ نمونه آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> کمتر از ۵۰ ng/kg و در ۵ نمونه آلودگی در محدوده بین ۵۰-۱۰۰ ng/kg، در ۲۲ نمونه آلودگی در محدوده بین ۱۰۰-۲۵۰ ng/kg و در ۲۹ نمونه آلودگی بیشتر از ۲۵۰ ng/kg یعنی بیش از حد مجاز طبق کمیته اروپایی و غذایی کدکس (۲۵۰ ng/kg) تعیین گردید.

Table 2 Level of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk

| Aflatoxin M <sub>1</sub> (ppb)  | Frequency | Percent |
|---------------------------------|-----------|---------|
| 0/01-0/05                       | 53        | 64      |
| More than 0/05                  | 11        | 13      |
| No pollution or less than 0/005 | 16        | 20      |
| Total                           | 80        | 100     |

لا دارند که می‌تواند نشان- دهند هم‌قاومت با نسیم به فرآیندهای حرارتی باشد [۲۷]. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ چهار ارزیابی حضور و مقدار آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیر خام تولید شده در شهر سرابانجام شد از ۱۱۱ نمونه شیر مورد مطالعه ۸۵ نمونه (۷۶/۶ درصد) آلوده به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با غلظتی بین ۰/۱۵ تا ۰/۲۸ میکروگرم در لیتر بوده است [۲۸].

همچنین در مطالعه بهاسین و انوار که در پاکستان در ۱۴ منطقه‌ی پالتینجانبانجام شد در ۹۹/۴ درصد از نمونه‌ها، غلظت آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بیشتر از حد مجاز اتحادیه اروپا بود [۲۹]. تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای تولیدی مزارع پرورش گاوشیر در استان چهارمحال و بختیاری به روش‌های شالایزا توسط رحیمی و کریم در سال ۲۰۰۸ مورد بررسی قرار گرفت. مطابق نتایج اعلام شده در ۴۱ نمونه از ۸۶ نمونه آزمایش شده وجود آفلاتوکسین M<sub>1</sub> با غلظتی مابین ۲/۸۶۸ تا ۱۷۶/۱۹۲ نانو گرم در لیتر تعیین شد. همچنین در ۱۶ نمونه (۱۸/۶ درصد) از نمونه‌های مثبت سطح آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> بیش از حد مجاز استاندارد بود [۳۰].

## ۵- نتیجه‌گیری

وجود مایکوتوکسین در انواع غذاها کیفیت بهداشتی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد و یک مشکل جهانی محسوب می‌شود، شیر و فرآورده‌های شیر از این نظر دارای حساسیت و اهمیت خاصی می‌باشند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که میانگین میزان آفلاتوکسین در کل شیر جمع‌آوری شده کمتر از

تحقیقات متعددی در زمینه تعیین سطح آفلاتوکسین در شیر و فرآورده‌های شیری در ایران انجام شده است. نتایج این تحقیقات همه نگران کننده و نشان از آلودگی بالای شیرهای سطح کشور به آفلاتوکسین می‌باشد [۲۰-۲۱]. همچنین می‌توان به تحقیقی در ایران اشاره کرد که میزان آلودگی را بیش از حد مجاز و نزدیک به صد درصد نمونه‌ها گزارش کردند [۲۲]. دلایل مختلفی می‌تواند در آلودگی شیر به آفلاتوکسین نقش داشته باشند از جمله مطالعه‌ای در چند سال گذشته نشان داد آلودگی شیر مناطق جغرافیایی مختلف تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر داشتند [۲۳]. همچنین می‌توان به بررسی آلودگی شیرها به آفلاتوکسین در فصول مختلف اشاره کرد که در برخی از مناطق شیرهای فصل زمستان نسبت به شیرهای فصل تابستان از آلودگی بیشتری برخوردار است و این به نبود علوفه تازه در فصول سرما نسبت داده شده است [۲۴-۲۵].

نتایج مطالعه نوریان و همکاران (۲۰۱۵) که میزان آفلاتوکسین M<sub>1</sub> را در نمونه‌های شیر خام تولیدی استان قزوین به روش الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بررسی کردند نشان داد که تمامی نمونه‌ها به سم آفلاتوکسین آلوده بودند که از این میزان ۳۳/۵۲ درصد نمونه‌ها بیشتر و ۶۶/۴۸ درصد نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد ایران (۰/۰۵ ppb) بود [۲۶].

بررسی آلودگی شیر استان‌های اصفهان و یزد به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> توسط دارای گرمه‌خانی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مورد بررسی قرار گرفت و طبق نتایج میزان آلودگی به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در شیرهای استان یزد بالاتر از استان اصفهان می‌باشد. همچنین نتایج شیرهای استان یزد نشان داد که شیرهای پاستوریزه و استریلیزه نیز آلودگی

- [10] Campagnollo, F.B., et al.(2016). The occurrence and effect of unitoperations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M 1: A review. *Food Control*, 68: p. 310-329.
- [11] Iqbal, S.Z., et al.(2010). Survey of aflatoxins in chillies from Pakistan produced in rural, semi-rural and urban environments. *Food Additives and Contaminants*, 35(4): p. 268-274.
- [12] Ghazani, M.H.M.(2009). Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). *Food and Chemical Toxicology*, 47(7): p. 1624-1625.
- [13] Berg, T.(2003). How to establish international limits for mycotoxins in food and feed? *Food Control*, 14(4): p. 219-224.
- [14] Margolles, E., A. Escobar, and A. Acosta.(1990). Aflatoxin B1 residuality determination directly in milk by ELISA. *Revista de Salud Animal*, 12(1-3): p. 35-38.
- [15] Rastogi, S., Dwivedi, D.P., Khanna, K.S., and Das, M.( 2004). Detection of milk and infant milk products from Indianmarkets by ELISA. *Food Control*, 15, 287-90.
- [16] Rodriguez, M.L., Velasco, M.M., Calonge, D., and Ordonez Escudero, D. ( 2003). ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in rawmilk. *Food Additive Contamination*, 20, 276-80
- [17] Bhat, R., R.V. Rai ,and A.A. Karim.(2010). Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1): p. 57-81.
- [18] Santini, A., et al.(2013). Aflatoxin M1 in raw, UHT milk and dairy products in Sicily (Italy). *Food Additives & Contaminants: Part B*, 6(3): p. 181-186.
- [19] Armorini, S., et al.(2016). Occurrence of aflatoxin M1 in conventional and organic milk offered for sale in Italy. *Mycotoxin research*, 32(4): p. 237-246.
- [20] Rahimi, E., et al.(2012). Aflatoxin M1in pasteurized milk and white cheese in Ahvaz, Iran. *Global veterinaria*, 9(4): p. 384-7.
- [21] Ranjbar, S ,M. Noori, and R. Nazari.(2010). Study of milk aflatoxin M1 and its relationship with feed fungi flora in Markazi Province. *J Cell &Tissue*, 1(1): p. 9-18.
- [22] Alborzi, S., M. Rashidi, and B. Astaneh.(2006). Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (south of Iran). *Food Control*, 17(7): p. 582-584.
- [23] Tajkarimi, M., et al.(2007). Seasonal study of aflatoxin M 1 contamination in milk

حد مجاز توصیه شده توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و اتحادیه اروپا و از لحاظ کیفیت بهداشتی مطابق با قوانین آنها بود. موثرترین روش جلوگیری از آلودگی شیر به آفلاتوکسین M<sub>1</sub> کاهش آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در مواد غذایی و مکمل مورد استفاده برای گاوهای شیری است همچنین آموزش دامداران به منظور عدم استفاده از علوفه ناسالم در تغذیه دام- های شیری و کنترل و نظارت بیشتر بر مراکز دریافت شیر خام و کارخانجات تولید کننده محصولات لبنی می تواند در کاهش آلودگی شیر و محصولات شیری به ویژه پنیر موثر واقع گردد.

## ۶- منابع

- [1] Van Egmond, H.( 1995).Mycotoxins: regulations, quality assurance and reference materials. *Food Additives & Contaminants*, 12(3): p. 321-330.
- [2] Fallah, A.A., et al.(2011). Seasonal variation of aflatoxin M 1 contamination in industrial and traditional Iraniandairy products. *Food Control*, 22(10): p. 1653-1656.
- [3] Trucksess, M.W. and A.E. Pohland.(2000). *Mycotoxin protocols*. Springer Science & Business Media. Vol. 157.
- [4] Prandini, A., et al.(2009). On the occurrence of aflatoxin M 1 in milk and dairy products .*Food and Chemical Toxicology*,. 47(5): p. 984-991.
- [5] Flores-Flores, M.E., et al.(2015).Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*, 53: p. 163-176.
- [6] Nemati, M., et al.(2010). A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samplesin Ardabil, Iran. *Food control*, 21(7): p. 1022-1024.
- [7] Martins, H.M., M.M.M. Guerra, and F.M.d.A. Bernardo.(2007). Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal. *Rev Iberoam Micol*, 24: p. 69-71.
- [8] Kabak, B., A.D. Dobson, and I.I. Var.(2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(8): p. 593-619.
- [9] Brackett, R.E. and E.H. Marth.(1982). Fate of aflatoxin M1 in parmesan and mozzarella cheese. *Journal of Food Protection*, 45(7): p. 597-600.

- from Esfahan and Yazd provinces. EJFPP, 2(3): p. 31-42.
- [28] Kamkar, A.(2005). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food control, 16(7): p. 593-599.
- [29] Hussain, I. and J. Anwar.(2008).A study on contamination of aflatoxin M 1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. Food Control, 19(4): p. 393-395.
- [30] RAHIMI, E. and G. Karim.(2008). Determination of AFM1 in the Raw Milk Producing in Dairy Farms in Chahar-Mahal-Bakhtiari Province Using ELISA..
- in five regions in Iran. International journal of food microbiology, 116(3): p. 346-349.
- [24] Bellio, A., et al.(2016). Aflatoxin M1 in Cow's Milk: Method Validation for Milk Sampled in Northern Italy. Toxins, 8(3): p. 57.
- [25] Guo, L., et al.(2016). A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Tangshan region of China during 2012–2014. Food Control, 69: p. 30-35.
- [26] Norian, R., A.R. Pourfarzaneh ,and F. Mashatian.(2015). Determination Of Aflatoxin M<sub>1</sub> In Raw Milk Produced In Qazvin Province By Elisa And HPLC.
- [27] Daraei Garmakhany, A., Zighamian, H., Rasti Ardakani, M., Sarhangpour, R and Amiri, s.s.(2011). Investigation of Aflatoxin M1 contamination in milk samples collected

## Investigation of of aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in packed pasteurized milks in the factories of Mashhad and Gonabad using ELISA method

Hakimzade, V.<sup>1</sup>, Khoori, E.<sup>2\*</sup>, Khoori, M.<sup>3</sup>

1. Assistance Prof, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

2. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

3. Ph.D Student Food Hygiene, Ferdowsi University, Mashhad (FUM), Iran.

(Received: 2018/02/09 Accepted: 2018/08/27)

Aflatoxins are toxin compounds which are resist against thermal processes and They are often found in milk and its products. Therefore, detection of aflatoxin in milk is of particular importance. The aim of this study was to investigate the contamination of packed pasteurized milks with aflatoxin by ELISA method. In this cross-sectional study, 80 packed milk samples from dairy factories of Mashhad and Gonabad cities was investigated. The concentration of aflatoxin in milk samples of Mashhad and Gonabad factories were  $0.040 \pm 0.015$ ,  $0.021 \pm 0.007$ ,  $0.022 \pm 0.003$ ,  $0.05 \pm 0.008$  ppb and  $0.027 \pm 0.021$  &  $0.031 \pm 0.029$  ppb respectively. Among 80 test samples, about 13% of them had aflatoxin above the Iranian standard limit. The results showed that the average concentration of aflatoxin in the tested samples was less than acceptable amount in the EU (European Union) and the Institute of Standard and Industrial Research of Iran. The statistical calculations also showed that there was no significant difference between aflatoxin concentrations in milk samples of these two cities.

**Keywords:** Milk, Aflatoxins M<sub>1</sub>, ELISA

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: [khooriel@thums.ac.ir](mailto:khooriel@thums.ac.ir)