اعتباربخشی روش اندازه گیری آفلاتوکسینM1 در ماست

مهسا تبری[۱*]، خشایار تبری[۲]، زهرا سالاری[۳]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لاهیجان، لاهیجان، ایران.

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

۳- گروه منابع طبیعی، واحد بافت، دانشگاه آزاد اسلامی، بافت، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲٦)

چکیده

اعتبار بخشی اندازه گیری آفلاتوکسین در ماست بر اساسBS EN ISO 14501/2007 صورت گرفت. در این پژوهش از شیر خشک فاقد آفلاتوکسین (ساخت کشور هلند) برای تولید ماست استفاده گردید و با اضافه کردن آفلاتوکسین نمونه های پژوهش تهیه شد. اساس آزمایش، بر مبنای استخراج با ستون ایمونوافینیتی و در تزریق به دستگاه HPLC با شناساگر FLD بود و تنظیمات دستگاهی طبق استاندارد انجام گردید. برای رسیدن به بهترین شرایط ممکن جهت شناسایی آفلاتوکسین و اطمینان از تفکیک آفلاتوکسین M1، کنترل های دستگاهی از جمله مهم‌ترین آن‌ها، کنترل جریان فاز متحرک و نسبت ترکیبات تشکیل دهنده فاز متحرک اعمال شد. جهت صحه گذاری روش آزمون های صحت و دقت، گزینش‌پذیری و تداخلات، حد تشخیص و حد تعیین، تکرارپذیری و تکثیرپذیری به منظور مناسب بودن داده ها، مورد ارزیابی قرار گرفت. مطابق این روش پس از جداسازی و خالص سازی حداکثر میزان بازیافت در غلظتppb ۰/۰۲۵ معادل ۷٤/۲۸ درصد، حداکثر میزان بازیافت در غلظتppb ۵۰ معادل ۸۰/۸۹ درصد و حداکثر میزان بازیافت در غلظت ppb ۷۵ معادل ۸٦/۷۷ درصد با RSD در رنج ٪ ۸/٤۱- ٪۲/۵٦ بدست آمد. این روش نسبت به سایر روش ها سریعتر زمان بازداری کوتاهتر و از دقت و صحت بسیار بهتری برخوردار است و برای اندازه گیری دقیق مقادیر آفلاتوکسین M1 در ماست مناسب است.

واژگان کلیدی: اعتبار بخشی، آفلاتوکسینM1، ماست، HPLC، ستون ایمونوافینیتی.

*مسئول مکاتبات: ma.tabari@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

۱- مقدمه

آفلاتوکسین‌ها وابسته به ترکیبات بیسفورانوکومارین بوده که دارای اثرات سمی، سرطان زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی و جهش-زایی هستند و به دلیل سمیت شدید یکی از نگرانی‌های بزرگ صنعت غذا به شمار می‌روند. آفلاتوکسین‌های M1 و M2 متابولیت‌های هیدروکسیله B1 و B2 هستند که در شیر حیوانات شیرده مانند گاوهای شیری دفع می شوند [۱،۲]. آفلاتوکسین‌ها و متابولیت‌های سمی آن‌ها، در غذا و محصولات غذایی ترکیبات پایداری بوده و در مقابل حرارت نسبتا مقاوم می باشند به طوری‌که در دمای خشک ۲۵۰ درجه سیلسیوس و نیز دمای ۱۲۰ درجه مرطوب پایدارند [۷-۳]. از دهه ۱۹۶۰ پس از کشف آفلاتوکسین تاکنون مقررات خاصی در کشورهای مختلف برای محافظت مصرف کنندگان وضع شده است. از آنجاییکه امکان حذف مایکوتوکسین از زنجیره غذایی وجود ندارد، کدکس میزان مجاز آفلاتوکسین در شیر را ۵۰۰ ng/l یا ۰/۵ µg/l مشخص کرده‌اند. البته این مقادیر برای شیر مصرفی نوزادان با محدودیت بیشتری روبرو است و حداکثر مجاز آن ۱۰۰ ng/l تعیین شده‌است[۸].

از آن‌جایی که شیر یک غذای ضروری برای کودکان و سالمندان بوده و به دلیل حساسیت این گروه مصرف کننده به اثرات سمی آفلاتوکسین، لازم است تدابیر خاص جهت حفاظت جیره غذایی دامی از کپک‌های مولد آفلاتوکسین و همچنین تدابیری جهت حذف آفلاتوکسین M1 موجود در شیر به عمل آید. در بسیاری از کشورها برنامه بازرسی وکنترل روی مایکوتوکسین ها جهت حفظ و ارتقاء بهداشت عمومی صورت گرفته است. قابل ذکر است در بررسی های انجام شده بر روی نمونه‌های مختلف شیر در نقاط مختلف ایران در بعضی موارد مقادیر آفلاتوکسین بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا ارزیابی شده است.

Table 1 Aflatoxin M1 contamination in Iran

Sampels	Contamination content	Contamination%	
52 raw milk	23-300µg/l	92.31%	Karim et al. [9]
111 raw milk	15-83 µg/l	76.6%	Kamkar et al. [10]
90 raw milk	79.4 µg/l	93.5%	Tabari et al. [11]
328 yoghurt	31-113 ng/l	80%	Tabari et al. [12]

با توجه به اهمیت دقت روش آنالیز در اندازه گیری آفلاتوکسین در ماست، در این مطالعه، اعتباربخشی به روش اندازه گیری آفلاتوکسین در ماست و بالا بردن امکان سنجش حداقل مقدار آفلاتوکسین قابل اندازه گیری در فراورده تخمیری شیر، ماست به عنوان یک روش موثرتر مورد مطالعه قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

در اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 مواد و تجهیزات مورد نیاز شامل مواد و تجیزات مربوط به کار با دستگاه HPLC با دتکتور فلورسنت و مواد مورد نیاز جهت تهیه محلول‌های استاندارد آفلاتوکسین M1 می باشد که جهت اسپایک گذاری و تهیه منحنی کالیبراسیون استفاده می شود. همچنین از ستون ایمونوافینیتی آفلاتوکسین M1 (مدل AlfaStar M1, Romer factory)، پودر آفلاتوکسین M1 (ساخت کشور دانمارک و به شماره بچ ۸۹۳٤٦-۷۸۸۹) و دستگاه HPLC با مشخصات (پمپ HPLC مدل Waters, Separation Module, 2695, Allianc) مجهز به دتکتور FLD (Waters, Fluorescence Detector) و ستون C18 با طول ۲۵ سا نتیمتر و قطر ٤ میلی متر با پارتیکل‌هایی به سایز ۵ میکرومتر

Zorbax, C18, 25*4 cm, 5 micro استفاده گردید.

۲-۱-تهیه محلول‌های استاندارد آفلاتوکسین

از آن جایی که غلظت دقیق محلول های آفلاتوکسین مورد

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

استفاده نقش به‌سزایی در این پژوهش ایفا می کند در مرحله اول، ابتدا از پودر آفلاتوکسین M1 محلول ذخیره طبق استاندارد تهیه گردید[۱٤، ۱۳].

۲-۲- آماده سازی و تهیه نمونه

برای انجام این پژوهش، نیاز به نمونه ماست فاقد آلودگی بود. به جهت عدم دسترسی به نمونه فاقد آفلاتوکسین، به عنوان نمونه شاهد، ابتدا نمونه‌هایی از شیر خشک های موجود در بازار، مورد آزمون قرار گرفت و شیر خشک غیرآلوده (ساخت کشور هلند) برای تولید ماست استفاده گردید و از نمونه‌های تهیه شده به عنوان نمونه شاهد، در کلیه مرحله‌های پژوهش استفاده شد.

۲-۳- تنظیمات دستگاهی

تنظیمات اولیه دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، دارای تجهیزات زیر، مطابق استاندارد BS EN ISO 14501 انجام شد[۱۳]. پمپ: به‌وسیله پمپ جریان فاز متحرک، در داخل ستون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ایجاد می شود. به‌وسیله پمپ جریان ثابت ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه ایجاد شد. سیستم تزریق اتوماتیک یا دستی به حجم قابل کنترل ۲۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر، ستون C18: ۲۵ سانتی متری ۵ میکرومتری، پیش ستون C18: ۲ سانتی متری، آشکارساز فلورسانس با طول موج برانگیختگی۱ برابر با۳٦۰ نانومتر، طول موج نشری۲ برابر با ٤٤۰ نانومتر، تقویت۳ برابر با ۱۰۰۰ و زمان بازداری برابر با ۷ دقیقه به‌کارگرفته شد. ارزیابی دستگاهی، به کمک کامپیوتر و نرم افزار میلینیوم٤ انجام شد. در این بخش، بررسی نتایج دستگاه، می‌تواند با استفاده از نرم افزار ACD LABs نیز صورت گیرد.

۲-٤- بررسی میزان گزینش‌پذیری و تداخلات

گزینش‌پذیری برای تمایز بین آنالیت مورد نظر و ترکیبات نزدیک به آن (مانند ایزومرها) یا تداخل یا ممانعت ترکیبات موجود در ماتریکس بسیار مهم می باشد. گزینش‌پذیری یکی از مسائل و مشکلات بسیار مهم می باشد که برای انجام آزمایش‌های دقیق باید این مشکل رفع گردد [۱٤].

۲-۵- معتبر سازی روش اندازه گیری

دقت و بازیافت[5] روش، بر اساس BS EN ISO 14501 مشخص گردید. به این ترتیب که سه سری آزمایش بر روی نمونه‌های ماست آلوده شده به آفلاتوکسینM1، در غلظت های ۰/۵ به ۱/۰ و ۱/۵ برابر MRL (معادل µg/kg ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵)، در۷ تکرار، مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ٦۳ نمونه در سه روز مختلف، با تجهیزات مشابه و توسط سه اپراتور مختلف بررسی گردید. میزان بازیافت با بهینه سازی حجم شستشوی ستون ایمونوافینیتی بهبود یافت.

دقت بر حسب (R.S.Dr) یا (R.S.DR) صورت زیر محاسبه گردید:

تکرارپذیری[6] (R.S.Dr): نوسان نتایج بدست آمده از انجام آزمایش‌های جداگانه با یک روش، در یک آزمایشگاه و به وسیله یک اپراتور با دستگاههای یکسان.

تکثیر پذیری[7] داخل آزمایشگاه‌ها (R.S.DR): نوسان نتایج بدست آمده از آزمایش‌های جداگانه با یک روش، در یک آزمایشگاه، به وسیله اپراتورهای مختلف و در زمان‌های مختلف با استفاده از دستگاه‌های یکسان.

نتایج مربوط به آزمون دقت و باز یافت، در جدول ۳ نشان داده شده است که قبلا با روش شاپیرو-ویلک[8] برای اطمینان از توزیع نرمال و روش دیکسون[9] برای حذف داده‌های انحرافی، مورد بررسی قرار گرفت. سپس تست کوچران[10] به منظور بررسی یکنواختی واریانس در محدوده غلظت اعمال‌شده انجام

1. Excitation
2. Emission
3. Gain
4. Millinium

5. Precision and Recovery
6. Repeadability
7. Reproducibility
8. Shapiro-Wilk
9. Dixon
10. Cochran

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

شد. در نهایت از تست ANOVA به منظور اطمینان از عدم وجود خطای دستگاهی استفاده‌گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج حاصل از محلول‌های استاندارد آفلاتوکسین

نتایج حاصل از ترسیم منحنی کالیبراسیون و محدودیت های تشخیص و شناسایی رسم منحنی با تزریق‌های متوالی حجم-های مناسب ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ٤، ٦، ۸، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ppb انجام شد و انطباق بسیار مناسب در داده‌های ترسیم شده در منحنی مشاهده گردید. منحنی کالیبراسیون برمبنای سطح پیک‌های حاصل از هر یک از تزریق‌های متوالی از هر نمونه‌ی استاندارد (که از حاصل‌ضرب میزان شدت جذب فلوئورسنت در واحد زمان به دست می‌آید و داده‌های سطوح محاسبه شده توسط دستگاه) و غلظت آفلاتوکسین‌های تزریق شده (محور افقی) رسم گردید. معادله خط بدست آمده از داده‌های ترسیم شده توسط دستگاه، $y = ۰/۵۸۲\ x + ۰/۲٦۳$ با درجه خطی بودن $R^2 = ۰/۹۹۹۹$ حاصل شد.

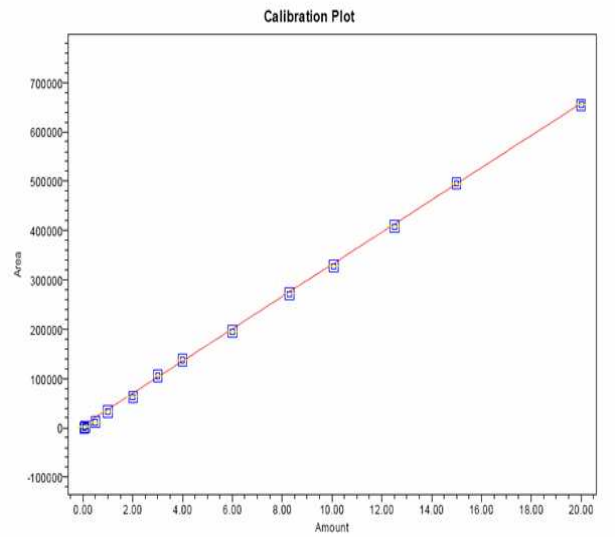


Fig 1 Standard curve of aflatoxin M1

۳-۲- نتایج تنظیمات دستگاهی

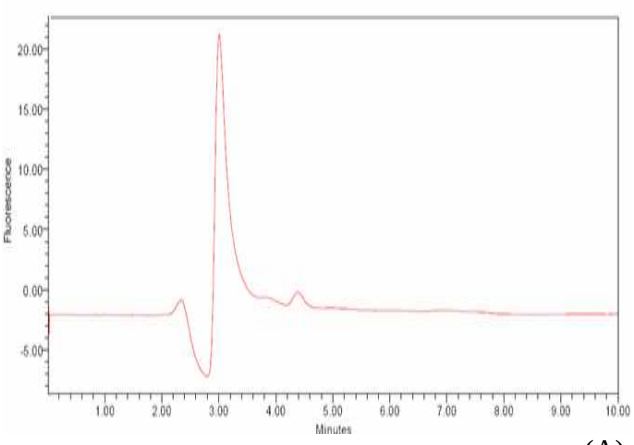
فاز متحرک می‌تواند ترکیبی از آب-استونیتریل (۷۵،۲۵)، آب-استونیتریل- متانل (٦۵، ۲۵، ۱۰) و یا آب- ایزوپروپانل-استونیتریل (۸۰، ۱۲، ۸) باشد. شرایط بهینه براساس نوع ستون به‌کار گرفته شده تعیین گردید[۱۵،۱٦]. در این پژوهش، از ستون C18 و فاز متحرک به نسبت آب- استونیتریل- متانل (۵۵، ۳۰، ۱۵) استفاده شد. این اعتبار بخشی با رعایت کلیه اصول تایید و تاکید شده مطابق استانداردهای اروپا است. بر اساس استاندارد برخی ویژگی‌های اجرایی مانند گزینش پذیری[11] قبل از انجام معتبر سازی[12] باید تعیین گردد [۱۵، ۱۳].

۳-۳- نتایج حاصل از میزان گزینش‌پذیری و تداخلات

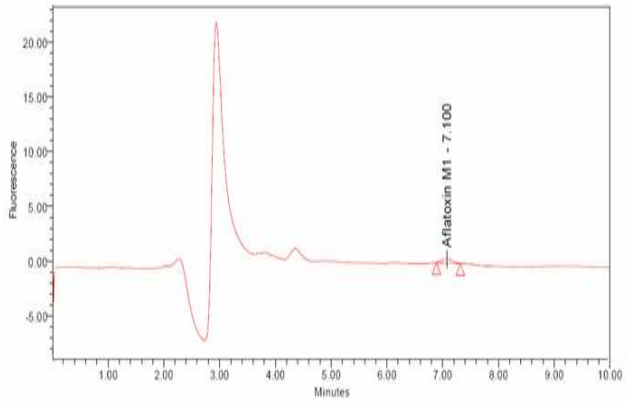
از مشکلات دیگر، اثر حافظه بین تزریق های متوالی است. بهبود گزینش پذیری روش و پاک سازی ستون با عبور حجم مناسبی از فاز متحرک و تعادل دوباره پس از هر آزمایش، این مشکل را بر طرف می سازد. در مطالعات مقدماتی، در مقایسه-ی مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین ایزومر آفلاتوکسین M1، یعنی آفلاتوکسین M2 و سایر مشتقات آفلاتوکسینی، مشخص گردید که تمامی این ترکیبات، دارای زمان بازداری متفاوتی با آفلاتوکسین M1 بودند. بررسی گزینش‌پذیری از نظر وجود ترکیبات طبیعی موجود (از نظر وجود متابولیت‌ها، ترکیبات درونی...)، با آنالیز ۱۰ نمونه شاهد از ماست بدست آمده از شیر فاقد آفلاتوکسین، ماست دارای ۳ ng/kg آفلاتوکسین M1 و نمونه ماست دارای ۵۰ ng/kg آفلاتوکسین M1. صورت گرفت و نتایج نشان داد که فاقد هر گونه تداخلی در آنالیز بود و تداخل ترکیبات ماتریکس در زمان بازداری آفلاتوکسین M1 در هیچ نمونه‌ای مشاهده نشد.

11. Selectivity
12. Validation

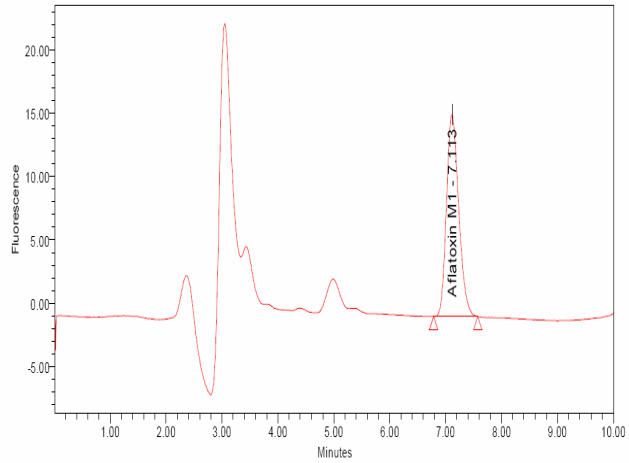
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]



(A)



(B)



(C)

Fig 2 Chromatogram of yoghurt (without aflatoxin M1) (A); Yoghurt spiked at 3ng/kg AflatoxinM1 (B); Yoghurt spiked at 50ng/kg AflatoxinM1 (C).

۳-٤- معتبرسازی روش اندازه گیری آفلاتوکسین در ماست

بـه منظـور تعیـین میـزان حـساسیت، از دو فـاکتور حـد تشخیص(LOD)[13] و حد تعیین(LOQ)[14] آفلاتوکسین M1 استفاده شد. این مقادیر، با اسـتفاده از شـیب خـط (b) منحنـی کالیبراسـیون مـاتریکس و خطـای اسـتاندارد بـاقی مانـده[15] (SY/X) با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

فرمول (۲و ۳)

$$LOD=10\ SY/X\ /b$$

میزان LOD و LOQ به ترتیب برابر ۰/۱۲ µg l-1 و ۰/۳۰ µg l-1 معادل ۰/۰۰٦ µg/kg و ۰/۰۱۵ µg/kg در ماتریکس بود. این حد تعیین در مقایسه با میزان تعیین شده آفلاتوکسین M1 در ماست (۰/۰۵µg/kg) حد استاندارد اتحادیه اروپا قابل قبول است. حداکثر میزان بازیافت در غلظت ۲۵ ppb معادل ۷٤/۲۸ درصد و به طور متوسط ۷۳/۳۳ درصد، حداکثر میزان بازیافت در غلظت ۵۰ ppb معادل ۸۰/۸۹ درصد و به طور متوسط ۷۸/۹۵ درصد و حداکثر میزان بازیافت در غلظت ۷۵ ppb معادل ۸٦/۷۷ درصد و به طور متوسط ۸۵/۹٦ درصد بدست آمد. میزان بازیافت نهایی ۸۰/٤۲ درصد بدست آمد و در نهایت از تست ANOVA استفاده شد. نتایج حاصل از این تست نشان داد که خطای سیستماتیک وجود نداشته و بین داده‌های بدست آمده در روزهای مختلف، تفاوت معنی دار وجود ندارد ($p\geq$ ۰/۰۵). هم‌چنین اثر متقابل روز و میزان آفلاتوکسین معنی دارنیست ($p\geq$ ۰/۰۵).

بر اساس قوانین 401/2006/EC، میزان مجاز تجاری R.D.S برای هر غلظت باید کم‌تر از دو برابر میزان بدست آمده از معادله هوریتز[16] باشد که با این معادله در R.S.D فقط بر اساس غلظت آنالیت (C) و بدون در نظر گرفتن ماتریکس و روش مورد استفاده بدست می آید. طبق فرمول Horwitz:

فرمول (٤):

بازیافت تعیین شده در سه روز مختلف در غلظت های ۰/۰۲۵ ، ۰/۰۵۰ ، ۰/۰۷۵ µg/kg در محدوده ۸۸/۲-۷۲/۵ درصد با R.S.D، بین ۷/۱-۱٦/۳ درصد قرار داشت. متوسط میزان بازیافت بین روز[17] و بین سطح[18] که برای تصحیح نتایج آزمون ها استفاده شده است، ۸۰ درصد بود.

13. Limit of Detection
14. Limit of Quantitation
15. Residual Standard Error
16. Horwitz
17. Inter-day
18. Inter-Level

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

Table 2 repeatability and recovery percentages

Fortification level (ng/kg)	Parameter	Op1	Op 2	Op3
25 (0.5 MRL)	Mean (ng kg−1)	18.57	18.28	18.14
	S.D. d (ng kg−1)	1.05	1.12	1.23
	R.S.D. (%)	6.6	8.41	7.33
	Mean recovery (%)	74.28	72.57	73.14
50 (1.0 MRL)	(ng kg−1) Mean	39.14	38.86	39.14
	(ng kg−1) S.D.	2.06	1.63	1.76
	Mean recovery (%)	80.85	78.28	77.71
	R.S.D. (%)	5.8	6.1	4.3
75 (1.5 MRL)	(ng kg−1) Mean	64.71	63.71	65.00
	(ng kg−1) S.D.	2.86	2.34	2.69
	Mean recovery (%)	86.28	84.95	86.66
	R.S.D. (%)	3.69	3	2.56

Abbreviations: MRL: maximum residue limit; SD: standard deviation.
1Op, operator: relative standard deviation under repeatability conditions (RSDr; seven replicates at each level).
2Relative standard deviation under inter-laboratory reproducibility conditions (with the same instrument
3Mean concentration calculated from the calibration curve.

٤- نتیجه گیری نهایی

در این روش علی‌رغم مراحل آماده سازی کوتاه‌تر، میزان بازیافت بدست آمده با ضوابط اجرای تعریف شده توسط اتحادیه اروپا مطابقت داشت که میزان ۱۲۰-۶۰ درصد برای غلظت‌های بین µg/kg ۰/۰۵۰-۰/۰۱۰ و ۱۱۰-۷۰ درصد برای غلظت‌های بالای µg/kg ۰/۰۵ پیشنهاد می شود. مدت کوتاه پایداری[19] نتایج با تعیین بازیافت‌ها در سه روز مختلف ارزیابی گردید. همان‌طور که بازیافت‌ها و انحراف معیارهای مناسب مشخص است، روش در طول زمان آزمایش پایدار است.

٥- منابع

[1] Cusumano, V., Rossano F. and R.A. Merendino. (1996). ‘immunobiological activities of mould product: functional impairment of human’. monocytes exposed to aflatoxin B. 226:1065-1073.

[2] Roussi, V., Koidis, P. A. and N. A. Botsoglou. (2001). Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing, ripening and storage of telemes cheese. Food Additives and Contaminants, 18, 437-443.

[3] Philips, T.D. (1998). Isothermal Adsorption of Aflatoxin B1 on HSCAS Clay. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 59: 599-605.

[4] Creppy, E.E. (2002). ‘Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe’. Toxicology Letter, 127:19–28.

[5] Gowda, N. K. S., Suganthi, R.U., Malathi, V. and A. Raghavendra. (2007). ‘Efficacy of heat treatment and sun drying of aflatoxin-contaminated feed for reducing the harmful biological effects in sheep’. Animal Feed Science and Technology, 133: 167–175.

[6] Martins, M.L. and H.M. Martins. (2000). Aflatoxin M1 in raw and high temperature-treated milk commercialized in Portugal. Food Additional Contamination, 17 (10): 871–874.

[7] Prandini, A., G. Tansini, S. Sigolo, L. Filippi, M. Laporta, M. and G. Piva. (2008). ‘On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products’.Food and Chemical Toxicology. 165-173.

[8] Codex Alimentarius Commission (2001). ‘Comments submittad on the draft maximum level for Aflaxtoxin M1 in milk’. Codex

19. Short term stability

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

[13] BS EN ISO 14501: (2007). 'British standard of milk and milk powder – determine aflatoxin Clean-up immonoaffinity chromatography and determination by High-performance liquid chromatography". BSi, ICS 67.100.10.

[14] ISTISAN Report, (1996). SEIEVA Collaborative Group 1996, v, 30 p. Rapport ISTISAN 96/34.

[15] Tabari, M., Karim, G., Ghavami, M. and M. Chamani. (2011)"Method validation for Aflatoxin M1 determination in yoghurt using immunoaffinity column clean-up prior to high- performance liquid chromatography". Toxicology and Industrial Health. Volume 27 Issue 7 August 2011 pp. 629 – 636.

[16] Karim, G., Tabari, M., (2012) "An Experimental Study on Aflatoxin M1 Binding by Probiotic Bacteria in Yogurt". Journal of Food Protection, 31, 480-485.

committee on food additives and cotaminants 33rd sessions, Hauge, The Netherlands.

[9] Karim, G. (1982). Study on contamination of milk with aflatoxin in tehran, Journal of Iranian Public Health, 11(1-2): 19-23.

[10] Kamkar, A. 2005. A stady on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Control 16 (2005): 593-599.

[11] Tabari, M. (2010). "Immunoaffinity column clean-up techniques for detection Aflatoxin M1 from Iran milk in Guilan province". *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*. 8(6): 662-665.

[12] Tabari, M., Tabari, Kh. And Tabari, O. Aflatoxin M1 determination in yoghurt produced in Guilan province of Iran using immunoaffinity column and high-performance liquid chromatography. Toxicol Ind Health 2012, 29, 72–76. DOI: 10.1177/0748233712446729

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]

Validation of a method for determining Aflatoxin M1 in yoghurt

Tabari, M. [1*], Tabari, Kh. [2], Salari, Z. [3]

1. Department of Food Science and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
2. Young Researchers Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
3. Department of Natural Resources, Baft Branch, Islamic Azad University, Baft, Iran

(Received: 2016/12/16 Accepted: 2017/02/14)

Validating for detecting aflatoxin M1 in yoghurt according to Commission Decision BS EN ISO 14501:2007. In this study yoghurt samples prepared with milk powder without aflatoxin (Made in Holland) and then artificially contaminated by adding aflatoxin M1. Analytical method using immunoaffinity column for extraction and a high-performance liquid chromatography (HPLC) with FLD detector for quantification was performed according to the device settings. To achieve the best possible condition to identify and ensure the separation of aflatoxin M1, deploying some important device control such as, control the flow of the mobile phase and the mobile phase constituents was applied. The procedure for determining selectivity, recovery, precision, decision limit (CCα) and detection capability (CCβ) of the method has been reported. The method includes a preliminary clean-up and the average recoveries determined on three different days at the concentration levels of 0.025, 0.050 and 0.075 μg kg^{-1} were in 74.28%, 80.89 and 86.77% respectively with RSD in the range of 2.56%-8.41%. The interday and interlevel mean recovery value, which has been used to correct routine analysis results, was 80%. The method is rapid, easily automatable with low retention time and high accuracy therefore useful for accurate and precise screening of aflatoxin M1 in yoghurt.

Key words: Validation, Aflatoxin M1, Yoghurt, HPLC, immunoaffinity column.

* Corresponding Author E-Mail Address: ma.tabari@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-09]