

طراحی جاذب اختصاصی جدید جهت حذف آفلاتوکسین M_1 از شیر خام گاو

صمد بدبدک^{۱*}، بیوک آقا فرمانی^۱، جواد حصاری^۲، سیدهادی پیغمبر دوست^۲،
مهرداد مهکام^۳

۱- استادیار تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲- استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- استاد شیمی پلیمر، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

چکیده

هدف از این تحقیق تهیه جاذب اختصاصی جدید برای حذف آفلاتوکسین M_1 بعنوان یکی از عوامل آلاینده و ضد سلامتی شیر است. برای این منظور، جاذب اختصاصی آفلاتوکسین M_1 بر روی صفحات استیل ضد زنگ با استفاده از روش پلیمریزاسیون حرارتی توده‌ای پوشش داده شد. کارایی جاذب جاذب طراحی شده در محلول مدل آبی و نمونه شیر خام گاو حاوی ۵۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین M_1 (۱۰ برابر حد مجاز استاندارد آفلاتوکسین در شیر گاو) با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ظرفیت جاذب آفلاتوکسین M_1 در محلول مدل و نمونه شیر به ترتیب برابر با ۹۳/۳۲ و ۹۰/۳۱٪ می‌باشد. همچنین بررسی تاثیر تیمار شیر با جاذب طراحی شده بر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی شیر نشان داد که این تیمار تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های تغذیه‌ای و کیفی شیر خام ندارد ($p > 0.05$).

کلید واژگان: آفلاتوکسین M_1 ، پلیمر اثر انگستی، شیر خام گاو، جاذب اختصاصی

* مسئول مکاتبات: s.bodbodak@tabrizu.ac.ir

۱- مقدمه

شیر و فراورده های لبنی نقش مهمی تغذیه و عملکردی در رژیم غذایی انسان دارند و ترکیبات ضروری برای حفظ سلامتی انسان ها در همه سنین را تامین می کنند. با این وجود، برخی از مواد مضر مانند آلاینده های شیمیایی و میکروبی، توکسین های طبیعی، آفت کش ها و باقی مانده داروها، مواد مخدر، مواد افزودنی رنگی، مواد افزودنی غیرمجاز ممکن است در شیر و محصولات لبنی وجود داشته باشند که تاثیر منفی بر سلامت انسان دارند. یکی از نگرانی های جدی جهانی مصرف فراورده های لبنی، آلودگی به مایکوتوکسین ها مانند آفاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A می باشد.

آفاتوکسین ها متابولیت های طبیعی سویه های قارچی خاص هستند که دارای سمیت بالا، تضعیف کننده سیستم ایمنی، جهش زا، سرطان زا و ترانوژنیک هستند [۱]. آفاتوکسین M_1 متابولیت اصلی آفاتوکسین B_1 است که به ویژه در شیر و دیگر محصولات لبنی به دلیل تغذیه حیوان با مواد غذایی آلوده به آفاتوکسین B_1 یافت می شود [۲ و ۳]. آلودگی آفاتوکسین M_1 محصولات لبنی یک مشکل جدی برای سلامتی است، زیرا به -عنوان غذای اصلی نوزادان و کودکان بسیار مورد استفاده قرار می -گیرند. علاوه براین آفاتوکسین M_1 در طول فرایندهای حرارتی مانند پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون به علت پایداری شیمیایی و حرارتی نابود نمی شود [۳]. بنابراین، اتحادیه اروپا و سازمان غذا و داروی آمریکا به ترتیب حداکثر میزان قابل قبول ۵۰ و ۵۰۰ ng/kg برای آفاتوکسین M_1 را در شیر خام، شیر حرارت داده شده و شیر مصرفی برای تولید سایر محصولات لبنی تعیین کردند [۴ و ۵]. در نتیجه، روش های مختلفی برای حذف آفاتوکسین M_1 از محصولات لبنی مانند اکسیداسیون با پراکسید هیدروژن به همراه حرارت [۶]، تجزیه زیستی [۷ و ۸]، حذف توسط جاذب های سطحی مانند خاک های معدنی مختلف (بتونیت، کائولن، مونتموریلونیت، سولفیت پتاسیم، زئولیت، مواد معدنی سلیکاتی) و یا کربن های فعال [۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲]. اگر چه این روش ها قادر به حذف آفاتوکسین M_1 در شیر تا حدود ایمن و مجاز بودند، ولی از طرف دیگر باعث تغییرات سوئی بر خواص شیمیایی و تغذیه ای شیر می شوند. زیرا این جاذب ها به عنوان

مواد جاذب عمومی و غیر اختصاصی بوده و علاوه براین، قابل بازیابی و ایمن نیستند، زیرا برخی از آنها حاوی آلاینده هایی مانند فلزات سنگین هستند و یا ممکن است حاوی برخی میکروارگانیسم ها یا اسپور آنها باشند [۱۳]. هم چنین جداسازی کامل جاذب های شیر از یک مشکل چالش برانگیز است. بنابراین، یافتن روش های جدید با کاهش اثرات منفی بر کیفیت شیر و حفظ بازده حذف آفاتوکسین M_1 امری ضروری است.

انگشت نگاری مولکولی یک فن آوری برای سنتز پلیمرهای با جایگاه های اتصال اختصاصی مصنوعی است که به طور فضایی و شیمیایی مکمل یک مولکول الگو خاص یا یکسری مولکول های الگو است [۱۴]. این پلیمرها دارای مزایای زیادی از قبیل انتخابگری بالا، تمایل بالا به مولکول الگو، تهیه آسان، خواص مکانیکی مناسب و انتقال جرم بالا [۱۵ و ۱۶]. این پلیمرها به طور گسترده برای جداسازی باقی مانده های مواد مضر در غذاها [۱۷، ۱۸ و ۱۹]، تشخیص توکسین ها [۲۰ و ۲۱]، استخراج جامد فاز [۱۵]، تخریب آفت کش ها [۲۲]، فاز ثابت کروماتوگرافی مایع [۲۳]، و حامل های دارو [۱۴] مورد استفاده قرار گرفته اند. با این وجود، تعداد پژوهش های کمی درباره حذف آفاتوکسین ها از مواد غذایی با این روش وجود دارد [۲۴، ۲۵، ۲۶ و ۲۷]. در مطالعه اخیر، پلیمر جاذب انتخابی با روش پلیمریزاسیون حرارتی همزمان روی سطح صفحات فولادی ضد زنگ (SSP) پوشش داده شد. ظرفیت جذب جاذب طراحی شده برای حذف آفاتوکسین M_1 از نمونه های واقعی شیر و نمونه های مدل مورد بررسی قرار گرفت. هم چنین تأثیر کاربرد MIP بر خواص تغذیه شیر بررسی شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

شیر مورد استفاده در این تحقیق شیرگاو تازه بود که از گاوداری محلی در تبریز تهیه شد. ورق استیل ضد زنگ ۳۱۶L (SSP) با ضخامت ۰/۸ mL ساخت شرکت خدمات استیل ایران از بازار فلزکاران تبریز تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی، استانداردها و حلال- های شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک و سیگما با درجه آنالیزی و کروماتوگرافی تهیه شد.

۲-۲- تهیه جاذب‌های MIP برای AFM₁

برای این منظور ابتدا ورق استیل ضد زنگ ۳۱۶L توسط دستگاه برش گیوتینی به قطعات با ابعاد ۲×۶cm بریده شد. به منظور تمیز کردن سطح SSPها، از روش زائو و همکاران (۲۰۱۵) و هو و همکاران (۲۰۱۰) استفاده شد [۲۸ و ۲۹]. سپس عمل پوشش دهی لایه پلیمر اثر انگشتی بر سطح صفحات استیل به روش جوزن و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد [۱۵].

۲-۳- بررسی وضعیت پوشش دهی با

میکروسکوپ الکترونی

برای این منظور سطح نمونه‌های پوشش داده شده با پلیمر انگشت نگاری مولکولی با لایه نازکی از طلا توسط دستگاه sputter coater (مدل ۱۲ SBC، KYKY آمریکا) تحت خلاء و اتمسفر آرگون پوشش دهی شد. نمونه‌های پوشش دهی شده با استفاده از دستگاه SEM در ولتاژ ۲۶ keV آنالیز شد [۲۸]. سطح نمونه‌ها جهت بررسی مرفولوژی سطحی در بزرگ‌نمایی‌های مختلف اسکن شد.

۲-۴- بررسی کارایی حذف آفلاتوکسین M₁ از

شیر خام گاو توسط جاذب سنتز شده

به منظور ارزیابی عملکرد قابلیت حذف آفلاتوکسین M₁ از نمونه شیر توسط جاذب‌های سنتز شده، نمونه‌های شیر خام گاو حاوی AFM₁ تلقیح شده با غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ng.kg⁻¹ تحت تیمار با جاذب‌ها (دمای ۲۰°C به مدت ۱۰۰ دقیقه) قرار گرفتند. مقادیر باقی‌مانده AFM₁ در نمونه‌ها با استفاده دستگاه HPLC (Agilent 1200 series، آمریکا) و به روش AOAC ۹۷۰/۴۴ [۳۰] اندازه‌گیری و برای محاسبه کارایی حذف نمونه‌ها استفاده شد. کارایی حذف آفلاتوکسین M₁ از محلول با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۳۱]:

(۱)

$$(\%) = (C_0 - C_t) / C_0 \times 100$$

در این رابطه، C_0 و C_t به ترتیب نشان‌دهنده غلظت اولیه و نهایی آفلاتوکسین M₁ در شیر گاو (ng.kg⁻¹) است. شاخص کارایی حذف جهت تعیین کارایی جاذب سنتز شده برای حذف آفلاتوکسین M₁ مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵- بررسی تاثیر حذف آفلاتوکسین بر ویژگی-

های فیزیکی - شیمیایی شیر

ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی شیر شامل مقدار پروتئین، چربی، لاکتوز، SNF، pH، اسیدیته، دانسیته و نقطه انجماد شیر نمونه-های شیر خام قبل و بعد از تلقیح شده با AFM₁ (۵۰ ng.kg⁻¹) و تیمار با جاذب‌های مطابق اندازه‌گیری و مقایسه شدند [۳۰].

۲-۶- قابلیت استفاده مجدد جاذب‌ها

پایداری و قابلیت استفاده مجدد جاذب‌های با استفاده از محلول-های آبی آفلاتوکسین M₁ با غلظت‌های ۱ و ۱۰ μg.kg⁻¹ مورد بررسی قرار گرفت [۳۱]. پس از تیمار با جاذب، مقدار آفلاتوکسین M₁ باقی‌مانده در محلول برای محاسبه کارایی حذف اندازه‌گیری شد. جاذب‌ها شستشو و مجدداً برای جذب استفاده شدند. سیکل جذب و دفع ۷ بار تکرار شد و کارایی حذف جاذب‌های مورد مقایسه قرار گرفت.

۲-۷- روش آنالیز آماری

در این تحقیق کارایی جاذب‌ها برای حذف آفلاتوکسین M₁ و تاثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی شیر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن و t-student جفت شده در سطح احتمال ۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها در سه تکرار انجام گرفت و برای رسم منحنی‌ها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ساختار مرفولوژیکی لایه پوششی پلیمر

اثر انگشتی روی سطح صفحه استیل

SEM یکی از بهترین ابزارهای آنالیزی مورد استفاده برای مطالعه مرفولوژی سطحی و ساختار پلیمرهای اثر انگشتی است. گزنالس و همکاران (۲۰۰۶) اظهار کردند که ویژگی‌های مرفولوژیکی سطحی تأثیر زیادی بر ظرفیت اتصال به مولکول الگو، برقراری پیوند اختصاصی و خواص شیمیایی و حرارتی این پلیمرها دارد [۳۲]. تصاویر میکروسکوپ الکترونی مربوط به صفحات استیل

پوشش داده شده با لایه پلیمر در شکل ۱ آورده شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پوشش پلیمری به صورت یکپارچه و با تراکم ذرات کروی شکل به صورت متخلخل با منافذ قابل مشاهده بر روی صفحه استیل لایه نشانی شده‌است. علاوه بر این پلیمر دارای ساختار متخلخل، اتصالات عرضی و مساحت سطحی بیشتر بوده و اندازه ذرات آن در حدود ۳۶۵-۱۳۹ nm است. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که پوشش پلیمری دارای جایگاه‌های اتصال قابل دسترس کافی برای فراهم نمودن ظرفیت حذف بالاتر مولکول آفاتوکسین M_1 آن است. هم‌چنین ذکر این نکته نیز ضروری است که در مقایسه با پلیمرهای اترانگشتی با ذرات میکرومتری رایج، این پلیمر با اندازه ذرات نانومتری و پوشش نازک دارای مساحت سطحی بیشتری است. این امر منجر به افزایش قدرت جذب می‌شود [۳۳].

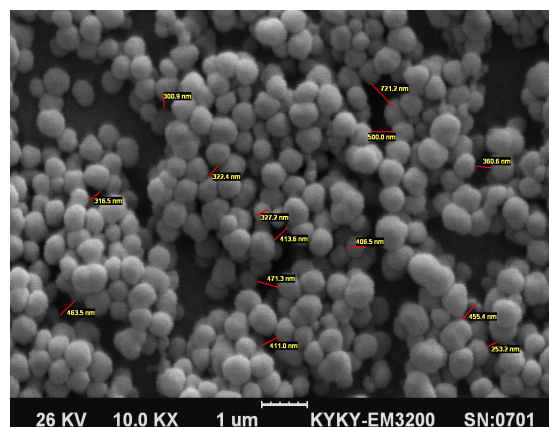


Fig 1 Scanning electron microscopy (SEM) photographs of imprinted polymer absorbent coated on the surface of stainless steel plate.

هم‌چنین مشاهده می‌شود پوشش پلیمری دارای ساختار نامنظم، زبر و با منافذ بیشتر بوده که این منافذ مربوط به جایگاه اتصال

به منظور بررسی کارایی و عملکرد جاذب‌های MIP، مقادیر مختلف آفلاتوکسین به نمونه شیر فاقد آفلاتوکسین اضافه شد. نتایج مربوط به کارایی حذف AFM_1 از نمونه شیر خام گاو کامل حاوی AFM_1 در چهار سطح مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و 1000 ng.kg^{-1} در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان کارایی حذف جاذب‌های اثر انگشتی به ترتیب برابر با ۹۶/۲-۸۰/۸ بود. مقایسه میانگین کارایی حذف نشان می‌دهد که جاذب‌های جاذب‌های اثر انگشتی به طور معنی‌داری آفلاتوکسین M_1 موجود در شیر را کاهش دادند ($p \leq 0/05$). هم چنین مقدار RSD مربوط در بازه ۴/۸-۲/۱٪ قرار داشت که نشان‌دهنده تکرار پذیری بالای نتایج بود. با توجه به نتایج حاصل می‌توان دریافت که نمونه شیر واقعی تداخلی در فرایند جذب آفلاتوکسین M_1 ایجاد نکرده و لذا جاذب‌های جاذب‌های اثر انگشتی به دلیل کارایی بالا می‌توانند برای حذف آفلاتوکسین M_1 از شیر استفاده شوند. دیاز-بائو و همکاران (۲۰۱۵) نیز با انجام تحقیق در مورد کارایی جاذب‌های اثر انگشتی مغناطیسی برای حذف آفلاتوکسین M_1 (1 ng.kg^{-1}) از شیر خشک نوزاد محلول در آب کاهش ۹۷-۴۳٪ مقدار آفلاتوکسین M_1 را گزارش دادند.

Table 1 Efficiency of imprinted polymer absorbent for removing different amounts of aflatoxin M₁ added to bovine milk

Aflatoxin M ₁ concentration (ng.kg ⁻¹)	Removal Efficiency (5)	RSD (%)
50	96.2 ± 2.2 [*]	2.1
100	95.3 ± 1.1 [*]	3.8
500	91.4 ± 0.8 [*]	4.8
1000	87.8 ± 1.5 [*]	2.3

The sign “*” indicate significant decrease of aflatoxin M₁ amountas compared to its primary amount after treatment by imprinted absorbent ($p \leq 0.05$).

انجماد، pH و وزن مخصوص شیرخام قبل و بعد از حذف آفلاتوکسین M_1 توسط جاذب‌های MIP اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). کارارو و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش کردند که استفاده از جاذب‌های عمومی و غیر اختصاصی مانند بنتونیت و کربن فعال برای حذف آفلاتوکسین M_1 می‌تواند باعث کاهش مقدار آن تا حد مجاز استاندارد شود ولی از طرف دیگر باعث تغییر معنی‌داری در ترکیب شیمیایی شیر می‌شود [۱۲]. نتایج حاصل نشان می‌دهد که جاذب‌های اثر انگشتی بدلیل ظرفیت جذب بالا و تاثیر غیر معنی‌دار بر ویژگی‌های کیفی شیر می‌تواند به‌عنوان روش جدیدی برای حذف آفلاتوکسین M_1 در مقیاس صنعتی مطرح شود.

* بیانگر کاهش معنی‌دار مقدار آفلاتوکسین M_1 پس از تیمار با جاذب اثر انگشتی نسبت به مقدار اولیه تلقیح شده است.

۳-۳- تاثیر حذف آفلاتوکسین M_1 توسط

جاذب اثر انگشتی بر ویژگی‌های کیفی شیر

جدول ۲ نتایج مربوط به تاثیر حذف آفلاتوکسین M_1 (۱)⁻ ۵۰ ng.kg، حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد ملی ایران و اتحادیه اروپا) از شیر گاو بر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی شیر را نشان می‌دهد [۵ و ۳۴]. همان‌طور که مشاهده می‌شود جاذب‌های اثر انگشتی قادر هستند مقدار آفلاتوکسین M_1 را به مقدار قابل توجهی کاهش دهند. می‌شود مقادیر پروتئین، چربی، لاکتوز، ماده خشک، اسیدیته، نقطه

Table 2 Effects of aflatoxin (50 ng.kg^{-1}) removal by imprinted absorbent on physico-chemical characteristics of bovine milk.

Characteristic \ Milk sample	Control	After treating by imprinted absorbent
Fat (%)	4.0 ± 0.2^a *	3.9 ± 0.1^a
Protein (%)	3.4 ± 0.1^a	3.2 ± 0.3^a
Lactose (%)	4.7 ± 0.4^a	4.6 ± 0.1^a
Non-fat solids (%)	8.8 ± 1.1^a	8.6 ± 0.5^a
pH	6.61 ± 0.32^a	6.60 ± 0.26^a
Acidity (g lactic acid/100g)	0.15 ± 0.02^a	0.15 ± 0.02^a
Specific gravity	1.031 ± 0.003^a	1.030 ± 0.002^a
Freezing point	-0.523 ± 0.003	-0.520 ± 0.009^a

Different small letters in each row indicate significant difference between control and imprinted absorbent treated bovine milk sample ($p \leq 0.05$).

برای جذب متولاکلر پس از ۵۰ سیکل شستشو و استفاده مجدد کارایی خود را حفظ کرده بودند [۲۹].

۴- نتیجه‌گیری

در این مطالعه، روش جدیدی از پوشش پلیمر اثر انگشتی روی سطح استیل ضدزنگ برای تهیه جاذب جهت توکسین‌زدایی از نمونه شیر حاوی آفلاتوکسین M_1 استفاده شد. پوشش MIP همگن و متخلخل بود. جاذب اثر انگشتی سنتز شده آفلاتوکسین M_1 به‌طور قابل ملاحظه‌ای در نمونه شیر گاو تاثیر قابل توجه بر

۳-۴- قابلیت استفاده مجدد جاذب‌های اثر

انگشتی

یکی از شاخص‌های مهم در انتخاب جاذب، قابلیت بازیابی و امکان استفاده مجدد از جاذب است. برای این منظور کارایی حذف مربوط به جاذب اثر انگشتی پس از ۷ سیکل جذب-دفع در غلظت‌های ۱ و $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ بررسی شد که به ترتیب برابر با ۹۷/۱ و ۹۵/۳٪ بود. این نتایج نشان دهنده پایداری و کارایی بالای جاذب‌های اثر انگشتی سنتز شده است. هو و همکاران (۲۰۱۱) اظهار کردند که جاذب‌های اثر انگشتی مورد استفاده

- effect on quality of milk. *Journal of the Arab Neonatology Forum*, 3 (2), 53–58.
- [10] Phillips, T.D., Afriyie-Gyawu, E., Williams, J., Huebner, H., Ankrah, N.-A., Ofori-Adjei, D., Jolly, P., Johnson, N., Taylor, J., Marroquin-Cardona, A., Xu, L., Tang, L., Wang, J. S. (2008). Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25, 134–145.
- [11] Di Natale, F., Gallo, M., Nigro, R. (2009). Adsorbents selection for aflatoxins removal in bovine milks. *Journal of Food Engineering*, 95, 186–191.
- [12] Carraro, A., De Giacomo, A., Giannossi, M. L., Medici, L., Muscarella, M., Palazzo, L. & Tateo, F. (2014). Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M₁ from contaminated milk and effects on milk quality. *Applied Clay Science*, 88, 92–99.
- [13] Zeng, H., Wang, Y., Nie, C., Kong, J., & Liu, X. (2014). Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for separating rutin from Chinese medicinal plants. *Analyst*, 137(10), 2503–2512.
- [14] Mahkam, M., & Poorgholy, N. (2011). Imprinted polymers as drug delivery vehicles for anti-inflammatory drugs. *Natural Science*, 9, 163–168.
- [15] Djozan, D., Ebrahimi, B., Mahkam, M., & Farajzadeh, M. A. (2010). Evaluation of a new method for chemical coating of aluminum wire with molecularly imprinted polymer layer. Application for the fabrication of triazines selective solid-phase microextraction fiber. *Analytica chimica acta*, 674 (1), 40–48.
- [16] Ma, R. T., & Shi, Y. P. (2015). Magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of quercetagenin from *Calendula officinalis* extract. *Talanta*, 134, 650–656.
- [17] Puoci, F., Curcio, M., Cirillo, G., Iemma, F., Spizzirri, U. G., & Picci, N. (2008). Molecularly imprinted solid-phase extraction for cholesterol determination in cheese products. *Food Chemistry*, 10, 836–842.
- [18] Song, Y. P., Zhang, L., Wang, G. N., Liu, J. X., Liu, J., & Wang, J. P. (2017). Dual-dummy-template molecularly imprinted polymer combining ultra-performance liquid chromatography for determination of
- کیفیت شیر جاذب کرد. بنابراین، استفاده از آن به عنوان جاذب انتخابی در صنعت لبنیات برای حذف آفلاتوکسین M₁ و افزایش ایمنی شیر می‌تواند نتایج امیدبخشی داشته باشد.

۵- منابع

- [1] Zinedine, A., & Mañes, J. (2009). Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*, 20(4), 334–344.
- [2] Santili, A.B.N., de Camargo, A.C., Nunes, R.D.S.R., Gloria, E.M.D., Machado, P.F., Cassoli, L.D., Dias, C.T.D.S. & Calori-Domingues, M.A. (2015). Aflatoxin M₁ in raw milk from different regions of São Paulo state–Brazil. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 8(3), 207–214.
- [3] Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., & Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 984–991.
- [4] FDA. (2005). Sec. 527.400 whole milk, low fat milk, skim milk Aflatoxin M₁ (CPG 7106.10) FDA/ORA Compliance Policy Guides. Food and Drug Administration.
- [5] European Commission. (2010). Commission regulation (EC) No 165/2010 of 26 February 2010 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. *Official Journal of the European Union*, L50, 8–11.
- [6] Aman, I., 1992. Reduction of aflatoxin M₁ in milk using hydrogen-peroxide and hydrogen peroxide plus heat-treatment. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 39, 692–694.
- [7] Higuera-Ciapara, I., Esqueda-Valle, M., Nieblas, J., 1995. Reduction of aflatoxin M₁ from artificially contaminated milk using ultrafiltration and diafiltration. *Journal of Food Science*, 60 (3), 645–647.
- [8] Deveci, O., 2007. Changes in the concentration of aflatoxin M₁ during manufacture and storage of White Pickled cheese. *Food Control*, 18, 1103–1107.
- [9] Soha, S., Mazloumi, M.T., Borji, M. (2006). Reduction of aflatoxin M₁ residue in milk utilizing chemisorption compounds and its

- [27] Semong, O., & Batlokwa, B. S. (2017). Development of an aflatoxin B₁ specific molecularly imprinted solid phase extraction sorbent for the selective pre-concentration of toxic aflatoxin B₁ from child weaning food, Tsabana. *Molecular Imprinting*, 5(1), 1-1
- [28] Zhao, T., Guan, X., Tang, W., Ma, Y., Zhang, H. 2015. Preparation of temperature sensitive molecularly imprinted polymer for solid-phase microextraction coatings on stainless steel fiber to measure ofloxacin. *Analytica Chimica Acta*, 853, 668-675.
- [29] Hu, X., Ye, T., Yu, Y., Cao, Y., & Guo, C. (2011). Novel liquid-liquid-solid microextraction method with molecularly imprinted polymer-coated stainless steel fiber for aqueous sample pretreatment. *Journal of Chromatography A*, 1218(25), 3935-3939.
- [30] AOAC, Official Methods of Analysis, Natural toxins-chapter 49 (18th ed.). AOAC International, Gaithersburg, USA (2005).
- [31] Nicolescu, T. V., Meouche, W., Branger, C., Margailan, A., Sarbu, A., and Fruth, V. 2013. A new microemulsion approach for producing molecularly imprinted polymers with selective recognition cavities for gallic acid. *Polymer International*, 62(6): 949-956.
- [32] González, G.P., Hernando, P.F. & Alegría, J.S.D. 2006. A morphological study of molecularly imprinted polymers using the scanning electron microscope. *Analytica Chimica Acta*, 557, 179-183.
- [33] Shaikh, H., Memon, N., Bhanger, M. I., Nizamani, S. M., & Denizli, A. 2014. Core-shell molecularly imprinted polymer-based solid-phase microextraction fiber for ultra trace analysis of endosulfan I and II in real aqueous matrix through gas chromatography-micro electron capture detector. *Journal of Chromatography A*, 1337, 179-187.
- [34] National Iranian Standard (Num 9529), 2000. Maximum tolerated level of mycotoxins in food stuffs. Iranian national standard organization.
- fluoroquinolones and sulfonamides in pork and chicken muscle. *Food control*, 82, 233-242.
- [19] Alenazi, N. A., Manthorpe, J. M., & Lai, E. P. (2015). Selective extraction of BPA in milk analysis by capillary electrophoresis using a chemically modified molecularly imprinted polymer. *Food Control*, 50, 778-783.
- [20] Gadzała-Kopciuch, R., Cendrowski, K., Cesarz, A., Kielbasa, P., & Buszewski, B. (2011). Determination of zearalenone and its metabolites in endometrial cancer by coupled separation techniques. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 401 (7), 2069.
- [21] Anene, A., Hosni, K., Chevalier, Y., Kalfat, R., and Hbaieb, S. 2016. Molecularly imprinted polymer for extraction of patulin in apple juice samples. *Food Control*, 70: 90-95.
- [22] Erdem, M., Say, R., Ersöz, A., Denizli, A., & Türk, H. H. (2010). Biomimicking, metal chelating and surface-imprinted polymers for the degradation of pesticides. *Reactive and Functional Polymers*, 70, 238-243.
- [23] Tamayo, F. G., Titirici, M. M., Martin-Esteban, A., & Sellergren, B. (2005). Synthesis and evaluation of new propazine-imprinted polymer formats for use as stationary phases in liquid chromatography. *Analytica chimica acta*, 542 (1), 38-46.
- [24] Wyszomirski, M., & Prus, W. (2012). Molecular modelling of a template substitute and monomers used in molecular imprinting for aflatoxin B₁ micro-HPLC analysis. *Molecular Simulation*, 38 (11), 892-895.
- [25] Szumski, M., Grzywiński, D., Prus, W., & Buszewski, B. (2014). Monolithic molecularly imprinted polymeric capillary columns for isolation of aflatoxins. *Journal of Chromatography A*, 1364, 163-170.
- [26] Díaz-Bao M, Regal P, Barreiro R, Miranda JM, Ceped A. (2015). Development of a novel molecularly imprinted stir-bar for isolation of aflatoxins. 19th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry.

Novel selective adsorbent for decontamination of Aflatoxin M₁ from raw bovine milk

Bodbodak, S.^{1*}, Farmani, B.¹, Hesari, J.², Peighambaroust, S. H.², Mahkam, M.³

1. Assistant Professor of Food Technology, Department of Food Science and Technology, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Professor of Food Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. professor of polymer Chemistry Chemistry Department, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

The aim of the study was to design a new adsorbent for the removal of aflatoxin M₁ as one of the contaminant and unhealthy factors in the milk. For this purpose, aflatoxin M₁ adsorbent was coated on stainless steel plates using thermal co-polymerization method. Adsorption efficiency of designed adsorbent was evaluated in aqueous solution and raw bovine milk sample containing 500 ng / kg Aflatoxin M₁ (10 times higher than maximum permitted level of aflatoxin M₁ in bovine milk) using high performance liquid chromatography. The results showed that aflatoxin M₁ adsorption capacity in model solution and milk samples was respectively 93.32 and 90.31%, respectively. Also, the effect of the adsorption treatment on the chemical and physical properties of milk showed that the treatment had no significant effect on the nutritional and qualitative characteristics of raw milk ($p < 0.05$).

Keyword: Aflatoxin M₁, bovine milk, Adsorption, Molecularly imprinting polymer

* Corresponding Author E-mail Address: s.bodbodak@tabrizu.ac.ir