

مقاله پژوهشی

تعیین تأثیر استارتر ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسین M_1 در ماست

مرسا علیداد^{۱*}، علی محمدی ثانی^۲، فائزه تجلی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران

^۲ استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران

^۳ عضو هیات علمی، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، مشهد، ایران

* نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران

پست الکترونیک: m.alidad@yahoo.com

وصول: ۱۳۹۱/۷/۲۴ اصلاح: ۱۳۹۱/۸/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۷

چکیده

زمینه و هدف: ماست یک فرآورده تخمیری است که به وسیله تخمیر لاکتیکی توسط باکتری‌های آغازگر ماست بدست می‌آید. که در سراسر جهان مورد توجه 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، لذا استفاده از روش‌های بیولوژیکی حذف آفلاتوکسین M_1 یا توکسین‌زدایی میکروبی بهترین راه حل برای حذف آفلاتوکسین M_1 در شیر و فرآورده‌های لبنی محسوب می‌شود. در این تحقیق به تعیین تأثیر استارتر ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسین M_1 در ماست پرداخته شده است.

مواد و روش کار: شیر آلوده شده به آفلاتوکسین M_1 در غلظت‌های (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵) به منظور اثر حذف آفلاتوکسین M_1 توسط استارتر YC-280 و L.casei-431 در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تلقیح شد. بعد از اینکوباسیون، ماست حاصله سانتریفوژ شد و سوپرناتانت بدست آمده برای تعیین غلظت آفلاتوکسین باقیمانده توسط روش الایزای رقابتی تعیین گردید و نتایج توسط نرم افزار آماری SPSS 16 تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 به ترتیب با استارتر YC-280 و L.casei-431 ۹۴/۳۵٪ و ۹۴/۱۵٪ بود.

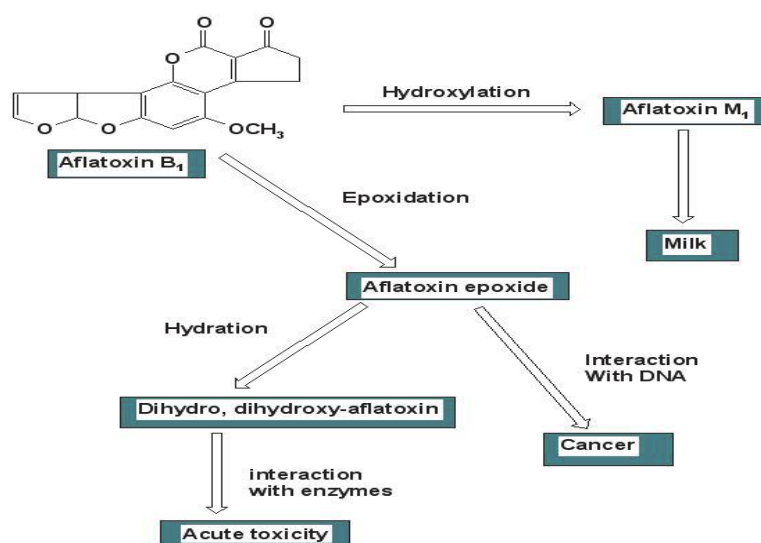
نتیجه گیری: استارتر ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند به عنوان یک روش ایمن، بدون از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای برای حذف آلودگی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، آفلاتوکسین M_1 ، سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی، ماست

مقدمه

سرطان آفلاتوکسین‌ها را به عنوان ترکیبات سرطان‌زا در انسان و حیوان معرفی نموده‌اند. آفلاتوکسین M_1 متابولیت هیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 می‌باشد که در شیر حیوانات شیرده مانند گاوهای شیری دفع می‌شوند. آفلاتوکسین M_1 مقاوم به تیمار حرارتی مانند پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون است و نیمه عمر طولانی آفلاتوکسین و حضورش در مواد خوراکی قابل تأمل است. آفلاتوکسین M_1 از کلمه Milk به معنای شیر منشاء گرفته است. فرمول آفلاتوکسین M_1 به صورت

آفلاتوکسین‌ها از مهمترین سموم قارچی محسوب می‌شوند. که در خوراک دام و مواد غذایی، توسط گونه‌های جنس آسپرژیلوس، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیטיکوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌ها وابسته به ترکیبات بیسفورانوکومارین بوده که دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی و جهش‌زا می‌باشند. چهار نوع آفلاتوکسین عمده با نام‌های B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 وجود دارد. به طوری که آژانس بین المللی تحقیقات



شکل ۱: AFM₁ مشتق شده از هیدروکسیله AFB₁

C₁₇H₁₂O₇ است (شکل ۱). این سم از طریق علوفه وارد بدن دام می‌گردد آنگاه در شکمبه پستانداران توسط هیدروکسیلاسیون متابولیزه شده و ۱۲-۲۴ ساعت بعد از اولین بلع آفلاتوکسین M₁ (AFM₁)، قابل تشخیص است [۱،۲]. از آنجایی که شیر و فرآورده‌های تخمیری به عنوان یکی از سالم‌ترین و پر مصرف‌ترین فرآورده غذایی برای مصرف کنندگان، خصوصاً افراد حساس نظیر اطفال و سالخوردگان است توجه به جنبه‌های کیفی و سلامت‌زایی این ماده غذایی با ارزش، ضروری و اجتناب ناپذیر است. بر طبق قوانین وضع شده توسط FDA حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین M₁ (ppb) ۰/۰۵ می‌باشد [۱،۱۵]. مطالعات عمده‌ای در این زمینه موجود است، نتایج تحقیقات نشان داده است که استفاده از روش‌های بیولوژیکی حذف آفلاتوکسین M₁ یا توکسین‌زدایی میکروبی بهترین راه حل برای حذف آفلاتوکسین M₁ در شیر و فرآورده‌های لبنی محسوب می‌شود [۳].

لاکتوباسیلوس‌ها، راه حل مناسب برای کاهش دسترسی زیستی آفلاتوکسین‌ها است. روش‌های فیزیکی، شیمیایی زیادی برای رفع آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اما این روش‌ها برای کاهش

آفلاتوکسین M₁ (AFM₁) مناسب و کافی نیست. توکسین‌زدایی میکروبی یکی از روش‌های حذف آفلاتوکسین‌ها از جمله آفلاتوکسین M₁ محسوب می‌شود. باکتری‌های اسیدلاکتیک دارای یک ماتریکس پپتیدوگلیکان می‌باشند، که ترکیب عمده ساختمان دیواره سلولی است و ترکیبات دیگر آن اسیدتیکوئیک، اسید لیپوتیکوئیک، لایه‌های پروتئینی و پلی ساکاریدهای خنثی است. این ترکیبات عملکردهای مختلفی دارند. اسید تیکوئیک که بیش از ۵۰ درصد وزن کل دیواره سلولی را شامل می‌شود دارای خاصیت هیدروفوبی بالایی می‌باشد که در مکانیسم جذب سطحی توکسین و اتصال به آن نقش عمده‌ای دارد [۳،۴]. گزارشات نشان دهنده آن است که برخی از نژادهای باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک از طریق جذب سطحی آفلاتوکسین‌ها به دیواره سلولی خود می‌توانند در حذف آفلاتوکسین‌ها موثر باشند. در این تحقیق توانایی لاکتوباسیلوس کازئی (۴۳۱) در حذف آفلاتوکسین M₁ مورد بررسی قرار گرفت. لاکتوباسیلوس کازئی یکی از انواع پروبیوتیک‌ها است که کاربرد وسیعی در فرآورده‌های لبنی دارد و زنده‌مانی این باکتری بیشتر از سایر گونه‌هاست. لاکتوباسیلوس کازئی یک باکتری گرم

*، دیف‌های، با حداقل یک حرف غیر مشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی داری دارند ($P < 0.05$)

غلظت آفاتوکسین (ppb)										خطای استاندارد	میانگین	خطای استاندارد	بیشترین	کمترین	سطح معنی داری
۰/۰۵	۰/۱	۰/۵	۰/۷۵	<i>Lb. Casei-431</i>											
۸۶/۲۳ ^a	۹۲/۹۳ ^b	۹۸/۴۹ ^c	۹۸/۹۶ ^d	۰/۲۹۲	۹۴/۱۵ ^a	۰/۱۳۱	۹۸/۹۶	۸۶/۲۳	۰/۰۰۰۱	حذف آفاتوکسین					
(درصد)															

(مقادیر به صورت میانگین گزارش گردیده است)

غلظت آفلاتوکسین (ppb)											
خطای استاندارد		نوع استارتر		خطای استاندارد		خطای استاندارد		خطای استاندارد		خطای استاندارد	
۰/۰۵	۰/۱	۰/۵	۰/۷۵	۹۴/۳۵ ^a	۹۴/۱۵ ^a	۰/۱۰۶	۰/۰۰۱	۰/۲۹۹	۰/۸۹۱	حذف آفلاتوکسین (درصد)	

بحث

در تحقیق انجام شده مشخص گردید که درصد حذف آفاتوکسین M_1 با استارتر معمولی ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری داشته ($P < 0/05$) و میانگین درصد حذف آفاتوکسین M_1 به ترتیب ($94/35\%$) و ($94/15\%$) بود. در مطالعه‌ای مشابه تحقیق حاضر که توسط ال-خوری و همکاران در سال ۲۰۱۱ در لبنان انجام گرفت، باندشدن آفاتوکسین M_1 توسط باکتری‌های استارتر (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) در طی ساخت ماست را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنان نشان داد درصد

و (۰/۷۵ppb) آفلاتوکسین M_1 را در ماست کاهش دادند. مقدار آفلاتوکسین M_1 حذف شده با افزایش غلظت سم، افزایش پیدا کرده است (جدول ۲).

مقایسه تاثیر استارتر معمولی و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسین M_1 : بررسی - های آماری حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که درصد حذف آفلاتوکسین با استارتر معمولی ماست و لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف معنی دار بوده ($P < 0/05$) ، ولی در نوع استارتر تفاوت معنی داری وجود ندارد، همچنین تفاوت آماری معنی‌داری در نوع استارتر $\times$ غلظت وجود ندارد (جدول ۳).

نتیجه گیری

حضور آفلاتوکسین در لبنیات یک مشکل جدی و مهم برای سلامت عمومی است، مخصوصاً نوزادان و کودکان که بیشترین مصرف کننده این محصولات بشمار می‌روند. برای کاهش آفلاتوکسین در شیر، کنترل تغذیه دام‌های شیرده که به نوعی از شیر آن‌ها استفاده می‌شود از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) باید مورد توجه قرار گیرد. بهترین نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 به ترتیب با استارتر YC-280 و *Lb. casei* ۹۴/۳۵ و ۹۴/۱۵٪ بود. که بعد از تخمیر توسط باکتری‌های استارتر ماست و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی مقدار آفلاتوکسین M_1 در ماست کاهش معنی داری پیدا کرد ($P < 0.05$). این کاهش آفلاتوکسین از مقدار اولیه در شیر می‌تواند به فاکتورهایی مانند کاهش pH، تشکیل اسیدهای آلی یا دیگر محصولات که در طی تخمیر ایجاد می‌شود، یا حتی حضور باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت داد. کاهش pH در طی تخمیر باعث تغییر در ساختمان پروتئین‌های شیر مانند کازئین منجر به تشکیل (کواگوله شدن) ماست می‌شود. در واقع تغییر ساختمان کازئین در طی تشکیل ماست ممکن است باعث تاثیر و تغییر دادن آفلاتوکسین M_1 شود که در نهایت موجب جذب یا پوشاندن سم در ماست می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد که هزینه انجام این طرح تحقیقاتی را متقبل شدند و همکاری صمیمانه کلیه کارکنان محترم پژوهشکده اقبال که در انجام این پژوهش یاری نمودند. تشکر و قدردانی می‌گردد.

باند کردن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (۸۷/۶٪) درمقایسه با استرپتوکوکوس ترموفیلوس (۷۰٪) بود [۱۲]. سالوا و همکاران در سال ۲۰۰۴ در کشور مصر مطالعه‌ای بر روی ماست ساده و ماست هویج و همچنین به بررسی تاثیر عصاره هویج به میزان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ بر کاهش آفلاتوکسین M_1 در طی ساخت ماست پرداختند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در کاهش آفلاتوکسین ($P < 0.05$) بین ماست ساده و ماست هویج وجود دارد. بیشترین درصد کاهش آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) (۸۰ و ۷۷٪) در طی دوره تخمیر ماست و ذخیره سازی با مقدار ۲۰ و ۱۵٪ عصاره هویج بود [۱۳]. همچنین گواریس و همکاران در سال ۲۰۰۲ در یونان مطالعه ای انجام دادند بر روی ماستی که از شیر گاو که به طور مصنوعی با آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) در مقادیر ۰/۱ و ۰/۰۵ گرم در لیتر آلوده شده بود و تخمیر تا رسیدن به pH ۴/۰ و ۴/۶ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنان نشان داد که درصد کاهش مقدار اولیه از آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) در شیر ۱۳ و ۲۲ درصد همچنین در انتهای تخمیر و در انتهای مدت زمان ذخیره سازی در یخچال ۱۶ و ۳۴ درصد به ترتیب در pH=۴/۶ و pH=۴ بود [۱۰]. بلانکو و همکاران در سال ۱۹۸۸ در اسپانیا به بررسی تولید آفلاتوکسین در ماست محلی و رشد قارچ، را در ماست مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ماست یک بازدارنده خوب برای آفلاتوکسین است. دو فاکتور خاص جالب توجه: (a) تاثیر لاکتیک اسید باکتری (b) دما پروسه ساخت ۴۲° درجه سانتی‌گراد، موثر بر کاهش تولید آفلاتوکسین در ماست است آنان متوجه شدند، با وجود اینکه در طول ساخت ماست یا سرد کردن از ۴۲° درجه به ۴° درجه شرایط لازم و مورد نیاز برای رشد قارچ است اما نقش این بازدارنده‌ها شرایط مناسب برای تولید مقدار کمی از آفلاتوکسین‌ها است [۱۴].

References

1. Creppy E.E, update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe, *Toxicology Letters* 2002; (27): 19-28.
2. Cavaliere C, Foglia P, Pastorini E, Samperi R, Lagana A, Liquid chromatography/tandem mass spectrometric confirmatory method for determining aflatoxin M₁ in cow milk comparison between electrospray and atmospheric pressure photo ionization sources, *Journal of chromatography* 2006: 69-78.
3. Kabak B, Var I, Factors affecting the removal of aflatoxin M₁ from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, *Journal of Environmental Science and Health Part B* 2008; (43): 617-624.
4. Pierides M, El-Nezami H, Peltonen K, Salminen S, Ahokas J, Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M₁ in a food model, *Journal Food Protection* 2000; (63): 645-650.
5. Mirlohi M, Soleimani-zad S, Sheikh Zeinodin M, Fazeli H, Enumeration of *Lactobacillus* in the fecal flora of infant using two different modified de-man rogosa sharpe media under aerobic and an aerobic incubation Pak, *J Biol Sci* 2008; (6): 81-876.
6. Mishra V, Prasad D.N, Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics, *International Journal of Food Microbiology* 2005; (103): 109-115.
7. Bari M, Ashrafi R, Alizadeh M, Rofehgarineghad L, Effects of different of yogurt starter or probiotic bacteria, storage time & different concentration of cysteine on the microflora characteristics of Bio-Yogurt, *Research Journal of Biological Science* 2009; (2): 137-142.
8. Mohebbi M, Ghoddusi H.B, Rheological & sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures, *Journal of Agriculture Science Technology* 2008; (10): 147-155.
9. Playe M.J, Bennett L.E, Smithers G.W, The *Australian Journal of Dairy Technology* 2003: 242-264.
10. Govaris A, Roussi V, Koidis P.A, Botsoglou N.A, Distribution and stability of aflatoxin M₁ during production and storage of yoghurt, *Food Additives and Contaminants* 2002; (11): 1043-1050.
11. Sarimehmetoglu B, Kuplulu O, Binding ability of aflatoxin M₁ to yoghurt bacteria, *Ankara Univ Vet Fak Dreg* 2004; (51): 195-198.
12. El-Khoury A, Atoui A, Yaghi J, Analysis of aflatoxin M₁ in milk and yogurt and AFM₁ reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry, *Food Control* 2011; (22): 1695-1699.
13. Salwa A.A, Galal E.A, Elewa N.A, Carrot Yogurt: Sensory, Chemical, Microbiological Properties and Consumer Acceptance, *Pakistan, Journal of Nutrition* 3 2004; (6): 322-330.
14. Blanco L.J, Dominguez L, Gomez-luscia E, Garayzabal J.F, Goyashe J, Suarez G, Experimental aflatoxin production in commercial yoghurt, *Z Lebensm Unters Forsch* 1988; (186): 218-222.
15. Berg T, How to establish international limits for mycotoxins in food and feed. *Food Control* 2003; (14): 219-224.

Original Article

Evaluation of starter bacteria and lactobacillus casei effects on aflatoxin M₁ in Yoghurt

Alidad M^{1*}, Mohamadi Sani A², Tajali F³

¹M.Sc of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

² Assistant professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

³M.Sc of Food Science and Technology, Food quality and safety research Department, Mashhad, Iran

***Corresponding Author:**
Department of Food Science
and Technology, Quchan
Branch, Islamic Azad
University, Quchan, Iran.
E.mail: m.alidad@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: Yoghurt is a fermented dairy produced by starter culture and consumed around the world. This food may become contaminated with aflatoxin M₁ that caused threats to the health of consumers, especially young children and adults. So detoxification with biological methods is the best solution in milk and fermented dairy products. The aim of this study was to evaluate the effect of starter bacteria and lactobacillus casei in the reduction of aflatoxin M₁ in Yoghurt.

Materials & Methods: Milk contaminated artificially with aflatoxin M₁ (AFM₁) at levels of 0.05, 0.1, 0.5, and 0.75 (ppb). Then starter was added and incubated at 42°C. In next step the cold yoghurt was centrifuged and the amount of aflatoxin M₁ residue in the supernatant was measured by ELISA method. Finally, the results were analyzed with the SPSS 16.

Results: The analysis of yoghurts during manufacturing with starter YC-280, L.casei-431 showed that the mean percentages of absorbance were 94.35% and 94.15% respectively.

Conclusion: Starter culture of yoghurt and probiotic strain L.casei-431 are safe methods that can be used for detoxification without losing nutritional value.

Key words: Aflatoxin, Aflatoxin M₁, Lb.casei, yoghur

Submitted: 15Oct 2012

Revised: 5 Nov 2012

Accepted: 27 Nov 2012