Journal of Food Hygiene, Vol. 9, No. 34, Summer 2019

"Short Comunication" **DOI: 10.30495/JFH.2019.665676**

Determination of Aflatoxin M_1 level in raw milk of East Mazandaran retails

Golestan, L.[1*], Rahimi, Kh.[2]

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
2. M.Sc Graduate in Food Technology, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

*Corresponding Author: l.golestan@iauamol.ac.ir

(Received: 2018/10/3 Accepted: 2019/2/2)

Abstract

Mycotoxin contamination of foodstuff and its transmission to consumers are extremely important from the public health point of view. Aflatoxin M_1 (AFM_1) is a hepatocarcinogenic toxin found in the milk of animals that have consumed feeds contaminated with aflatoxin B_1. The aim of this study was to determine the level of AFM_1 in raw milk at traditional dairy retails of the east of Mazandaran province. A total of 80 cow raw milk samples was randomly collected from retails of 10 cities of Mazandaran during March 2015. The level of AFM_1 was measured by ELISA assay using commercial kits and a microplate reader. All raw milk samples contained measurable amounts of AFM_1. The results showed that 6.25% of the total samples had higher concentrations permitted by the Institute of Standards and Industrial Research of Iran; moreover, 17.5% of the samples were contaminated with higher concentrations of AFM_1 than the maximum allowed limit set by the European Commission. Results revealed any significant relationship in the AFM_1 concentrations between the sampling cities. According to the outcomes, it can be concluded that adequate control measures at the farm level may have resulted in reduced concentrations of AFM_1 in raw milk of Mazandaran province; however, frequent monitoring is crucial.

Conflict of interest: none declared.

Keywords: aflatoxin M_1, raw milk, ELISA, Mazandaran

«مقاله کوتاه» DOI: 10.30495/JFH.2019.665676

میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام عرضه شده در فروشگاه‌های شرق استان مازندران

لیلا گلستان[1*]، خدیجه رحیمی[2]

۱. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
۲. کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: l.golestan@iauamol.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۷/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۷/۱۱/۱۳)

چکیده

از نظر سلامت عمومی، آلودگی مواد غذایی به سموم قارچی و انتقال آن به مصرف‌کنندگان بسیار اهمیت دارد؛ آفلاتوکسینM_1 –سم مولد سرطان کبد– در شیر حیواناتی که از خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 تغذیه کرده‌اند، یافت می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین میزان آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام عرضه‌شده در فروشگاه‌های فرآورده‌های نیمه شرقی استان مازندران بود؛ برای این منظور، در اسفندماه ۹۵ تعداد ۸۰ نمونه شیر خام از مراکز فروش ۱۰ شهر استان مازندران جمع‌آوری شد و از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M_1 با روش الایزا مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد تنها در ٦/۲۵ درصد از کل نمونه‌ها غلظت آفلاتوکسین M_1 بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بود. هم‌چنین سطح آلودگی در ۱۷/۵ درصد نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز تعیین‌شده توسط اتحادیه اروپا بود. میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 اختلاف معنی‌داری در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از شهرهای مختلف نشان نداد. با توجه به نتایج می‌توان گفت کنترل مناسبی بر روی عوامل ایجاد آلودگی در سطح دامداری‌ها وجود داشته است، با این حال، پایش منظم سطح آلودگی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M_1 ، شیر خام، الایزا، مازندران

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه با وزن مولکولی کم هستند که در انتهای فاز لگاریتمی کپک‌هایی نظیر *آسپرژیلوس نومیوس*، *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* تولید می‌شود (Ranjbar *et al.*, 2010). آفلاتوکسین نوع M_1 سمی است که در پی مصرف خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 توسط گاوهای شیری و در کبد این حیوان تولید می‌شود و در شیر، بافت و مایعات بیولوژیک حیوان دفع می‌گردد. حدود ۰/۳ تا ٦/۲ درصد آفلاتوکسین B_1 به M_1 متابولیزه می شود. به‌دلیل مقاومت بالای آفلاتوکسین M_1 به حرارت، انجماد و تخمیر، در تولید سایر فرآورده‌های شیری که با شیرهای آلوده تولید شده‌اند، دیده می‌شود (Mendonca and Vaenancio, 2005). شیر و فرآورده های آن مهم‌ترین ماده مغذی مؤثر بر سلامت انسان و به‌ویژه رشد کودکان است و این در حالی است که این گروه سنی نسبت به خطرات آفلاتوکسین حساس‌تر هستند. طبق تقسیم‌بندی‌های اخیر آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، آفلاتوکسین B_1 و M_1 در گروه ۱ مواد سرطان‌زا قرار گرفته‌اند (IARC, 2011). جهت حفظ سلامت افراد در معرض خطر، حد مجاز برای آفلاتوکسین تعریف شده است. کدکس الیمانتاریوس و اتحادیه اروپا حد مجاز آفلاتوکسین M_1 را در شیر مایع خام و حرارت‌دیده کم‌تر از ۵۰ نانوگرم در لیتر توصیه نموده‌اند (FAO, 2004). حد مجاز میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر خام، پاستوریزه و استریلیزه UHT در ایران ۱۰۰ نانوگرم در لیتر تعیین‌شده است (ISIRI, 5925/2000). اگر میزان آفلاتوکسین در خوراک دام در حد ppb ۲۰ باشد می‌توان انتظار داشت که آفلاتوکسین M_1 در حد مجاز باقی بماند (Chopra *et al.*, 1999). در سطح استان مازندران بررسی‌هایی در زمینه میزان آلودگی آفلاتوکسین در شیرهای پاستوریزه و استریلیزه صنعتی انجام گرفته است (Gholampur *et al.*, 2007; Gholipur *et al.*, 2012). با این توصیف که در این استان هنوز تمایل زیادی به مصرف شیرهای محلی و خام به تصور ارزش تغذیه‌ای بالاتر به‌ویژه در مورد کودکان وجود دارد. بنابراین شرایط کیفی شیرهای خام نیز همواره باید به‌عنوان یک مسئله مخاطره‌آمیز مورد توجه قرار گیرد.

از آن‌جایی که ۹۵ درصد گاوداری‌های شیری مازندران به‌صورت سنتی (۷۷ درصد) و نیمه‌صنعتی (۱۸ درصد) فعالیت می‌کنند (Torabi and Ghorbani, 2016)، منبع شیر اکثر فروشگاه‌های فرآورده‌های شیری سنتی از دامداری‌های سنتی است که معیارهای کنترل استاندارد در آن‌ها کم‌تر مورد توجه قرار می‌گیرد. مهم‌ترین راه پیشگیری از آلودگی به آفلاتوکسین‌ها در زنجیره غذا، بهبود عملیات زراعی و کنترل شرایط انبارداری محصولات کشاورزی و سنجش مداوم میزان این سم به‌عنوان یک سیاست مدیریتی جهت ارزیابی برنامه‌های پیشگیری الزامی است؛ هدف از این تحقیق مقایسه سطح آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر خام با حد مجاز توصیه شده توسط استاندارد ملی ایران و اتحادیه اروپا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- حجم نمونه

برای محاسبه حداقل حجم نمونه با توجه به مطالعه مشابهی که در مشهد صورت گرفته است (Mohamadi Sani *et al.*, 2012)، میزان آلودگی به آفلاتوکسین ۹۰ درصد (p=۰/۹)، سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقدار اشتباه مورد قبول (e) ۷ درصد در نظر گرفته شد.

$$n = \frac{p(1-p)\, z^2_{\frac{\propto}{2}}}{e^2}$$

- نمونه‌گیری

تعداد ۸۰ نمونه شیر خام گاو از فروشگاه‌های عرضه محصولات سنتی شیر در نیمه شرقی مازندران (شهرهای آمل، محمودآباد، نور، سوادکوه، ساری، بابل، بهشهر، قائم‌شهر و به‌تعداد ۱۰ نمونه از هر شهر) در اسفندماه سال ۱۳۹۵ به‌طور تصادفی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها در بطری‌هایی به‌حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر جمع‌آوری و در فریزر ۱۸- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگه‌داری شدند.

- اندازه‌گیری آفلاتوکسین به روش الایزا

نمونه‌های شیر در دمای آزمایشگاه از حالت انجماد خارج و در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار با سرعت ٤۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. لایه چربی جداسازی و مایع زیرین برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. حساسیت کیت‌های الایزا مورد استفاده (Europroximal, Netherland)، ۵ نانوگرم بر لیتر بود. اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین با روش الایزا بر اساس واکنش ایمینوافینیتی رقابتی بین پادتن ویژه آفلاتوکسین M_1 و پادگن (آفلاتوکسین M_1 موجود در نمونه) است. طبق دستورالعمل کیت، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های شیر و استانداردهای (حاوی مقادیر٦/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نانوگرم بر لیتر) به هر چاهک اضافه و به‌آرامی مخلوط شد. سپس به‌مدت نیم ساعت درتاریکی و در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. مایع موجود در حفرات تخلیه و با بافر در سه نوبت شستشو شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم رقیق‌شده کونژوگه به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۱۵دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. محتوی چاهک‌ها تخلیه و با بافر مخصوص آبکشی شد و ۱۰۰ میکرلیتر از سوبسترای رنگ‌ساز به چاهک‌ها اضافه شد و ۱۵ دقیقه دیگر در همان شرایط گرمخانه‌گذاری گردید. با افزودن سوبسترای رنگ‌ساز یک محصول رنگی به‌دست آمد که با اضافه کردن عامل متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل و به‌وسیله اسپکتوفتومتر الایزا ریدر در طول موج ٤۵۰ نانومتر میزان جذب نوری نمونه‌ها و نمونه استاندارد اندازه‌گیری شد. ماکزیمم جذب برای نمونه استاندارد صفر بود و با تقسیم جذب استانداردها و نمونه‌ها بر جذب صفر، مقدار درصد ماکزیمم جذب محاسبه گردید (Arast *et al.*, 2012; Kamkar *et al.*, 2014).

- آنالیز آماری

به‌منظور تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 20 و جهت مقایسه میانگین محاسبه شده با مقدار استاندارد و با یکدیگر از آزمون‌های آنالیز One-Way-ANOVAs و One-sample-T test استفاده شد.

یافته‌ها

- گروه‌بندی نمونه‌ها برحسب فراوانی

توزیع آلودگی شیرهای خام عرضه شده در فروشگاه‌های فرآورده‌های سنتی شیری در استان مازنداران در جدول (۱) نشان داده شده است. طبق نتایج، در ٦/۲۵ درصد نمونه‌ها غلظت آفلاتوکسین M_1 بالاتر از حد تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم در لیتر) بوده است و در مقایسه با استاندارد اتحادیه اروپا، ۱۷/۵ درصد از نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز (۵۰ نانوگرم در لیتر) بودند.

جدول (۱) – توزیع آلودگی آفلاتوکسین (فراوانی و درصد) در شیرهای خام فروشگاه‌های سنتی مازندران

ردیف	آفلاتوکسین M_1 (نانوگرم بر لیتر)	فراوانی	درصد
۱	کمتر از ۲۰	٤۰	۵۰
۲	۲۱–۵۰	۲٦	۳۲/۵
*۳	۵۰–۱۰۰	۱۰	۱۱/۲۵
*٤	بالاتر از ۱۰۰	۵	٦/۲۵

*مجموع ردیف ۳ و ٤، فراوانی و درصد نمونه‌های بالاتر از استاندارد کمیته اروپایی و غذایی کدکس و ردیف ٤ به‌تنهایی، فراوانی و درصد نمونه‌های بالاتر از استاندارد ملی ایران را نشان می‌دهد.

- مقایسه سطح آفلاتوکسین برحسب شهر

در جدول (۲) میانگین آفلاتوکسین ۱۰ نمونه اخذ شده از شهرهای مختلف آمده است که بیش‌ترین میانگین در شهر نور مشاهده گردید؛ به‌طوری‌که نمونه‌های حاوی بیش از ۲۰۰ نانوگرم در لیتر آفلاتوکسین، مربوط به این شهر بودند. اما با توجه به دامنه تغییرات، تفاوت سطح آفلاتوکسین بین شهرهای مختلف معنی‌دار نبود. سطح آفلاتوکسین در ۱۰ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از شهر ساری و ۲۰ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری شده از شهرهای نور و آمل، بالاتر از حد استاندارد ملی ایران (۱۰۰ نانوگرم بر لیتر) بوده است. در مقایسه با حد مجاز تعیین شده توسط اتحادیه اروپا، ۱۰ درصد از نمونه‌های محمودآباد و ۳۰ درصد از نمونه‌های سوادکوه میزان آفلاتوکسین بالاتر از ۵۰ نانوگرم بر لیتر داشتند و این میزان در شهرهای بابل، ساری، به‌شهر، نور و آمل ۲۰ درصد بوده است.

جدول (۲)- میزان {تعداد (درصد)} نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین M_1 در شیر خام به تفکیک شهرهای مازندران

نام شهر	دامنه تغییرات	*انحراف معیار ± میانگین	تعداد (درصد) موارد	
			> ۵۰ ng/lit	> ۱۰۰ ng/lit
محمودآباد	۷/۷۸-۵۳/۵۶	۲۰/۹۶ ±۱٤/۰۰[a]	۱ (۱۰)	۰ (۰)
بابل	۲/۸٦-٦٥/۱۹	۲۱/۸۲ ± ۲۳/ ۱۸[a]	۲ (۲۰)	۰ (۰)
ساری	۱/٦۲-۲۰۱/۷٥	۳۹/۸٥۱ ± ٥۸/۷٤[a]	۲ (۲۰)	۱ (۱۰)
سوادکوه	٥/۳٥-٥٥/۰۸	۲٦/۰۸۳ ±۱۹/۷۷[a]	۳ (۳۰)	۰ (۰)
بهشهر	۱۷/۰۷-٥۹/۹۲	۳٥/۹۱ ± ۱٥/۷٥[a]	۲ (۲۰)	۰ (۰)
قائم‌شهر	۱/۸۸-٤٦/٥۳۲	۲۲/۷۰ ± ۱٦/ ٤۷[a]	۰ (۰)	۰ (۰)
نور	۱/۳٦-۲۲۳/۳۰٥	٥۷/۰۱ ± ۸۸/۰۰[a]	۲ (۲۰)	۲ (۲۰)
آمل	۱/۸۰-۱۰٦/٥۱٦	۲۷/۳۱ ± ٤۱/۷٤[a]	۲ (۲۰)	۲ (۲۰)

*حروف مشابه عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که ۱۰۰ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی آفلاتوکسین بودند و ٦/۲٥ درصد نمونه‌ها غلظت آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران داشتند. هرچند به‌دلیل هرگز نمی‌توان سطح آفلاتوکسین را به صفر رساند اما در طی سال‌های اخیر بررسی‌ها نشان از کاهش سطح آفلاتوکسین در نمونه‌های شیر خام دارند؛ در اولین مطالعه‌ای کشوری آلودگی آفلاتوکسین در شیر، ۵۲ نمونه شیر خام با روش کروماتوگرافی لایه‌نازک (TLC) آزمایش شدند که در ۹۲/۳۱ درصد نمونه‌ها آلودگی به آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 مشاهده گردید. میزان آلودگی از ۲۳ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر لیتر (۲۳۰۰۰-۳۰۰۰۰۰ نانوگرم بر لیتر) متغیر بود. علت بالا بودن میزان آلودگی، خوراک وارداتی آلوده به کپک‌های مولد آفلاتوکسین در مقطع زمانی هم‌زمان با شروع جنگ (سال ۱۳٥۹) بود (Karim *et al.*, 1982). در سال‌های ۱۳۷٤ تا ۱۳۷٥ مجدداً میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای تحویل شده به کارخانه‌های شیر پاستوریزه تهران با روش الایزا (ELISA) مورد آزمایش قرار گرفت که از مجموع ۷۳ نمونه شیر، ٦۰ نمونه (۸۲/۲ درصد) آلوده به آفلاتوکسین M_1 بودند. در تمام نمونه های آلوده، غلظت آفلاتوکسین (با میانگین آلودگی ۲٥۹/٥ نانوگرم بر لیتر) بیش از استاندارد اتحادیه اروپا (۵۰ نانوگرم بر لیتر) بود (Karim *et al.*, 2000). لازم به ذکر است که در آن زمان کشور ما نیز از استاندارد اتحادیه اروپا پیروی می‌کرد. در سال‌های ۱۳۸۳-۱۳۸۲ در مطالعه‌ای بر روی نمونه‌های شیر ۵ شهر گرگان، رشت، شیراز، تهران و همدان (با روش HPLC) میانگین غلظت توکسین در نمونه‌های مورد آزمایش ۰/۰۳۹ میکروگرم بر لیتر (ppb) به‌دست آمد. آلودگی در تمام نمونه‌ها کم‌تر از حد مجاز کدکس (Codex Alimentarius) مشاهده برآورد گردید. یافته‌ها نشان داد که میزان آلودگی در بهار و زمستان بیش از فصول تابستان و پاییز بود (Tajkarimi *et al.* 2007). علاوه بر روند کاهشی غلظت آفلاتوکسین در مطالعات پیشین، نتایج حاصل از آن‌ها با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد؛

چنان‌چه در مطالعه بر روی ٦٢٤ نمونه شیر پاستوریزه در شیراز با وجود آلودگی در تمام نمونه‌ها، میزان این سم تنها در ۱۱/۸ درصد از نمونه‌ها بیش از حد مجاز در مقایسه اتحادیه اروپا بود (Alborzi *et al*., 2006). در مطالعه دیگری از ۱۱۰ نمونه شیر پاستوریزه شهر مشهد، به‌رغم حضور آفلاتوکسین در تمام آن‌ها، ٥/٤ درصد از نمونه‌ها حاوی آفلاتوکسین بیش از ۵۰ نانوگرم بر لیتر بودند (Karimi *et al*., 2007). کاهش سطح آلودگی و قرار گرفتن درصد بالاتری از نمونه‌های مورد آزمون در دهه‌های اخیر می‌تواند به‌علت بهبود شرایط انبارمانی خوراک دام‌ها باشد (Kamkar *et al*., 2014). عامل اصلی بروز آفلاتوکسین M_1 در شیر دام، خوراک دام است که سطح بهداشت می‌تواند در بروز این سم در شیر اثرگذار باشد. مقایسه‌ای در مورد میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر خام و ارتباط آن با خوراک دام و نوع دامداری در بابل انجام گرفت که در آن ۱۲۰ نمونه شیر خام از ٤٠ دامداری سنتی و نیمه‌صنعتی از نظر وجود آفلاتوکسین M_1 آزمایش گردید و هم‌زمان جیره مصرفی دامداری مربوط نیز ثبت شد. از ۱۲۰ نمونه، تعداد ٥٦/٧ درصد بین ۵۰ تا ۳۵۲/۳ نانوگرم بر لیتر و ٤٣/٣ درصد بین ٤ تا ۵۰ نانوگرم بر لیتر آلوده به آفلاتوکسین M_1 بودند. بیش‌ترین میزان آلودگی در ماه‌های دی، بهمن و اسفند به‌دست آمد. آلودگی در ٤٦/٧ درصد موارد بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) بود (Sefidgar *et al*. 2008).

با علم بر این‌که شیر خام مورد نیاز بازار سنتی عمدتاً از دامداری‌های کوچک تهیه می‌شود و منطقه مازندران به جهت هوای مرطوب بسیار مستعد رشد کپک‌هاست؛ اما با مقایسه یافته‌های مطالعات قبلی با نتایج بررسی اخیر، مشخص گردید که سطح آلودگی کاهش چشم‌گیری داشته است؛ به طوری‌که آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در ۹۳/۷۵ درصد از کل نمونه‌ها پایین‌تر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بوده است؛ از این‌رو می‌توان گفت که احتمالاً سطح بهداشت، دانش کشاورزان و دامداران برای ذخیره صحیح علوفه‌های تازه و تأمین خوراک دام با کیفیت در استان مازندران بهبود یافته است؛ اما هم‌چنان توأم با پیشرفت روش‌های کنترل و پایش منظم سطح آلودگی، توسعه واحدهای دامداری صنعتی نیز باید مورد توجه قرار بگیرد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از طرح پژوهشی با شماره مصوب شورای پژوهشی ۸۱/۹۸۲۵۰ دانشگاه آزاد واحد آیت‌اله آملی است. بدین‌وسیله از ریاست و معاونت پژوهشی واحد جهت تأمین بودجه قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Alborzi, S., Pourabbas, B., Rashidi, M. and Astaneh, B. (2006). Aflatoxin M_1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (South of Iran). Food Control, 17(7): 582-584.
- Arast, Y., Mohammadian, M., Behnamipour, S., (2012). Occurrence of aflatoxin M1 in two dairy products by ELISA in central part of Iran. Life Science Journal, 9(3): 1831-1833.
- Chopra R.C., Chhabra A., Parsad, K.S.N., Dudhe, A., Hurthy T.N. and Pprasad T. (1999). Carryover of aflatoxin M1 in milk of cows fed aflatoxin B1 contamination ration. Indian Journal of Animal Nutrition, 16(2):103-106.
- Gholampour Azizi, I., Khoushnevis, S.H. and Hashemi, S.J. (2007). Aflatoxin M_1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran University Medical Journal, 1(65): 20-24. [In Persian]
- Gholipour, M., Karim Zadeh, L., Alinia, F. and Babaee, Z.A. (2012). Determination of Aflatoxin M1 in milk processed in Mazandaran dairy factories, 2011. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 93: 40-46. [In Persian]
- Food and Agriculture Organization (FAO), (2004). Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003; Food and Nutrition, Paper 81, Rome, Italy.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), (2011). A review of human carcinogens, IARC. Available at: https://monographs.iarc.fr/
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2002). Food & Feed –Mycotoxins-Maximum tolerated level; 1nd revision, ISIRI No. 5925. [In Persian]
- Kamkar, A., Yazdankhah, S., Mohammadi Nafchi, A. and Mozaffari Nejad, A.S. (2014). Aflatoxin M_1 in raw cow and buffalo milk in Shush city of Iran. Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance, 7(1): 21–24.
- Karim, G., Bokaee, S. and Khorasani, A. (2000). Study on the contamination of raw bulk milk with aflatoxin in Tehran area using ELISA method. Animal Science Journal, Pajouhesh & Sazandegi, 40: 163-165. [In Persian]
- Karimi, Gh, Hassanzadeh, M., Teimuri, M., Nazari, F. and Nili, A. (2007). Aflatoxin M_1 contamination in pasteurized milk in Mashhad, Iran. Iranian Association of Pharmaceutical Scientists, 3 (3): 153-156.
- Karim, G., Parvaneh, V. and Kordi, J. (1982). Investigation on the aflatoxin contamination of milk in Tehran area. Iranian Journal of Public Health, 11, (1-2): 19-27. [In Persian]
- Mendonca, C. and Vaenancio, A. (2005). Fate of aflatoxin M_1 in cheese whey processing. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85: 2067–2070.
- Mohamadi Sani, A., Khezri, M. and Moradnia, H. (2012). Determination of Aflatoxin M_1 in milk by ELISA technique in Mashad (Northeast of Iran). ISRN Toxicology, 121926, 1-4.
- Ranjbar, S., Noori, M., Nazari, R., (2010). Study of milk Aflatoxin M1 and its relationship with feed fungi flora in Markazi Province. Journal of Cell Tissue; 1(1): 9-18.
- Sefidgar, S.A., Azizi, G., Khosravi, A.R. and Roudbar-Mohammadi, S. (2008). Presence of aflatoxin M1 in raw milk at cattle farms in Babol, Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 11(3): 484–486.
- Tajkarimi, M., Ghaemmaghami, S.S., Motalebi, A., Poursoltani, H., Salahnejad, A. and Shojaee, F. (2007). Seasonal survey in content aflatoxin M_1 in raw milk taken from 15 dairy factories. Pajouhesh & Sazandegi. 75: 2-9. [In Persian]
- Torabi, S. and Ghorbani, M. (2016). Efficiency of traditional dairy farms in Mazandaran province: implications and recommendations for improvement (fuzzy data envelopment analysis). Iranian Journal of Animal Science, 46(4): 445-456. [In Persian]