مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
بهار ۱۳۹۲؛۵(۱):۱۰۵-۹۹

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Spring2013;5(1):99-105

مقاله پژوهشی

اثر ضد آفلاتوکسینی لاکتوباسیلوس کازئی بعنوان پروبیوتیک درماست

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 موادغذایی جهاد دانشگاهی، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی موادغذایی، 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. حضورآفلاتوکسین‌ها 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 درحذف آفلاتوکسین M_1 است. از آنجایی‌که 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 وروش کار: *شیر آلوده شده به آفلاتوکسین M_1 در غلظت‌های ppb 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) در۴۲ 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 SPSS۱۶ تحلیل شد.*

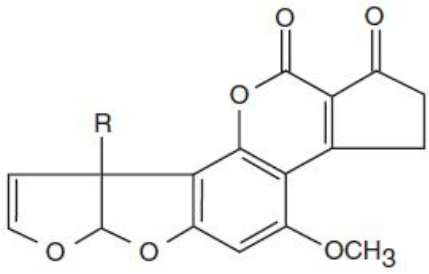
یافته‌ها: *نتایج نشان داد میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 توسط سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی۹۴/۱۵ ٪ بود.*

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، آفلاتوکسینM_1، سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی، ماست*

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها از مهمترین سموم قارچی محسوب می‌شود. که در خوراک دام و موادغذایی، 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 جهش زایی هستند. چهار نوع آفلاتوکسین عمده با نام‌های B_1، B_2، G_1 و G_2 وجود دارد. به طوری که آژانس بین المللی تحقیقات سرطان آفلاتوکسین‌ها را به عنوان ترکیبات سرطان‌زا در 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_1مقاوم به تیمار حرارتی مانند پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون است. آفلاتوکسینM_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



شکل۱: شماتیک ساختمان AFM_1 و AFB_1

۱۲-۲۴ ساعت بعد از اولین بلع آفلاتوکسینM_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 مصرف کنندگان، 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 ۰/۰۵(ppb) 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 آفلاتوکسین ها با پروبیوتیک ها و لاکتوباسیلوس‌ها، رشد قارچ و تولید توکسین را کاهش می‌دهند، در واقع ممانعت از بیوسنتز آفلاتوکسین به دلیل تولید اسید لاکتیک یا متابولیک های 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 فرآورده های 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 ایمن شناسی نوین و برنده جایزه نوبل به نام منچکوف در اوایل قرن بیستم مطرح گردید او معتقد بود که: این امکان وجود دارد که فلور میکروبی روده، با تجویز میکروب‌های شناخته شده مفید در مقابل میکروب‌های مضر، تقویت و مورد حمایت قرار می‌گیرد. پروبوتیک‌ها 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 درتولید اسید دارد. در مطالعات متعدد اثرات سودمند آن از جمله مقاومت به اسید معده و نمک‌های صفراوی، قدرت چسبندگی به سلول های مخاط روده، مهار فعالیت باکتری‌ها و تولید مواد ضد میکروبی به اثبات رسیده است [۵،۶]. در سال‌های اخیر باکترهای پروبایوتیک 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 gr ۱۰۰ در روز و بیش از 10^6 cfu/ml باشد. ماست پروبیوتیک با افزودن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی با/یا بدون باکتری‌های آغازگر به شیر تولید می شود. البته

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].

روش‌کار

شیر بازسازی شده از شیر خشک اسکیم (مرک آلمان) با آفلاتوکسینM_1 (از شرکت کیمیا گران شیمی صنعت خریداری شد) در غلظت‌های ppb ۰/۰۵ ، ۰/۱ ،۰/۵، ۰/۷۵، به طریقه مصنوعی آلوده شد. پس از پاستوریزاسیون شیر در دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و سپس با استارتر و سویه پروبیوتیکی Lb. casei-431 (از شرکت کرستین هانسن خریداری شد) در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تلقیح شد انکوباسیون در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳/۵-۴ ساعت تا رسیدن به (Ph< ۴/۶) انجام شد و ذخیره سازی در یخچال در دمای درجه۴ سانتی‌گراد و در نهایت سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ آر.پی.ام به مدت زمان ۱۰ دقیقه صورت گرفت. سپس محلول رویی حاصله (سوپر ناتانت) را در لوله‌های کرایوتیوپ جمع آوری کرده، اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 باقی مانده به روش آزمون الایزا انجام شد کیت خریداری شده ساخت شرکت یورو پروکسیما و به روش الایزا 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 براث بر اساس دستور العمل تهیه می-کنیم.و آگار به مقدار gr/l ۱۲ اضافه کرده و در اتو کلاو استریل می‌کنیم. بعد از سرد شدن محیط کشت در حدود ml ۲ (از g ۰/۰۵ ونکومایسین / ml ۱۰۰ آب مقطر) به ml ۱۰۰۰ کنسانتره نهایی افزوده سپس ازنمونه ماست g۱۰ در cc۹۰ 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 رقت های ساخته شده cc۱ 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 قطر۱ میلی-متر شمارش شد [۵،۶].

یافته‌ها

اثر سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسینM_1: نتایج نشان می‌دهد که سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف سم ۰/۰۵ ،۰/۱ ،۰/۵ و (ppb)۰/۷۵ آفلاتوکسین M_1 را کاهش داد

جدول ۱: مقایسه میانگین حذف آفلاتوکسینM_1 با غلظت‌های مختلف توسط استارتر Lb.Casei-431 (مقادیر به صورت میانگین گزارش گردیده است)

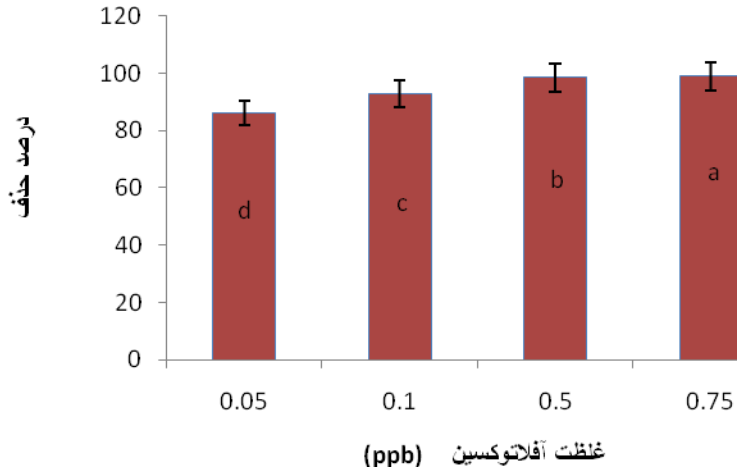
	غلظت آفلاتوکسین (ppb)					خطای استاندارد	میانگین	خطای استاندارد	بیشترین حذف	کمترین حذف	سطح معنی‌داری
	صفر	۰/۰۵	۰/۱	۰/۵	۰/۷۵		Lb.Casei-431				غلظت
حذف آفلاتوکسین (درصد)	صفر	$۸۶/۲۳^{a}$	$۹۲/۹۳^{b}$	$۹۸/۴۹^{c}$	$۹۸/۹۶^{d}$	۰/۲۹۲	$۹۴/۱۵^{a}$	۰/۱۳۱	۹۸/۹۶	۸۶/۲۳	۰/۰۰۰۱

*ردیف‌هایی با حداقل یک حروف غیر مشترک با یکدیگر تفاوت آماری معنی داری دارند (P<۰/۰۵)

و اثر کاهش دهندگی آن در غلظت‌های مختلف معنی دار بوده است (جدول۱). همچنین میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 (۹۴/۱۵ ٪) بود و بیشترین درصد حذف (۹۸/۹۶ ٪)، کمترین درصد حذف (۸۶/۲۳ ٪) است. لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند آفلاتوکسین M_1 را کاهش دهد حتی اگر در مدت طولانی در معرض سم آفلاتوکسین باشد بنابراین بر از بین بردن سم آفلاتوکسین موثر است.

میانگین داده‌های بدست آمده از اثر ماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی برکاهش آفلاتوکسین M_1 در شکل زیر نشان داده شده است (شکل۲).

لاکتوباسیلوس کازئی به ونکومایسین مقاوم است. لذا برای شمارش آن به محیط کشت اختصاصی(ام- آر-اس ونکومایسین آگار) نیاز است. نتایج شمارش در (جدول۲) آمده است.



شکل۲: اثرماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی بر کاهش آفلاتوکسین M_1

جدول۲: شمارش لاکتوباسیلوس کازئی

شمارش لاکتوباسیلوس کازئی روی دو نوع محیط کشت			
محیط کشت	(۱ ×۱۰^{۷})	(۱ ×۱۰^{۶})	(۱ ×۱۰^{۵})
MRS-agar	۳	۹	۲۰
MRS-Vancomaycin agar	۲	۳	۱۳

بحث

درتحقیق انجام شده مشخص گردید که درصد حذف آفلاتوکسینM_1 درماست حاوی سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری داشته ($P<۰/۰۵$) و میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 (۹۴/۱۵ ٪) بود. درمطالعه‌ای مشابه تحقیق حاضر که توسط ال- خوری و همکاران در سال ۲۰۱۱در لبنان انجام گرفت. باندشدن آفلاتوکسینM_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 (٪۸۷/۶) درمقایسه با استرپتوکوکوس ترموفیلوس (٪۷۰) بوده [۱۲]. پیریدیس و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطالعه‌ای بر روی میزان اتصال آفلاتوکسینM_1 توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد بعد از ۴ ساعت انکوباتورگذاری ۰/۴± ۷۷ درصد از آفلاتوکسینM_1 توسط (لاکتوباسیلوس رامنوسوسGG) و ۱/۲± ۷۵/۲ درصد با (لاکتوباسیلوس رامنوسوس-LC 705) باند شدند. نتایج نشان دهنده این است که گونه-های خاص لاکتیک اسید باکتریا در محصولات لبنی می-تواند به عنوان روش جدید در از بین بردن آفلاتوکسینM_1 در شیر باشد. [۱۶] بولنت کبک (دپارتمان مهندسی صنایع غذایی ترکیه ،۲۰۰۸) به بررسی توانایی۶ سویه لبنی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در کاهش آفلاتوکسینM_1 در نمک بافرفسفات (PBS) و شیر بازسازی شده پرداختند. باکتری-ها در نمک بافر فسفات (PBS) و شیر بازسازی شده آلوده به غلظت‌های آفلاتوکسینM_1 ۵، ۱۰، ۲۰ نانو گرم برلیتر بود. توانایی باند کردن آفلاتوکسینM_1 توسط سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم زنده و کشته شده با حرارت درPBS رنجی بین (۲۶/۶۵- ۱۰/۲۲ ٪) و (۲۸/۹۷- ۱۴/۰۴ ٪)و مشابه آن توانایی در ظرفیت باند کردن توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس‌و 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 درحالیکه بهترین باند کردن توسط (بیفیدوباکتریوم Bb13) و ضعیف‌ترین کاهش آفلاتوکسین توسط (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوسNCC68) بود [۱۷]ایوب وهمکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای به بررسی و تعیین آفلاتوکسینM_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 که۵۴/۶ ٪ از شیر ومحصولات لبنی آلوده به آفلاتوکسینM_1 بودند همچنین نتایج آنان درمطالعه‌ای بر باکتری‌های (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) درطول ساخت ماست نشان داد که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس توانایی در باند کردن آفلاتوکسینM_1 بیشتر از استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست بود. به نحوی که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس ۶۸ ٪ بعد از۶ ساعت انکوباسیون و استرپتوکوکوس ترموفیلوس ۳۷ ٪ بعد از۶ ساعت انکوباسیون توانستند آفلاتوکسین M_1را باند کنند. بنابراین باکتری‌های اسید لاکتیک نقش مهمی در کاهش آفلاتوکسینM_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 ٪ برکاهش آفلاتوکسینM_1 در طی ساخت ماست پرداختند. نتایج نشان داد. تفاوت معنی داری در کاهش آفلاتوکسین ($P<۰/۰۵$) بین ماست ساده و ماست هویج وجود دارد بیشترین درصد کاهش آفلاتوکسینM_1 (AFM_1) (۸۰ و ۷۷ ٪) در طی دوره تخمیر ماست و ذخیره سازی با مقدار ۲۰ و ۱۵ ٪ عصاره هویج بود [۱۳]. همچنین گواریس و همکاران درسال ۲۰۰۲ در یونان مطالعه ای انجام دادند بر روی ماستی که از شیر گاو که به طور مصنوعی با آفلاتوکسینM_1 (AFM_1) در مقادیر۰/۰۱و ۰/۰۵ گرم در لیتر آلوده شده بود و تخمیر تا رسیدن به pHهای ۴/۰ و ۴/۶ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنان نشان داد که درصد کاهش مقدار اولیه از (AFM_1) در شیر ۱۳ و۲۲ درصد همچنین در انتهای تخمیر و در انتهای مدت زمان ذخیره سازی در یخچال ۱۶ و۳۴ 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 آفلاتوکسین در ماست است آنان متوجه شدند، با وجود اینکه در طول ساخت ماست یا سرد کردن از۴۲ درجه به۴ درجه شرایط لازم و مورد نیاز برای رشد قارچ است اما نقش این بازدارنده‌ها شرایط مناسب برای تولید مقدار کمی از آفلاتوکسین ها است [۱۴].

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این روش میانگین درصد حذف آفلاتوکسین M_1 توسط سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی۹۴/۱۵ ٪ بود. و طی فرآیند تخمیر، تخریب و سم‌زدایی آفلاتوکسین انجام گرفته است. این مطالعه نشان داد که بعد از تخمیر مقدار آفلاتوکسینM_1 در ماست کاهش معنی داری پیدا کرد ($P<۰/۰۵$). این کاهش آفلاتوکسین 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 می-شود. در واقع تغییر ساختمان کازئین در طی تشکیل ماست ممکن است باعث تاثیر و تغییر دادن آفلاتوکسین M_1 (AFM_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 موادغذایی 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 می-گردد.

References

1. Creppy E.E, update of survey, regulation and toxic effets 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 M_1in cow milk comparison between electrosray and atmospheric pressure photoionization sources, Journal of chromatography A 2006: 69-78.
3. Kabak B, Var I, Binding of aflatoxin M_1 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 M_1 in a food model, Journal Food Protection 2000; (63): 645-650.
5. Mirlohi M, Soleimanian-zad S, Sheikh Zeinodin M, Fazeli H, Enumeration of lactobacill 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 M_1 during production and storage of yoghurt, Food Additives and Contaminants 2002; (11): 1043-1050.
11.Sarimehmetoglu B, Kuplulu O, Binding ability of aflatoxin M_1 to yoghurt bacteria, Ankara UnivVet Fak Dreg 2004; (51): 195-198.
12.El-Khoury A, Atoui A, Yaghi J, Analysis of aflatoxin M_1 in milk and yogurt and AFM_1 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, Gomezlusia E, Garayzabal J.F, Goyashe J, Suarez G, Experimental aflatoxin production in commercial yoghurt, Z Lebensm Unters Forsc 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 M_1 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:Areview, Critical reviews in Food Science and Nutrition 2006; 46: 593-619.
18.Ayoub M.M, Sobeih A, Raslan A,A, Evaluation of aflatoxin M_1 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 A [2] , Tajali F*

[1]M.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
[3]M.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 M_1(AFM_1) is a hydroxylated metabolite of aflatoxin B_1 that it can be found in milk and milk products. Cancer of liver is the most toxicogenic effects of aflatoxins. The presence of AFM_1 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 AFM_1. 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 M_1 (AFM_1) 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 M_1 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 M_1. 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 M_1, Lb.casei, yoghurt*

Submitted:12Dec2012
Revised:30Jan2013
Accepted: 11Mar2013