

مقاله پژوهشی

اثر ضد آفلاتوکسینی لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک در ماست

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

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران
^۲ استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران
^۳ عضو هیات علمی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، مشهد، ایران
*نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، گروه علوم و صنایع غذایی، قوچان، ایران
پست الکترونیک: m.alidad@yahoo.com

وصول: ۹۱/۹/۲۲ اصلاح: ۹۱/۱۱/۱۱ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از مایکوتوکسین‌ها هستند که توسط گونه‌های آسپرژیلوس فلاووس، پارازیتیکوس و نومیوس تولید می‌شوند. آفلاتوکسین M_1 مشتق هیدروکسیله نوع B_1 است که در شیر و محصولات لبنی یافت می‌شود. مهمترین اثرات سمی آفلاتوکسین‌ها ایجاد سرطان کبد می‌باشد. حضور آفلاتوکسین‌ها در فرآورده‌های لبنی نگران‌کننده است و مورد توجه بسیاری از متخصصین و محققان بهداشت عمومی قرار گرفته است. گزارشات نشان دهنده آن است که استفاده از روش توکسین زدایی میکروبی یکی از روش‌های موثر در حذف آفلاتوکسین M_1 است. از آنجایی که بعضی پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم زنده قابلیت کاهندگی آفلاتوکسین را نشان داده‌اند، لذا هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد آفلاتوکسینی لاکتوباسیلوس کازئی جهت تولید یک ماست پروبیوتیکی جدید با خواص ضد آفلاتوکسینی 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 و سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی (*Lb.casei*-431) در ۴۲ درجه سانتی‌گراد تلقیح شد. بعد از اینکوباسیون ماست حاصله سانتریفوژ شد و سوپرناتانت بدست آمده برای تعیین غلظت آفلاتوکسین باقی مانده توسط روش الایزای رقابتی تعیین گردید و نتایج توسط نرم افزار آماری SPSS ۱۶ تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 توسط سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی ۹۴/۱۵٪ بود.

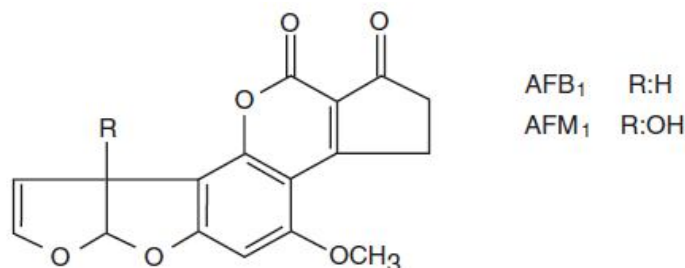
نتیجه گیری: سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند به عنوان یک روش ایمن، بدون از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای برای حذف آلودگی مورد استفاده قرار گیرد.

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

مقدمه

انسان و حیوان معرفی نموده است. آفلاتوکسین M_1 متابولیت هیدروکسیله B_1 می‌باشد که در شیر حیوانات شیروار مانند گاوهای شیری دفع می‌شوند. آفلاتوکسین M_1 مقاوم به تیمار حرارتی مانند پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون است. آفلاتوکسین M_1 از کلمه Milk به معنای شیر منشاء گرفته است. فرمول آفلاتوکسین M_1 به صورت $C_{17}H_{12}O_7$ است. آفلاتوکسین M_1 مشتق هیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 (AFB_1) [شکل ۱]. این سم از طریق علوفه وارد بدن دام می‌گردد آنگاه در شکمبه پستانداران توسط هیدروکسیلاسیون متابولیزه شده و

آفلاتوکسین‌ها از مهمترین سموم قارچی محسوب می‌شود. که در خوراک دام و مواد غذایی، توسط گونه‌های جنس آسپرژیلوس، آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌ها وابسته به ترکیبات بیسفورانوکومارین بوده که دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی و جهش‌زایی هستند. چهار نوع آفلاتوکسین عمده با نام‌های B_1 ، B_2 ، G_1 و G_2 وجود دارد. به طوری که آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان آفلاتوکسین‌ها را به عنوان ترکیبات سرطان‌زا در

شکل ۱: شماتیک ساختمان AFB_1 و AFM_1

در اوایل قرن بیستم مطرح گردید او معتقد بود که: این امکان وجود دارد که فلور میکروبی روده، با تجویز میکروبی‌های شناخته شده مفید در مقابل میکروبی‌های مضر، تقویت و مورد حمایت قرار می‌گیرد. پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده در مقادیر کافی با ایجاد خواص سلامتی بخش در میزبان، معرفی شده‌اند [۷،۸،۹]. 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 مثبت، مزوفیل هموفرمنتاتیو اجباری، میکروآئروفیل، کاتالازمنفی و فاقد اسپور بوده و ظرفیت بالایی در تولید اسید دارد. در مطالعات متعدد اثرات سودمند آن از جمله مقاومت به اسید معده و نمک‌های صفراوی، قدرت چسبندگی به سلول‌های مخاط روده، مهار فعالیت باکتری‌ها و تولید مواد ضد میکروبی به اثبات رسیده است [۵،۶]. در سال‌های اخیر باکتری‌های پروبیوتیک به صورت‌های مختلف در فرآورده‌های غذایی بکار گرفته شده‌اند. یکی از مهمترین این فرآورده‌ها ماست بیو "Bio-yoghurt" است. مقادیر مناسبی از سلول‌های زنده که به اصطلاح "حداقل درمانی" گفته می‌شود باید به طور منظم مصرف شوند تا اثرات پروبیوتیک‌ها را به شخص منتقل کنند. این میزان مصرف باید بیش از ۱۰۰ gr در روز و بیش از 10^6 cfu/ml باشد. ماست پروبیوتیک با افزودن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی یا بدون باکتری‌های آغازگر به شیر تولید می‌شود. البته

۱۲-۲۴ ساعت بعد از اولین بلع آفلاتوکسین M_1 (AFM_1)، قابل تشخیص است [۱،۲]. از آنجایی که شیر و فرآورده‌های تخمیری به عنوان یکی از سالم‌ترین و پر مصرف‌ترین فرآورده غذایی برای مصرف‌کنندگان، خصوصاً افراد حساس نظیر اطفال و سالخوردگان است لذا 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 M_1 (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 M_1 یا توکسین زدایی میکروبی بهترین راه حل برای حذف آفلاتوکسین M_1 در شیر و فرآورده‌های لبنی محسوب می‌شود [۳]. باند شدن آفلاتوکسین‌ها با پروبیوتیک‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها، رشد قارچ و تولید توکسین را کاهش می‌دهند، در واقع ممانعت از بیوسنتز آفلاتوکسین به دلیل تولید اسید لاکتیک یا متابولیک‌های اسید لاکتیک لاکتوباسیلوس‌ها است. که ترکیباتی مقاوم به گرما بوده و با وزن مولکولی پایین می‌باشد. باکتری‌های خانواده لاکتوباسیلوس به طور رایج به عنوان پروبیوتیک در ماست و سایر فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. پروبیوتیک واژه‌ای است یونانی و به معنای «برای زندگی» می‌باشد. نقش مثبت عدیده‌ای از باکتری‌ها در مبحث سلامت برای اولین بار توسط دانشمند روسی معروف به پدر ایمن‌شناسی نوین و برنده جایزه نوبل به نام منچکوف

صورت گرفت. سپس محلول رویی حاصله (سوپر ناتانت) را در لوله‌های کرایوتیوپ جمع آوری کرده، اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 باقی مانده به روش آزمون الیزا انجام شد کیت خریداری شده ساخت شرکت یورو پروکسیما و به روش الیزا رقابتی مسقیم بود [۱۰،۱۱]. همچنین برای شمارش لاکتوباسیلوس کازئی محیط کشت ام- آر- اس ونکومایسین آگار مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا محیط کشت ام- آر- اس برات بر اساس دستور العمل تهیه می- کنیم، و آگار به مقدار 1 gr/l ۱۲ اضافه کرده و در اتو کلاو استریل می‌کنیم. بعد از سرد شدن محیط کشت در حدود 2 ml (از 0.5 g ونکومایسین / 100 ml آب مقطر) به 1000 ml کنسانتره نهایی افزوده سپس از نمونه ماست 10 g در 90 cc رینگر رقیق سازی انجام داده و سپس از روی رقت 10^{-1} رقت‌های بعدی تا 10^{-7} ، یا حتی 10^{-8} رقیق سازی را ادامه می‌دهیم. سپس از هر یک از رقت‌های ساخته شده 1 cc در پلیت با محیط کشت ام- آر- اس ونکومایسین آگار به صورت پور-پلیت کشت داده شد و در دمای 37° به مدت ۷۲ ساعت انکوباسیون گذاری می‌کنیم. و در نهایت کلنی‌های سفید با سطح صاف براق با قطر ۱ میلی- متر شمارش شد [۵،۶].

یافته‌ها

اثر سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسین M_1 : نتایج نشان می‌دهد که سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف سم 0.5 ، 0.1 ، 0.05 (ppb) و 0.75 (ppb) آفلاتوکسین M_1 را کاهش داد

تولید ماست‌هایی با خواص درمانی بدون حضور باکتری- های آغازگر کار مشکلی است زیرا در عدم وجود باکتری- های آغازگر، تولید اسید به وسیله پروبیوتیک‌ها به کندی صورت می‌گیرد. از سوی دیگر ماست حاصل در مقابل آلودگی ثانویه مقاوم نخواهد بود. خواص درمانی ماست پروبیوتیک در حضور باکتری‌های آغازگر معمولی تشدید می‌گردد. هر چند که ماست‌های پروبیوتیکی متنوعی در جهان تولید می‌شود. تعداد و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک در این فرآورده‌ها در حد ایده‌آل نیست. امروزه استانداردهای بین المللی وجود کمینه 10^7 cfu/ml باکتری پروبیوتیک را در محصولات سلامت بخش به هنگام مصرف فرآورده اجباری دانسته‌اند [۷،۸،۹].

روش کار

شیر بازسازی شده از شیر خشک اسکیم (مرک آلمان) با آفلاتوکسین M_1 (از شرکت کیمیا گران شیمی صنعت خریداری شد) در غلظت‌های 0.5 ، 0.1 ، 0.05 ppb، 0.75 ، به طریقه مصنوعی آلوده شد. پس از پاستوریزاسیون شیر در دمای 93° درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس با استارتر و سویه پروبیوتیکی Lb. casei-431 (از شرکت کرسستین هانسن خریداری شد) در دمای 42° درجه سانتی‌گراد تلقیح شد انکوباسیون در دمای 42° درجه سانتی‌گراد به مدت $3/5$ - ۴ ساعت تا رسیدن به ($\text{Ph} < 4/6$) انجام شد و ذخیره سازی در یخچال در دمای 4° سانتی‌گراد و در نهایت سانتریفوژ با دور 2000 آر.پی.ام به مدت زمان ۱۰ دقیقه

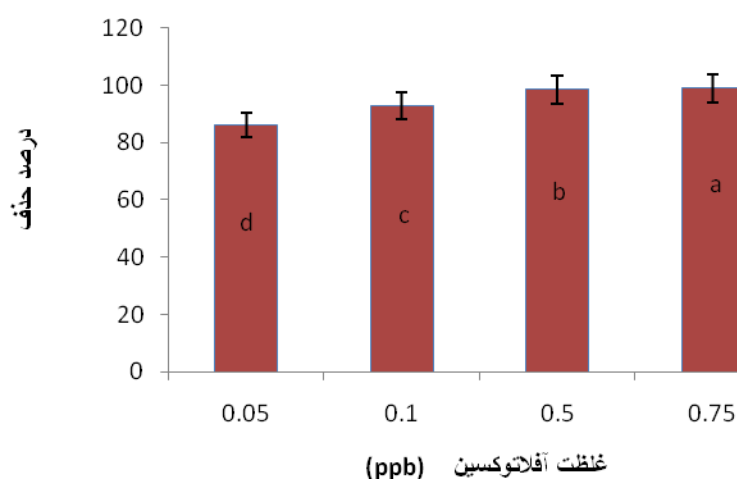
جدول ۱: مقایسه میانگین حذف آفلاتوکسین M_1 با غلظت‌های مختلف توسط استارتر Lb. Casei-431 (مقادیر به صورت میانگین گزارش گردیده است)

غلظت آفلاتوکسین (ppb)	خطای میانگین		خطای بیشترین		خطای کمترین	
	خطای استاندارد	خطای استاندارد	حذف	حذف	حذف	معنی داری
صفر	۰/۷۵	۰/۵	۰/۱	۰/۰۵	۰/۷۵	غلظت
حذف آفلاتوکسین (درصد)	۹۸/۹۶ ^d	۹۸/۴۹ ^c	۹۲/۹۳ ^b	۸۶/۲۳ ^a	۰/۲۹۲	۰/۰۰۰۱
	۹۴/۱۵ ^a	۰/۱۳۱	۹۸/۹۶	۸۶/۲۳		

*ردیف‌هایی با حداقل یک حروف غیر مشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی داری دارند ($P < 0.05$)

میانگین داده‌های بدست آمده از اثر ماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفاتوکسین M_1 در شکل زیر نشان داده شده است (شکل ۲). لاکتوباسیلوس کازئی به ونکومایسین مقاوم است. لذا برای شمارش آن به محیط کشت اختصاصی (ام-آر-اس ونکومایسین آگار) نیاز است. نتایج شمارش در (جدول ۲) آمده است.

و اثر کاهش دهندگی آن در غلظت‌های مختلف معنی دار بوده است (جدول ۱). همچنین میانگین درصد حذف آفاتوکسین M_1 (۹۴/۱۵٪) بود و بیشترین درصد حذف (۹۸/۹۶٪)، کمترین درصد حذف (۸۶/۲۳٪) است. لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند آفاتوکسین M_1 را کاهش دهد حتی اگر در مدت طولانی در معرض سم آفاتوکسین باشد بنابراین بر از بین بردن سم آفاتوکسین موثر است.



شکل ۲: اثر ماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفاتوکسین M_1

جدول ۲: شمارش لاکتوباسیلوس کازئی

شمارش لاکتوباسیلوس کازئی روی دو نوع محیط کشت

محیط کشت	(1×10^5)	(1×10^6)	(1×10^7)
MRS-agar	۲۰	۹	۳
MRS-Vancomycin agar	۱۳	۳	۲

بحث

در تحقیق انجام شده مشخص گردید که درصد حذف آفلاتوکسین M_1 در ماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کارژی در غلظت‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری داشته ($P < 0.05$) و میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 (۹۴/۱۵٪) بود. در مطالعه‌ای مشابه تحقیق حاضر که توسط ال-خوری و همکاران در سال ۲۰۱۱ در لبنان انجام گرفت. باندشدن آفلاتوکسین M_1 توسط باکتری-های استارتر ماست (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) در طی ساخت ماست بررسی کردند. نتایج نشان داد درصد باند کردن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (۸۷/۴٪) در مقایسه با استرپتوکوکوس ترموفیلوس (۷۰٪) بوده [۱۲]. پیریدیس و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطالعه‌ای بر روی میزان اتصال آفلاتوکسین M_1 توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد بعد از ۴ ساعت انکوباتور گذاری 0.4 ± 77 درصد از آفلاتوکسین M_1 توسط (لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG) و 1.2 ± 75.2 درصد با (لاکتوباسیلوس رامنوسوس-LC 705) باند شدند. نتایج نشان دهنده این است که گونه-های خاص لاکتیک اسید باکتری در محصولات لبنی می-تواند به عنوان روش جدید در از بین بردن آفلاتوکسین M_1 در شیر باشد. [۱۶] بولنت کبک (دپارتمان مهندسی صنایع غذایی ترکیه، ۲۰۰۸) به بررسی توانایی ۶ سویه لبنی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در کاهش آفلاتوکسین M_1 در نمک بافر فسفات (PBS) و شیر بازسازی شده پرداختند. باکتری-ها در نمک بافر فسفات (PBS) و شیر بازسازی شده آلوده به غلظت‌های آفلاتوکسین M_1 ۵، ۱۰، ۲۰ نانو گرم بر لیتر بود. توانایی باند کردن آفلاتوکسین M_1 توسط سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم زنده و کشته شده با حرارت در PBS رنجی بین (۲۶/۶۵ - ۱۰/۲۲٪) و (۲۸/۹۷ - ۱۴/۰۴٪) و مشابه آن توانایی در ظرفیت باند کردن توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم زنده و کشته شده با حرارت در شیر دوباره بازسازی شده حدوداً بین (۲۵/۹۴ - ۷/۸۵٪) و (۲۷/۳۱ - ۱۲/۸۵٪) در طی ۴ ساعت بود. این در حالیکه بهترین باند کردن توسط (بیفیدوباکتریوم Bb13) و ضعیف‌ترین کاهش آفلاتوکسین

توسط (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس NCC68) بود [۱۷]. آیوب و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای به بررسی و تعیین آفلاتوکسین M_1 در محصولات لبنی محلی پرداختند. از ۱۴۱ نمونه محصول لبنی (شیر خام، شیر پاستوریزه، شیر خشک، ماست، پنیر فتا) که مورد آزمون قرار گرفت نتایج نشان داد که ۵۴/۶٪ از شیر و محصولات لبنی آلوده به آفلاتوکسین M_1 بودند همچنین نتایج آنان در مطالعه‌ای بر باکتری‌های (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) در طول ساخت ماست نشان داد که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس توانایی در باند کردن آفلاتوکسین M_1 بیشتر از استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست بود. به نحوی که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس ۶۸٪ بعد از ۶ ساعت انکوباسیون و استرپتوکوکوس ترموفیلوس ۳۷٪ بعد از ۶ ساعت انکوباسیون توانستند آفلاتوکسین M_1 را باند کنند. بنابراین باکتری‌های اسید لاکتیک نقش مهمی در کاهش آفلاتوکسین M_1 به عنوان روش‌های بیولوژیکی دارند [۱۸]. 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. 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 مطالعه‌ای انجام دادند بر روی ماستی که از شیر گاو که به طور مصنوعی با آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) در مقادیر ۰/۰۱ 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 (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 باکتریا (b) دما پروسه ساخت ۴۲ درجه سانتی‌گراد، موثر بر کاهش تولید آفاتوکسین 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 آفاتوکسین‌ها است [۱۴].

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این روش میانگین درصد حذف آفاتوکسین M_1 توسط سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی ۹۴/۱۵٪ بود. و طی فرآیند تخمیر، تخریب و سم‌زدایی آفاتوکسین انجام گرفته است. این مطالعه نشان داد که بعد از تخمیر مقدار آفاتوکسین M_1 در ماست کاهش معنی داری پیدا کرد ($P < 0.05$). این کاهش آفاتوکسین از مقدار اولیه در شیر می‌تواند به فاکتورهایی مانند کاهش Ph، تشکیل اسیدهای آلی یا

دیگر محصولاتی 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 (کوآگوله شدن) ماست می‌شود. در واقع تغییر ساختمان کازئین در طی تشکیل ماست ممکن است باعث تاثیر و تغییر دادن آفاتوکسین M_1 (AFM₁) 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.

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 photoionization sources, *Journal of chromatography A* 2006: 69-78.
3. Kabak B, Var I, Binding of aflatoxin M₁ by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, *Milchwissenschaft* 2004; (59): 301-303.
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[Persian]
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 Australin 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 UnivVet 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.
16. 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 mode, *J Food Prototection* 2000; 63(5): 645-650.
17. Kabak B, Dobson A.D.W, Var I, Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of food and Animal Feed: A review, *Critical reviews in Food Science and Nutrition* 2006; 46: 593-619.
18. Ayoub M.M, Sobeih A, Raslan A.A, Evaluation of aflatoxin M₁ in raw, processed milk and some milk products in Cairo with special reference to its recovery 2011; 3(9): 5-11.

Original Article

Detoxification of *Lactobacillus casei* as probiotic in Yoghurt

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

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

²Assistant 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.
Email:m.alidad@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: Aflatoxins are major group of mycotoxins which are mainly produced by some mould strains of *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus Parasiticus* and *Aspergillus Nomius*. Aflatoxin M₁(AFM₁) is a hydroxylated metabolite of aflatoxin B₁ that it can be found in milk and milk products. Cancer of liver is the most toxicogenic effects of aflatoxins. The presence of AFM₁ contamination in milk and other dairy products are caused to serious health concerns as if today's it has investigated by many of experts and public health researchers. Recent studies have presented that microbial methods are one of the most effective ways for removing AFM₁. Whereas some of probiotics as viable micro organism have shown the aflatoxins reduction, so the aim of this study is detoxification of *Lactobacillus casei* in yoghurt for making new probiotic yoghurt with detoxification properties.

Materials & Methods: Milk contaminated artificially with aflatoxin M₁ (AFM₁) at levels of 0.05, 0.1, 0.5, and 0.75 (ppb). Then starter Yc-280 & Lb.casei-431 were 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 & Lb.casei-431 showed that the mean percentage of absorbance was 94.15%.

Conclusion: This study showed that all tested yoghurts had significant differences ($P < 0.05$) in reducing the levels of aflatoxin M₁. The effect of probiotic strain of Lb.casei-431 is a safe method that it can be used for detoxification without losing nutritional value.

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

Submitted: 12Dec2012

Revised: 30Jan2013

Accepted: 11Mar2013