

## نانو کامپوزیت پلی استایرن - هیدروکسی آپاتیت به عنوان جاذب جدیدی برای سم

### آفلاتوکسین M1

مینا سیفی احمدآبادی<sup>۱</sup>، سید علی یاسینی اردکانی<sup>۲\*</sup>، سید حسین حکمتی مقدم<sup>۳</sup>

#### خلاصه

مقدمه: آفلاتوکسین M1، یکی از مهم ترین سموم موجود در شیر و حاصل متابولیسم آفلاتوکسین B1 در میکروزوم های کبدی می باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی توانایی جذب آفلاتوکسین M1 توسط نانو کامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت بود.

روش: نخست احتمال جذب آفلاتوکسین M1 توسط نانو کامپوزیت در نرم افزار شبیه ساز (Hyperchem نسخه 8.0.3) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس، نانو کامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت از طریق رسوب شیمیایی، سنتز و مشخصه یابی شد. در مرحله بعد، سریال غلظت نانو کامپوزیت تهیه و به طور جداگانه با محلول آفلاتوکسین M1 در دماها و pH های مختلف انکوبه گردید. در نهایت، میزان جذب سم با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به دست آمد.

یافته ها: شبیه سازی رایانه ای نشان داد که آفلاتوکسین M1 توسط این نانو کامپوزیت جذب گردید. بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، نانوذرات پلی استایرن و هیدروکسی آپاتیت تشکیل شدند و به صورت نانو کامپوزیت در کنار هم قرار گرفتند. تحلیل تصاویر گزارش کرد که گستره اندازه ذرات نانو کامپوزیت بین ۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر بود. اثر غلظت های مختلف نانو کامپوزیت سنتز شده در دماها و pH های مختلف بر میزان جذب نشان داد که هرچند دما بر میزان جذب آفلاتوکسین M1 تأثیر چندانی نداشت، اما در همه غلظت ها به pH وابسته بود؛ به طوری که میزان جذب در  $pH = 5$  بالاتر از میزان جذب در pH های ۷ و ۹ به دست آمد.

نتیجه گیری: در مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داده شد که نانو کامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت می تواند آفلاتوکسین M1 را جذب کند. همچنین، جذب آفلاتوکسین M1 توسط نانو کامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت متأثر از دما نیست، اما به شدت وابسته به pH می باشد.

واژه های کلیدی: نانو کامپوزیت، پلی استایرن، هیدروکسی آپاتیت، جذب، آفلاتوکسین M1

۱- مری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، یزد، ایران ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، یزد، ایران ۳- دانشیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

\* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: a.yasini@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۳/۲۵ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۴/۲/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۳/۳

## مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها هستند که اثرات سمی بر سلول‌های انسان و حیوان دارند (۱، ۲). در این بین، آفلاتوکسین‌ها که در طی انبارداری مواد غذایی و در اثر رشد آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس ایجاد می‌گردد، دسته مهمی از مایکوتوکسین‌ها می‌باشند و می‌توانند باعث جهش، سرطان‌زایی، سیروز و سرطان کبد گردند (۳-۵).

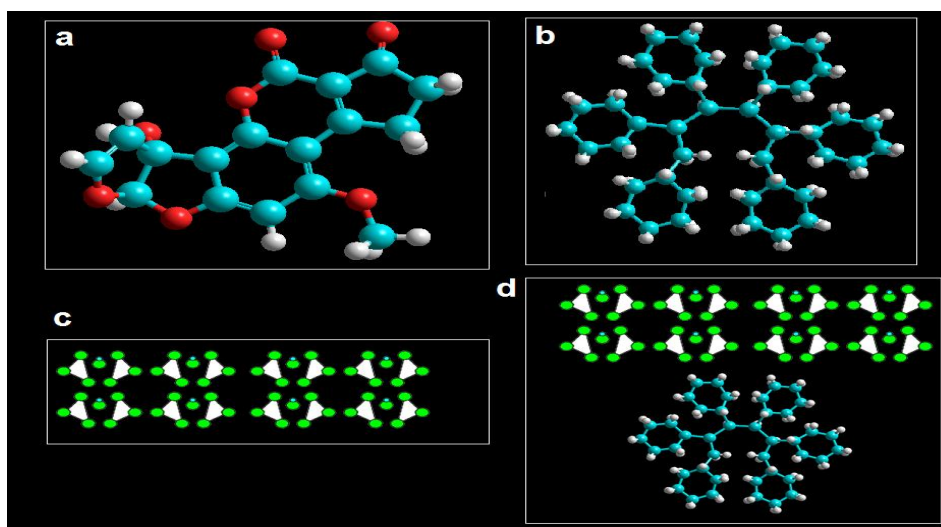
حداقل ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته شده است که مهم‌ترین آن‌ها B1، B2، G1، G2، M1، M2 می‌باشند. انسان و حیوان بعد از این که مواد غذایی آلوده به این سم را مصرف کرد، آفلاتوکسین موجود در آن به سرعت جذب می‌شود و در سلول‌های کبدی تجمع پیدا می‌کند. از نظر مکانیسم، آفلاتوکسین B1 در میکروزوم‌های کبدی و با دخالت آنزیم‌های اکسیداز به مشتق ۴-هیدروکسی تبدیل می‌شود و آفلاتوکسین M1 را به وجود می‌آورد و سپس توسط شیر و سایر مایعات از بدن خارج می‌گردد (۶-۸). اگرچه روش قابل اعتمادی که به صورت تضمینی بتواند انواع آفلاتوکسین به ویژه آفلاتوکسین M1 را از مواد غذایی حذف کند، وجود ندارد؛ اما روش‌های مختلفی مانند استفاده از حرارت، مواد شیمیایی احیاگر، مواد تبدیل کننده، برخی میکروارگانیسم‌ها و مواد جاذب همچون سیلیکات‌ها، آلومینات‌ها و آلومینوسیلیکات‌ها توسط دانشمندان ارایه شده‌اند (۹-۱۴) که به مواد جاذب ذکر شده ایراداتی نیز وارد است؛ چرا که به مرور زمان ترکیبات سمی (مانند اکسید تیتانیوم و اکسید آلومینیوم) از خود آزاد می‌کنند. در ضمن، جذب آفلاتوکسین M1 توسط این مواد اختصاصی نیست و توسط سایر مواد موجود در شیر اشباع می‌گردد.

هدف تحقیق حاضر، ارایه یک ساختار مناسب با توانایی جذب آفلاتوکسین M1 بود. برای این منظور، نانو کامپوزیت

پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت انتخاب شد. با توجه به ساختار شیمیایی آفلاتوکسین M1 و پلی استرین، احتمال داده می‌شد که نانوذرات پلی استرین بتوانند با نیروی هیدروفوبیک به آفلاتوکسین M1 جذب گردند. لازم به ذکر است، پژوهشی که نشان دهد نانوذرات پلی استایرن دارای سمیت هستند، وجود ندارد؛ در حالی که این پلیمر از دیرباز گزینه مناسبی برای استفاده در صنایع غذایی بوده است (۱۵). برای بهبود خواص شیمیایی و فیزیکی پلیمرهایی مانند پلی استایرن، می‌توان به آن ترکیبات معدنی همچون هیدروکسی آپاتیت که یک کریستال طبیعی و غیر سمی است، اضافه نمود (۱۶) و در این صورت واژه نانو کامپوزیت مناسب آن می‌باشد. بر اساس موارد ذکر شده، در تحقیق حاضر نانو کامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت سنتز گردید و سپس جذب آفلاتوکسین M1 توسط آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

## روش بررسی

برای بررسی جذب آفلاتوکسین توسط نانو کامپوزیت با نرم افزار شبیه ساز، نخست ساختار اولیه آفلاتوکسین M1 و نانو کامپوزیت توسط برنامه Hyperchem نسخه 8.0.3 تهیه شد و از نظر سطح انرژی و ساختار، در این محیط نرم افزاری بهینه و متعادل گشت. در مرحله بعد، باکس شبیه سازی به اندازه ۱۰ آنگستروم ایجاد گردید و توانایی جذب این دو مولکول در دمای ۳۰۰ درجه کلوین به مدت ۵۰۰ پیکوثانیه با یکدیگر بررسی شد و انرژی بین مولکولی و ساختار نهایی این دو مولکول توسط نرم افزار محاسبه و ارایه گردید (۱۷). شکل ۱ (قسمت‌های a تا d) به ترتیب ساختار اولیه آفلاتوکسین M1، پلی استایرن، هیدروکسی آپاتیت و نانو کامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد.



شکل ۱. ساختار اولیه آفلاتوکسین MI (قسمت a)، پلی استایرن (قسمت b)، هیدروکسی آپاتیت (قسمت c) و نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت (قسمت d) ساخته شده در نرم افزار Hyperchem

خالص در ظرف پلی اتیلنی قرار داده شد و ۵۰ میلی لیتر حلال تولوئن ساخت شرکت Merck آلمان، به آن اضافه گردید تا همه پلی استایرن حل شود. در مرحله بعد ۲۵ میلی لیتر از نانوذرات سنتز شده و ۲۵ میلی لیتر از پلی استایرن حل شده با هم مخلوط و به شدت در حضور گلوله‌های سرامیکی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط به هم زده شد. در نهایت، نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت سنتز شده درون پلیت پلاستیکی ریخته شد و ۲۴ ساعت به آن زمان داده شد تا تمامی تولوئن مورد استفاده در نانوکامپوزیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تبخیر گردد. بعد از تبخیر حلال، نانوکامپوزیت خالص از روی پلیت جمع آوری و یک گرم از آن توزین و در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید که این کار در حضور گلوله‌های سرامیکی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انجام گردید (۱۹). برای بررسی ساختاری نانوذرات و نانوکامپوزیت سنتز شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی ساخت شرکت Hitachi ژاپن، استفاده گردید. همچنین برای آنالیز شیمی سطح و تأیید تشکیل نانوکامپوزیت،

برای سنتز نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، نخست ۳۶/۱۵ گرم از نیترات کلسیم  $[Ca(NH_3)_2]$  ساخت شرکت Merck آلمان، در ۵۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل شد. سپس، ۱۲ گرم دی آمونیوم فسفات  $[(NH_3)_2HPO_4]$  ساخت شرکت Merck آلمان، در ۳۷۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و توسط هیدروکسید سدیم به  $pH = 14$  رسانده شد. بعد از آن، درون ظرف شیشه‌ای مقاوم به حرارت درب پیچ‌دار به ۲۵ سی سی از محلول نیترات کلسیم، ۲۵ سی سی محلول دی آمونیوم فسفات اضافه و به خوبی مخلوط گردید. بلافاصله بعد از اتمام واکنش، محصول تولیدی سه بار با آب مقطر شستشو و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد خشک شد. ۵ گرم نانوذرات هیدروکسی آپاتیت توزین شد و با هاون معمولی و بالب میل در حضور گلوله‌های سرامیکی به شدت آسیاب گردید (۱۸). پودر نرم به دست آمده در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حاوی سورفاکتانت لسیتین ساخت شرکت Merck آلمان، حل شد و برای تهیه نانوکامپوزیت مورد استفاده قرار گرفت. سپس، نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت بدین شرح سنتز شد: نخست یک گرم پلی استایرن

درصد مخلوط و بعد از عبور از ستون ایمونوآفینیتی و شستشو با سرم فیزیولوژی، ۱۰ میکرولیتر از آن به دستگاه تزریق گردید. در نهایت دستگاه، غلظت هر نمونه را با توجه به منحنی کالیبراسیون ارایه می داد. همه تست های مطالعه حاضر با ۳ بار تکرار انجام شد و سپس، میانگین و انحراف معیار آن ها محاسبه و ارایه گردید. برای بررسی اختلاف های معنی دار، آزمون t مورد استفاده قرار گرفت.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

### نتایج

در انتهای شبیه سازی، انرژی بین مولکولی (یعنی انرژی بین نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت و آفلاتوکسین MI) منفی به میزان ۱۸/۲ کیلوکالری بر مول و فاصله بین مولکولی از ۹۸ به ۲۰ آنگستروم کاهش یافت که هر دو شاخص گویای جذب آفلاتوکسین MI توسط نانوکامپوزیت بود.

مورفولوژی و شکل نانوذرات هیدروکسی آپاتیت و نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت با میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین گردید که به ترتیب در شکل های ۲ و ۳ نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می گردد، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت اندازه های حدود ۱۰۰ نانومتر و شکل میله ای داشتند. همچنین، نانوذرات پلی استایرن به شکل کروی و در اندازه های مختلف بودند. بررسی حدود ۱۰ تصویر نانوکامپوزیت نشان داد که گستره اندازه ذرات نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت بین ۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر بود.

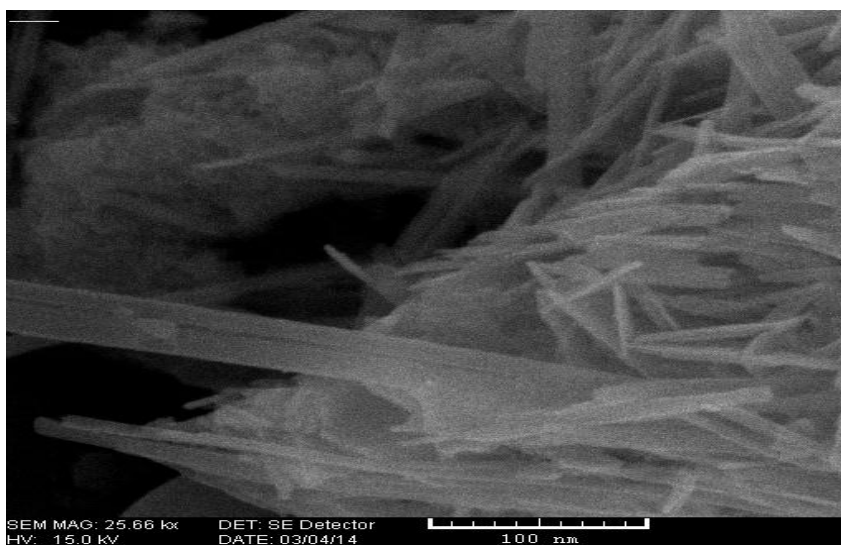
طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (Fourier transform infrared یا FTIR) مورد استفاده قرار گرفت.

در مرحله بعد، جذب آفلاتوکسین MI توسط این نانوکامپوزیت در شرایط مختلف آزمایشگاهی ارزیابی شد. جهت ارزیابی دمای انکوباسیون بر میزان جذب، ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت های سریال نانوکامپوزیت سنتز شده (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر) به طور جداگانه با ۵۰۰ میکرولیتر محلول آفلاتوکسین MI ساخت شرکت زیست فناور شرق ایران، با غلظت ppm ۱۰۰۰ مخلوط و در دماهای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید.

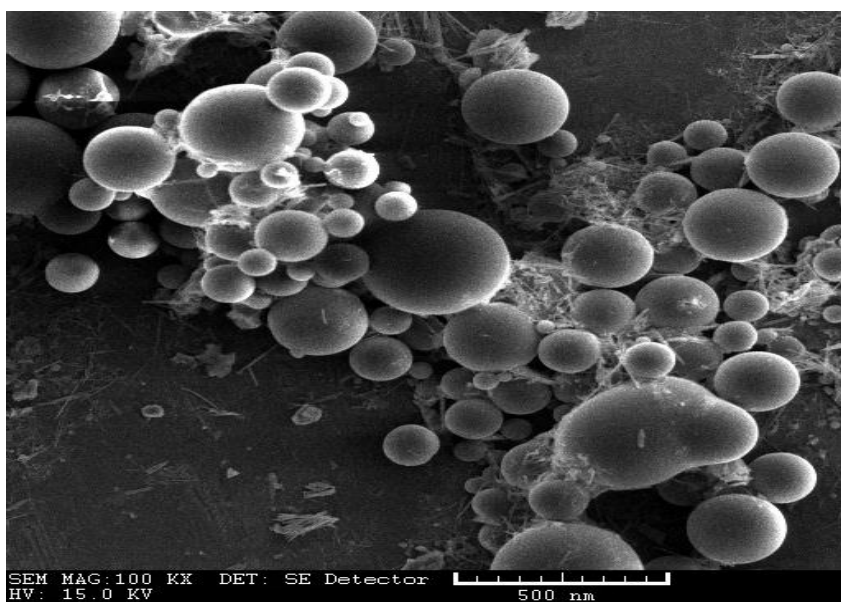
برای ارزیابی pH نیز مانند مراحل بالا، ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت های سریال نانوکامپوزیت سنتز شده به طور جداگانه با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول آفلاتوکسین MI مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. لازم به ذکر است که pH تمامی لوله ها روی اعداد ۵، ۷ و ۹ تنظیم شد. بعد از اتمام انکوباسیون، همه لوله ها با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و میزان غلظت آفلاتوکسین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (WATERS, USA) محاسبه گردید. درصد جذب با فرمول زیر مورد محاسبه قرار گرفت (۲۰).

جذب نوری کنترل منفی / ۱۰۰ × (جذب نوری کنترل منفی - جذب نوری لوله تست) = درصد جذب  
که در لوله کنترل منفی به جای نانوکامپوزیت از آب مقطر استفاده شد.

روش آنالیز به طور اختصار بدین گونه بود که ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی با یک میلی لیتر استونیتریل ۶۰



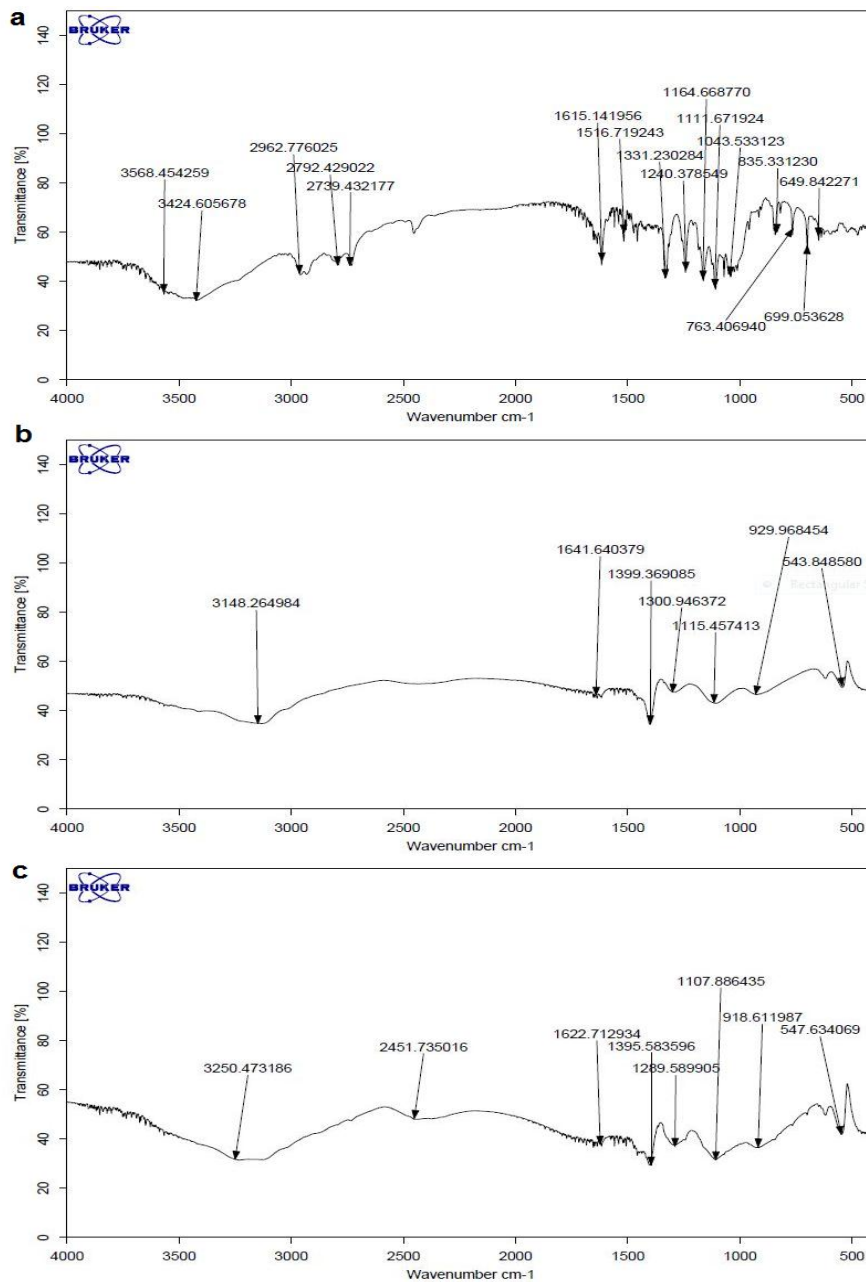
شکل ۲. نانوذرات هیدروکسی آپاتیت که توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گرفته شده است.



شکل ۳. نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت که توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گرفته شده است و ذرات هیدروکسی آپاتیت در بین گلوله‌های پلی استایرن قرار گرفته‌اند.

هیدروکسی آپاتیت (c) مشخص شده است. پیک‌های اختصاصی پلی استایرن و هیدروکسی آپاتیت به صورت توأم در پیک‌های جذبی نانوکامپوزیت مشاهده می‌شود که دلیلی بر انجام سنتز نانوکامپوزیت می‌باشد.

برای بررسی شیمی سطح و تأیید ایجاد نانوکامپوزیت در تحقیق حاضر، از FTIR استفاده شد که نتایج آن در شکل ۴ آمده است. در این شکل پیک‌های جذبی پلی استایرن (a)، هیدروکسی آپاتیت (b) و نانوکامپوزیت پلی استایرن-

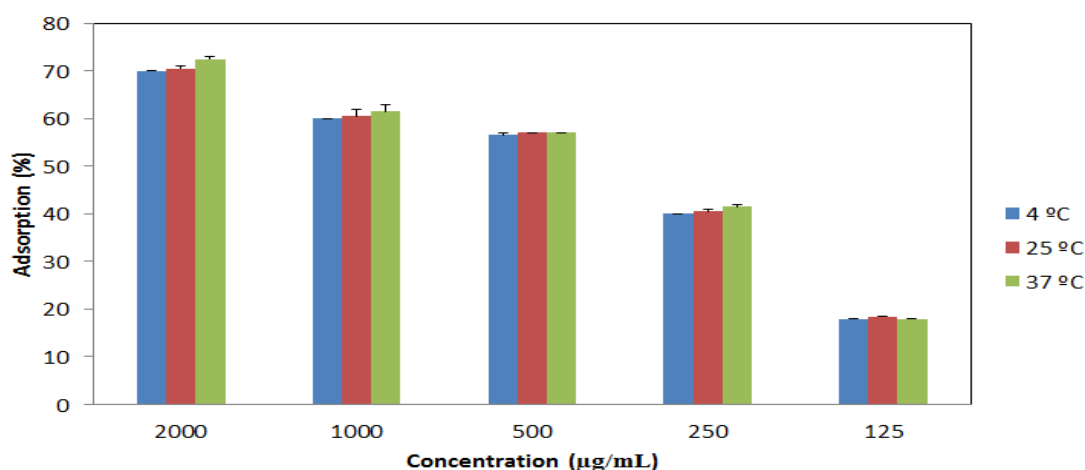


شکل ۴. پیک‌های جذبی پلی استایرن (a)، هیدروکسی آپاتیت (b) و نانوکامپوزیت پلی استایرن-هیدروکسی آپاتیت (c) به دست آمده از

(Fourier transform infrared) FTIR

جذب برای هر سه دمای آنکوباسیون تا حدودی یکسان بود. لازم به ذکر است، این پدیده در همه غلظت‌های نانوکامپوزیت مشاهده شد و رابطه آماری معنی‌داری بین میزان جذب در دماهای مختلف مشاهده نگردید.

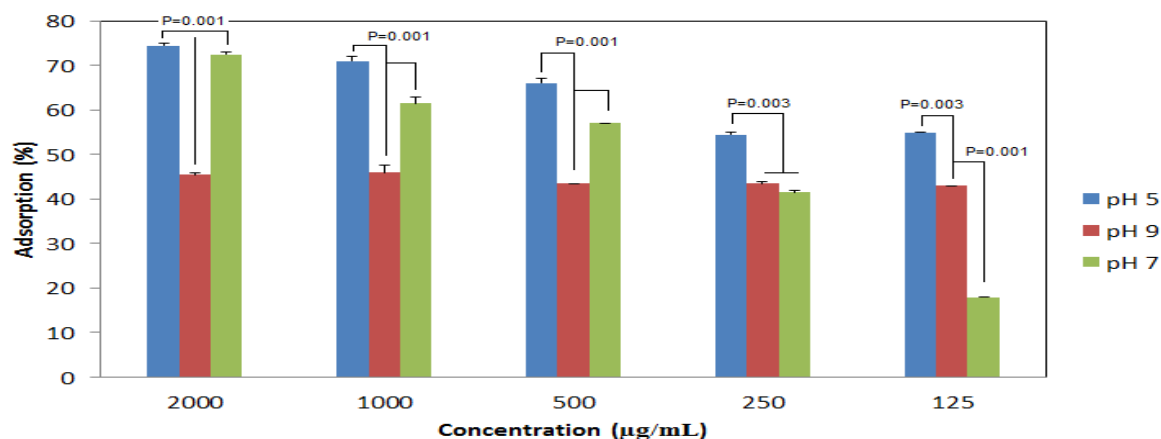
شکل ۵، اثر غلظت‌های مختلف نانوکامپوزیت بر میزان جذب را در سه دما (۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد) نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل مشخص می‌باشد، میزان جذب آفلاتوکسین M1 چندان متأثر از دما نبود و مقدار



شکل ۵. میزان جذب آفلاتوکسین MI توسط نانوکامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت در غلظت‌ها و دماهای مختلف

در pH های اسیدی، خنثی و بازی مشاهده گردید؛ در حالی که حداکثر جذب در غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب برای pH های اسیدی، بازی و خنثی بود. لازم به ذکر است، در همه غلظت‌ها رابطه معنی داری بین میزان جذب در pH اسیدی و میزان جذب در pH بازی و خنثی وجود داشت که روی شکل نشان داده شده است.

شکل ۶. اثر غلظت‌های مختلف نانو کامپوزیت در pH های مختلف (اسیدی، بازی و خنثی) را بر میزان جذب نشان داد. این شکل مشخص نمود که میزان جذب آفلاتوکسین MI در همه غلظت‌ها در pH = ۵ بالاتر از میزان جذب در pH های ۷ و ۹ بود. در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، حداکثر جذب به ترتیب در



شکل ۶. میزان جذب آفلاتوکسین MI توسط نانوکامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت در غلظت‌ها و pH های مختلف

## بحث

هدف از انجام مطالعه حاضر، یافتن یک نانوکامپوزیت جدید برای جذب آفلاتوکسین MI بود. با توجه به مطالعات اولیه تئوریک و بررسی ساختار شیمیایی آفلاتوکسین MI و پلی استایرن، احتمال داده می شد که نانوذرات پلی استایرن بتوانند با آفلاتوکسین MI تعاملات بین مولکولی برقرار کنند. پلی استایرن نیز مانند آفلاتوکسین MI دارای حلقه های کربنی است و این دو می توانند با هم ارتباط هیدروفوبیک داشته باشند. همچنین، با توجه به ساختار شیمیایی این دو مولکول، احتمال ایجاد پیوندهای هیدروژنی نیز داده می شد. علت انتخاب هیدروکسی آپاتیت این بود که این کریستال طبیعی و غیر سمی منجر به بهبود خواص شیمیایی و فیزیکی نانوکامپوزیت می شود و کارایی سیستم را بالا می برد. با توجه به ساختار شیمیایی این مولکول، احتمال ایجاد پیوندهای هیدروژنی برای هیدروکسی آپاتیت و آفلاتوکسین MI نیز وجود داشت. از طرف دیگر، پلی استایرن به تنهایی دارای مشخصات مکانیکی بالایی نیست و چنانچه کامپوزیتی از پلی استایرن ساخته شود که علاوه بر قدرت جذب آفلاتوکسین، دارای حداقل ویژگی های ساختاری و مکانیکی باشد، می توان در آینده برای ساخت پاکت های شیر از آن استفاده نمود. لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر خواص مکانیکی این نانوکامپوزیت مورد بررسی قرار نگرفت.

در پژوهش حاضر احتمال جذب آفلاتوکسین توسط نانوکامپوزیت نخست توسط نرم افزار شبیه ساز رایانه ای به چالش کشیده شد. نتایج شبیه سازی رایانه ای به خوبی اثبات نمود که این نانوکامپوزیت می تواند جاذب مناسبی برای آفلاتوکسین MI باشد، اما لازم به ذکر است که نتایج شبیه سازی رایانه ای نمی تواند مقدار جذب را اعلام نماید و تنها جذب شدن و یا جذب نشدن را نشان می دهد. برای تعیین میزان جذب آفلاتوکسین MI توسط این

نانوکامپوزیت، فرایند جذب در شرایط مختلف آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. برنامه Hyperchem یک نرم افزار قدرتمند برای ایجاد مدل های مولکولی و بررسی تعامل آنها با یکدیگر است. در این نرم افزار بعد از ساخت مواد به صورت اتم به اتم، از نظر سه بعدی بهینه می شوند و در پایین ترین سطح انرژی قرار می گیرند. جذب مولکول ها به هم از طریق شبیه سازی دینامیک مولکولی در این نرم افزار قابل بررسی می باشد.

همان طور که پیش تر ذکر گردید، فرایند جذب در سه بازه دمایی (۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی گراد) و سه بازه pH (۹، ۷ و ۵) مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه حاضر نشان داد که جذب آفلاتوکسین MI توسط این نانوکامپوزیت، رابطه مستقیمی با غلظت نانوکامپوزیت و pH دارد، اما بین میزان جذب آفلاتوکسین MI توسط این نانوکامپوزیت با دمای آنکوباسیون رابطه ای مشاهده نشد. وابستگی به غلظت را چنین می توان توجیه کرد که تعامل بین مولکول های آفلاتوکسین MI و نانوکامپوزیت در غلظت های بالا افزایش می یابد و شانس جذب بالا می رود. همچنین، وابستگی به pH با پروتون دار شدن نانوکامپوزیت قابل توجیه است؛ چرا که احتمال برقراری پیوندهای هیدروژنی را بالا می برد. احتمال داده می شود که عدم وابستگی به دما، به دلیل سرعت بالای جذب آفلاتوکسین باشد.

تحقیقات نشان داده است که محتوای سم آفلاتوکسین MI موجود در شیر طی روش های مختلف فیزیکی مانند پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون، خشک کردن و سرد کردن تغییر قابل توجهی ندارد (۸)، اما محققین روش های مفیدی را ارایه کرده اند. به طور مثال، برخی تحقیقات مشخص نموده اند که مواد جاذب مانند سیلیکات ها، آلومینات ها و آلومینوسیلیکات ها می توانند باعث کاهش آفلاتوکسین شوند (۹-۱۴)، اما این مواد معایبی نیز دارند. نخست این که ظرفیت اتصال و پایداری آنها پایین می باشد؛ ضمن این



✓ از آنجایی که این نانو کامپوزیت در نهایت درون سطوح بسته بندی قرار خواهد گرفت و احتمال مصرف آن توسط انسان یا حیوان وجود دارد، توصیه می گردد که این نانو کامپوزیت از نظر سم شناسی و اثرات مخرب بر روی سلول های طبیعی لوله گوارش مورد ارزیابی قرار گیرد.

✓ به دلیل این که بعد از جذب آفلاتو کسین احتمال جدایی سم از ساختار نانو کامپوزیت وجود دارد، باید میزان آزاد سازی آفلاتو کسین MI بعد از جذب توسط نانو کامپوزیت در شرایط مختلف آزمایشگاهی بررسی گردد.

✓ اثر جذب توأم این نانو کامپوزیت در صورتی که با سایر پلیمرها همراه باشد، باید مورد ارزیابی قرار گیرد؛ چرا که ممکن است انواع پلیمرها با این نانو کامپوزیت اثر افزایشی یا کاهش در قدرت جذب داشته باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به آزمون های انجام شده در تحقیق، به طور کلی می توان گفت که نانو کامپوزیت پلی استایرن- هیدروکسی آپاتیت به خوبی می تواند به آفلاتو کسین MI جذب شود و مهم تر این که قدرت جذب آن درون شیر نیز همچنان پا برجا باقی می ماند. شاید از این نانو کامپوزیت بتوان در آینده در سطوح بسته بندی برای حذف آفلاتو کسین استفاده کرد که البته به مطالعات گسترده نیاز می باشد.

### سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد. بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه و تمامی کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

که این مواد جاذب به مرور زمان از خود ترکیبات سمی آزاد می کنند. همچنین، جذب آفلاتو کسین MI توسط این مواد اختصاصی نیست و توسط سایر مواد موجود در شیر اشباع می گردد (۲۱).

Phillips و همکاران لیستی از مواد جاذب آفلاتو کسین MI را ارائه نمودند که این مواد به خوبی می تواند اتصال پایدار با آفلاتو کسین MI داشته باشد. از جمله مواد معرفی شده در تحقیق آنان، سیلیکات ها و آلومینوسیلیکات ها، آلومیناس، بنتونیت، ورمیکولیت و کربن فعال بود (۱۲). Galvano و همکاران بنتونیت را به عنوان جاذب آفلاتو کسین MI معرفی نمودند و گزارش کردند که بنتونیت بر روی محتوای پروتئینی شیر تأثیر ناچیزی دارد و حداکثر تقلیل محتوای پروتئینی را ۵ درصد ذکر نمودند (۱۴). بررسی مقایسه ای مطالعه حاضر با مطالعات ذکر شده (۱۴، ۱۲) نشان می دهد که نانو کامپوزیت سنتز شده به اندازه آلومینوسیلیکات ها، بنتونیت و کربن فعال می تواند آفلاتو کسین MI را جذب کند.

لازم به ذکر است که در حال حاضر بسته بندی هایی که برای نگهداری شیر استفاده می گردد، توانایی جذب آفلاتو کسین MI را ندارد و لزوم ایجاد چنین قابلیت در بسته بندی ها گزینه مطلوبی می باشد. مطالعه حاضر به خوبی نشان داد که نانو کامپوزیت مذکور می تواند آفلاتو کسین MI را جذب کند، اما کارایی این نانوساختار در سطح بسته بندی شیر باید در تحقیق مستقل دیگری مورد ارزیابی قرار گیرد. به نظر می رسد برای کاربرد شدن این پروژه، باید نکات و موارد زیر در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد:

## References

1. Brase S, Glaser F, Kramer CS, Lindner S, Linsenmeier AM, Masters KS, et al. Progress in the chemistry of organic natural products. The chemistry of mycotoxins. *Prog Chem Org Nat Prod* 2013; 97: v-300.
2. Matsuda Y, Wakai T, Kubota M, Osawa M, Sanpei A, Fujimaki S. Mycotoxins are conventional and novel risk biomarkers for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19(17): 2587-90.
3. Mohd-Redzwan S, Jamaluddin R, Abd-Mutalib MS, Ahmad Z. A mini review on aflatoxin exposure in Malaysia: past, present and future. *Front Microbiol* 2013; 4: 334.
4. Ibeh IN, Saxena DK, Uraih N. Toxicity of aflatoxin: effects on spermatozoa, oocytes, and in vitro fertilization. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000; 19(4): 357-61.
5. Moudgil V, Redhu D, Dhanda S. A review of molecular mechanisms in the development of hepatocellular carcinoma by aflatoxin and hepatitis B and C viruses. *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology* 2013; 32(2): 165-75.
6. Milita NM, Mihaescu G, Chifiriuc C. [Aflatoxins--health risk factors]. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol* 2010; 55(1): 19-24.
7. Caloni F, Cortinovis C, Pizzo F, de Angelis I. Transport of aflatoxin M1 in human intestinal Caco-2/TC7 cells. *Front Pharmacol* 2012; 3: 111.
8. Wild C, Fortuin M, Donato F, Whittle HC, Hall A, Wolf CR, et al. Aflatoxin, liver enzymes, and hepatitis B virus infection in Gambian children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2: 555.
9. Choudhary P, Sharma R, Borkhartria V. Effect of chilling and heating on aflatoxin M1 content of contaminated Indian cow's milk. *Egyptian Journal of Dairy Science* 1998; 26(2): 223-9.
10. Kutz RE, Sampson JD, Pompeu LB, Ledoux DR, Spain JN, Vazquez-Anon M, et al. Efficacy of Solis, NovasilPlus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M1 levels in milk of early to mid-lactation dairy cows fed aflatoxin B1. *J Dairy Sci* 2009; 92(8): 3959-63.
11. Phillips TD, Kubena LF, Harvey RB, Taylor DR, Heidelbaugh ND. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poult Sci* 1988; 67(2): 243-7.
12. Phillips TD, Clement BA, Kubena LF, Harvey RB. Detection and detoxification of aflatoxins: prevention of aflatoxicosis and aflatoxin residues with hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Vet Hum Toxicol* 1990; 32(Suppl): 15-9.
13. Phillips TD, Sarr AB, Grant PG. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. *Nat Toxins* 1995; 3(4): 204-13.
14. Galvano F, Pietri A, Bertuzzi T, Fusconi G, Galvano M, Piva A, et al. Reduction of carryover of aflatoxin from cow feed to milk by addition of activated carbons.

- Journal of Food Protection* 1996; 5: 448-561.
15. Lickly TD, Breder CV, Rainey ML. A model for estimating the daily dietary intake of a substance from food-contact articles: styrene from polystyrene food-contact polymers. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 21(3): 406-17.
  16. Hu Q, Li B, Wang M, Shen J. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials* 2004; 25(5): 779-85.
  17. Jebali A, Yasini Ardakani A, Sedighi N, Hekmatimoghaddam SH. Erratum to: Nanocellulose conjugated with retinoic acid: its capability to adsorb aflatoxin B1. *Cellulose* 2015; 22(3): 2139.
  18. Saffarzadeh N, Kalantar SM, Jebali A, Hekmatimoghaddam SH, Sheikhha MH, Farashahi E. The cellular uptake of antisense oligonucleotide of E6 mRNA into cervical cancer cells by DOPE-modified hydroxyapatite nanoparticles. *Nanomedicine Journal* 2014; 1(5): 292-7.
  19. Zhang SW, Zhou SX, Weng YM, Wu LM. Synthesis of SiO<sub>2</sub>/polystyrene nanocomposite particles via miniemulsion polymerization. *Langmuir* 2005; 21(6): 2124-8.
  20. Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit Contam* 2000; 17(1): 59-64.
  21. Thom DC, Davies JE, Santerre JP, Friedman S. The hemolytic and cytotoxic properties of a zeolite-containing root filling material in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95(1): 101-8.

## Polystyrene-Hydroxyapatite Nanocomposite as a New Adsorbent of Aflatoxin M1

Mina Seifi-Ahmadabadi, B.Sc.<sup>1</sup>, Seyed Ali Yasini-Ardakani, Ph.D.<sup>2\*</sup>, Seyed Hossein Hekmatimoghaddam, M.D.<sup>3</sup>

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Yazd Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Yazd Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

3. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

\* Corresponding author; e-mail: a.yasini@gmail.com

(Received: 15 June 2014      Accepted: 27 May 2015)

### Abstract

**Background & Aims:** Aflatoxin M1 is one of the most important toxins present in milk and the product of aflatoxin B1 metabolism in liver microsomes. The aim of this project was to study the aflatoxin M1 adsorption ability of polystyrene-hydroxyapatite nanocomposite.

**Methods:** First, the probability of aflatoxin M1 adsorption by the nanocomposite was evaluated using the HyperChem simulation software. Then, polystyrene-hydroxyapatite nanocomposite was synthesized and its properties were determined through chemical deposition. Subsequently, serial concentrations of the nanocomposite were prepared and separately incubated with aflatoxin M1 solution at different temperatures and pH. Finally, the adsorption quantity was measured through high performance liquid chromatography (HPLC).

**Results:** The computer simulation showed that aflatoxin M1 was adsorbed by the nanocomposite. In addition, scanning electron microscope (SEM) images showed that polystyrene and hydroxyapatite nanoparticles were formed and formed a nanocomposite. Image analysis showed that the nanoparticle size distribution was between 50-500 nm. This study revealed that although the adsorption quantity was not affected by temperature, it was affected by pH in all concentrations. The adsorption quantity in a pH of 5 was higher than that in pH of 7 and 9.

**Conclusion:** In the present study, it was shown for the first time that polystyrene-hydroxyapatite nanocomposite can adsorb aflatoxin M1. This study also demonstrated that although the adsorption was not affected by temperature, pH remarkably affected it.

**Keywords:** Nanocomposite, Polystyrene, Hydroxyapatite, Adsorption, Aflatoxin M1