نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 10، شماره 3، پاییز 1393، ص. 210-204

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 10, No. 3, Fall 2014, p. 204-210

بررسی اثر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر کاهش آفلاتوکسین M_1 در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان

مرضیه کته شمشیری[1]- علی محمدی ثانی[2]- محبوبه سرابی جماب[3]- پریا رهنما وثوق[4] – معصومه مهربان سنگ آتش[5*]

تاریخ دریافت:1391/1/28
تاریخ پذیرش:1393/3/21

چکیده

توکسین‌زدایی میکروبی یکی از روش‌های حذف آفلاتوکسین‌ها از جمله آفلاتوکسین M_1 محسوب می‌شود. در این تحقیق توانایی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La-5) در حذف آفلاتوکسین M_1 در مدل شبیه‌سازی شده معده بررسی گردید. بدین منظور از باکتری در دو سطح 3×10^9 cfu/ml و 3×10^{10} جهت تعیین توانایی آن در کاهش سم استفاده شد. آفلاتوکسین M_1 در غلظت‌های 0/05 ppb، 0/25 و 0/5 به‌کار رفت. زمان اینکوباسیون در مدل شبیه‌سازی شده معده، 0، 30، 60، 90 و 120 دقیقه بود. غلظت آفلاتوکسین توسط روش الایزای رقابتی تعیین گردید. نتایج نشان داد حضور باکتری در سطح بالاتر (3×10^{10} cfu/ml) تأثیر بیشتری در کاهش سم داشت. همچنین درصد حذف برای غلظت‌های 0/05 ppb، 0/25 و 0/5 به‌ترتیب 76/09، 52/26 و 76/19 به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M_1، ایمنی غذایی، حذف بیولوژیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که ممکن است دارای اثرات سمّی، سرطان‌زایی، جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی باشند. آفلاتوکسین‌ها از خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که ممکن است در خوراک دام و مواد غذایی یافت شده و توسط گونه‌های جنس آسپرژیلوس، نظیر آسپرژیلوس فلاووس[5]، آسپرژیلوس پارازیتیکوس[6] و آسپرژیلوس *نومیوس*[7] تولید می‌شوند (Bata *et al.*, 1999). آفلاتوکسین‌ها ممکن است به طور مستقیم از طریق بلعیدن محصولات آلوده یا به طور غیرمستقیم توسط مصرف مواد غذایی حاصل از مواد اولیه آلوده، مانند شیر و محصولات لبنی حاصل از دام تغذیه شده با خوراک آلوده، وارد بدن انسان شوند. هنگامی که دام آفلاتوکسین B_1 موجود در خوراک را مصرف می‌نماید، در میکروزومال‌های کبدی و در اثر عملکرد سیستم آنزیمی پیچیده اکسیداز، آن را به مشتق خود (آفلاتوکسین M_1) تبدیل نموده که می‌تواند به درون شیر ترشح گردد (Hernandez-Mendoza *et al.*; 2009, Plwtonen *et al.*, 2001).

از آن‌جایی که شیر و فراورده‌های آن مورد مصرف روزانه اکثر مردم می‌باشد و از طرفی آلودگی آن به آفلاتوکسین M_1 می‌تواند بهداشت و سلامت مصرف‌کنندگان، خصوصاً افراد حساس نظیر اطفال و سالخوردگان را به خطر اندازد، توجه به جنبه‌های کیفی و سلامت این ماده غذایی با ارزش، ضروری است. بر طبق قوانین وضع شده توسط سازمان غذا و داروی امریکا[8]، حداکثر مقدار مجاز برای آفلاتوکسین کل در غذای انسان ppb 20 وآفلاتوکسین M_1 در شیر ppb 0/5 تعیین شده است (Berg, 2003). این مقدار در حال حاضر توسط کشورهای اروپایی کاهش یافته است. به عنوان مثال، در

1، 4 و 2- به ترتیب دانش آموختگان کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان
3- استادیار گروه زیست فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی
5- استادیار گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، مشهد
(* - نویسنده مسئول: Email: mmehrabans@yahoo.com)

5- *Aspergillus flavus*
6 - *Aspergillus parasiticus*
7 - *Aspergillus nomius*

8 - Food &Drug Administration

کشورسوئیس میزان حداکثر مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر 0/05 ppb می‌باشد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1380؛ European Commission, 2006). حداکثر مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر خام، انواع شیر حرارت دیده و شیرهای طعم‌دار در ایران معادل 0/1 ppb تعیین گردیده است (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1389). با افزایش دانش و آگاهی از این موضوع که آفلاتوکسین‌ها می‌توانند به طور بالقوه برای سلامت انسان و دام خطرآفرین محسوب شوند، تلاش برای حذف کامل یا کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی مضاعف گردیده است. اخیراً استفاده از میکروارگانیسم‌ها جهت کاهش جذب مایکوتوکسین‌ها در دستگاه گوارش افزایش یافته است (Kabak *et al.*, 2009). نتایج تحقیقات نشان می‌دهدکه یکی از مهم‌ترین شیوه‌ها در کاهش بروز اختلالات مربوط به سم یا جلوگیری از ورود آن، استفاده از باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک می‌باشد (El-Khoury *et al.*, 2011; Philips *et al.*, 1995; Sarimehmetoglu *et al.*, 2004).

باکتری‌های اسید لاکتیک دارای یک ماتریکس پپتیدوگلیکان است که ترکیب عمده ساختمانی دیواره سلولی است و ترکیبات دیگر آن اسید تئی کوییک، اسید لیپوتئی کوییک، لایه‌های پروتئینی و پلی‌ساکاریدهای خنثی است. این ترکیبات عملکردهای مختلفی دارند. اسید تئی کوییک که بیش از 50 درصد وزن کل دیواره سلولی را شامل می‌شود و دارای خاصیت هیدروفوبی بالایی می‌باشد، در مکانیسم جذب سطحی توکسین و اتصال به آن نقش عمده‌ای دارد (Shetty *et al.*, 2006). هرچند تا کنون تحقیقاتی در زمینه حذف بیولوژیک آفلاتوکسین B_1 و M_1 توسط باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک در سطح دنیا انجام شده است (El-Khoury *et al.*, 2011; Pierides El- *et al.*, 2000; Kabak *et al.*, 2009; Kabak *et al.*, 2004; Nezami *et al.*, 2000; El-Nezami *et al.*, 1998)، اما تاکنون اثر باکتری‌های مذکور در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان بر میزان آفلاتوکسین بررسی نگردیده است. لذا هدف این تحقیق بررسی اثر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[1] (La-5) در کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 در مدل شبیه‌سازی شده معده انسان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

محلول آفلاتوکسین M_1 با غلظت 100 نانوگرم در میلی‌لیتر از شرکت کیمیاگران شیمی صنعت خریداری شد و محلول‌های آفلاتوکسین M_1 با غلظت‌های 0/05، 0/25 و 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (La-5، ATCC 4356) از شرکت کریستین هانسن خریداری شد.

آماده سازی کشت‌های آغازگر

مقدار 0/1 گرم از پودر باکتریایی در 100 میلی‌لیتر محیط کشت ام.آر.اس براث[2] تلقیح شد و تا رسیدن به فاز لگاریتمی در دمای 37 درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری گردید. پس از جداسازی پلت باکتریایی با کمک سانتریفوژ (دور g*3400 به مدت 10 دقیقه) سوسپانسیون میکروبی با استفاده از محلول بافر فسفات تهیه و کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر درطول موج 600 nm، به کدورتی معادل محلول 10مک‌فارلند (3×10^9 cfu/ml) رسید. در این کدورت تعداد باکتری زنده 3×10^9 cfu/ml بود. میزان رشد باکتری با استفاده از شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت ام.آر.اس آگار[3] نیز تعیین گردید (Khanafari *et al.*, 2007; Lahtinen *et al.*, 2004).

تهیه استاندارد 10 مک فارلند

استانداردهای مک فارلند با افزودن حجم خاصی از محلول اسید سولفوریک 1 درصد و کلرید باریم 1/175 درصد برای به دست آوردن یک محلول سولفات باریم با دانسیته نوری خاص تهیه می‌شود. در این پژوهش چون ما احتیاج به کدورت سلولی معادل با cfu/ml 3×10^{10} داریم، از محلول استاندارد 10 مک فارلند استفاده کردیم. محلول 10 مک فارلند از مخلوط کردن 90 میلی لیتر اسیدسولفوریک 1 درصد و 10 میلی لیتر کلریدباریم 1/175 درصد تهیه می‌شود. استاندارد 10 مک فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون میکروبی حاوی cfu/ml 3×10^{10} ایجاد می‌کند و مقدار جذب آن در طول موج 600 نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر حدودا 0/912 می‌باشد (Martin and Palomino, 2009).

آماده‌سازی محیط شبیه‌سازی شده معده

مواد تشکیل‌دهنده محیط شبیه‌سازی شده معده شامل اسیدکلریدریک 0/08 مولار و کلرید سدیم 0/2 درصد بود. pH این محیط تنظیم توسط سود نرمال در حدود 1/5 تنظیم شد (رضایی مکرم و همکاران، 1387).

آلوده‌سازی محیط معده به آفلاتوکسین M_1

محیط شبیه‌سازی شده معده توسط آفلاتوکسین M_1 در سه سطح 0/05، 0/25 ، 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر آلوده گردید (Masoero *et al.*, 2009).

1 - *Lactobacillus acidophilus*

2- MRS Broth
3- MRS Agar

کشت نمونه‌ها در محیط شبیه‌سازی شده معده

یک سی‌سی از سوسپانسیون باکتری به طور کامل در 9 سی‌سی شیره شبیه‌سازی شده معده‌ی آلوده به سم آفلاتوکسین M_1 (با غلظت‌های 0/05، 0/25 ، 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر)، بدون حضور پپسین، پراکنده و اینکوباسیون در دمای 37درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از نمونه‌برداری در زمان‌های 0، 30، 60، 90 و 120 دقیقه، نمونه‌ها در rpm 7500 به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ و در نهایت سوپرناتانت حاصل در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (رضایی مکرم و همکاران، 1387).

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M_1

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M_1 باقیمانده در سوپرناتانت با روش الایزا انجام شد. کیت خریداری شده ساخت شرکت یوروپروکسیما[1] و روش به‌کار رفته برپایه الایزای رقابتی مستقیم بود (Sarimehmetoglu and Kuplulu, 2004).

تجزیه و تحلیل داده ها

پس از آبکش نمودن و شستشو با آب تازه، دانه های کنجد به نسبت 1 به 5 با آب مخلوط و به مدت 20 دقیقه در مخلوط کن با دور متوسط خرد و مخلوط گردید. پس از یک ساعت نگهداری در آنالیز داده‌ها براساس طرح پایه کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل حضور یا عدم حضور باکتری، غلظت باکتری (در دو سطح، 3×10^9 cfu/ml و 3×10^{10})، غلظت آفلاتوکسین (در سه سطح، 0/05، 0/25 ، 0/5 نانوگرم در میلی‌لیتر)، زمان (در پنج سطح، 0، 30، 60، 90 و 120 دقیقه) بود. آزمایشات در دو تکرار انجام شد. میانگین نتایج با نرم افزار آماری SPSS و براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان 5 درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار کامپیوتری Excel انجام شد.

نتایج و بحث

اثر باکتری در کاهش سم

نتایج آنالیز آماری نشان داد که حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (La-5) در کاهش سم آفلاتوکسین تاثیر معنی‌داری داشت ($p<0.05$). به‌گونه‌ای که در حضور باکتری مقدار باقیمانده آفلاتوکسین 0/083 نانوگرم بر میلی‌لیتر و در غیاب باکتری 0/084 نانوگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد که این مقادیر به ترتیب معادل 68/41 و 67/94 درصد حذف آفلاتوکسین می‌باشند. پریدز و همکاران (2000) نشان دادند توانایی اتصال سه گونه باکتری پروبیوتیک[2] به آفلاتوکسین M_1 در دامنه 50/7-18/1 درصد می‌باشد (Pierides *et al.*, 2000). Kabak و همکاران (2004) توانایی اتصال انواع مختلف باکتری‌های پروبیوتیک را به آفلاتوکسین M_1 در نمک بافر فسفات 32/5-25/7 درصد و در شیر پس چرخ 29/3-21/2 درصد تعیین نمودند.

اثر غلظت باکتری در کاهش سم

نتایج آنالیز واریانس گویای معنی‌دار بودن تأثیر غلظت باکتری در سطح اطمینان 5 درصد ($p<0.05$) می‌باشد. به‌طوری‌که غلظت 3×10^{10} cfu/ml باکتری تأثیر بیش‌تری در کاهش سم نشان داد. مقدار آفلاتوکسین باقیمانده در حضور باکتری در دو سطح cfu/ml 3×10^9 و 3×10^{10} به‌ترتیب 0/084 و 0/083 نانوگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. ال-نظامی و همکاران (1998) بیان نمودند که غلظت سلول‌های باکتریایی برای حذف آفلاتوکسین B_1 بین cfu/ml 5×10^9 تا 2×10^{10} می‌باشد (El-Nezami *et al.*, 1998).

اثر زمان اینکوباسیون درکاهش سم

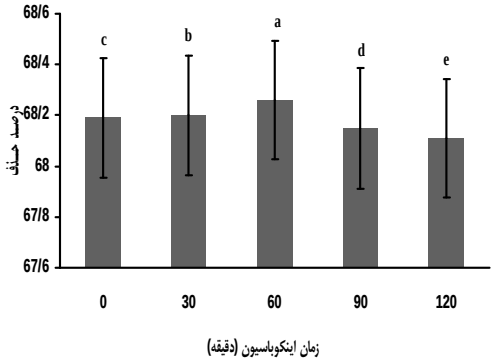
نتایج گویای آن است که زمان 60 دقیقه اینکوباسیون بیش‌ترین تأثیر را در کاهش سم داشت؛ به‌طوری‌که مقدار آفلاتوکسین باقی‌مانده پس از گذشت 60 دقیقه 0/08304 نانوگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. این در حالی است که در 120 دقیقه اینکوباسیون کم‌ترین کاهش سم مشاهده گردید؛ به‌گونه‌ای که مقدار آفلاتوکسین باقیمانده 0/08368 نانوگرم بر میلی‌لیتر بود. به نظر می‌رسد که علت این کاهش می‌تواند باز شدن اتصال میان توکسین و دیواره سلولی باکتری در طول زمان باشد. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود، درصد حذف آفلاتوکسین پس از گذشت 60 دقیقه 68/26 درصد و بعد از 120 دقیقه اینکوباسیون 68/11 درصد بود.

El-Nezami و همکاران (2000) نشان دادند کاهش آفلاتوکسین B_1در حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*[3] زیرگونه GG در بافت روده در مدت 60 دقیقه، 74 درصد. آن‌ها همچنین (1998) عنوان نمودند کشت 24 ساعت *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زیرگونه *GG* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زیرگونه LC-705 قادر به جذب 80 درصد آفلاتوکسین B_1 می‌باشد (El-Nezami *et al.*, 1998). El-Khouryوهمکاران (2011) مشخص نمودند توانایی اتصال *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*[4] به آفلاتوکسین M_1 بعد از 2 ساعت 38/7 درصد ودر مورد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*[5] 19/8 درصد می‌باشد؛ در حالی‌که بعد از 14 ساعت توانایی اتصال *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* به آفلاتوکسین M_1 87/6 درصد و در مورد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* تا 70 درصد

1- Euro Proxima
2- Probiotic

3 -*L. ramnosus*
4- *L. bulgaricus*
5 -*Streptococcus thermophilus*

افزایش می‌یابد.



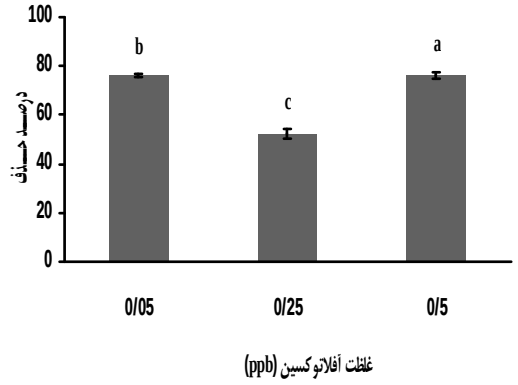
شکل 1- اثر زمان اینکوباسیون در کاهش سم

اثر غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم

با توجه به نتایج آنالیز واریانس، افزایش غلظت سم، تأثیر معنی‌داری بر درصد حذف آفلاتوکسین داشت ($p<0.05$). همان‌طور که در شکل 2 مشاهده می‌گردد، بیش‌ترین درصد حذف مربوط به غلظت 0/5 ppb آفلاتوکسین بود و کم‌ترین درصد حذف در غلظت 0/25 ppb آفلاتوکسین مشاهده شد. مطالعات El-Nezami وهمکاران (1998) نشان داد مقدار آفلاتوکسین B_1 حذف شده با افزایش غلظت سم، افزایش پیدا کرد اما درصد حذف تفاوت عمده‌ای نداشت.

در مطالعه‌ی دیگری روی فاکتورهای موثر بر اتصال آفلاتوکسین B_1 توسط سویه‌ای از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، گزارش کردند قابلیت اتصال فیزیکی توکسین به دیواره سلولی باکتری 50 درصد است که با افزایش غلظت سم، افزایش درصد اتصال نسبتا مشابهی حاصل می گردد (Pranoto *et a*l., 2007).

باکتری‌ها در حالت زنده دارای یک سیستم خود ایمنی می‌باشند که اجازه‌ی باند شدن تمامی آفلاتوکسین موجود در اطراف سلول به جایگاه‌های فعال دیواره سلولی را نمی‌دهد اگرچه مقاومت باکتری در عدم پذیرش سم محدود است و زمانی که غلظت سم در محیط افزایش می‌یابد این اثر خود ایمنی از بین رفته و قابلیت باند شدن توکسین افزایش می‌یابد (El-Nezami *et al.*, 1998). به همین دلیل در این مطالعه مشاهده می‌شود که در غلظت 0/05 ppb آفلاتوکسین، با توجه به پایین بودن مقدار آن میکروارگانیسم عکس‌العملی در مقابل آن داشته و لذا مقدار بالاست با افزایش غلظت تا 0/25 ppb آفلاتوکسین، اثر خودایمنی ظاهر شده و باعث کاهش میزان حذف آفلاتوکسین می‌گردد اما با افزایش غلظت سم تا 0/5 ppb آفلاتوکسین، با توجه به محدود بودن مقاومت باکتری شاهد افزایش درصد حذف توکسین می‌باشیم.



شکل 2- اثر غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم

اثر متقابل باکتری و غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم

همان‌طور که شکل 3 نشان می‌دهد درحضور باکتری و غلظت بالای آفلاتوکسین (0/5 ppb) درصد حذف آفلاتوکسین افزایش بیش‌تری داشت و در غیاب باکتری و غلظت 0/25 ppb آفلاتوکسین، کم‌ترین درصد حذف مشاهده شد. به‌طوری‌که میزان حذف به ترتیب 76/49 و 51/90 درصد به‌دست آمد. همچنین نتایج حاکی از آن است که در غیاب باکتری و در غلظت‌های بالای سم، مقدار باقی‌مانده آفلاتوکسین در حداکثر است؛ در حالی که کم‌ترین میزان باقی‌مانده آفلاتوکسین در حضور باکتری و در غلظت پایین سم (0/05 ppb) مشاهده گردید.

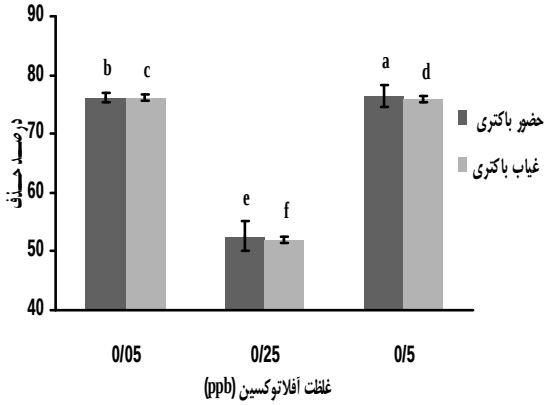
Kabak وهمکاران (2009) تأثیر تعدادی باکتری پروبیوتیک را بر کاهش میزان آفلاتوکسین و اکراتوکسین در دو نمونه غذای کودک مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که در نمونه اول که با 1/76 ppb آفلاتوکسین B_1 و 3/2 ppb اکراتوکسین آلوده شده بود، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیش‌ترین قابلیت را در کاهش میزان سموم داشت. به‌طوری‌که در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت باقی‌مانده آفلاتوکسین B_1 و اکراتوکسین به ترتیب 0/79 و 0/63 بود. در نمونه دوم که حاوی 3/75 ppb آفلاتوکسین B_1 و 13/1 ppb اکراتوکسین بود، در حضور *لاکتوباسیلوس کازئی*[1] نسبت باقی مانده آفلاتوکسین B_1 و اکراتوکسین به ترتیب به 0/72 و0/83 رسید.

اثر متقابل غلظت باکتری وزمان اینکوباسیون در کاهش سم

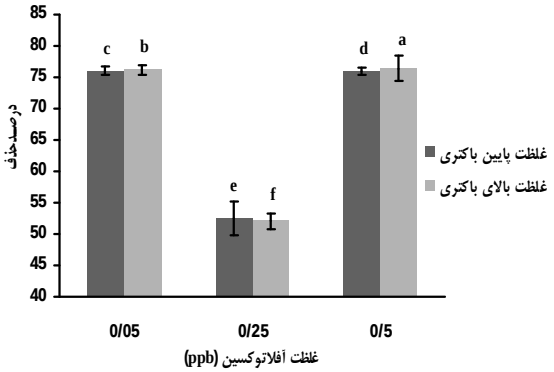
در غلظت بالای باکتری (3×10^{10} cfu/ml) بلافاصله پس از ورود به محیط شبیه‌سازی شده معده، بیش‌ترین درصد حذف توکسین مشاهده گردید (68/31 درصد). در غلظت پایین باکتری

1- *L. casei*

(3×10^9cfu/ml) بیش‌ترین درصد حذف در 30 دقیقه اینکوباسیون بود و مقدار آن 68/30 درصد به‌دست آمد.



شکل 3- اثر متقابل باکتری و غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم

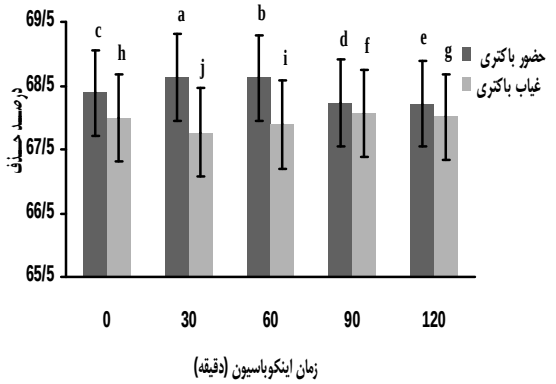


شکل 4- اثر متقابل غلظت باکتری و غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم

اثر متقابل باکتری و زمان اینکوباسیون در کاهش سم

آنالیز داده‌ها بیانگر این است که در حضور باکتری و زمان 30 دقیقه اینکوباسیون درصد حذف آفلاتوکسین افزایش بیش‌تری داشت؛ به‌طوری‌که درصد حذف 68/63 بود. این در حالی است که در غیاب باکتری و زمان 30 دقیقه اینکوباسیون درصد حذف کم‌ترین مقدار را نشان داد (67/77 درصد). همچنین مشخص گردید که در حضور باکتری با افزایش زمان اینکوباسیون از 30 به 120 دقیقه، درصد حذف روند کاهشی داشت.

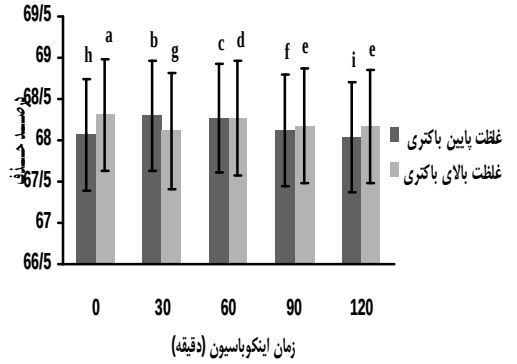
El-Khoury وهمکاران (2011) مشخص نمودند توانایی باند شدن *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* به آفلاتوکسین M_1 بعد از 14 ساعت 87/6 درصد ودر مورد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* 70 درصد است. در حالی که اتصال با آفلاتوکسین M_1 برای *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* بعد از 2 ساعت، 38/7 درصد و در مورد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* 19/8 درصد می‌باشد. توانایی اتصال هم‌زمان دو باکتری به آفلاتوکسین پس از 2 و 14 ساعت به ترتیب 21/6 و 68 درصد گزارش گردید (El-Khoury *et al*., 2011).



شکل 5- اثر متقابل باکتری و زمان اینکوباسیون در کاهش سم

اثر متقابل غلظت باکتری وزمان اینکوباسیون در کاهش سم

در غلظت بالای باکتری (3×10^{10} cfu/ml) بلافاصله پس از ورود به محیط شبیه‌سازی شده معده، بیش‌ترین درصد حذف توکسین مشاهده گردید (68/31 درصد). در غلظت پایین باکتری (3×10^9cfu/ml) بیش‌ترین درصد حذف در 30 دقیقه اینکوباسیون بود و مقدار آن 68/30 درصد به‌دست آمد.

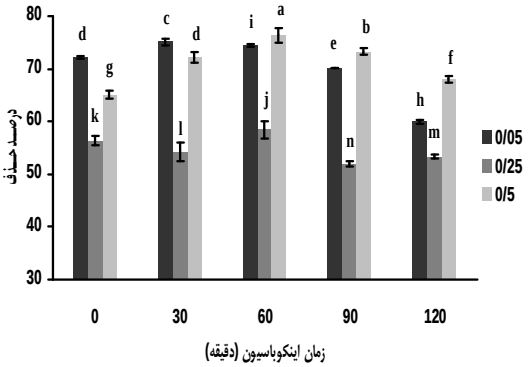


شکل 6- اثر متقابل غلظت باکتری و زمان اینکوباسیون در کاهش سم

اثر متقابل غلظت آفلاتوکسین و زمان اینکوباسیون در کاهش سم

نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن است که در غلظت 0/5 ppb و

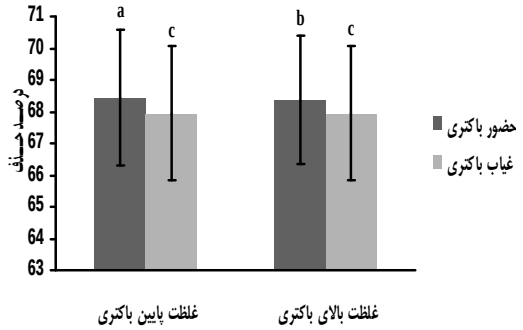
زمان 60 دقیقه اینکوباسیون، درصد حذف بیش‌ترین میزان است. همانطور که در شکل 7 مشاهده می‌شود، درغلظت ppb 0/25 نیز بیش‌ترین درصد حذف آفلاتوکسین مربوط به زمان 60 دقیقه اینکوباسیون است. اما در غلظت ppb 0/05 در زمان 30 دقیقه اینکوباسیون بیش‌ترین درصد حذف مشاهده گردید.



شکل 7- اثر متقابل غلظت آفلاتوکسین و زمان اینکوباسیون در کاهش سم

اثر متقابل باکتری و غلظت باکتری در کاهش سم

شکل 8 بیان‌گر این مطلب است که در حضور باکتری وغلظت بالای باکتری (3×10^{10} cfu/ml) درصد حذف افزایش بیش‌تری داشت درحالی‌که درغیاب باکتری کم‌ترین درصد حذف مشاهده شد



شکل 8- اثر متقابل باکتری و غلظت باکتری در کاهش سم

نتیجه گیری

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و غلظت بالای آن تأثیر بیش‌تری در میزان حذف آفلاتوکسین داشت. همچنین پس از 60 دقیقه اینکوباسیون بیش‌ترین درصد حذف سم مشاهده شد؛ این در حالی است که پس از گذشت 60 دقیقه تا 120 دقیقه مجدد میزان سم افزایش یافت. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La-5)* درحذف آفلاتوکسین M_1 ازمحیط شبیه‌سازی شده معده انسان مؤثر می‌باشد.

منابع

رضایی مکرم، ر.، مرتضوی، س. ع.، نجفی حبیبی، م. ب.، شهیدی، ف.، خمیری، م.، 1387، اثر میکروانکپسولاسیون آلژینات کلسیم بر قابلیت زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC 1643 در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده انسان، هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1380، خوراک انسان –دام-بیشینه رواداری مایکوتوکسین‌ها، استاندارد شماره 5925، چاپ اول.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، 1389، خوراک انسان –دام-بیشینه رواداری مایکوتوکسین‌ها (اصلاحیه شماره 1)، استانداردشماره 5925، چاپ اول.

Bata, A., and Lasztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Trends in Food and Technology. 10, 223-228.

Berg, T. 2003. How to establish international limits for mycotoxins in food and feed. Food Control. 14, 219-224.

El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., and Ahokas, J, 1998, Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen aflatoxin B1. Food and Chemical Toxicology. 36, 321-326.

El-Nezami, H., Mykanen, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., and Ahokas, J. 2000. Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. Journal of Food Protection. 63, 549–552.

El-Khoury, A., Atoui , A. and Yaghi, J. 2011. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. Food Control. 22, 1695-1699.

European Commission, Commission Regulation 1881/2006/EC. 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (text with EEA relevance), Official Journal of European Union, L364/5:1.

Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H.S., and Steele, J.L. 2009. Screening of Lactobacillus casei strains for their ability to bind aflatoxin B1. Food and Chemical Toxicology. 47(6), 1064-1068.

Kabak, B, Brandon, E.F.A., Var, I., Blokland, M., and Sips, A.J.A.M. 2009. Effects of probiotic bacteria on bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochrtoxin A using an in vitro digestion model under fed conditions. Journal of Environmental Science and Health. 44, 472-480.

Kabak, B., and Var, I. 2004. Binding of aflatoxin M1 by Lactobacillus and Bifidobacterium strains. Milchwissenschaft. 59, 301-303.

Khanafari, A., Soudi, H., and Miraboulfathi, M. 2007. Biocontrol of Aspergillus Flavus and aflatoxin B1 production in corn. Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering. 4, 163-168.

Lahtinen, S.J., Haskard, C.A., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J., and Ahokas, J.T. 2004. Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of Lactobacillus rhamnosus strain GG. Food Additive and contaminants. 21, 158-164.

Martin, A., Palomino, J.C. 2009. Nitrate Reductase Assay: Drug susceptibility testing for Mycobacterium tuberclusis. Institute of Tropical Medicine. Mycobacteriology Unit, Antwerp, Belgium.Procedure Manual, version 2.

Masoero, F., Gallo, A., Diaz, D., Piva, G., and Moschini, M. 2009. Effects of the procedure of inclusion of a sequestering agent in the total mixed ration on proportional aflatoxin M1 excretion into milk of lactating dairy cows. Animal Feed Science and Technology. 150, 34-45.

Phillips, T.D., Sarr, A.B., and Grant, P.G. 1995. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. Natural Toxins. 3, 204-213.

Pierides, M., El-Nezami, H., Peltonen, K., Salminen, S., and Ahokas, J. 2000. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. Journal Food Protection. 63, 645–650.

Plwtonen, J., El-Nezami, H., Haskard, C., Ahokas, J., and Salminen, S. 2001. Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. Journal of Dairy Science. 84, 2152-2156.

Pranoto, Y.; Amanah, H. Z.; Utami, T.; and Rahayu, E. S. 2007. Study on factors affecting aflatoxin B1 binding by Lactobacillus acidophilus SNP-2. Proceedings of the International Agricultural Engineering Conference. Bangkok, Thailand, 3-6 December 2007.

Sarimehmetoglu, B., and Kuplulu, O. 2004. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. Veterinary Journal of Ankara University. 51, 195-198.

Shetty, P.H., and Jespersen, L. 2006. Saccharomyces cervisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating. Food Science and Technology. 17, 48-55