

## بررسی اثر لاکتو باسیلوس کازئی بر کاهش میزان آفلا توکسین $M_1$ در ماست پروبیوتیک در طول مدت زمان ماندگاری آن

فائزه تجلی<sup>\*۱</sup>، مرضیه کته شمشیری<sup>۲</sup>، معصومه مهریان سنج آتش<sup>۳</sup>

- (۱) گروه پزشکی مولکولی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران
- (۲) گروه کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران
- (۳) گروه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹

### چکیده

**مقدمه:** آفلا توکسین  $M_1$  متابولیتی از آفلا توکسین  $B_1$  می‌باشد که ممکن است در شیر حیواناتی که از غذای آلوده به آفلا توکسین  $B_1$  تزیید کرده باشد، یافت شود. با در نظر گرفتن نقش شیر و فرآورده‌های آن در تغذیه انسان، توجه به جنبه‌های سلامت این ماده غذایی بالارزش، اجتناب ناپذیر می‌باشد. از طرفی آلوگی آن به آفلا توکسین  $M_1$  می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را به خطر اندازد. لذا نیاز به استفاده از روش‌هایی به منظور حذف یا غیر فعال‌سازی آفلا توکسین  $M_1$  در شیر و محصولات لبنی احساس می‌شود. توکسین زدایی میکروبی یکی از روش‌های حذف آفلا توکسین‌ها از جمله آفلا توکسین  $M_1$  محسوب می‌شود. در این تحقیق، به بررسی اثر باکتری لاکتو باسیلوس کازئی به منظور کاهش یا حذف آفلا توکسین  $M_1$  در ماست در طول مدت نگه داری آن پرداخته شده است.

**مواد و روش‌ها:** لاکتو باسیلوس کازئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک، کشت داده شد. شیر بازسازی شده، در چهار سطح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر، با آفلا توکسین  $M_1$  آلوده گردید. نمونه‌ها با لاکتو باسیلوس کازئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک تلیق شدند. میزان باقیمانده آفلا توکسین  $M_1$  پس از سانتریفیوژ نمونه‌های ماست در روز اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم توسط روش الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌های پژوهش:** نتایج بیانگر این مطلب است که حضور باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش سم مؤثر بود. همچنین مشخص گردید مقادیر مختلف آفلا توکسین  $M_1$  تأثیر معنی‌داری بر کاهش سم نمی‌گذارند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از لاکتو باسیلوس کازئی می‌تواند به عنوان یک تکنیک در توکسین زدایی میکروبی غذایی آلوده با آفلا توکسین  $M_1$  مورد ارزیابی قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** آفلا توکسین  $M_1$ ، لاکتو باسیلوس کازئی، توکسین زدایی میکروبی، ماست پروبیوتیک

\* نویسنده مسئول: گروه پزشکی مولکولی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

Email: tajalli@acecr.ac.ir

## مقدمه

مهم ترین گروه برای انسان خصوصاً اقسام آسیب پذیر نظیر کودکان، بیماران و سالمندان محسوب می‌شود، بالا بودن مقدار سم آن از حد استاندارد، برای این مصرف کندگان بسیار مخاطره آمیز و در مواردی بسیار زیان بار و غیر قابل جبران است. با افزایش دانش و آگاهی از این موضوع که آفلا توکسین‌ها می‌توانند به طور بالقوه برای سلامت انسان و دام خطر آفرین محسوب شوند، تلاش برای حذف کامل یا کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی مضاعف گردیده است.

در زمینه تقلیل سم آفلا توکسین M<sub>1</sub> نیز تاکنون روش‌های متفاوتی به کار رفته است. نتایج تحقیقات نشان داده است که یکی از مه مترین شیوه‌ها در کاهش بروز اختلالات مربوط به سم یا جلوگیری از ورود آن، استفاده از باکتری‌های خانواده اسید لاكتیک می‌باشد (۱۱، ۱۲). باکتری‌های اسید لاكتیک دارای یک ماتریکس پپتیدوگلیکان است که ترکیب عمدۀ ساختمانی دیواره سلولی است و ترکیبات دیگر آن اسید تیکوئیک، اسید لیپو تیکوئیک، لایه‌های پروتئینی و پلی‌ساقاریدهای خشی است. این ترکیبات عملکردهای مختلفی دارند. اسیدتیکوئیک که بیش از ۵۰ درصد وزن کل دیواره سلولی را شامل می‌شود و دارای خاصیت هیدروفوبی بالایی می‌باشد، در مکانیسم جذب سطحی توکسین و اتصال به آن نقش عمدۀ دارد (۱۳).

ماست از جمله فراورده‌های تخمیری لبنی است که به کمک باکتری‌های خانواده اسید لاكتیک تهیه می‌شود. ماست پروپیوتیک حاوی باکتری‌های مفیدی است که پس از مصرف در ناحیه روده ساکن می‌شوند و اثرات معجزه‌آسایی در سلامت انسان بر جای می‌گذارند. مهم ترین مکانیسم‌هایی که این باکتری‌ها به وسیله آن می‌توانند موجب ارتقای سلامت انسان شوند شامل تولید اسید‌های آلی، پر اکسید‌ها و باکتریوسید‌ها و رقابت با باکتری‌های مضر و بیماری‌زای روده‌ای برای تصادب جایگاه‌های اتصال روی موکوس می‌باشد. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدو باکتریوم بیفیدوم از جمله باکتری‌های آغازگر

مایکو توکسین‌ها به عنوان یکی از بارز ترین آلوه کننده‌های مواد غذایی که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می‌دهند، مورد بررسی قرار می‌گیرند. در میان مایکو توکسین‌ها آفلا توکسین‌ها مهم ترین آن‌ها هستند. آفلا توکسین‌ها ترکیبات سمی هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویه به وسیله قارچ‌هایی چون آسپرژیلوس فلاوووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس به دنبال رشد روی اقلام غذایی تولید می‌شوند (۱).

آفلا توکسین‌ها معمولاً در بدن دام سبب مخاطرات جدی نشده؛ ولی پس از ورود به شیر می‌توانند در انسان (در دراز مدت) سبب بروز بیماری‌های خطربناکی نظیر آسیب‌های حاد و مزمن کبدی، سرطان زایی، ایجاد ناهنجاری‌های جنبی، کاهش بیوسترن پروتئین‌ها و چربی‌ها، ایجاد نقص در سیستم ایمنی و ... شوند (۱، ۲، ۳، ۴، ۵).

از میان ۱۸ نوع مختلف آفلا توکسین شناخته شده، آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> توسط آژانس‌های بین‌المللی تحقیق روی سرطان در گروه A عوامل سرطان‌زا قرار گرفته‌اند. در این میان سمیت و سرطان زای آفلا توکسین B<sub>1</sub> بیشتر از انواع دیگر گزارش شده‌است.

آفلا توکسین M<sub>1</sub> متابولیت هیدروکسیله شده آفلا توکسین B<sub>1</sub> است که در شیر حیوانات شیرده که از خوراک آلوه به آفلا توکسین B<sub>1</sub> مصرف کرده‌اند وجود دارد (۶، ۷، ۸). ارتباط مستقیمی بین حضور آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در خوراک دام و آفلا توکسین M<sub>1</sub> در شیر دام وجود دارد. معمولاً حدود ۱ تا ۳ درصد آفلا توکسین B<sub>1</sub> خورده شده توسط دام به آفلا توکسین M<sub>1</sub> تبدیل می‌شود. این میزان از حیوانی به حیوان دیگر، روز به روز و از یک شیر دوشی به شیر دوشی دیگر متفاوت می‌باشد (۹، ۱۰) با وجود آن که سمیت و سرطان زایی این توکسین کمتر از آفلا توکسین B<sub>1</sub> است، اما باید حضور آن در شیر و فرآورده‌های لبنی جداً کنترل شود. زیرا با توجه به آن که این گروه از مواد غذایی به عنوان

قسمتی نیز به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. پس از آلوده سازی شیر با غلظت های مختلف آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> نمونه ها ابتدا در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد و سپس تا دمای ۴۲ درجه سانتی گراد سرد گردید. تلخیق نمونه ها با لاکتو باسیلوس کارئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک (به میزان  $10^{10}$  cfu/ml) انجام شد (۱۲، ۲۰).

پس از همزدن و یکنواخت شدن مایه کشت، نمونه ها در ظروف استریل تقسیم شده و به گرم خانه منتقل گردید. پس از رسیدن pH نمونه ها به ۴/۵، نمونه ها به دمای ۴ درجه سانتی گراد منتقل و به مدت ۳ هفته در این دما نگه داری شد (۱۳). به منظور بررسی میزان آفلاتوکسین باقیمانده در روز اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم، نمونه های ماست سانتریفیوز شده و میزان سم در سوپرناتانت حاصل توسط روش الایزایی رقابتی مستقیم مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱، ۱۲).

#### ۴- آنالیز آماری

آنالیز داده ها براساس طرح پایه کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل حضور یا عدم حضور باکتری، غلظت آفلاتوکسین (در چهار سطح)، زمان نگهداری (در چهار سطح) بود. آزمایشات در دو تکرار انجام شد. میانگین نتایج با نرم افزار آماری SPSS و بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۳، ۱۷، ۲۱). رسم نمودارها با نرم افزار کامپیوتری Excel انجام شد.

### یافته های پژوهش

#### ۱- اثر باکتری در کاهش سم

نتایج نمودار شماره ۱ نشان می دهد که حضور باکتری لاکتو باسیلوس کارئی (*L. casei* 431<sup>(®)</sup>) در کاهش سم آفلاتوکسین موثر بود. به گونه ای که در حضور باکتری درصد حذف آفلاتوکسین ۷۸/۰۳۲ درصد و در غیاب باکتری ۷۳/۲۳ درصد به دست آمد.

متداول در تهیه ماست پروبیوتیک می باشدند (۱۴، ۱۵، ۱۶).

در این تحقیق سعی بر آن است که اثر لاکتو باسیلوس کارئی بر میزان کاهش سم آفلاتوکسین در ماست پروبیوتیکی که از شیر آلوده به آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> تهیه می گردد، مورد مطالعه قرار گیرد. به این ترتیب که ابتدا شیر تهیه شده، با غلظت های مشخص و از پیش تعیین شده آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> به صورت دستی، آلوده شده و پس از تهیه ماست با اضافه کردن لاکتو باسیلوس کارئی، با گذشت زمان، میزان کاهش سم مشخص می شود.

### مواد و روش ها

۱- تهیه محلول های آفلاتوکسین<sub>1</sub> آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> با غلظت ۱۰۰ نانو گرم در میلی لیتر از شرکت کیمیا گران شیمی صنعت خریداری شد و محلول های آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> با غلظت های ۰/۰۵، ۰/۰۵ و ۰/۷۵ نانو گرم در میلی لیتر تهیه شد (۱۷).

۲- تهیه کشت آغازگر لاکتو باسیلوس کارئی (*L. casei*) به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک از شرکت کریستن هانسن دانمارک خریداری شد. و در محیط کشت براث MRS در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. میزان رشد باکتری با استفاده از روش شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت آگار MRS محاسبه گردید. هنگامی که تعداد باکتری ها به حدود ۱۰<sup>۱۰</sup> رسید، محیط کشت مایع در ۳۵۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوز شده و پلیت باکتریایی به دست آمده دوار با نمک بافر فسفات (۰/۰۱ مول فسفات، ۰/۱۵ مول کلرید سدیم در pH=۷/۳) شستشو داده شد (۱۸، ۱۹).

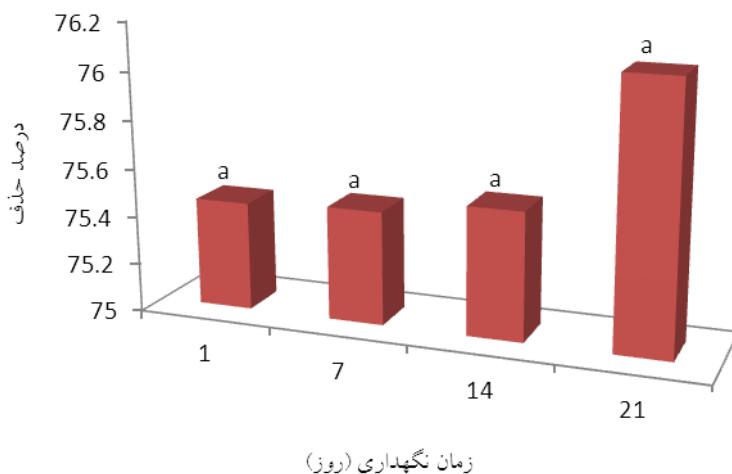
۳- آلوده سازی شیر بازسازی شده با آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub>، تهیه ماست و اندازه گیری میزان توکسین باقیمانده شیر بازسازی شده حاوی ۱۲ درصد ماده جامد بدون چربی از پودر شیر پس چرخ (skim milk) تهیه شد. بخشی از آن با آفلاتوکسین<sub>1</sub> M<sub>1</sub> در چهار سطح ۰/۰۵، ۰/۰۵ و ۰/۷۵ نانو گرم در میلی لیتر آلوده گردید و



نمودار شماره ۱- اثر باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش سم

ویک روز (۷۶/۱ درصد) میزان حذف تا حدی افزایش یافت اما مقدار آن جزئی بوده و اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

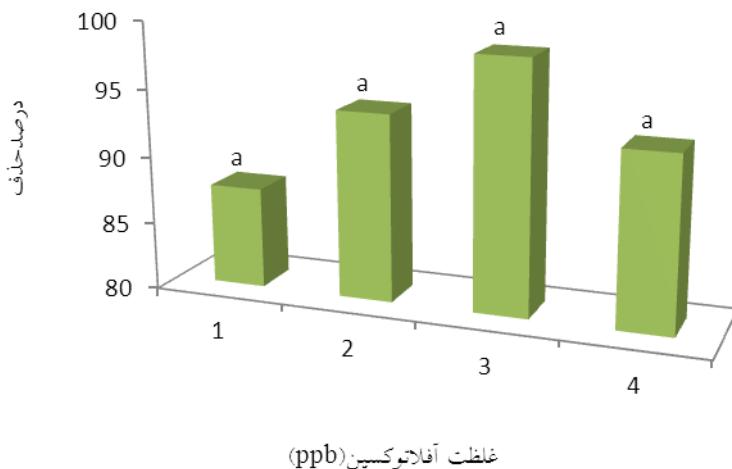
۲- اثر زمان انکوباسیون در کاهش سم همان طورکه در نمودار شماره ۲ مشاهده می شود با افزایش زمان نگهداری از یک (۷۵/۵ درصد) تا بیست



نمودار شماره ۲- اثر زمان ماندگاری در کاهش سم

۵- بیشترین درصد حذف (۹۸/۵۷ درصد) به دست آمد، اما با افزایش غلظت تا ۷۵/۰ درصد حذف از نظر عددی کاهش نشان داد و مقدار آن (۹۲/۸۵ درصد) بود (نمودار شماره ۳).

۳- اثر غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم با توجه به نتایج آنالیز واریانس، با افزایش غلظت سم، اختلاف معنی داری بر درصد حذف آفلاتوکسین مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). به طوری که در غلظت ppb



نمودار شماره ۳؛ اثر غلظت آفلاتوتوكسین در کاهش سمه

باسیلوس بولگاریکوس به آفلاتوتوكسین  $M_1$ ، ۷۰/۶ درصد و در مورد استرپتوكوکوس ترموفیلوس تا ۷۰ درصد افزایش می‌یابد (۲۴). همان گونه که در شکل ۳ مشاهده شد، غلظت آفلاتوتوكسین نیز اثری بر کاهش سمه نداشت. مطالعات ال- $B_1$  نظامی و همکاران نشان داد مقدار آفلاتوتوكسین  $M_1$  حذف شده با افزایش غلظت سمه، افزایش پیدا کرد، اما درصد حذف تفاوت عمدہ‌ای نداشت (۱۷).

در نهایت، این تحقیق به هدف بررسی اثر باکتری لакتو باسیلوس کائزی در کاهش میزان سمه آفلاتوتوكسین  $M_1$  در ماست پروبیوتیک انجام شد. یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد هرچند، هم باکتری پروبیوتیک مورد آزمون و هم آغازگرهای معمولی ماست قادر به جذب سمه می‌باشند، توانایی باکتری‌های پروبیوتیک در جذب مقادیر بالای سمه در مقایسه با آغازگرهای ماست به لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد، بنابراین حضور باکتری لакتو باسیلوس کائزی در کاهش سمه آفلاتوتوكسین مؤثر بود. همچنین نتایج نشان داد که قابلیت باکتری‌ها در کاهش میزان سمه در نمونه‌های با مقادیر پایین سمه بسیار بیشتر است. زمان نگه داری و غلظت آفلاتوتوكسین نیز در حذف سمه تأثیر مثبت داشت اما در زمان‌های مختلف ماندگاری و غلظت‌های مختلف آفلاتوتوكسین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از باکتری لакتو باسیلوس کائزی *L. casei*

## بحث و نتیجه‌گیری

همان گونه که در شکل ۱ مشاهده شد باکتری لакتو باسیلوس کائزی در کاهش سمه آفلاتوتوكسین موثر بود. پیریدز و همکاران نیز در تحقیقات خود نشان دادند که سه گونه باکتری پروبیوتیک در دامنه ۱۸/۱-۵۰/۷ درصد، توانایی اتصال به آفلاتوتوكسین  $M_1$  دارند (۲۰). کابک و وار (۲۰۰۴) توانایی اتصال انواع مختلف باکتری‌های پروبیوتیک به آفلاتوتوكسین  $M_1$  در نمک بافر فسفات را ۳۲/۵-۲۵/۷ درصد و در شیر پس چرخ ۲۹/۳-۲۱/۲ درصد تعیین نمودند (۲۲).

در مورد اثر زمان انکوباسیون در کاهش سمه، نتایج گویای آن است که زمان ماندگاری اختلاف معنی‌داری در کاهش سمه نداشت. ال-نظامی و همکاران نشان دادند کاهش آفلاتوتوكسین  $B_1$  در حضور لакتو باسیلوس رامنوسوس گونه *GG* در بافت روده در مدت ۶۰ دقیقه، ۷۴ درصد است (۲۳). آن‌ها هم چنین (۱۹۹۸) عنوان نمودند کشت ۲۴ ساعت لакتو باسیلوس رامنوسوس گونه *GG* و لакتو باسیلوس رامنوسوس گونه *LC-705* قادر به جذب ۸۰ درصد آفلاتوتوكسین  $B_1$  می‌باشند (۱۷). ال خوری و همکاران مشخص نمودند توانایی باند شدن لакتو باسیلوس بولگاریکوس به آفلاتوتوكسین  $M_1$  بعد از ۲ ساعت ۳۸/۷ درصد می‌باشد، مورد استرپتوكوکوس ترموفیلوس ۱۹/۸ درصد می‌باشد، در حالیکه بعد از ۱۴ ساعت توانایی اتصال لакتو

آغازگر های ماست می باشند، سبب می گردد که درصد کمتری از سم در بدن جذب گردیده و به ویژه در زمانی که شیر با مقادیر پایینی از سم آلوده است، بیشترین میزان آن توسط این باکتری ها جذب شده و همراه با باکتری از بدن دفع گردد. بدین جهت مصرف فراورده های تخمیری لبنی توصیه می شود.

(431®) در حذف آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در ماست پروپیوتیک مؤثر بود.

بر اساس نتیجه حاصل و با توجه به آن که بر اساس آمار و گزارشات موجود، شیر تولیدی در اغلب نقاط کشور آلوده به سم آفلاتوکسین است، مصرف محصولات تخمیری شیر که حاوی باکتری هایی نظیر

## References

- 1.Ersali AA, FahaoddinBeigi F, Ghasemi R. [Aflatoxin transfer from feed to raw and pasteurized milk in Shiraz and its town]. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2009; 7:175-83. (Persian)
2. Fallah AA, Barani A, Nasiri Z. Aflatoxin M1 in raw milk in Qazvin Province Iran a seasonal study. Food Addit Contam Part B Surveill2015;8:195-8.
3. Rohani FG, Aminaee MM, Kianfar M. Survey of aflatoxin M1 in cow's milk for human consumption in Kerman Province of Iran. Food Addit Contam Part B Surveill 2011;4:191-4.
- 4.Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. Food Control 2001; 12: 47-51.
- 5.Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese sample. Food Addit Contam2004; 21: 592-7.
6. Mohammed S, Munissi JJ, Nyandoro SS. Aflatoxin M1 in raw milk and aflatoxin B1 in feed from household cows in Singida, Tanzania. Food Addit Contam Part B Surveill2016;9:85-90.
7. Sefidgar SA, Azizi G, Khosravi AR, Roudbar-Mohammadi S. Presence of Aflatoxin M1 in raw milk at cattle farms in Babol Iran. Pak J Biol Sci2008;11:484-6.
8. Rahimi E, Bonyadian M, Rafie M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz Iran. Food Chem Toxicol2010 48:129-31.
- 9.Kouhian K, Kazemi MH, Akbari M. [Evaluation of aflatoxin B1 and M1 amounts in a number of the available food in grocery stores of Army units in Tehran in 2011]. Nurs Phys With War 2011; 14: 12-14. (Persian)
- 10.Battacone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P, Pulina G. Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. Dair Sci 2005; 88: 3063-9.
- 11.Phillips TD, Bashir Sarr A, Grant PG. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. Natural Toxin1995; 3:204-13.
- 12.Sarimehmetoglu B, Kuplulu O. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. AnkaraUniv Vet Fak Dreg2004; 51: 195-8.
- 13.Shetty PH, Jespersen L. Saccharomyces cervisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating. Food Sci Technol 2006; 17:48-55.
- 14.Carvalholima K, Kruger MF, Behrens J, Destro MT, Landgraf M, Melofranco BDG. Evaluation of culture media for enumeration of Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei and Bifidobacterium animalis in the presence of Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus and Streptococcus thermophiles. Food Sci Technolo2009; 42: 491-5.
- 15.Mishra V, Prasad DN. Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. Int J Food Microbiol2005; 103:109-15.
- 16.Tharmaraj N, Shah NP. Selective enumeration of L. delbrueckii ssp bulgaricus, Streptococcus thermophilus Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium Lactobacillus casei Lactobacillus rhamnosus and propionicbacteria. J Dair Sc2003; 86: 2288-96.
- 17.Elnezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, AhokasJ. Ability of dairy strains of lactic acidbacteria to bind a common food carcinogen aflatoxin B1. Food Chem Toxicol1998; 36: 321-6.

18. Theunissen J, Britz TJ, Torriani S, Witthuhn RC. Identification of probiotic microorganisms in South African products using PCR-based DGGE analysis. *Int J Food Microbiol* 2005 Jan 15;98:11-21.
19. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Bjorkroth J, Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001;73:365S-373S.
20. Pierides M, Elnezami H, Peltonen K, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. *J Food Prot* 2000; 63: 645-650.
21. Masoero F, Gallo A, Diaz D, Piva G, Moschini M. Effect 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. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 150: 34-45.
22. Kabak B, Var I. Binding of aflatoxin M1 by Lactobacillus and Bifidobacterium strains. *Milchwissenschaft* 2004; 59: 301-303.
23. Elnezami H, Mykanen H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of Lactobacillus and Propionic bacterium strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. *J Food Prot* 2000; 63: 549-52.
24. 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.

## Evaluation of Lactobacillus casei Effect on Reduction of Aflatoxin M<sub>1</sub> amount in Probiotic Yogurt during Its Shelf Life

Tajalli F<sup>1, 2\*</sup>, Katehshamshiri M<sup>3</sup>, Mehrabansangatash M<sup>1, 2</sup>

(Received: January 9, 2016 Accepted: May 31, 2016)

### Abstract

**Introduction:** Aflatoxin M<sub>1</sub> which is one of the aflatoxin B<sub>1</sub> metabolites may be in milk of animals via which they have been fed the contaminated feed. According to the important role of milk and dairy products in human nutrition, it is necessary to consider the quality and safety aspects of this worthy food. On the other hand, its contamination by aflatoxin M<sub>1</sub> is a threat for the consumers' health; therefore, to use the procedures to remove or non-activation of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products is required. Microbial detoxification is one of the removal methods of aflatoxins, such as, aflatoxin M<sub>1</sub>. In this research, the effect of *Lactobacillus casei* to reduce or eliminate aflatoxin M<sub>1</sub> in yogurt during its shelf life has been detected. *Lactobacillus casei* as probiotic yogurt starter bacteria was cultivated.

**Materials & methods:** Modified milk was infected by aflatoxin M<sub>1</sub> in four levels of 0.05, 0.1, 0.5 and 0.75 ppb. The samples

were inoculated by *Lactobacillus casei* as probiotic yogurt starter bacteria. The amounts of residual aflatoxin M<sub>1</sub> were evaluated after centrifuging the samples in the first, seventh, fourteenth and twenty-first days by ELISA.

**Findings:** The results of this research indicate that the presence of *Lactobacillus casei* was effective on reducing toxin. It was also found the various amounts of aflatoxin M<sub>1</sub> don't affect significantly on descending of toxin.

**Discussion & conclusions:** These findings imply that *Lactobacillus casei* using can be as one of the removal techniques among the microbial detoxification methods of the contaminated food by aflatoxin M<sub>1</sub>.

**Keywords:** Aflatoxin M<sub>1</sub>, *Lactobacillus casei*, Microbial detoxification, Probiotic yogurt

1. Dept of Molecular Medicine, Academic Centre for Education, Culture and Research, Khorasan Razavi Branch, Mashad, Iran

2. Dept of Food Quality and Safety, Academic Centre for Education, Culture and Research , Khorasan Razavi Branch, Mashad, Iran

3. Dept of Food Science and Technology, Mashad, Iran

\* Corresponding author Email: tajalli@acecr.ac.ir