

بررسی میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر خام تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه سنندج

محمد صالح هزیر^۱، دکتر نجم‌الدین صنوبر طاهائی^۲، دکتر کیومرث رشیدی^۳، مهندس رضا رضایی^۴، مهندس حسن شیخی^۵

۱- کارشناس ارشد علوم تغذیه، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، مرکز تحقیقات گوارش و کبد (مؤلف مسؤل) S_hazhir@yahoo.com

۲- دکترای داروسازی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، مرکز تحقیقات گوارش و کبد

۳- استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۴- کارشناس ارشد بهداشت محیط، عضو هیئت علمی گروه بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۵- کارشناس ارشد علوم تغذیه، کارخانه شیر پاستوریزه سنندج

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های سمی قارچها هستند که توسط گونه‌های مختلف اسپرژیلوس تولید می‌شوند. این سموم در ایجاد بیماریهایی از قبیل سرطان کبد، هپاتیت مزمن و سیروز نقش بسیار مهمی دارند، هدف از این مطالعه تعیین میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر خام جمع‌آوری شده برای شرکت شیر پاستوریزه سنندج می‌باشد.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی-تحلیلی از شیرهای خام جمع‌آوری شده مناطق مختلف استان کردستان و تهران بطور تصادفی ۸۴ نمونه در فاصله زمانی دو هفته در اسفند ماه ۸۵ انتخاب گردید، بعد از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها بخش فوقانی شیر سانتریفوژ شده که شامل چربی‌های شیر بوده خارج و کنار گذاشته شد و بخش پائینی شیر سانتریفوژ شده فاقد چربی با روش الیزا و با کیت مخصوص ساخت کارخانه Tecna S.r I، نمونه‌ها آنالیز و مقدار آفلاتوکسین آنها تعیین شد. آزمون مورد استفاده در تحلیل داده‌ها، آنالیز واریانس بود.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد تعداد ۷۷ نمونه (۹۱/۶۵٪) از کل نمونه‌ها به آفلاتوکسین M₁ آلوده و ۷ نمونه فاقد آفلاتوکسین بودند، همچنین در ۶۷ نمونه (۷۹/۷۷٪) مورد آزمایش مقدار آفلاتوکسین در حد استاندارد و در ۱۷ نمونه (۲۰/۲۳٪) مقدار آفلاتوکسین از حد مجاز استاندارد اروپا بالاتر بود. بین میزان آلودگی شیر در مناطق مختلف به سم آفلاتوکسین M₁ با $p < 0/001$ تفاوت معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: حضور آفلاتوکسین در لبنیات یک مشکل بسیار جدی و مهم برای سلامت عمومی است؛ مخصوصاً نوزادان و کودکان که بیشترین مصرف‌کننده این محصولات بشمار می‌روند. برای کاهش میزان آفلاتوکسین در شیر؛ کنترل تغذیه دامهای شیرده که به نوعی از شیر آنها استفاده می‌شود از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین M₁ باید مورد توجه قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: آفلاتوکسین M₁، شیر خام، کردستان، تهران

وصول مقاله: ۸۶/۶/۵ اصلاح نهایی: ۸۶/۸/۲۶ پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۲۱

مقدمه

غذایی مختلف را به این سم تعیین نموده‌اند (۱). آفلاتوکسین در انسان موجب مسمومیت حاد و مزمن می‌گردد. این سم دارای اثرات تراتوژنیک و کارسینوژنیک است (۲). مطالعات، اثرات نامطلوب

آلودگی مواد غذایی به سم آفلاتوکسین، امروزه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و سازمانهای جهانی مانند WHO و FAO و (Codex Alimentarius Commission) Codex حداکثر میزان آلودگی مواد

افزودن ۱/۷ تا ۲ میکروگرم آفلاتوکسین به شیر و تولید پنیر مشاهده گردید که ۴۰٪ از آفلاتوکسین در پنیر و ۶۰٪ نیز در آب پنیر باقی مانده است (۱۲). تحقیقات بر روی شیر خام در کشور آلبانی نیز نشان داد که مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر زمستانی بیشتر از شیر تابستانی است (۱۳). تقریباً کلیه نمونه‌های شیر خشک؛ غذای کودک و ماست در کشور ایتالیا و کویت به آفلاتوکسین M_1 آلوده هستند اما مقدار آن در فرآورده‌های لبنی یک مشکل جدی برای مردم ایتالیا شناخته نشد، اما برای فرآورده‌های شیری اصول نگهداری صحیح و نحوه مناسب تغذیه دام را پیشنهاد کردند (۱۴ و ۱۵). اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 با روش ELISA در بورسا ترکیه نشان داد که پنیرهای پر چرب بیش از استاندارد مورد قبول کشور ترکیه حاوی آفلاتوکسین M_1 بودند (۱۶ و ۱۷). جمع‌آوری نمونه‌های شیر خام پاستوریزه و استریل از دسامبر ۱۹۹۹ تا ماه می ۲۰۰۰ و نمونه برداری مجدد در سال بعد در کشور یونان نشان داد که ۴۰ تا ۹۳/۳ نمونه‌ها به آفلاتوکسین M_1 آلوده بودند (۱۸). در بعضی نقاط دنیا نیز آلودگی به آفلاتوکسین M_1 مشکل جدی بهداشتی محسوب نمی‌گردد؛ اما آلودگی به این سم گزارش شده است. مثلاً بررسی‌های شیر خام در اسپانیا آلودگی به این سم را فقط در ۳/۳٪ نمونه‌ها گزارش می‌نماید (۱۹). نمونه برداری شیر از سوپر مارکتهای شهر Ribeirao کشور برزیل نشان داد که در حدود ۲۱٪ نمونه‌ها به آفلاتوکسین M_1 آلوده بودند و مقدار آن برابر ۲۴-۵۰ نانوگرم در لیتر بوده است. نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم آلودگی فراوان شیرهای پاستوریزه و استریل موجود در برزیل این مسئله مشکل جدی برای مردم محسوب نمی‌گردد اما تحقیقات و بررسی در این مورد

آفلاتوکسین را بر سیستم مرکزی اعصاب؛ کبد و کلیه، آسیب مغزی و مرگ به اثبات رسانده است. اگر غذای انسان حاوی چند مایکوتوکسین باشد علائم مسمومیت شدیدتر می‌گردد که شدت آن به سن؛ جنس و وضعیت بیمار بستگی دارد (۳). آثار بلند مدت دریافت مقادیر اندک مایکوتوکسینها متفاوت است. اصلی‌ترین اثر مسمومیت مزمن مایکوتوکسینها بخصوص آفلاتوکسین؛ انواع سرطان به ویژه سرطان کبد است (۴). آفلاتوکسینها در انواع مختلف مواد غذایی و خوراک دام وجود دارند. امروزه روشهایی با آنالیز دقیق امکان اندازه‌گیری غلظتهای آنرا در حد میکروگرم در مواد غذایی فراهم نموده است (۵). آفلاتوکسین به دو گروه عمده B و G تقسیم‌بندی می‌شود. آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین عموماً ناشی از نگهداری نامناسب مواد غذایی پس از برداشت و تولید است، این مواد غذایی به طرق مختلف به قارچ آسپیژیلوس آلوده می‌گردند. مصرف غذای آلوده توسط دام و طیور موجب حضور آفلاتوکسین M_1 در شیر؛ گوشت و تخم مرغ می‌گردد (۶ و ۷). حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در لبنیات 0.05 mcg /liter است (۸). بررسیها نشان می‌دهد که مصرف غذاهای حاوی

آفلاتوکسین علت بروز سرطان کبد مردم نواحی Qidong در جمهوری خلق چین است (۹). همچنین بررسی و کنترل مواد غذایی چهار ساله در قبرس آلودگی بسیاری از مواد غذایی به این سم را نشان دادند (۱۰). مطالعات از ماه ژوئن تا سپتامبر در نمونه‌های شیر خام و شیر استریل (UHT) در لیسبون پرتغال نشان داد که ۸۱٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده به آفلاتوکسین M_1 آلوده بوده‌اند (۱۱). مطالعات نشان می‌دهد که آفلاتوکسین M_1 موجود در شیر خام می‌تواند به فرآورده‌های لبنی نیز منتقل گردد. در یک مطالعه با

از دستگاه الایزای ۳۲۰۰ Stutfan مورد بررسی قرار گرفت. حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر 0.05 mcg per liter است یا ۵۰ نانوگرم در لیتر بر اساس استانداردهای اروپایی است در حالیکه این مقدار بر اساس استاندارد کدکس 0.5 mcg per liter یا ۵۰۰ نانوگرم در لیتر است (۱،۸). داده‌ها وارد محیط نرم افزار SPSS گردید و با استفاده از فرمولهای آمار توصیفی و تست آنالیز واریانس تحلیل لازم صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج این تحقیق نشان داد که ۷۷ نمونه (۹۱/۶۵٪) آلوده به آفلاتوکسین M_1 بودند و در ۷ نمونه (۸/۳۵٪) آلودگی مشاهده نگردید. همچنین ۶۷ نمونه (۷۹/۷۷٪) سالم و در حد استاندارد و ۱۷ نمونه (۲۰/۲۳٪) آلودگی بیش از حد مجاز بر اساس استاندارد اروپا داشتند (جدول ۱). اما بر اساس استانداردهای کدکس کلیه نمونه‌ها سالم و میزان آفلاتوکسین M_1 موجود در آنها کمتر از مقادیر مجاز بوده است. همچنین میانگین آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده به آفلاتوکسین M_1 $31/08 \pm 26/39$ و در محدوده صفر تا حداکثر ۱۱۱ نانوگرم در لیتر بوده است. بالاترین میزان آلودگی مربوط به نمونه تهیه شده از منطقه تهران (با میانگین $69/8$ نانوگرم در لیتر) و سقز (با میانگین $50/01$ نانوگرم در لیتر) و پایین‌ترین آلودگی مربوط به نمونه‌های تهیه شده از مریوان (با میانگین $2/7$ نانوگرم در لیتر) و سنندج (با میانگین $6/3$ نانوگرم در لیتر) بود. حداقل مقدار آلودگی $0/5$ نانوگرم در لیتر مربوط به مریوان و حداکثر مقدار آلودگی ۱۱۱ نانوگرم در لیتر مربوط به نمونه شهرستان سقز بوده است. بین میزان آلودگی شیر

باید بیشتر انجام گیرد (۲۰). اما بررسی شیرهای خام؛ پاستوریزه و استریل در مکزیک آلودگی به آفلاتوکسین M_1 را نشان داد و در یک مطالعه دیگر ۴۰٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده بیشتر از $0/05$ میکروگرم در لیتر حاوی آفلاتوکسین M_1 بوده‌اند (۲۲ و ۲۱). آلودگی به آفلاتوکسین M_1 اختصاص به شیر ندارد؛ بلکه فرآورده‌هایی مانند پنیر؛ شیر خشک و ماست نیز به سم آلوده می‌گردند (۲۳-۲۵). مطالعات در ایران نیز میزان آلودگی را بیش از حد مجاز و در ۱۰۰٪ نمونه‌ها گزارش شده است (۲۶). بعلت اهمیت این سم و نقش آن در سلامتی انسان و برآورد دقیق از میزان آن در مواد غذایی مورد مصرف و همچنین مصرف نان کپک زده در تغذیه دام و طیور در چند ساله اخیر و با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه در استان کردستان انجام نگرفته است؛ برآن شدیم تا مقدار آفلاتوکسین M_1 در مواد لبنی مورد مصرف مردم استان کردستان را مشخص نمائیم.

روش بررسی

نوع مطالعه توصیفی-تحلیلی و جامعه آماری شامل ۸۴ نمونه شیر دامداری‌ها و تعاونی‌های تحت پوشش مراکزی بود که شیر را به شرکت لبنیات پاستوریزه پاک آرای سنندج تحویل می‌دادند (شامل مراکز جمع‌آوری شیر شهرهای استان کردستان و تهران). نمونه‌ها بطور تصادفی در دو هفته آخر بهمن ماه انتخاب و پس از جمع‌آوری تا ۲۴ ساعت در یخچال مخصوص نگهداری و سپس توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ گردید. میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های سانتریفوژ شده با استفاده از کیت الایزای مخصوص اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 ساخت شرکت Tecna S.r I با استفاده

کشورهای دنیا مانند لیبی، کویت، برزیل و کشورهای اروپایی مانند ایتالیا و پرتغال می‌باشد (۹-۱۹).

میانگین آلودگی به آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام تحویلی به کارخانه شیر در سه ماهه آخر سال در استان کردستان کمتر از یک بیستم حداکثر حد مجاز استانداردهای کدکس بوده است و در صورتیکه کارخانه شیر دریافتی خود را فقط از مراکز مریوان و سنندج تهیه نماید؛ میانگین آلودگی به ۹ نانوگرم در لیتر کاهش می‌یابد که در حدود یک پنجم حداکثر مجاز استانداردهای اروپایی است. بطور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که شیر پاستوریزه و سایر فرآورده‌های کارخانه شیر سنندج از نظر آلودگی به آفلاتوکسین مشکل بهداشتی جدی محسوب نمی‌گردد که با مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا مطابقت دارد (۱۴، ۱۵).

آلودگی شیر به آفلاتوکسین در سایر نقاط کشور نیز مشاهده گردیده است. در مطالعه‌ای که در شیراز انجام شد؛ میزان آلودگی را بیش از حد مجاز و در ۱۰۰٪ نمونه‌ها گزارش شده است (۲۶). مصرف آفلاتوکسین توسط مادران باردار و شیرده موجب حضور این سم در خون بند ناف و شیر مادر می‌گردد که با کاهش وزن به هنگام تولد و یرقان و برخی بیماریهای نوزادان ارتباط دارد (۲۷-۳۰). از آنجائیکه دریافت آفلاتوکسین فقط از طریق شیر و فرآورده‌های آن نیست و بسیاری از مواد غذایی مانند خشکبار و محصولات آردی ممکن است مقادیر فراوانی از این سم را داشته باشند و همچنین آفلاتوکسین M_1 در فرآورده‌های شیر مانند ماست و پنیر نیز وجود دارد حضور این ماده سمی در شیر خام از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و به همین دلیل بسیاری از کشورها آلودگی فرآورده‌های لبنی به این ماده سمی را مشکل جدی تلقی می‌نمایند (۳۱) و به

در مناطق مختلف به سم آفلاتوکسین M_1 با $p < 0.001$ تفاوت معنی‌دار دیده شد (جدول ۲).

جدول ۱: درصد آلودگی شیر جمع‌آوری شده به آفلاتوکسین M_1 بر حسب ng/Lit

آفلاتوکسین ng/Lit	فراوانی	درصد
۱-۵۰	۶۰	۷۱/۴۲
۵۰ <	۱۷	۲۰/۲۳
بدون آلودگی	۷	۸/۳۵
جمع	۸۴	۱۰۰

جدول ۲: مقایسه میانگین آفلاتوکسین M_1 مناطق تأمین‌کننده شیر کارخانه شیر پاستوریزه پاک آرا

مناطق	فراوانی (نمونه)	میانگین	انحراف معیار - / +	F	P
کامیاران	۵	۳۰/۹	۲/۶۰		
مریوان	۱۳	۲/۷	۲/۹۶		
سنندج	۱۸	۶/۳	۴/۶۰		
تهران	۹	۶۹/۸	۲۷/۴۸	۱۴/۸۰	۰/۰۰۰
دیواندره	۱۸	۱۶/۴	۱۸/۶۷		
سقز	۱۶	۵۰/۰۱	۴۰/۶۲		
دهگلان	۵	۳۸/۲	۲/۵۸		
جمع	۸۴	۲۶/۳۹	۳۱/۰۸		

بحث

نمونه‌های شیر خام در سه ماهه آخر سال که امکان بیشترین آلودگی را دارد، جمع‌آوری گردیده و فقط ۲۲٪ نمونه‌ها یا نمونه‌های دو مرکز جمع‌آوری شیر پاک تهران و شهرستان سقز آلودگی بیش از ۵۰ نانوگرم (استاندارد اروپا) را نشان دادند.

با توجه به اینکه فرآیندهای حرارتی مانند پاستوریزاسیون و استرلیزاسیون تأثیری در کاهش میزان آفلاتوکسین شیر ندارد (۲۵-۲۰)؛ محصولات پاستوریزه تولید شده در کارخانه‌های شیر استان در صورتیکه از مناطق با آلودگی کمتر تهیه گردد با استانداردهای جهانی مطابقت دارد و میزان آلودگی آن کمتر از سایر

حساسی در دنیا برای بررسی کیفیت شیر به شمار می‌آیند.

نتیجه‌گیری

با توجه به آلودگی بیش از حد مجاز شیرهای دریافتی از تهران و سقز؛ گمان می‌رود که بیشترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M₁ نیز در انبارهای این مناطق باشد. 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 منطقه سقز و تهران ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

از مدیر تولید و کلیه کارکنان شرکت پاک‌آرا سنج که در جمع‌آوری نمونه‌ها ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمائیم.

همین دلیل توجه بیشتر مسئولین بهداشتی در کنترل این ماده سمی ضروری بنظر می‌رسد.

دامداران خرده پا مهمترین تولیدکنندگان شیر خام در کشور محسوب می‌گردند و شیر بدون کنترل‌های بهداشتی تولید و سپس در جریان فرآوری و بسته‌بندی قرار می‌گیرد. بررسی وضعیت باقی مانده دارویی، هورمون، سموم، فلزات سنگین در مراکز علمی یا شرکتهای تولیدکننده فرآورده‌های لبنی بسیار محدود است. در این بین شرایط مایکوتوکسین‌ها و به ویژه آفلاتوکسین بدتر است. هر چند آفلاتوکسین به واسطه تغذیه نامطلوب با نان کپک زده و کنجاله مانده ایجاد می‌شود؛ اما ارقام موجود در خصوص وضعیت آن قابل توجه نیست. طبق برنامه وزارت جهاد کشاورزی تولید شیر در چند سال آینده به ۱۲ میلیون تن خواهد رسید، اما در این برنامه، هیچ اشاره‌ای به وضعیت شاخص‌های بهداشتی و تغییر آنها به طور کمی نشده است. آلودگی‌های شیمیایی مانند، باقی مانده‌های دارویی، سموم دفع آفات نباتی، مایکوتوکسین‌ها آیت‌های

References

1. World Health Organ Tech Rep Ser. Evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2002; 906: i-viii, 1-62.
2. Sabbioni G, O Sepai. Determination of human exposure to aflatoxins. In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. K. K. Sinha and D. Bhatnagar, ed. New York: Marcel Dekker Inc. 1998. p. 183-226.
3. J W Bennett, M Klich. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 497-516.
4. Rodriguez Velasco ML, Calonge Delso MM, Ordonez Escudero D. ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M(1) in raw cow's milk. Food Addit Contam 2003; 20: 276-80.
5. Caloni F, Stammati A, Friggè G, De Angelis I. Aflatoxin M1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro mode I. Toxicon 2006; 47: 409-15.
6. Abdulrazaq YM, Osman N, Yousif ZM, Al-Falahi S. Aflatoxin M1 in breast-milk of UAE women. Ann Trop Paediatr 2003; 23: 173-9.
7. Battacone G, Nudda A, Cannas A, Cappio Borlino A, Bomboi G, Pulina G. Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. J Dairy Sci 2003; 86: 2667-75.

8. Gurbay S, Aydin G, girgin AB, Engin and Sahin G. Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control* 2006; 17: 1-4.
9. Wang JS, Shen X, He X, Zhu YR, Zhang BC, Wang JB and et al. Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B1 by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 347-54.
10. Ioannou-Kakouri E, Aletrari M, Christou E, Hadjioannou-Ralli A, Koliou A, Akkelidou D. Surveillance and control of aflatoxins B1, B2, G1, G2, and M1 in foodstuffs in the Republic of Cyprus: 1992-1996. *J AOAC Int* 1999; 82: 883-92.
11. Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Addit Contam* 2000; 17: 871-4.
12. Lopez C, Ramos L, Ramadan S, Bulacio L, Perez J. Distribution of aflatoxin M1 in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Int J Food Microbiol* 2001; 64: 211-5.
13. Panariti E. Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania. *Arh Hig Rada Toksikol* 2001; 52: 37-41.
14. Srivastava VP, Bu-Abbas A, Alaa-Basuny, Al-Johar W, Al-Mufti S, Siddiqui MK. Aflatoxin M1 contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. *Food Addit Contam* 2001; 18: 993-7.
15. Galvano F, Galofaro V, Ritieni A, Bognanno M, De Angelis A, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Addit Contam* 2001; 18: 644-6.
16. Oruc HH, Sonal S. Determination of aflatoxin M1 levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Vet Hum Toxicol* 2001; 43: 292-3.
17. Gunsen U, Buyukyoruk I. Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. *Vet Hum Toxicol* 2002; 44: 289-90.
18. Roussi V, Govaris A, Varagouli A, Botsoglou NA. Occurrence of aflatoxin M(1) in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Addit Contam* 2002; 19: 863-8.
19. Blanco JL, Domínguez L, Gómez-Lucía E, Garayzabal JF, García JA, Suárez G. Presence of aflatoxin M1 in commercial ultra-high-temperature-treated milk. *Appl Environ Microbiol* 1988; 54: 1622-3.
20. Garrido NS, Iha MH, Santos Ortolani MR, Duarte Favaro RM. Occurrence of aflatoxins M(1) and M(2) in milk commercialized in Ribeirao Preto-SP, Brazil. *Food Addit Contam* 2003; 20: 70-3.
21. Carvajal M, Bolanos A, Rojo F, Mendez I. Aflatoxin M1 in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. *J Food Prot* 2003; 66: 1885-92.
22. Carvajal M, Rojo F, Mendez I, Bolanos A. Aflatoxin B1 and its interconverting metabolite aflatoxicol in milk: the situation in Mexico. *Food Addit Contam* 2003; 20: 1077-86.
23. Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. *Int J Food Microbiol* 2004; 91: 315-7.
24. Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit Contam* 2004; 21: 592-7.
25. Nakajima M, Tabata S, Akiyama H, Itoh Y, Tanaka T, Sunagawa H and et al. Occurrence of aflatoxin M1 in domestic milk in Japan during the winter season. *Food Addit Contam* 2004; 21: 472-8.
26. Solmaz Alborzi, Bahman pourabbas, Mahmood Rashidi and Behrooz Astaneh. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (south of Iran). *Food Control*. 2005; 17: 582-584.
27. Dragacci S, Grosso F, Pfauwathel-Marchond N, Fremy JM, Venant A, Lombard B. Proficiency testing for the evaluation of the ability of European Union -National Reference laboratories to determine aflatoxin M1 in milk at levels corresponding to the new European Union legislation. *Food Addit Contam* 2001; 18: 405-15.
28. Udagawa S. Fungal spoilage of foods and its risk assessment. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 2005; 46: 5-11.
29. Abdulrazzaq YM, Osman N, Yousif ZM, Trad O. Morbidity in neonates of mothers who have ingested aflatoxins. *Ann Trop Paediatr* 2004; 24: 145-51.

30. Abulu EO, Uriah N, Aigbefo HS, Oboh PA, Agbonlahor DE. Preliminary investigation on aflatoxin in cord blood of jaundiced neonates. *West Afr J Med* 1998; 17: 184-7.
31. Aycicek H, Yarsan E, Sarimehmetoglu B, Cakmak O. Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey. *Vet Hum Toxicol* 2002; 44: 295-6.