بررسی اثر لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 در ماست پروبیوتیک

فائزه تجلی[1*]، محبوبه سرابی جماب[2]، نسیم ادیب پور[3]، معصومه مهربان سنگ آتش[1]، رضا کاراژیان[1]

۱) مرکز تحقیقات کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

۲) پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد، مشهد، ایران

۳) گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۱ **تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۳۰**

چکیده

مقدمه: روش های متداول استریلیزاسیون شیر قادر به حذف آفلاتوکسین M_1 نمی باشند، بنا بر این بررسی روش های بیولوژیکی مانند استفاده از باکتری های خانواده اسید لاکتیک، جهت حذف یاکاهش آن، ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق توانایی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در میزان جذب و کاهش آفلاتوکسین M_1 در ماست پروبیوتیک در طی زمان ماندگاری بررسی گردید.

مواد و روش ها: غلظت های ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر آفلاتوکسین باقی مانده در مایع رویی نمونه های ماست در روزهای اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم پس‌از تولید ماست، توسط روش الایزای رقابتی تعیین و نتایج توسط کروماتوگرافی مایع باکارآیی بالا تایید شد.

یافته های پژوهش: بر اساس نتایج در هر دو نوع ماست معمولی و حاوی باکتری پروبیوتیک، کمترین میزان pH مربوط به نمونه های ماست تیمار شده باغلظت پایین سم(۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر) بود و بیشترین میزان آن برای ماست حاوی غلظت بالای سم(۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر) به دست آمد. میزان کاهش پس از ۲۱ روز نگهداری در مقایسه با روز اول، حدود ۰/۵ سیکل‌لگاریتمی به دست آمد. نتایج گویای‌آن است که لاکتوباسیلوس رامنوسوس قادر به جذب بیش از ۹۹ درصد آفلاتوکسین M_1 در غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر است، در حالی که میزان جذب سم در نمونه های آلوده شده با ۰/۵ نانوگرم در میلی لیتر حدود ۹۲ درصد و با ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر، به حدود ۹۳ درصد رسید.

بحث و نتیجه گیری: یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد توانایی لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیرگونه GG در جذب مقادیر بالای سم در مقایسه با آغازگرهای ماست به لحاظ آماری معنی دار می باشد. مقایسه و تطابق نتایج ۱۰ درصد نمونه های مورد آزمون به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا با نتایج حاصل از الایزا، نشان داد روش الایزا جایگزین مناسبی برای روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا به منظور اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین برای کاهش هزینه های آزمایش می باشد.

واژه های کلیدی: کاهش آفلاتوکسین M_1، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، باکتری های آغازگر ماست و ماست پروبیوتیک

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

Email: tajalli@acecr.ac.ir

مقدمه

بر اساس گزارش سازمان فائو سالیانه ۲۰ درصد از محصولات غذایی تولید شده در دنیا توسط سموم قارچی آلوده می شوند که در این آلودگی آفلاتوکسین ها سهم بیشتری نسبت به سایر سموم دارند. هم چنین میزان زیان های ناشی از حذف مواد غذایی آلوده و خسارات وارده به محصولات کشاورزی آمریکا در هر سال ۱۰۰ میلیون دلار اعلام شده است(۱،۲).

علاوه بر این آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین ها از جمله آفلاتوکسین M_1، می تواند سبب بروز مخاطرات بهداشتی نظیر سرطان زایی، جهش زایی، ناقص الخلقه زایی و غیره به ویژه در کودکان گردد. بر طبق بررسی های به عمل آمده توسط مرکز کنترل بیماری های ایالات متحده و سازمان غذا و داروی آمریکا، ۳ تا ۱۴ درصد از جمعیت آمریکا سالیانه به مسمومیت غذایی مبتلا می شوند که از این تعداد تقریباً ۹۰۰۰ نفر در سال در اثر مایکوتوکسین ها و باقی مانده های دارویی، مواد شیمیایی کشاورزی و هورمون ها از بین می روند(۳).

با توجه به آن که شیر و فرآورده های لبنی مورد مصرف روزانه اکثریت قریب به اتفاق مردم می باشند و می توان آن را به عنوان بخش مهمی از تغذیه در سبد خانوارهای ایران در نظر گرفت، توجه به ایمنی و سلامت این محصول از اهمیت ویژه ای برخوردار است. یکی از انواع آلاینده ها که می تواند سلامت شیر و محصولات لبنی را به خطر اندازد، آفلاتوکسین M_1 می باشد. نتایج تحقیقات مختلف در زمینه اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر مناطق مختلف ایران نشان دهنده آن است که شیر کما بیش به این سم آلوده می باشد. با توجه به آن که آفلاتوکسین M_1 در مقابل روش های متداول استریلیزاسیون، نظیر فرآیندهای حرارتی مقاوم است و از سوی دیگر دفع محصول آلوده، مشکلات زیست محیطی به همراه خواهد داشت، بررسی روش های بیولوژیکی جهت حذف یا کاهش آن به منظور افزایش کیفیت شیر ضروری به نظر می رسد(۵-۳).

نتایج تحقیقات نشان داده است که یکی از مهم ترین شیوه ها در کاهش بروز اختلالات مربوط به سم یا جلوگیری از ورود آن، استفاده از باکتری های خانواده اسید لاکتیک می باشد(۶،۷). باکتری های اسید لاکتیک دارای یک ماتریکس پپتیدوگلیکان است که ترکیب عمده ساختمانی دیواره سلولی است و ترکیبات دیگر آن اسید تیکوئیک، اسید لیپوتیکوئیک، لایه های پروتئینی و پلی ساکاریدهای خنثی است. این ترکیبات عملکردهای مختلفی دارند. اسید تیکوئیک که بیش از ۵۰ درصد وزن کل دیواره سلولی را شامل می شود و دارای خاصیت هیدروفوبی بالایی می باشد، در مکانیسم جذب سطحی توکسین و اتصال به آن نقش عمده ای دارد(۸).

ماست از پرمصرف ترین فرآورده های لبنی است که بر اساس تخمیر لاکتیکی به دست می آید. کشت آغازگر متداول ماست، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس می باشند، در حالی که در تهیه ماست پروبیوتیک علاوه بر باکتری های مذکور، از باکتری های پروبیوتیک نظیر گونه هایی از لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم استفاده می شود(۹). در این تحقیق سعی بر آن است که اثر باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر کاهش میزان سم آفلاتوکسین در ماستی که از شیر آلوده به آفلاتوکسین M_1 تهیه می گردد، مورد مطالعه قرار گیرد.

باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس جزء باکتری های پروبیوتیک محسوب می شود که دارای ارزش تغذیه ای بوده و پس از مصرف در ناحیه روده ساکن شده و اثرات معجزه آسایی در سلامت انسان بر جای می گذارند. مهم ترین مکانیسم هایی که این باکتری ها به وسیله آن می توانند موجب ارتقای سلامت انسان شوند شامل تولید اسیدهای آلی، پراکسیدها و باکتریوسیدها و رقابت با باکتری های مضر و بیماری زای روده ای برای تصاحب جایگاه های اتصال روی موکوس می باشد(۱۰). آزمایشات انجام شده نشان می دهد که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با لاکتوباسیلوس لاکتیس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پارا کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و

بیفیدوباکترها و نیز باکتری های سنتی ماست، مقاوم ترین گونه به شیره معده و نمک های صفراوی است(۱۱).

لاکتوباسیلوس رامنوسوس ابتدا به عنوان زیر گونه لاکتوباسیلوس کازئی شناخته شد. اما تحقیقات بعدی نشان داد که گونه ای مستقل از باکتری های جنس لاکتوباسیلوس می باشد. برخی از سویه های این گونه به عنوان پروبیوتیک مطرح بوده و گاهی در ماست یا سایر محصولات لبنی مورد استفاده قرار می گیرند. مطالعات نشان می دهد این گونه به اسید معده و نمک صفراوی روده مقاوم است و میل ترکیبی بالایی با سلول های موکوس روده انسان دارد. لاکتوباسیلوس رامنوسوس در جلوگیری از اسهال روتاویروسی در کودکان مفید بوده و مصرف آن به عنوان یک باکتری پروبیوتیک سبب کاهش خطر عفونت تنفسی به ویژه در کودکان می شود(۱۲،۱۳). پروبیوتیک ها قادر به تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ ایمنی بدن هستند. این ویژگی در مورد باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس کازئی به اثبات رسیده است(۱۴).

تحقیقات بر روی مخلوطی از سویه های لاکتوباسیلوس رامنوسوس(GG، LC-705) و پروپیونی باکتریوم فریدنریشی زیر گونه شرمانی، در سال ۲۰۰۴ توسط گراتز و همکاران انجام شد(۱۵). موکوس روده ای از سه نمونه روده خوک تهیه شد. میزان آفلاتوکسین B_1 آزاد به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا سنجش شد. نتایج نشان داد مخلوط باکتری ها دارای توانایی باند کردن کمتری می باشند(۱۵). هم چنین پلوتونن و همکاران(۲۰۰۱)، قابلیت اتصال فیزیکی و حذف آفلاتوکسین B_1 توسط ۲۰ نژاد از باکتری های خانواده اسید لاکتیک و بیفیدوباکتریوم مورد مطالعه قرار گرفت(۱۶). این باکتری ها شامل ۱۲ گونه لاکتوباسیلوس، ۵ گونه بیفیدوباکتریوم و ۳ گونه لاکتوکوکوس بود. آفلاتوکسین B_1 باند نشده پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه گیری شد. لاکتوباسیلوس ها ۱۷/۳ تا ۵۹/۷ درصد از آفلاتوکسین B_1 را حذف نمودند. دو گونه لاکتوباسیلوس آمیلووروس و یک گونه لاکتوباسیلوس رامنوسوس با بیش از ۵۰ درصد از آفلاتوکسین B_1 در طی ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری اتصال برقرار نمودند(۱۶).

در آزمایشی ۱۲ نژاد از باکتری های اسید لاکتیک انتخاب شده و توانایی آن ها در حذف آفلاتوکسین B_1 در محیط کشت مایع از طریق اتصال فیزیکی مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج نشان داد باکتری های غیر زنده به مقدار بیشتری آفلاتوکسین B_1 را به صورت متصل به خود نگه داشتند(۱۷). از بین باکتری های به کاربرده شده، لاکتوباسیلوس رامنوسوس نژاد GG و لاکتوباسیلوس رامنوسوس نژاد LC-705 آفلاتوکسین B_1 را از محلول با بیشترین کارایی حذف نمودند(۱۷). قابلیت لاکتوباسیلوس رامنوسوس سویه GG و LC-705 نیز در حذف آفلاتوکسین B_1 از شیره روده حاصل از جوجه بررسی شدند. سویه GG تا ۵۴ درصد از آفلاتوکسین B_1 را در مدت یک دقیقه حذف نموده، در حالی که سویه LC-705، ۴۴ درصد را حذف کرد. تجمع آفلاتوکسین B_1 در بافت روده نیز در حضور سویه GG و LC-705 به ترتیب ۷۴ و ۳۷ درصد کاهش جذب توسط بافت روده نشان داد(۱۸).

در تحقیقی میزان اتصال سطحی آفلاتوکسین B_1 در سویه های مختلف ساکارومایسس سرویزیه که از غذاهای تخمیری آفریقای شرقی جدا شده بودند، در شرایط فیزیکی و شیمیایی مختلف مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد تیمار حرارتی ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه سبب افزایش جذب از ۳۸ درصد به ۴۶ درصد و بعد از ۱۰ دقیقه به ۵۶ درصد شد. در تحقیق دیگری که توسط این محققان در سال ۲۰۰۷ انجام شد، تیمار اتوکلاو میکروب ها به مدت ۱۰ دقیقه جذب را تا ۷۹ درصد افزایش داد(۲۰،۲۱). افزایش جذب در تیمارهای فیزیکی بیانگر اتصال آفلاتوکسین B_1 به سطح سلول میکروب است. این نتایج با نتایج به دست آمده از بررسی های ال-نظامی و بژیوآ روی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه کاهش اوکراتوکسین هماهنگ است. حرارت ممکن است سبب دناتوره شدن پروتئین و شکل گیری هزاران واکنش بینابینی در دیواره سلولی شود. شرایط

اسیدی سبب رهایی مونومرهای پلی ساکارید دیواره و شکستن آن ها به آلدئیدها شود. شکست اتصالات سبب افزایش اتصال فیزیکی آفلاتوکسین و ساختار دیواره سلولی می شود. هم چنین حرارت می تواند با انحلال برخی واحدهای مانانی سطح سلول سبب افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی گردد که در نهایت سبب افزایش دسترسی بیشتر سایت های اتصالی می شود(۲۱،۲۲).

بنا بر این هدف اصلی تحقیق حاضر، بررسی اثر لاکتوباسیلوس رامنوسوس به عنوان باکتری پروبیوتیک در کاهش میزان آفلاتوکسین M_1 در ماست بر پایه روش بیولوژیک در طی زمان ماندگاری و در نهایت، تائید نتایج توسط کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا بود.

مواد و روش ها

در این پژوهش از ونکومایسین هیدروکلراید (سیگما، آمریکا)، محیط کشت ام.آر.اس. براث و آگار (مرک، آلمان)، محیط کشت اسکیم میلک(مرک، آلمان)، فسفات هیدروژن سدیم(مرک، آلمان)، فسفات دی هیدروژن پتاسیم(مرک، آلمان)، پودر لیوفلیزه سویه میکروبی لاکتوباسیلوس رامنوسوس(1637PTCC) (سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران)، آغازگرهای ماست(کریستین هانسن)، کیت الایزا(یورو پروکسیما)، دستگاه الایزا ریدر و واشر(بیوتک، آمریکا) و دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا استفاده شد.

پودر آفلاتوکسین M_1 از شرکت سیگمای آلمان خریداری شد. سپس با استفاده از استونیتریل محلول مادری با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر تهیه گردید. به منظور آلوده کردن نمونه های ماست، محلول های آفلاتوکسین M_1 با غلظت های ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر تهیه شد(۲۳).

پودر دایرکت وت آغازگرها به میزان ۱ درصد در محیط کشت ام.آر.اس مایع در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت فعال سازی شد. فعال سازی باکتری ها در شرایط هوازی انجام شد. پس از فعال سازی باکتری های آغازگر ماست و پروبیوتیک به منظور تعیین منحنی رشد هر یک، کدورتی معادل ۰/۰۵ از آن ها تهیه گردید و تا رسیدن به فاز سکون در زمان های متناوب میزان کدورت اندازه گیری شد.

به منظور استفاده از کشت های آغازگر و پروبیوتیک در تهیه ماست، با توجه به منحنی رشد باکتری های پروبیوتیک و آغازگر، ابتدا فعال سازی آن ها تا رسیدن به فاز لگاریتمی رشد انجام شد. سپس کشت های مذکور توسط محلول بافر فسفات طی ۳ مرحله سانتریفوژ با دور g ۳۴۰۰، دمای ۴ درجه سانتی گراد شست و شو شده و پلت میکروبی جداسازی شد. غلظت باکتری ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط بافر فسفات مطابق محلول استاندارد مک فارلند ۰/۵ تنظیم شد. سپس مقدار ۲۰ میلی لیتر از سوسپانسیون میکروبی مورد نظر(استارتر معمولی به میزان ۲۰ میلی لیتر، ترکیب استارتر معمولی و باکتری پروبیوتیک هر کدام به میزان ۱۰ میلی لیتر) جهت تلقیح در نمونه های شیر، توسط سانتریفوژ با دور g۳۴۰۰، دمای ۴ درجه سانتی گراد بافرزدایی شدند.

جهت تهیه ماست، شیر پس چرخ بازساخته ۱۲ درصد ابتدا تا دمای ۹۵–۹۰ درجه سانتی گراد حرارت دهی شد، پس از سرد سازی و افزودن آفلاتوکسین در ۳ سطح ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر و در نهایت تلقیح باکتری های آغازگر ماست آماده شده مطابق بالا، به مدت حداقل ۳ ساعت گرمخانه گذاری شد. قابل ذکر است که انعقاد نمونه های ماست تولید شده توسط باکتری زمانی حدود ۳/۵ ساعت را به خود اختصاص داد(۲۳).

نمونه های ماست تولید شده بلافاصله پس از اتمام انکوبه گذاری جهت اطمینان از قرار داشتن در رنج pH مناسب(حدود ۴/۶)، تعیین pH شدند. سنجش pH در فواصل ۷ روزه در طول دوره نگهداری ۲۱ روزه نیز انجام گرفت.

به منظور آنالیز داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. نتایج این تحقیق بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل آنالیز شد. فاکتورهای لحاظ شده شامل نوع باکتری، غلظت سم و زمان نگهداری بود. آزمایشات در دو تکرار انجام شد. میانگین نتایج با نرم افزار آماری SPSS و بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در میزان خطای ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۰۳ استفاده گردید.

به منظور اندازه گیری آفلاتوکسین در نمونه های ماست، ابتدا سوپرناتانت نمونه های ماست آماده و ۱۰۰ میلی لیتر از آن از ستون ایمونوافینیتی عبور داده شد. با عبور عصاره رقیق شده از ستون، سم موجود در عصاره (آنتی ژن) به آنتی بادی های درون ستون متصل گردید. پس از آن سم متصل شده به آنتی بادی در درون ستون توسط عبور متانول از داخل ستون، شسته و درون ویال جمع آوری و با آب رقیق گردید. تعیین مقدار آفلاتوکسین با استفاده از روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا که مجهز به مشتق ساز پس ستون، بود انجام شد. مشتق ساز پس ستون، آفلاتوکسین‌ها را بُرمینه نموده و آن ها را به ترکیباتی که شدت فلورسانس بیشتری نسبت به سموم دارند، تبدیل نمود؛ لذا پیک ها قابل رویت شدند. در نهایت تعیین مقدار سم از مقایسه سطح زیر منحنی و یا ارتفاع منحنی های استاندارد با نمونه مجهول، با احتساب ضریب رقت محاسبه گردید(۲۵).

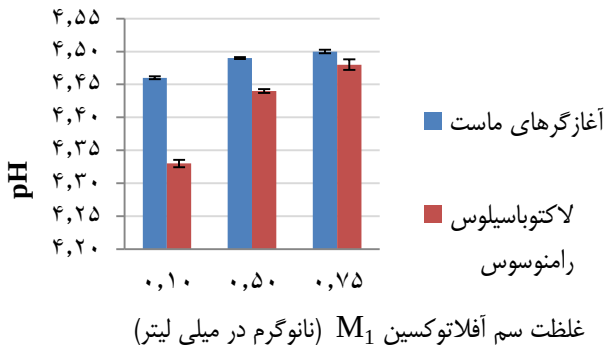
تعیین آفلاتوکسین با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با ستون سیلیکاژل فاز معکوس(۲۰۰×۴/۶ میلی متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر) ساخت شرکت فنومنکس، مجهز به ستون ایمونوافینیتی آلفا تست ساخت شرکت ویکام و سیستم تشخیص با فلورسانس انجام شد. از فاز متحرک متانول/آب(۶۰/۴۰) با سرعت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه استفاده گردید. پس از تزریق هر نمونه، اندازه گیری میزان سم از طریق اندازه گیری سطح زیر پیک آن در زمان بازداری و مقایسه آن با منحنی کالیبراسیون استاندارد انجام گردید.

جهت تعیین زنده مانی استارتر و باکتری پروبیوتیک موردنظر در نمونه های تولید شده، از نمونه های ماست، در فواصل زمانی ۷ روزه، در طول دوره نگهداری ۲۱ روزه، ۲ تکرار نمونه برداری شده و رقت های ۵- تا ۷- هم در محیط کشت عمومی ام.آر.اس جامد و هم در محیط کشت افتراقی خاص باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس با استفاده از محیط کشت ام.آر.اس-ونکومایسین جامد کشت داده شد(۲۶). مطابق این روش از محلول ونکومایسین جهت جلوگیری از رشد لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس استفاده شد، بدین منظور پس از تهیه محلول استوک، آن را از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده و جهت تهیه محیط افتراقی، ونکومایسین به محیط‌کشت افزوده شد.

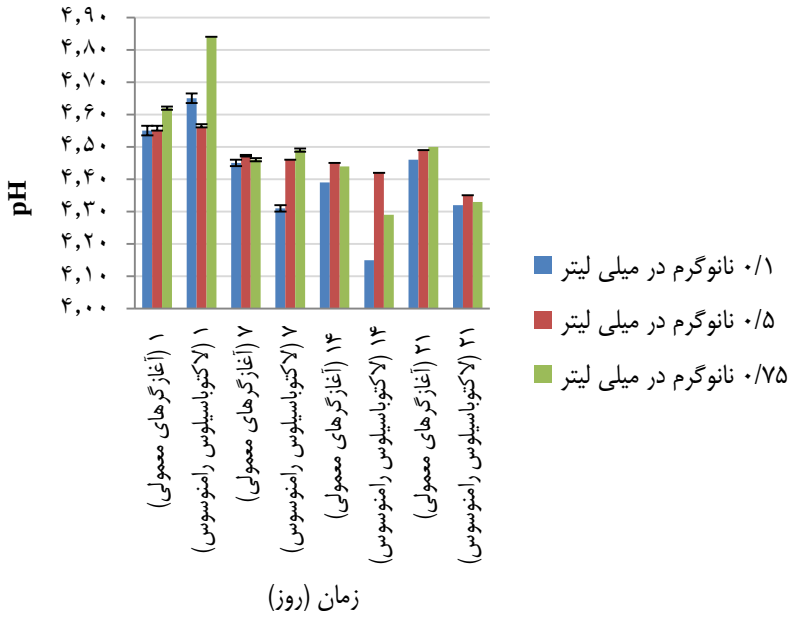
یافته های پژوهش

از جمله عوامل موثر بر میزان رشد و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در محصولات غذایی در طی زمان ماندگاری آن ها، pH ماده غذایی می باشد. از این رو تغییرات pH ماست های پروبیوتیکی و ماست معمولی که با غلظت های مختلف آفلاتوکسین M_1 تیمار شده بودند، در طی مدت ماندگاری ماست(۲۱ روز) اندازه گیری گردید. نتایج مربوطه در نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. با توجه به نمودارها در هر دو نوع ماست(ماست معمولی و حاوی باکتری پروبیوتیک)، کمترین میزان pH مربوط به نمونه های ماست تیمار شده با غلظت پایین سم(۰/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) بود و بیشترین میزان آن برای ماست حاوی غلظت بالای سم(۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر) به دست آمد.

هم چنین با افزایش زمان ماندگاری ماست میزان pH نمونه های ماست کاهش یافت. با توجه به آن که در طی زمان ماندگاری ماست، باکتری های اسید لاکتیک قادر به تولید اسید لاکتیک می باشند، این کاهش در میزان pH دور از انتظار نمی باشد. لازم به ذکر است که بیشترین میزان کاهش در ۲۱ روز پس از تولید در نمونه ماست حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس مشاهده گردید.

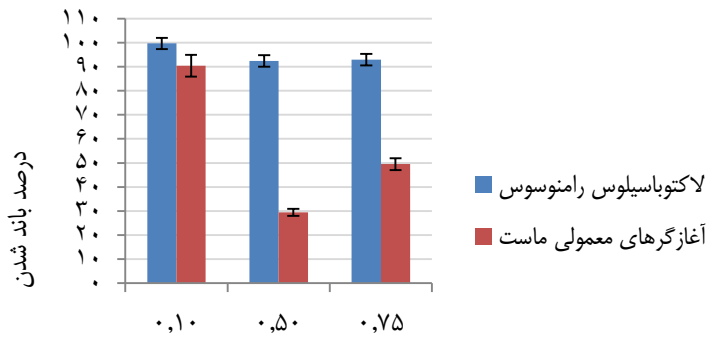


نمودار شماره ۱. اثر غلظت سم برمیزان pH نمونه های ماست حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس و ماست معمولی



نمودار شماره ۲. بررسی اثر متقابل غلظت سم و زمان ماندگاری بر pH لاکتوباسیلوس رامنوسوس و مخلوط آغازگرها در ماست پروبیوتیک و معمولی

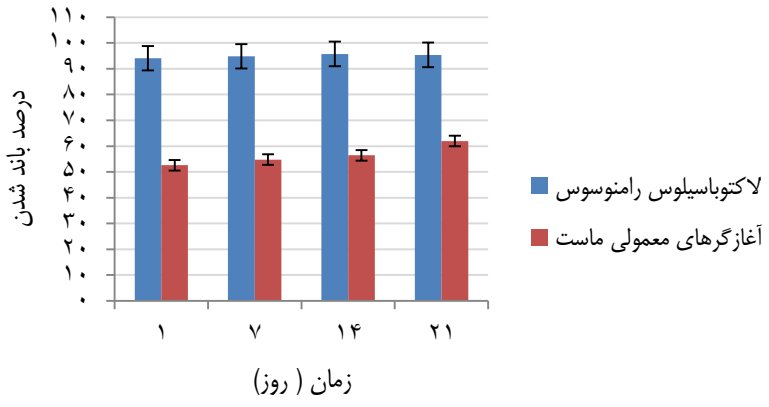
نتایج گویای آن است که لاکتوباسیلوس رامنوسوس قادر است بیش از ۹۹ درصد آفلاتوکسین M_1 در غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر را جذب کند در حالی که میزان جذب سم در نمونه های آلوده شده با ۰/۵ نانوگرم در میلی لیتر حدود ۹۲ درصد بوده و با افزایش میزان سم به مقدار ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر، درصد جذب سم به حدود ۹۳ درصد رسید(نمودار شماره ۳).



غلظت سم آفلاتوکسین M_1 نانوگرم در میلی لیتر

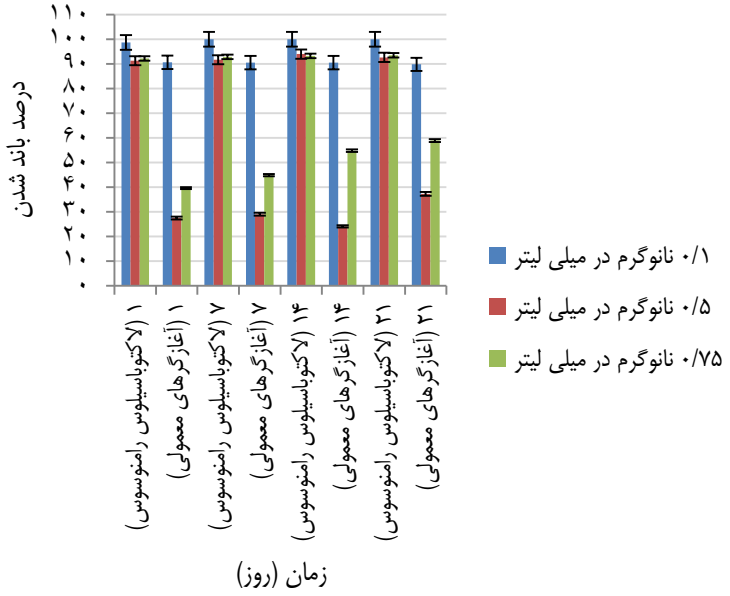
نمودار شماره ۳. بررسی اثر غلظت سم بر میزان جذب سم توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و باکتری های آغازگر در ماست پروبیوتیک و معمولی

همان طور که در این شکل مشاهده می شود، باکتری های آغازگر ماست قادر به جذب حدود ۹۰ درصد از آفلاتوکسین در نمونه های آلوده شده با پایین ترین غلظت سم(۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر) بودند در حالی که با افزایش غلظت سم، میزان جذب آفلاتوکسین M_1 بسیار کاهش یافت به طوری که در غلظت های ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر درصد جذب سم به ترتیب تنها ۲۹/۴۵ و ۴۹/۵۳ بود. بر اساس نمودار شماره ۴ بیشترین درصد حذف پس از ۱۴ روز نگهداری حاصل گردید. در این نمودار تاثیر زمان نگهداری در میزان جذب آفلاتوکسین M_1 توسط مخلوط آغازگرهای ماست را نشان داده می شود. نتایج آنالیز واریانس گویای آن است که با افزایش زمان ماندگاری میزان جذب سم افزایش یافت که دلیل این امر را می‌توان به ایجاد تغییر در ساختمان دیواره سلولی باکتری ها در اثر افزایش اسیدیته محیط نسبت داد.



نمودار شماره ٤. بررسی اثر زمان ماندگاری بر میزان جذب سم توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و باکتری های آغازگر در ماست پروبیوتیک و معمولی

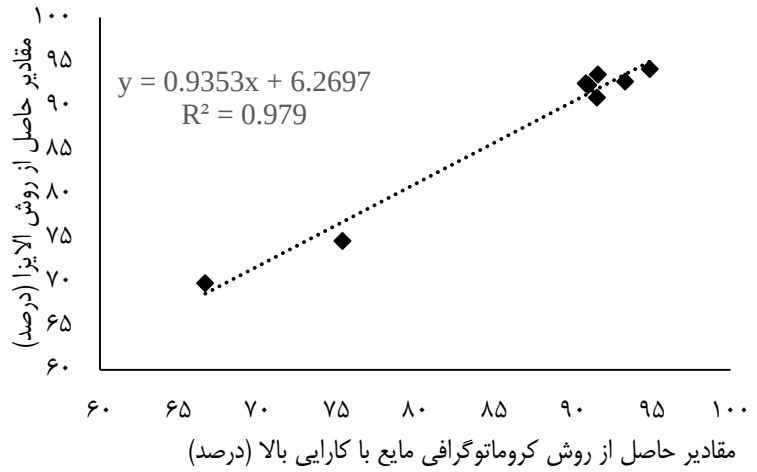
در نمودار شماره ۵ نیز نیز اثر متقابل غلظت سم و زمان نگهداری بر کاهش سم مشاهده می گردد. نتایج حاکی از آن است که پس از ۷ روز نگهداری ماست حاوی غلظت پایین سم، ۱۰۰ درصد آفلاتوکسین از سوپرناتانت ماست حذف گردید، در حالی که بیشترین درصد حذف سم از سوپرناتانت، در نمونه های آلوده شده با ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر به ترتیب در روزهای ۱۴ و ۲۱ نگهداری به دست آمد.



نمودار شماره ۵. بررسی اثر متقابل غلظت سم و زمان ماندگاری بر میزان جذب سم توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس و باکتری های آغازگر در ماست پروبیوتیک و معمولی

در این شکل اثر متقابل غلظت سم و زمان ماندگاری بر کاهش سم در سوپرناتانت حاصل از ماست فاقد باکتری پروبیوتیک نیز نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن است که در غلظت پایین سم در اولین روز نگهداری، سم تا حدود ۹۰ درصد جذب آغازگرها گردید و سپس ثابت ماند. در حالی که بیشترین درصد جذب سم در نمونه های آلوده شده با ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی‌لیتر آفلاتوکسین M_1، پس از ۲۱ روز نگهداری ماست در دمای ۴ درجه سانتی گراد حاصل گردید.

کیت آفلاتوکسین انتخاب شده قادر بود تا مقادیر بسیار پایین آفلاتوکسین(پیکوگرم در میلی لیتر) را اندازه گیری نماید. بنا بر این به منظور تایید آزمون الایزا جهت اندازه گیری میزان آفلاتوکسین در نمونه های ماست به طور تصادفی انتخاب و میزان آفلاتوکسین باقی مانده در سوپرناتانت در ۱۰ درصد نمونه های مورد آزمون، به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا اندازه گیری شده و با نتایج حاصل از الایزا مقایسه شدند(نمودار شماره ۶).



نمودار شماره ٦. مقایسه نتایج حاصل از الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه که بر روی مخلوطی از سویه های لاکتوباسیلوس رامنوسوس(GG، LC-705) و پروپیونی باکتریوم فریدنریشی زیر گونه شرمانی به کار رفت(۱۵). پس از تهیه سه نمونه موکوس روده ای از میزان آفلاتوکسین B_1 آزاد به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا سنجش شد. نتایج نشان داد مخلوط باکتری ها دارای توانایی باند کردن کمتری می باشند(۱۵). در آزمایشی ۱۲ نژاد از باکتری های اسید لاکتیک انتخاب شده و توانایی آن ها در حذف آفلاتوکسین B_1 در محیط کشت مایع از طریق اتصال فیزیکی مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج نشان داد باکتری های غیر زنده به مقدار بیشتری آفلاتوکسین B_1 را به صورت متصل به خود نگه داشتند(۱۷). از بین باکتری های به کار برده شده، لاکتوباسیلوس رامنوسوس نژاد GG و لاکتوباسیلوس رامنوسوس نژاد LC-705 آفلاتوکسین B_1 را از محلول با بیشترین کارایی حذف کردند(۱۷).

نتایج نشان داد در هر دو نوع ماست معمولی و حاوی باکتری های پروبیوتیک، کمترین و بیشترین میزان pH به ترتیب مربوط به نمونه های ماست تیمار شده با پایین ترین و بالاترین غلظت سم می باشند. هم چنین با افزایش زمان ماندگاری ماست میزان pH نمونه های ماست کاهش خواهد یافت. با توجه به آن که در طی زمان ماندگاری ماست، باکتری های اسید لاکتیک قادر به تولید اسید لاکتیک می باشند، این کاهش در میزان pH دور از انتظار نمی باشد. بیشترین میزان کاهش در ۲۱ روز پس از تولید، در نمونه ماست حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس مشاهده گردید.

ال-نظامی و همکاران درصد جذب آفلاتوکسین B_1 را وابسته به غلظت سلولی و حرارت گزارش کردند به طوری که تعداد باکتری مورد نیاز را ۲×۱۰^{۹} واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر و دمای مناسب جذب را ۳۷ درجه سانتی گراد ارائه کردند. آن ها اظهار داشتند که پروبیوتیک های پیش کشت شده نسبت به نوع خشک شده انجمادی فعالیت بالاتری در سطح احتمال ۵ درصد در جذب آفلاتوکسین B_1 دارند. اگر چه بالاترین جذب B_1 در مقایسه میان لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG و LC705 با تیمارهای پیش کشت و خشک شده انجمادی و کشته شده با حرارت، مربوط به تیمار سلول های کشته شده بود(۲۷). ال-نظامی و همکاران کاهش ۸۰ درصدی آفلاتوکسین B_1 در محیط مایع پی.بی.اس توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG و لاکتوباسیلوس رامنوسوس LC705 نسبت به سایر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شده، گزارش کردند($P<0.05$). در مطالعه آن ها درصد جذب آفلاتوکسین B_1 توسط گرم مثبت ها به طور معنی داری بیشتر از گرم منفی ها گزارش گردید. بیشترین

جذب بلافاصله بعد از تلقیح صورت گرفته و در طی ۷۲ ساعت نگهداری تغییر کمی در جذب بیشتر مشاهده شد.

ال–نظامی و همکاران در تحقیق دیگری نشان دادند کاهش آفلاتوکسین B_1 در حضور لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیرگونه GG در بافت روده در مدت ۶۰ دقیقه، ۷۴درصد است(۲۸).

موتاوی و ال–قانی اثر هشت گونه از لاکتیک اسید باکتری ها را بر کاهش ها در محیط مایع و به عنوان کشت آغازگر در تولید ماست بررسی کردند. در این مطالعه لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG و LC705 بالاترین قابلیت اتصال به توکسین و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کمترین توانایی را در اتصال به آفلاتوکسین ها نشان داد که با نتایج حاصل از این طرح در جذب بیش از ۹۰ درصد سم توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG، در غلظت های مختلف تطابق دارد. این محققان کاهش بیشتری در سطح آفلاتوکسین موجود در ماست هم زمان با کاهش pH مشاهده کردند این نتایج با مطالعات دانشمندان دیگر مطابقت داشت و برخی از پژوهشگران پیشنهاد کردند که مهار آفلاتوکسین به دلیل اسید لاکتیک یا متابولیت های حاصل از باکتری های لاکتیک اسید می باشد. نویسندگان دیگر، کاهشی در مقدار آفلاتوکسین M_1 در طول انبارداری خنک، در ماست مشاهده نکردند. این تفاوت در نتایج ممکن است نتیجه تفاوت در روش استخراج سم، غلظت سم، مدت زمان سپری شده قبل از آنالیز، دمای نگهداری، روش آلوده سازی شیر، تنوع در ترکیبات شیر و یا تفاوت در رفتار کشت های آغازگر به کار رفته در تولید ماست باشد(۲۹). بنا بر این با توجه به نتایج که گویای آن است که لاکتوباسیلوس رامنوسوس قادر است بیش از ۹۹ درصد آفلاتوکسین M_1 در غلظت ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر را جذب کند.

نتایج حاکی از آن است که پس از ۷ روز نگهداری ماست حاوی غلظت پایین سم، ۱۰۰ درصد آفلاتوکسین از سوپرناتانت ماست حذف گردید، در حالی که درصد حذف سم از سوپرناتانت نمونه های آلوده شده با غلظت های بالاتر سم، با افزایش زمان ماندگاری افزایش می یافت.

ساریمهمتوغلو و کوپلولو اثر لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس سویه CH-2 و استرپتوکوکوس ترموفیلوس سویه ST-36 را در اتصال به آفلاتوکسین M_1 در محلول بافر نمکی فسفات ارزیابی نمودند. فعالیت هر دو نژاد در حذف آفلاتوکسین M_1 از شیر بازسازی شده و آلوده به توکسین و ماست تهیه شده از آن نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد قابلیت هر دو نژاد مذکور در حذف آفلاتوکسین M_1 از شیر بازسازی شده بیش از بافر نمکی فسفات و ماست بود. میزان اتصال آفلاتوکسین M_1 در ماست ۱۴/۳ درصد به دست آمد. دلیل اصلی آن می تواند مربوط به اتصال سم به کازئین شیر باشد(۲۳). بنا بر این براکت و مارث گزارش کردند که به طور متوسط مقدار آفلاتوکسین M_1 ۳۰/۷ درصد در شیر تیمار شده با آنزیم پروتئولیتیک بیشتر از شیر تیمار نشده وجود دارد و پیشنهاد کردند که آفلاتوکسین M_1 توسط پروتئین شیر جذب می شود. این محققان در مطالعه ای دیگر گزارش کردند که آفلاتوکسین M_1 توزیع همگن و یکنواختی در شیر نشان نمی دهد و بخشی از توکسین قابل استخراج از شیر نیست(۳۰،۳۱).

توانایی اتصال کمتر استارترهای ماست به آفلاتوکسین M_1 در ماست نسبت به شیر می تواند مربوط به فرآیند تخمیر باشد که به دلیل استخراج توکسین از کازئین پس از فرآیند تخمیر و رها شدن آن در محیط نسبت به شیر اتفاق می افتد(۳۲) که با نتایج حاصل از این طرح تطابق دارد. تاباتا و همکاران نیز گزارش کردند که غلظت شیر بر روی میزان جذب آفلاتوکسین موثر است(۳۳).

حسنین پایداری آفلاتوکسین M_1 در طول فرآیند تولید و انبارمانی ماست، ماست پنیری و شیر اسیدی شده را بررسی کرد. بیشترین میزان آفلاتوکسین M_1 (۷۱ درصد) از ماست پنیری پس از ۱۴ روز($P<0.05$) بازیابی شد که دلیل آن محبوس شدن و اتصال آفلاتوکسین در شکاف های شبکه کازئینی عنوان گردید. در حالی که این توکسین در طی ۱۴ روز در

ماست به میزان ۴۱ درصد باقی ماند. کاهش PH در طی نگهداری در ماست، آن را مستعد کاهش بیشتر آفلاتوکسین خواهد کرد. از طرف دیگر، کاهش قابل ملاحظه ای در مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر اسیدی شده پس از ۱۴ روز مشاهده شد(۳۴). ال خوری و همکاران مشخص نمودند توانایی باند شدن لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به آفلاتوکسین M_1 بعد از ۱۴ ساعت ۸۷/۶ درصد و در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس ۷۰ درصد است. در حالی‌که اتصال با آفلاتوکسین M_1 برای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس بعد از ۲ ساعت، ۳۸/۷ درصد و در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس ۱۹/۸ درصد می باشد(۳۵). این در حالی است که در این پژوهش نیز بیشترین درصد جذب سم در نمونه های آلوده شده با غلظت های بالای آفلاتوکسین M_1، در بیشترین زمان نگهداری ماست یعنی پس از ۲۱ روز، حاصل گردید. روش های سنجش ایمنی مثل الایزا به علت سادگی، حساسیت و قیمت کم و به منظور تسریع در تشخیص آفلاتوکسین به صورت روزمره مناسب هستند. هر چند روشی مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از دقت بسیاری برخوردار است اما به دلیل پر هزینه بودن برای انجام تعدادی زیادی نمونه به صرفه نیست. هدف از این تحقیق استفاده از روش الایزا به عنوان جایگزینی مناسب برای روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا به منظور اندازه گیری میزان آفلاتوکسین بود که نتایج نشان داد مقادیر به دست آمده با نتایج حاصل از الایزا مطابقت داشته و روش الایزا را برای اندازه گیری میزان آفلاتوکسین تایید نمود.

در نهایت با توجه به تحقیقات انجام شده قبلی به نظر می رسد استفاده از علوفه دامی سالم و بدون آلودگی قارچی، راه سهل الوصول تری برای جلوگیری از ورود مایکوتوکسین ها و آلودگی شیر و فرآورده های لبنی تولید شده توسط این سم بوده و می تواند موجب بهبود و افزایش کیفیت این محصولات شود(۳۶). اما در صورت بروز این آلودگی نیز می‌توان با استفاده از باکتری های پروبیوتیک در تولید فرآورده ای هم چون ماست، علاوه بر جلوگیری از بروز خطرات احتمالی، کیفیت سلامت زایی محصول را نیز افزایش داد. بنا بر این گسترش فرهنگ مصرف فرآورده های پروبیوتیکی به ویژه فرآورده های لبنی پروبیوتیک در تامین ایمنی و سلامت مصرف کنندگان بسیار ضروری خواهد بود.

یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد هر چند، هم باکتری پروبیوتیک مورد آزمون(لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیرگونه GG) و هم آغازگرهای معمولی ماست(استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس) قادر به جذب سم می باشند، توانایی باکتری پروبیوتیک در جذب مقادیر بالای سم در مقایسه با آغازگرهای ماست به لحاظ آماری معنی دار می باشد. در طی زمان ماندگاری، با توجه به آن که سلول های مرده باکتری به دلیل افزایش سطح دیواره، قادر به جذب مقادیر بیشتری از سم بود، می توان چنین نتیجه گرفت که حتی در صورت مرگ باکتری پروبیوتیک، لاشه باکتری نیز به دلیل جذب سم، در ارتقای سطح سلامت مصرف‌کنندگان سودمند خواهد بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهش و فناوری جهاد دانشگاهی و ریاست محترم پژوهشکده علوم و صنایع غذایی که حمایت مالی و امکان انجام این طرح را به صورت مشترک(کد۱۱-۲۰۸۰ و ۲۴۰۹۱۰۰۲) و هم چنین از معاونت محترم پژوهشی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی که امکانات انجام هر چه بهتر این پژوهش را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

References

1.Adams MR, Moss MO. Food Microbiology. 3th ed. The Royal Society of Chemistry Publication. 2008;P.231-8.

2. Brown DW, Baker SE. Mycotoxins: A Fungal Genomics Perspective. Methods Mol Biol 2017;1542:367-79.

3.Jafari R. [Evaluation of aflatoxin M1 level in the collected raw and the produced

pasteurized milk in the Eastern Azarbaijan regional milk factory].Tabriz Med Sci Uni J 2009;2:18-23.(Persian)

4.Ersali AA, Bahaoddinbeigi F, Ghasemi R. [Aflatoxin transfer from feed to animal and pasteurized milk in Shiraz and its countryside]. Shahid Sadoughi Med Sci Uni J 2009; 17:175-83.(Persian)

5.Rahimi E, Kargar AR, Zamani F. [Assessment of aflatoxin B1 levels in animal feed of dairy farms in Chaharmahal and Bakhtiari]. Pajouhsh Sazandegi J 2008;79:66-71.(Persian)

6.Bata A, Lasztity R. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. Trends Food Technol1999;10:223-8.

7.Bennet JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev2003;16:497-516.

8.Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J, Richard J. Worldwide occurrences of mycotoxins in commodities feeds and feed ingredients. Anim Feed Sci Technol2007;137:265-82.

9.Mortazavi SA, Ghodsrohani M, Jooiandeh H. The technology of milk and dairy products. 3th ed. Ferdowsi Uni Publication. 1995; P.371-5.

10.Kabak B, Brandon EFA, Var I, Blokland M, Sips AJ. Effects of probiotic bacteria on bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochrtoxin A using an in vitor digestion model under fed conditions. J Environ Sci Health 2009;44:472-80.

11.Shakeri M. [Evaluationt of butter whey effect on physicochemical, microbial and organoleptic properties in yogurt probiotic]. Mashhad Uni Ferdowsi J 2003;8:83-9. (Persian)

12.Hojsak I, Snovak N, Abdovic S, Szajewska H, Misak Z, Kolacek S. Lactobacillus GG in the prevention of gastrointestinal and respiratory tract infections in children who attend day care centers a randomized double-blind placebo controlled trial. Clin Nut 2009; 29: 312-6.

13.Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic associated diarrhea in children. J Pediatr1999; 135:564–8.

14. Mortazavian AM, Sohravandi S. Review of probiotics and probiotic food products (with emphasis on dairy products).ATA Publishing.2006; P.30.

15.Gratz S, Mykkanen H, Ouwehand AC, Juvonen R, Salminen S, Elnezami H. Intestinal mucus alters the ability of probiotic bacteria to bind aflatoxin B1 in vitro. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 6306-8.

16.Plwtonen J, Elnezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J Dairy Sci2001; 84:2152-6.

17. Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by Lactobacillus rhamnosus strain GG. Chem Biol Interact2000; 128:39-49.

18. Elnezami H, Mykkanen H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. J Food Prot 2000; 63:427–552.

19.Elnezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid Bacteria to bind a common food carcinogen aflatoxin B1. Food Chem Toxicol 1998; 36:321-6.

20. Shetty PH, Jespersen L. Saccharomyces cervisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating. Food Sci Technol2006; 17:48-55.

21. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by Saccharomyces cerevisiae strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. Int J Food Microbiol 2007; 11341-6.

22. Bejaoui H, Mathieu F. Ochratoxin a removal in synthetic and natural grape

juices by selected oenological Saccharomyces strains. J Appl Microbiol2004; 97:1038-44.
23. Sarimehmetoglu B, Kuplulu O. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. Vet J Ankara Uni2004; 51:195-8.
24. Martin A, Palomino JC. Nitrate reductase assay drug susceptibility testing for Mycobacterium tuberclusis. Ins Trop Med2009; 22:142-8.
25. Yazdanpanah H, Zarghi A, Shafaati A, Foroutan M, Aboulfathi F, Khoddam A, et al. Analysis of aflatoxin B1 in Iranian foods using HPLC and a monolithic column and estimation of its dietary intake. Iranian J Pharm Res2013;12:83-9.
26. Tharmaraj N, Shah NP. Selective enumeration of L. delbrueckii ssp bulgaricus, Streptococcus thermophillus Lactobacillus acidophilus Bifidobacteria Lactobacillus casei Lactobacillus rhamnosus and propionic bacteria. J Dairy Sci 2003; 86:2288-96.
27.Elnezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid Bacteria to bind a common food Carcinogen, Aflatoxin B1. Food Chem Toxicol1998; 36: 321-6.
28. Elnezami H, Mykanen H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. J Food Prot2000; 63:549-52.
29. Fazeli MR, Hajimohammadali M, Moshkani A, Samadi N, Jamalifar H, Khoshayand MR, Aflatoxin B1 binding capacity of autochthonous strains of lactic acid bacteria. J Food Prot 2009 ;72:189-92.
30. Brackett RE, Marth EH. Association of aflatoxin M1 with casein. Z Lebensm Unters Forsch 1982;174:439-41.
31. Brackett RE, Marth EH. Fate of aflatoxin M1 in cheddar cheese and in process cheese spread. J Food Prot 1982; 45:549-52.
32.Rasic JL, Skrinjar M, Markov S. Decrease of aflatoxin B1 in yoghurt and acidified milks. Mycopathologia1991;113:117-9.
33.Tabata S, Kamimura A, Ibe H, Hasimoto H, Ida M, Tamura Y, et al. Aflatoxin contamination in foods and foodstuffs in Tokyo 1986-1990. J AOAC Int1993;76:32-5.
34. Hassanin N. Stability of aflatoxin M1 during manufacture and storage of Yoghurt, Yoghurt-Cheese and Acidified Milk. Journal of Science of Food Agriculture 1994; 65: 31-4.
35.Elkhoury 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; 22:1695-9.
36. Fallahi F, Madani M. [Study of contamination of different dairy products distributed in Isfahan to saprophytic fungi]. Biolo J Microorgan2014; 11:59-70. (Persian)

Evaluation of Lactobacillus rhamnosus Effect on the Aflatoxin M1 Reduction in Probiotic Yogurt

*Tajalli F[*1], Sarabijamab M[2], Adibpour N[3], Mehrabansangatash M[1], Karazhyan R[1]*

(Received: November 2, 2015 Accepted: December 21, 2015)

Abstract

Introduction: Themilk traditional sterilization methods are notable to eliminate it, so the evaluation of the biological approaches such as utility of lactic acid bacteria is necessary for the reduction and removal of this toxin. In this study, the ability of Lactobacillus rhamnosus was assessed to decrease aflatoxin M_1adsorption for its reduction and adsorption in probiotic yogurt during shelf life.

Material & methods: Three concentrations of the remained aflatoxinM_1 in yogurt supernatants; 0.1,0.5and 0.75ppb; were determined during first, seventh, fourteenth and twenty first days after yogurt processing, determined by ELISA procedure and confirmed by HPLC.

Findings: The results showed that in both of the regular and probiotic yogurt, the lowest pH is related to treated yogurt samples by the low concentrations of toxin (0.1ppb) and its maximum rate is for yogurt which contains the high concentrations of toxin (0.75ppb).The reduction logarithmic cycle was 0.5 after21 days. Viability was high in all of three different aflatoxin M_1 levels at the first day after processing. The results suggest that Lactobacillus rhamnosus is able to adsorb more than99% aflatoxin M1 in 0.1 ppb, while the toxin adsorption in 0.5 and 0.75ppb were 92%and 93%, respectively.

Discussion & conclusions: The results of this study indicated Lactobacillus rhamnosus GG is able to reduce significantly the high toxin levels. Finally, ELISA procedure and HPLC results compared statistically and conformed that HPLC is able to be replaced by ELISA method to reduce the measurement costs of aflatoxin M_1.

Keywords: Aflatoxin M1 reduction, Lactobacillus rhamnosus, Starter culture bacteria, Probiotic yogurt

1. Food Quality and Safety Research Center, Academic Centre Education Culture and Research, Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran
2. Research Institute of Food Science and Technology Mashhad, Mashhad, Iran
3 Dept of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
** Correspondin author Email: tajalli@acecr.ac.ir*