

## Evaluation of Melamine Content in Infant Formula Collected from Different Areas of Tehran, Iran, Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Method

Hamidreza Kazemeini<sup>1</sup>, Asghar Azizian<sup>2</sup>, Katayoun Ahmadi<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Detection of adulteration of the melamine addition to food products, which is done to increase the nitrogen content, is essential because of its risks to consumer health. The aim of this study was to investigate the amount of melamine in milk powder consumed by infants collected from different parts of Tehran, Iran, using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in 2021.

**Methods:** In this study, 22 samples of infant formula consumed with different brands of the best-selling ones were collected in 22 districts of Tehran, and using ELISA-based diagnostic kit, melamine was searched, diagnosed, and its amount was determined and then compared with the standard limit.

**Findings:** Based on the results, in none of the samples of infant formula, values higher than the detection limit of the kit were observed.

**Conclusion:** According to the results of this study, it was found that melamine was not cheated in infant formula in Tehran in 2021 and in this regard, there is no danger to the consumer (infants).

**Keywords:** Enzyme-linked immunosorbent assay; Triethylenemelamine; Powdered milk; Infant

**Citation:** Kazemeini H, Azizian A, Ahmadi K. Evaluation of Melamine Content in Infant Formula Collected from Different Areas of Tehran, Iran, Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Method. J Health Syst Res 2022; 18(3): 202-6.

1- Assistant Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2- PhD Student, Department of Food Hygiene and Quality Control, School of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

3- PhD Student, Department of Food and Aquatic Health, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

**Corresponding Author:** Hamidreza Kazemeini; Assistant Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran; Email: h.kazemeini@ausmt.ac.ir

## بررسی میزان ملامین موجود در شیر خشک مصرفی نوزادان جمع آوری شده از مناطق مختلف شهر تهران با استفاده از روش ELISA

حمیدرضا کاظمینی<sup>۱</sup>، اصغر عزیزیان<sup>۲</sup>، کتایون احمدی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** تشخیص تقلب افزودن ملامین در محصولات غذایی که به منظور افزایش محتوای نیتروژن انجام می‌شود، به دلیل مخاطرات آن برای سلامت مصرف‌کننده ضروری می‌باشد. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی میزان ملامین موجود در شیر خشک مصرفی نوزادان جمع آوری شده از مناطق مختلف شهر تهران با استفاده از روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) در سال ۱۴۰۰ بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه، ۲۲ نمونه شیر خشک مصرفی نوزادان با نشان‌های تجاری مختلف از پرفروش‌ترین آن‌ها در ۲۲ منطقه شهر تهران جمع آوری گردید و با استفاده از کیت تشخیصی مبتنی بر روش ELISA، ملامین جستجو، تشخیص و میزان آن تعیین شد و سپس با حد استاندارد مورد مقایسه قرار گرفت.

**یافته‌ها:** در هیچ کدام از نمونه‌های شیر خشک نوزادان، مقادیر بالاتر از حد تشخیص کیت مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که در شیر خشک نوزادان در سال ۱۴۰۰ در شهر تهران، تقلب افزودن ملامین صورت نگرفته است و از این نظر خطری برای مصرف‌کننده (نوزادان) وجود ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** ELISA؛ ملامین؛ شیر خشک؛ نوزاد

**ارجاع:** کاظمینی حمیدرضا، عزیزیان اصغر، احمدی کتایون. بررسی میزان ملامین موجود در شیر خشک مصرفی نوزادان جمع آوری شده از مناطق مختلف شهر تهران با استفاده از روش ELISA. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۱؛ ۱۸ (۳): ۲۰۶-۲۰۲

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۷/۱۵

پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۲/۲۴

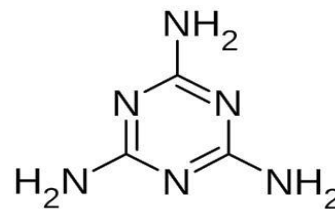
دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۸

ملامین در مصارف مثبت به عنوان مکملی برای تغذیه گاوهای شیری به دلیل میزان بالای نیتروژن آن کاربرد دارد، اما گاهی می‌تواند در تقلب شیر به جهت پوشاندن افزودن آب به شیر و افزودن به محصولاتی مانند شیر خشک به دلیل افزایش نیتروژن به صورت کاذب استفاده شود که سبب افت کیفیت این محصولات می‌گردد.

تقلب در محصولات لبنی با افزودن ملامین به آن‌ها برای مصرف‌کننده مسمومیت‌زا نمی‌باشد، اما می‌تواند با اسید سیانوریک کمپلکس پایداری به صورت متبلور تشکیل دهد و همین بلورها می‌تواند سبب ایجاد نارسایی حاد کلیه، انسداد لوله‌های ادراری، سنگ کلیه، پرفشاری خون و اختلالات تولید مثلی شود (۳-۵)، اما در رابطه با محصولات لبنی مانند شیر خشک که مصرف‌کننده آن را گروه‌های حساس تشکیل می‌دهد، گزارش‌هایی مبنی بر عوارض سنگین استفاده از ملامین در این ترکیبات ارایه شده است. به عنوان مثال، در سال ۲۰۰۸ در کشور چین، شیر خشک‌هایی حاوی ملامین سبب بیماری و مرگ نوزادان شد. به همین دلیل، ملامین در محصولاتی با حساسیت بالای گروه مصرف‌کننده، اهمیت ویژه‌ای یافت و متخصصان در این زمینه، حدود مجاز و

### مقدمه

ملامین به شکل گرد کریستال سفید رنگ، دارای وزن مولکولی ۱۲۶ گرم بر مول (به صورت تقریبی) می‌باشد و از اوره تهیه شده است. این ماده، منبع نیتروژنی غیر پروتئینی (۶۶/۶۴ درصد وزنی نیتروژن) و اسید آلی کم محلولی با فرمول بسته  $C_3H_6N_6$  و نام شیمیایی ۲، ۴، ۶-تری‌آمینو-۱، ۳، ۵-تیرازین است که به صورت یک حلقه تیرازین با سه گروه آمین قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۱) (۱، ۲).



شکل ۱. ساختار مولکولی ملامین

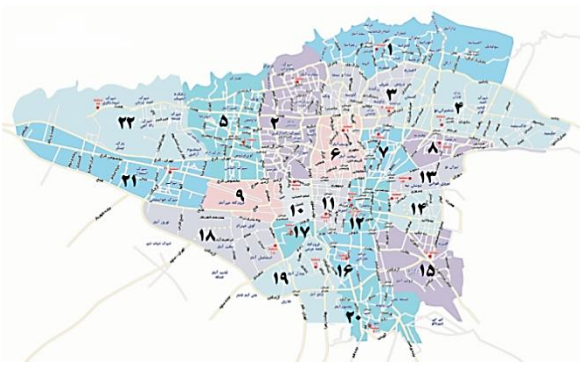
۱- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فن‌آوری‌های نوین امل، امل، ایران

۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

نویسنده مسؤول: حمیدرضا کاظمینی؛ استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فن‌آوری‌های نوین امل، امل، ایران

Email: h.kazemeini@ausmt.ac.ir



شکل ۲. مناطق ۲۲ گانه شهر تهران

**انجام آزمایش طبق دستورالعمل کیت:** جهت تعیین وجود و میزان ملامین در نمونه‌های شیر خشک از کیت ELISA (با شماره کاتالوگ (LLC 50005B, Abraxis, Warminster, PA) (جدول ۱) در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. تمام معرف‌ها و نمونه‌ها طبق دستورالعمل کیت آماده گردید. به دلیل این که ملامین در شیر به طور یکنواخت وجود ندارد، نمونه‌ها کاملاً هموزن و طبق دستورالعمل، محلول موجود در کیت (Melamine extraction) آماده‌سازی شد. جهت تهیه سوسپانسیون، نمونه‌ها با این محلول مخلوط گردید و سپس ۱ میکرولیتر از نمونه‌ها به میکروتیوب انتقال یافت و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. در ادامه، محلول رقیق‌سازی به چاهک‌ها اضافه و از میکروتیوب تهیه شده در ۲ تکرار داخل پلیت اضافه گردید که ۱۲ چاهک اولی به وسیله استانداردهای صفر، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم در لیتر موجود در کیت و بقیه از ۲۲ نمونه شیر خشک مختلف پر شدند. سپس محلول کنژوگه دارای آنزیم به میزان ۵۰ میکرولیتر به نمونه‌ها افزوده شد. محلول کنژوگه پس از افزوده شدن به میکروپلیت دارای آنتی‌بادی ملامین به صورت ثابت شده، برای مکان‌های اتصال آنتی‌بادی با ملامین رقابت می‌کند و نسبت اتصال همان غلظت ملامین آزاد به کنژوگه خواهد بود. به همین ترتیب، مقدار ملامین کنژوگه متصل با مقدار ملامین آزاد در نمونه نسبت عکس دارد.

جدول ۱. مشخصات کیت تشخیص ملامین

ترکیب مورد ارزیابی	حد تشخیص کیت	ویژگی	ضریب همبستگی
ملامین در شیر خشک	۱۰ میکروگرم در لیتر	۹۵ درصد	کمتر از ۱۵ درصد

سپس صفحه پلیت (Micro-titer plate) پوشانده شد و بین انگشت شست و اشاره قرار داده شد و به آرامی با کمک انگشتان روی میز آزمایشگاه حرکت داده شد تا اختلاط کامل صورت گیرد و پس از آن، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. سپس محتویات داخل پلیت با استفاده از Shaker دورانی به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید (۵). در این زمان در صورت عدم وجود ملامین، آنزیم تأثیر گذار می‌باشد. پس از اتصال، به

استانداردی برای میزان ملامین در این محصولات تعیین کردند (۶، ۷). حدود مجاز از این جهت تعریف شد که ملامین می‌تواند به صورت سهوی به طور مثال از طریق ظروف ملامینی یا تغذیه دام با مواد دارای ملامین به شیر وارد شود که اغلب از حد مجاز کمتر است و مشکل ساز نمی‌باشد. بنابراین، محصولات لبنی تا حدودی نمی‌توانند عاری از ملامین باشند و آنچه از اندازه‌گیری ملامین که به صورت تقلب جداسازی می‌شود، به دست می‌آید، میزان ملامینی است که آگاهانه و به عمد به شیر اضافه می‌شود (۸). حدود مجاز ملامین در اتحادیه اروپا و استرالیا در محصولات لبنی، ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نظر گرفته شده و سازمان غذا و داروی آمریکا این میزان را ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین کرده و تأکید کرده است شیرخشک‌هایی که به مصرف‌کنندگان آمریکایی فروخته می‌شود، باید به طور کامل عاری از ملامین و ترکیبات آن باشد.

کشور چین هم تا سال ۲۰۱۰، حد استاندارد ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم را برای ملامین در شیر خشک در نظر گرفته بود، اما از این تاریخ به بعد، استفاده از ملامین در محصولات غذایی غیر قانونی در نظر گرفته شد و در این کشور میزان مجازی برای ملامین وجود ندارد (۹، ۶). از روش‌های مختلفی مانند روش کلدال (Kjeldahl)، اسپکتروفوتومتری (Spectrophotometer)، کروماتوگرافی (Chromatography) و استفاده از نانوذرات طلا و نقره برای تعیین میزان ملامین در شیر خشک استفاده می‌شود (۱۰). روش ELISA یک روش ایمنی‌سنجی آنزیماتیک و اساس آن، تشکیل یک مجموعه ایمنی است که بین آنتی‌ژن - آنتی‌بادی تشکیل می‌شود و بر خلاف روش‌های مذکور، دقت، سرعت، حساسیت بیشتر و هزینه کمتری دارد. این روش یا به تنهایی و یا همراه با آزمون‌های دیگر جهت آزمون تأییدی استفاده و به عنوان کیت‌هایی توسط شرکت‌ها ساخته و عرضه می‌شود.

کیت ELISA به این صورت است که آنتی‌بادی‌هایی فیکس شده در کف چاهک‌ها وجود دارند و میزان واکنش بین آنتی‌ژن‌های موجود در نمونه و این آنتی‌بادی‌ها بررسی و تعیین می‌گردد. کیت‌های ELISA بدون تکیه بر تهیه نمونه گسترده یا ابزار دقیق گران، گزینه مؤثری برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های مشکوک به داشتن ملامین ارابه می‌دهند. توانایی ELISA در تشخیص ملامین در نمونه بین ۰/۱ تا ۲۵۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد که به عوامل مختلفی بستگی دارد. این تست طی زمان کمی انجام می‌شود و به طور هم‌زمان می‌توان تعداد زیادی نمونه را تست کرد (۱۱، ۵). هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی و تعیین میزان ملامین موجود در شیر خشک مصرفی نوزادان جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر تهران با استفاده از روش ELISA بود.

## روش‌ها

ابتدا نمونه‌ها (۲۲ عدد) از داروخانه‌های ۲۲ منطقه شهر تهران (شکل ۲) با نشان‌های تجاری و تاریخ‌های تولید مختلف در بهار سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی و آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فن‌آوری‌های نوین امل انتقال یافت.

**تهیه محلول بافر:** محلول بافر طبق استاندارد ۲۰۸۰۷ از ترکیب ۱۰ میلی‌مول نمک سدیم اکتانوسولفونات، ۱۰ میلی‌مول سیتریک اسید و یا ۱۰ میلی‌مول نمک سدیم هگزاسولفونیک اسید و ۱۰ میلی‌مول اسید سیتریک تهیه شد (۱۲).

شده برای وجود ملامین در شیر خشک نوزادان کمتر بود که می‌تواند نشان از بی‌خطر بودن نمونه‌ها باشد. طبق یافته‌های به دست آمده، میزان ملامین در تمام نمونه‌ها کمتر از حد تشخیص کیت (۱۰ میکروگرم در لیتر) گزارش گردید (حداکثر ۰/۸ میکروگرم در لیتر) و حاکی از سلامت نمونه‌ها از نظر تقلب افزودن ملامین می‌باشد که با نتایج مطالعه شاکریان و ثوابی اصفهانی (۱۴) مطابقت داشت. آن‌ها میزان ملامین در شیر خشک را به روش ELISA مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که هیچ کدام از نمونه‌ها از حد مجاز (۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بالاتر نبود (۱۴). Wei و همکاران نیز در تحقیق خود، میزان باقی‌مانده‌های ملامین در شیر را با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) یا High-performance liquid chromatography بررسی کردند. حد تشخیص ملامین، ۰/۲ نانوگرم و حد کمیت ملامین، ۰/۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. میزان ملامین کمتر از حد مجاز گزارش شد (۱۵) که با نتایج بررسی حاضر همخوانی داشت.

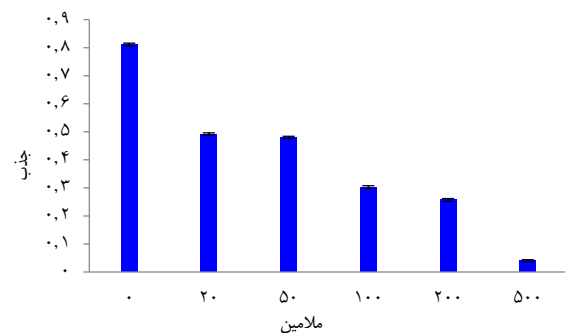
پژوهش Braekevelt و همکاران با هدف بررسی میزان ملامین و چند ترکیب دیگر در شیر خشک‌های تولید شده در کشور کانادا با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنجی جرمی (LC-MS) انجام شد. طی گزارش آن‌ها، بالاترین غلظت مشاهده شده برای ملامین، ۰/۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام گردید. همچنین، در یافته‌های به دست آمده، کل ترکیبات مربوط به ملامین در همه نمونه‌های مورد بررسی، در محدوده استاندارد محصولات شیر خشک ساخته شده توسط بهداشت کانادا بود (۱۶) که با نتایج مطالعه حاضر مشابهت داشت. Tittlemier و همکاران با استفاده از روش LC-MS/MS، میزان ملامین در محصولات لبنی و محصولات جایگزین لبنی بر پایه سویا را در کشور کانادا مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که تنها ۱۴ درصد از نمونه‌های مورد آزمایش حاوی میزان قابل قبولی از ملامین بودند و مصرف فرآورده‌های حاوی این میزان از ملامین برای سلامتی مصرف‌کنندگان خطرناک نمی‌باشد (۱۷). Li و همکاران نیز تحقیقی به روش ELISA جهت تشخیص ملامین در شیر، فرآورده‌های شیری و خوراکی دام انجام دادند. حد تشخیص برای شیر خشک، ۱ میکروگرم در گرم بود که بر طبق نتایج، مقادیر به دست آمده کمتر از حد تشخیص گزارش گردید (۱۶) و با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر مشابه بود.

Wen و همکاران ملامین موجود در شیر و شیر خشک را با استفاده از روش الکتروفورز مویریگی به عنوان جایگزینی برای روش HPLC بررسی کردند. حد تشخیص ملامین، ۰/۰۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد و میزان ملامین بین ۰/۸ تا ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود (۱۸)؛ در حالی که Chen و همکاران با استفاده از روش طیف‌سنجی مادون قرمز، میزان ملامین را در شیر خشک نوزادان به جهت پیشگیری از ایجاد سنگ کلیه تعیین نمودند و مشخص گردید که میزان ۱ ppm ملامین در شیر خشک‌های بررسی شده وجود داشت (۴). در مطالعه Garber و Brewer که با هدف تشخیص ملامین در محصولات غذایی گندم و شیر خشک نوزاد انجام گردید، ویژگی و توانایی تشخیص ملامین با استفاده از دو کیت ELISA مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که هیچ یک از آن کیت‌ها قادر به شناسایی اسید سیانوریک نبودند. حدود تشخیص ملامین در فرمول شیر خشک، بسته به کیت ELISA و روش استفاده شده برای تهیه نمونه، از ۰/۲ تا ۳ میلی‌گرم بر گرم بود. آن‌ها دریافتند

جهت حذف مواد غیر متصل باید شستشو صورت گیرد که شستشوی پلیت‌ها و محلول بافر ۳ بار توسط دستگاه صورت گرفت. پس از یک دوره انکوبه شدن، واکنش آنزیم متوقف شد و سطح بالایی از فعالیت آنزیم با مقدار تشکیل رنگ و جذب زیاد نشان داده شد. برای این منظور و ایجاد رنگ آبی، سوبسترا افزوده شد و طبق دستورالعمل کیت، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. پس از این مدت، ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده (Stop solution) اضافه شد تا واکنش متوقف گردد و پس از آن پلیت به مدت ۵ دقیقه در Shaker دورانی به جهت اختلاط کامل قرار داده شد. در مرحله نهایی نیز نوار حاوی چاهک‌ها به دستگاه ELISA Reader منتقل شد و میزان جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. با افزایش سطح ملامین آزاد، فعالیت آنزیم و مقدار جذب حاصل کاهش می‌یابد. سپس می‌توان غلظت‌ها را به طور مستقیم با استفاده از Optical density (OD) خوانده شده توسط دستگاه ELISA Reader و رسم منحنی‌های کالیبراسیون تعیین کرد (۷، ۵).

### یافته‌ها

مطالعه حاضر به طور دقیق بر اساس دستورالعمل کیت ELISA استفاده شده و راهنمای مربوط به تفسیر نتایج انجام شد. در این آزمایش، نمونه‌های ذکر شده از لحاظ میزان ملامین بررسی گردید و تمام نتایج کمتر از حد تشخیص کیت (۱۰ میکروگرم در لیتر) بودند (شکل ۳) که این مسأله می‌تواند تأییدکننده سلامت نمونه‌ها از نظر انجام تقلب افزودن ملامین باشد.



شکل ۳. نتایج اندازه‌گیری ملامین در نمونه‌های شیر خشک مصرفی نوزادان (میکروگرم در لیتر)

### بحث

در کشورهای مختلف، وجود میزان بالای ملامین در محصولاتی مانند شیر خشک مصرفی نوزادان، موجب بروز بیماری و مرگ و میر می‌شود و با توجه به حساسیت بیشتر این گروه، تقلب با ملامین تبدیل به یک چالش و دغدغه بزرگی برای سلامتی نوزادان و عموم شده است. جهت کنترل بهتر این مسأله، سازمان بهداشت جهانی تعیین قوانین و حد مجاز برای وجود ملامین در شیر خشک نوزادان را ضروری دانسته و برای آن اقداماتی انجام داده است که این میزان بر اساس دستورالعمل‌های این سازمان و سازمان Codex در سال ۲۰۱۱ برابر با ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم در شیر خشک مصرفی نوزادان و در سایر مواد غذایی، ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (۱۳). نتایج پژوهش حاضر از حد مجاز بیان

و برای مصرف‌کننده (نوزادان) مناسب و ایمن بودند. همچنین، روش ELISA روشی مناسب، مؤثر، به نسبت کم‌هزینه، بدون نیاز به نیروی متخصص و کاربرد آسان تشخیص داده شد که جهت کنترل‌های دوره‌ای سازمان‌های مربوط و کارخانه‌های تولیدی قابل استفاده می‌باشد.

کیت‌های ELISA بدون تکیه بر تهیه نمونه گسترده یا ابزار دقیق گران‌قیمت، گزینه مؤثری برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های مشکوک به داشتن ملامین ارایه می‌دهد (۷) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا بود.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره ۱۳۹۲۷/۱۰/۱۴، مصوب دانشگاه تخصصی فن‌آوری‌های نوین آمل می‌باشد. بدین وسیله از دانشگاه مذکور به جهت تأمین بودجه و همکاری در انجام این مطالعه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### نتیجه‌گیری

طبق بررسی‌های انجام شده در پژوهش حاضر و نتایج به دست آمده و وجود عواملی مانند تعداد نمونه‌ها، نوع نمونه، نوع روش، خطای آزمایش و دیگر موارد که ممکن است سبب مغایرت نتیجه آزمایش با میزان استاندارد و حدود مجاز تعیین شده شوند، می‌توان گفت که نمونه‌های شیر خشک موجود در شهر تهران از کارخانه‌های تولیدی مختلف در سال ۱۴۰۰، تقلبی با افزودن ملامین نداشتند.

### References

- Hajian S, Rahimi E, Alipour M, Bigdelian E. Melamine in food. Proceedings of the 20<sup>th</sup> International Congress on Food Technology; 2011 Nov 22; Tehran, Iran. [In Persian].
- Yin W, Liu J, Zhang T, Li W, Liu W, Meng M, et al. Preparation of monoclonal antibody for melamine and development of an indirect competitive ELISA for melamine detection in raw milk, milk powder, and animal feeds. J Agric Food Chem 2010; 58(14): 8152-7.
- Jafarpour N. Evaluation of melamine content in milk, milk powder and yogurt using high performance liquid chromatography [MSc Thesis]. Zanjan, Iran: University of Zanjan; 2013. [In Persian].
- Chen WC, Wu SY, Liu HP, Chang CH, Chen HY, Chen HY, et al. Identification of melamine/cyanuric acid-containing nephrolithiasis by infrared spectroscopy. J Clin Lab Anal 2010; 24(2): 92-9.
- Shakerian A, Khamesipour F, Rahimi E, Kiani P, Shahraki M, Hemmatzadeh S, et al. Melamine levels in food products of animal origin in Iran. Revue Med Vet 2018; 169(7-9): 152-6.
- Li X, Luo P, Tang S, Beier RC, Wu X, Yang L, et al. Development of an immunochromatographic strip test for rapid detection of melamine in raw milk, milk products and animal feed. J Agric Food Chem 2011; 59(11): 6064-70.
- Garber EA, Brewer VA. Enzyme-linked immunosorbent assay detection of melamine in infant formula and wheat food products. J Food Prot 2010; 73(4): 701-7.
- Tyan YC, Yang MH, Jong SB, Wang CK, Shiea J. Melamine contamination. Anal Bioanal Chem 2009; 395(3): 729-35.
- Guo Z, Gai P, Hao T, Wang S, Wei D, Gan N. Determination of melamine in dairy products by an electrochemiluminescent method combined with solid-phase extraction. Talanta 2011; 83(5): 1736-41.
- Wu Q, Fan K, Sha W, Ruan H, Zeng R, Shieh C. Highly sensitive detection of melamine based on reversed phase liquid chromatography mass spectrometry. Chin Sci Bull 2009; 54(5): 732-7.
- Lampinen, J. The detection of melamine in milk products. Food Contamination 2009; Special Issue: 22-5.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Melamine measurement in dry milk by high performance liquid chromatography- Test Method. [ISIRI no 20807]. 1<sup>st</sup> ed. Karaj, Iran: ISIRI; 2016. [In Persian].
- World Health Organization. International experts limit melamine levels in food. Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
- Shakerian A, Savabi Esfahani G. Detection and determination of Melamine in infant formula by ELISA method. Food Hygiene 2012; 2(1): 75-81. [In Persian].
- Wei R, Wang R, Zeng Q, Chen M, Liu T. High-performance liquid chromatographic method for the determination of cyromazine and melamine residues in milk and pork. J Chromatogr Sci 2009; 47(7): 581-4.
- Braekevelt E, Lau BP, Feng S, Menard C, Tittlemier SA. Determination of melamine, ammeline, ammelide and cyanuric acid in infant formula purchased in Canada by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess 2011; 28(6): 698-704.
- Tittlemier SA, Lau BP, Menard C, Corrigan C, Sparling M, Gaertner D, et al. Baseline levels of melamine in food items sold in Canada. I. Dairy products and soy-based dairy replacement products. Food Addit Contam Part B Surveill 2010; 3(3): 135-9.
- Wen Y, Liu H, Han P, Gao Y, Luan F, Li X. Determination of melamine in milk powder, milk and fish feed by capillary electrophoresis: A good alternative to HPLC. J Sci Food Agric 2010; 90(13): 2178-82.