

بررسی توانایی اتصال و کاهش آفلاتوکسین M_1 توسط برخی از لاکتوباسیل‌های جدا شده از ماست‌های سنتی ایران

عاطفه کریمی دستجرد¹، مریم تاج آبادی ابراهیمی²، انوشه شریفان¹، هوشنگ نیکوپور¹، مریم هاشمی⁵

1- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد علوم و تحقیقات

2- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

3- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی کرج

نویسنده مسؤول: دکتر مریم تاج آبادی ابراهیمی. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد علوم و تحقیقات.

m.tajabadi@iauctb.ac.ir

دریافت: 91/1/17 پذیرش: 91/3/15

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین‌ها از مهمترین میکوتوکسین‌های قارچی با خواص سرطان‌زایی می‌باشد. آفلاتوکسین M_1 از راه شیر و لبنیات می‌تواند به انسان منتقل شود. امروزه استفاده از روش‌های بیولوژیکی در حذف و کاهش سموم قارچی مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. یکی از این روشها اتصال باکتری‌های اسید لاکتیک به آفلاتوکسین و مهار عملکرد توکسین می‌باشد.

روش بررسی: 10 سویه لاکتوباسیل ایزوله شده از ماست‌های محلی به منظور بررسی توانایی کاهش آفلاتوکسین با غلظت 20 ng/ml در محیط بافر فسفات بعد از مدت 2 h گرمخانه گذاری مورد آزمون HPLC قرار گرفتند. بعد از انتخاب بهترین سویه با بیشترین میزان کاهش، در زمان‌های 0، 4 و 24 h میزان کاهش آفلاتوکسین با روش HPLC بررسی گردید. همچنین به منظور بررسی توانایی کاهش آفلاتوکسین توسط سلول‌های مرده باکتری در زمان‌های مختلف، تیمار حرارتی بر روی سلول‌ها انجام شده و در زمان‌های 0، 4 و 24 h مورد آزمون قرار گرفتند.

یافته‌ها: دامنه کاهش آفلاتوکسین توسط لاکتوباسیلوس‌ها بین 47/65% - 51/26% می‌باشد. تفاوت بین زمان‌های مختلف برای سلول‌های زنده معنی دار بوده و دامنه‌ی کاهش بین 49/9%-60/76% بوده است. میزان کاهش آفلاتوکسین در زمان‌های مختلف توسط سلول‌های مرده 51/6-57/65% بوده است.

نتیجه‌گیری: لاکتوباسیلوس‌های بومی ایرانی پتانسیل خوبی در کاهش آفلاتوکسین دارند. عامل زمان در کاهش آفلاتوکسین توسط سلول‌های زنده باکتری تاثیرگذار می‌باشد ولی در کاهش آفلاتوکسین توسط سلول‌های مرده بی تاثیر بوده است.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M_1 ، HPLC، توانایی باند شدن، لاکتوباسیلوس‌های لبنی بومی

مقدمه

در بین عوامل آلوده کننده مواد غذایی می‌توان به قارچ‌های تولیدکننده موجود در محیط اطراف اشاره کرد. این قارچ‌ها در محصولات غذایی تولید متابولیت‌های ثانویه سمی به نام مایکوتوکسین می‌کنند. آفلاتوکسین‌ها از جمله مایکوتوکسین‌های خطرناکی هستند که در محصولات غله‌ای مثل ذرت، بادام زمینی، لوبیا، میوه جات خشک و محصولات لبنی از جمله شیر می‌توانند وجود داشته باشند (1-3). آفلاتوکسین‌ها اثرات موتائژنیک (جهش زایی)، کارسینوژنیک (سرطان زایی)، تراژوژنیک (ناقص خلقه زایی)، هیپاتوتوکسیسی (سمیت کبدی) و ایمنوسوپرسیو (سرکوبگری سیستم ایمنی) دارند از این رو برای ما از لحاظ سلامت انسانی و حیوانی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (4, 5). آفلاتوکسین M₁ متابولیتی است که از هیدروکسیلاسیون B بوجود می‌آید. از آنجایی که شیر ماده غذایی مصرفی مهمی برای نوزادان و کودکان و همچنین افراد مسن می‌باشد و این گروه سنی از لحاظ حساسیت به اثرات مایکوتوکسینی بسیار مستعد می‌باشند، لذا درصد وجود AFM₁ در شیر می‌بایستی مورد توجه قرار بگیرد (6). با توجه به قوانین اتحادیه اروپا و قوانین غذایی حداکثر حد آفلاتوکسین M₁ در شیر خام، شیر تحت فرآیندهای حرارتی و محصولات بر پایه شیر نباید از میزان 50ng/kg تجاوز کند. برای نوزادان این میزان تا حد 20ng/kg مجاز شمرده شده است (7). طبق قوانین آمریکا مقدار AFM₁ نباید بیشتر از 500ng/kg باشد. بر اساس استاندارد ملی ایران میزان آفلاتوکسین M₁ در شیر خام نباید بیش از 0/5μg/l باشد (8). روش‌های مختلفی برای کاهش میزان آفلاتوکسین وجود دارد که شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی می‌باشد. از موانع کاهش و حذف آفلاتوکسین از مواد غذایی می‌توان به هزینه بالا جداسازی و عدم جداسازی کامل مواد آلوده کننده و هدر رفتن بخش‌های غیر آلوده اشاره کرد. کنترل زیستی یکی از روش‌های کنترل تولید سم است. غذاهائی که آلوده به آفلاتوکسین می‌شوند باید سم آن‌ها خارج شود و یا سم تخریب شود تا به مقدار قابل قبول برسد و یا ترکیبات غیر سمی ایجاد شود. باکتری‌های اسید لاکتیک و بیفیدوباکتريا نه تنها به علت بی ضرر (GRAS) بودن قسمت عمده‌ی آن‌ها بلکه با توجه به اثرات سلامتی بخش آن‌ها به عنوان ارگانسیم‌های پروبیوتیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. امروزه سعی می‌شود از این باکتری‌ها در کاهش آلودگی سموم قارچی نیز استفاده شود (4, 9, 10).

ال - نظامی همکارانش در سال 1998 توانایی باند شدن پنج سویه از *Lactobacillus* به آفلاتوکسین را بررسی کردند. گونه‌های پروبیوتیک مانند *Lb.rhamnosus GG and Lb.rhamnosus LC-705* از نظر کاهش آفلاتوکسین B₁ بسیار موثر بوده و بیش از 80% سم موجود در محلول 20μg/ml را کاهش داده‌اند (11). ال - نظامی و همکارانش در سال 2004 در طی مطالعه‌ای بر روی بیفیدوباکتری دریافتند که این باکتری‌ها می‌توانند 25-60% از آفلاتوکسین B₁ موجود در محیط را به خود متصل کنند. همچنین در طی مطالعات خود بر روی لاکتوباسیلوس رامنوسوس متوجه شدند که پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی برای هر دو گونه باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس LGG و LC705 در اتصال درگیرند (12). پیردس و همکارانش در سال 2000 به مطالعه کاهش آفلاتوکسین M₁ توسط سلول‌های زنده و حرارت دیده با روش HPLC پرداختند و اعلام کردند که در دو سویه *L.gasseri* و *L. rhamnosus 1/3* توانایی باند شدن سلول‌های حرارت دیده 2 برابر بیشتر شده است. کالونی و همکارانش در سال 2006 مشخص کردند که حضور سایر مایکوتوکسین‌ها در شیر مثل اکراتوکسین A و توکسین T₂ می‌توانند اثرات سینرژیستی (هم افزایی) بر روی سمیت آفلاتوکسین M₁ داشته باشند (6). در تحقیق حاضر 10 سویه لاکتوباسیل جدا شده از ماست‌های سنتی ایران از نظر توانایی کاهش آفلاتوکسین M₁ با روش HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعات قبلی دیگر خصوصیات پروبیوتیکی این باکتری‌ها اعم از مقاومت به اسید معده و املاح صفراوی، توانایی اتصال به سلول‌های پوششی لوله گوارش (Caco-2)، توانایی تولید ترکیبات ضد باکتری‌های بیماریزا و همچنین کاهش کلسترول در شرایط آزمایشگاهی تعیین شده است. هدف از این تحقیق کاهش آفلاتوکسین از محیط بافر فسفات و تاثیر زمان‌های مختلف در میزان کاهش آفلاتوکسین توسط سلول‌های زنده و مرده (تحت تیمار حرارتی) بررسی گردید.

روش بررسی

باکتری‌ها و شرایط رشد: از 10 سویه لاکتوباسیل جدا شده از انواع محصول ماست تخمیری سنتی استفاده شد. این باکتری‌ها توسط تاج‌آبادی و همکاران (1387, 1388) جداسازی و در کلکسیون میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکزی در دمای 80°C- و زیر 25% گلیسرول نگهداری می‌شوند (12-14).

مربوط را با نرم افزار Empower محاسبه شد. با اسپیکر گذاری، میزان بازیافت به وسیله رگراسیون محاسبه گردید.

بررسی اثر زمان بر میزان کاهش آفلاتوکسین: جهت بررسی تاثیر فاکتور زمان بر روی میزان کاهش آفلاتوکسین در محیط بافر فسفات در زمان‌های مختلف 0، 4 و 24 h نمونه‌هایی تهیه شد و به HPLC تزریق گردید. در این آزمون سلول باکتری با همان شرایط سانتریفوژ شده به محیط حاوی 500 μL بافر فسفات آلوده به آفلاتوکسین تلقیح شده و در انکوباتور شیکردار در 37°C به مدت زمان‌های 0، 4 و 24 h قرار گرفتند. نمونه ساعت صفر بعد از سانتریفوژ و جدا کردن محلول روئی در لوله‌ای پندورف استریل در یخچال با دمای 4°C جهت انجام آزمون HPLC نگهداری شد (11).

تیمار حرارتی باکتری‌ها: بدین منظور، سلول‌های باکتری با غلظت 109CFU/ml در 2000 μL بافر فسفات در بن ماری با دمای 95°C به مدت 1 h قرار گرفتند تا سلول‌های مرده باکتری بدست آید. سپس این سلول‌ها مانند سلول‌های قبلی سانتریفوژ شده و به محلول بافر فسفات آلوده به آفلاتوکسین تلقیح شده و در دمای 37°C در انکوباتور شیکردار در مدت زمان‌های 0، 4 و 24 h قرار گرفتند.

روش آماری: به منظور رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL و جهت مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار SPSS 17 و تست Duncan در سطح 5% استفاده گردید. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار حاصل از سه تکرار بیان شده است.

یافته‌ها

با توجه به تحقیقات پیشین و در نظر گرفتن اهمیت تعداد باکتری‌های مورد نیاز در ایجاد اتصال بهینه به آفلاتوکسین منحنی رشد هر جدایه بر اساس دانسیته نوری در زمان‌های مختلف تعیین شد. بعد از 24 h کشت و گرمخانه گذاری بر اساس منحنی رشد 109CFU/ml باکتری جهت انجام آزمون تهیه شد.

سویه‌ها بر اساس نوع محصول لبنی، منطقه تهیه نمونه و مورفولوژی کلنی کد گذاری شده‌اند. سویه‌های مورد بررسی از ماست‌های خیک و لیقوان منطقه لیقوان آذربایجان ایزوله شده‌اند. لاکتوباسیل‌های مورد بررسی در محیط MRS broth دمای 37°C و شرایط بی هوازی به مدت 24 h کشت داده شدند. پس از 24 h کشت سلول‌ها کدورت باکتری با دستگاه اسپکتروفتومتر در $\text{OD}=600\text{nm}/7$ ($1 \times 10^9 \text{CFU/ml}$) تنظیم شد. تعداد باکتری زنده در $\text{OD}=600\text{nm}/7$ با روش کشت در پلیت تعیین شد.

تهیه محلول آفلاتوکسین M1: 1 mg از AFM1 (مرک آلمان) در 10ml متانول (HPLC grade) حل شد. به منظور تهیه محلول 100 $\mu\text{g/ml}$ آفلاتوکسین، بافر فسفات مستقیماً به سوسپانسیون اضافه و متانول محلول در حمام آب گرم 80°C به مدت 10 دقیقه تبخیر شد. غلظت دقیق آفلاتوکسین با روش اسپکتروفوتومتری بر اساس استاندارد به شماره 2707 تعیین شد. محلول استاندارد تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای 4°C نگهداری شدند.

تعیین کاهش آفلاتوکسین M1: سلول‌های باکتریایی که بعد سانتریفوژ با دور 3000 به مدت 15 دقیقه تهیه شده بود را به محیط بافر فسفات آلوده به میزان 20ng/ml آفلاتوکسین M1 تلقیح کرده، 5 s ورتکس نموده سپس به مدت 2 h در انکوباتور شیکردار در دمای 37°C قرار داده شدند. ابتدا به منظور انتخاب اولیه سویه‌ای که توانایی باند شدن بهتری دارند، بعد از زمان ذکر شده، نمونه‌ها را سانتریفوژ (با دور 3000rpm به مدت زمانی 15 min در دمای 20°C) کرده و مایع رویی داخل لوله‌ی پندورف جمع آوری کرده و در همان روز آزمون HPLC انجام گرفت. جهت اطمینان آزمون‌های کنترل مثبت (آفلاتوکسین + بافر فسفات) و منفی (باکتری + بافر فسفات) نیز انجام شد و نتایج مورد ارزیابی قرار گرفتند (15).

تعیین آفلاتوکسین با روش HPLC: آنالیز نمونه‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی علوم حیاتی فاروق انجام گرفت. تزریق به دستگاه HPLC و تشخیص با دکتور فلورسانس و تنظیمات دستگاه طبق استاندارد صورت گرفته و تعیین مقدار از طریق مقایسه سطح زیر منحنی هر نمونه استانداردها انجام گرفته است. با داشتن منحنی و معادله کالیبراسیون غلظتی، سطح زیر پیک مربوط به نمونه‌ی مجهول و اسپیک را به فرمول داده و غلظت

بحث

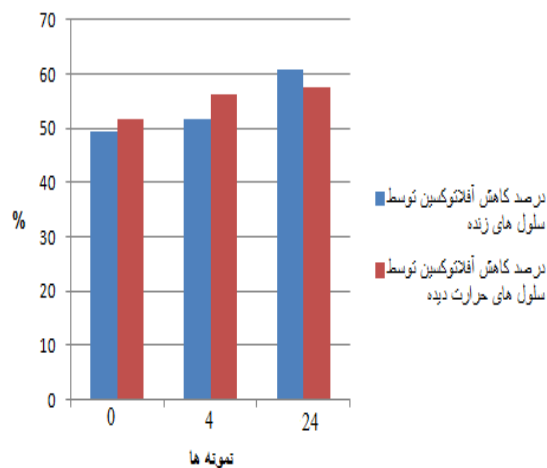
قرنهایست که از تخمیر به عنوان یک روش نگهداری مواد غذایی استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده است باکتری‌های اسید لاکتیک موثر در فرآیند تخمیر با تولید ترکیبات شبه باکتریوسینی و اسیدهای آلی سبب مهار رشد کپک‌ها و در نتیجه موجب جلوگیری از تولید آفلاتوکسین می‌شوند. همچنین اتصال مایکوتوکسین‌ها به دیواره این باکتری‌ها موجب کاهش دسترسی این سموم می‌گردد. منابع غذایی تخمیری محلی منبع مناسبی از باکتری‌های اسید لاکتیک مفید با خواص پروبیوتیکی می‌باشد. تاج‌آبادی و همکاران در سال 2008 ده جدایه لاکتوباسیل را از ماست‌های محلی جدا کرده و خصوصیات پروبیوتیکی آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند. از آنجایی که این باکتری‌ها از محصولات لبنی سنتی جدا شده اند نه تنها به کشف ذخایر میکروبی بومی ایران کمک می‌کند بلکه در مطالعات بعدی توانایی آن‌ها به صورت کشت همزمان در محصولات لبنی صنعتی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. این باکتری‌های اسید لاکتیک در کنار اثرات مفید مثل کاهش آفلاتوکسین M_1 ، می‌توانند به ایجاد طعم مطلوب کمک نمایند و در نتیجه کاربرد این سویه‌ها در مواد غذایی از لحاظ سلامتی و بی‌خطر بودن برای مصرف کننده می‌تواند مفید باشد. در تحقیق حاضر دامنه کاهش آفلاتوکسین توسط لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از ماست مابین 51/85-47/65% می‌باشد. تفاوت معنی داری بین سویه‌های لاکتوباسیل جدا شده از ماست دیده نشده است ($P>0.05$). با مقایسه میانگین‌ها سویه Y_2L_5 با قابلیت کاهش بهتر آفلاتوکسین M_1 انتخاب شده و آزمون‌ها بعدی روی آن انجام گرفت. تفاوت در میزان کاهش آفلاتوکسین به ساختار دیواره سلولی باکتری بستگی دارد (16). از آنجایی که تفاوتی در این تحقیق دیده نشد می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً این لاکتوباسیلها دیواره سلولی مشابهی را با یکدیگر دارند. مطالعات بیشتری لازم است که در خصوص شناسایی دیواره سلولی این لاکتوباسیلوس‌ها و تاثیر آن بر باند شدن آن‌ها با آفلاتوکسین‌ها انجام شود. دامنه‌ی کاهش آفلاتوکسین B_1 توسط لاکتوباسیلوس‌هایی که توسط پلتونن و همکاران در سال 2011 مورد بررسی قرار گرفتند بین 17/3%-59/7% بوده است. در تحقیق پیردس و همکاران در سال 2000 میزان باند شدن لاکتوباسیلوس‌ها با آفلاتوکسین M_1 بعد از مدت زمان 15 الی 16 ساعت در دامنه‌ی 18/1%-53/8% بوده است. در تحقیق کاباک و وار در سال 2008 میزان

جدول 1. درصد کاهش آفلاتوکسین M_1 توسط سویه‌های ایزوله شده از ماست‌های محلی*
*(میانگین \pm انحراف معیار، n=3)

ردیف	کد جدایه	منبع ایزوله شده	% کاهش آفلاتوکسین بعد از 2 h
1	Y_1L_4	ماست لبقوان	49/98 \pm 1/75
2	Y_2N_2	ماست خیک	49/68 \pm 1/49
3	Y_1P_9	ماست لبقوان	47/65 \pm 0/58
4	Y_2L_5	ماست خیک	51/26 \pm 0/94
5	Y_2A_{13}	ماست خیک	48/18 \pm 3/95
6	$Y_2 b_9$	ماست خیک	51 \pm 1/36
7	$Y_2 b_4$	ماست خیک	49/08 \pm 5/44
8	$Y_2 F_3$	ماست خیک	48/69 \pm 2/72
9	$Y_2 F_9$	ماست خیک	48/75 \pm 2/77
10	$Y_2 C_4$	ماست خیک	50/66 \pm 1/69

جدول 2. بررسی اثر زمان در کاهش آفلاتوکسین M_1 توسط سلول‌های زنده و حرارت دیده Y_2L_5

زمان (h)	% کاهش آفلاتوکسین در سلول زنده	درصد کاهش آفلاتوکسین در سلول حرارت دیده
0	49/9 \pm 1/14	51/6 \pm 2/26
4	51/52 \pm 2/58	56/4 \pm 2/7
24	60/76 \pm 2/97	57/65 \pm 2/59



نمودار 1. تاثیر زمان‌های مختلف در کاهش آفلاتوکسین توسط سلول‌های زنده Y_2L_5

به 56% شد. تیمار اتوکلاو میکروب ها به مدت 10 دقیقه ای جذب را تا 79% افزایش داد (18). افزایش جذب در تیمار های فیزیکی بیانگر ماهیت فیزیکی اتصال آفاتوکسین B1 به سطح سلول میکروب است. این نتایج با نتایج به دست آمده از بررسی های نظامی و بژیوا روی باکتری *L. Rhamnosus* و مخمر *S. Cervisie* در کاهش اوکراتوکسین هماهنگ است. حرارت ممکن است سبب دناتورده شدن پروتئین و شکل گیری هزاران واکنش بینابینی در دیواره سلولی شود. شرایط اسیدی سبب رهایی مونومر های پلی ساکارید دیواره و شکستن آنها به آلدئیدها شود. شکست اتصالات سبب افزایش اتصال فیزیکی آفاتوکسین و ساختار دیواره سلولی می شود. همچنین 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 (11 و 19).

ساختار طبیعی ترکیبات موثر در اتصال آفاتوکسین B1 به دیواره هنوز کاملا شناخته نیست. اما به نظر می رسد کربوهیدرات های غنی از مانو پروتئین ها یا گلیکان ها در این فرآیند نقش داشته باشند. از سوی دیگر به نظر کاهش دما زیر دمای بهینه رشد سبب کاهش رشد دیواره سلولی، ملکول های مانان و B-گلوکان سلول و در نهایت کاهش جذب آفاتوکسین B1 می شود. (20).

نتیجه گیری

ایزوله های لاکتوباسیل جدا شده از ماست های محلی آذربایجان توانایی بالایی در کاهش آفاتوکسین M_1 دارند. گذشت زمان در مورد سلول های زنده سبب افزایش کاهش آفاتوکسین و در سلول های مرده بی تاثیر است. لازم است تاثیر فاکتورهای از قبیل غلظت های مختلف سم، تیمارهای فیزیکی و شیمیایی و پایداری کمپلکس باکتری- آفاتوکسین نیز مورد تحقیق قرار گیرد.

تقدیر و قدردانی

لازم است از پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی ساختمان زرتشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی به خاطر همکاری و کمک هایشان قدردانی و تشکر گردد.

کاهش آفاتوکسین M_1 توسط سلول های زنده لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در محیط بافر فسفات آلوده به 5، 10 و 20 نانوگرم در میلی لیتر از این سم در دامنه 10/22%-26/65% بوده است (17).

جمعیت سلولی باکتری ها به عنوان عامل موثری در کاهش آفاتوکسین بیان شده است. تعداد 2×10^9 CFU ml⁻¹ باکتری برای کاهش مناسب و قابل توجه آفاتوکسین B در تحقیق نظامی و همکاران، ذکر شده است. در تحقیق مشابه دیگری لینه و براکت اعلام کردند که تعداد سلول های زنده باکتری می بایست 1×10^9 CFU ml⁻¹ و یا حتی بیشتر باشد. در تحقیق کاباک و وار در سال 2008 نیز فاکتور جمعیت سلول باکتریایی مهمترین نطفه بحرانی جهت تاثیرگذاری بر میزان کاهش آفاتوکسین بیان شده است. در تحقیق حاضر نیز میزان موثر سلول باکتریایی 1×10^9 CFU ml⁻¹ در نظر گرفته شد (16).

در تحقیق کاباک و وار در سال 2008 باند شدن 6 سویه لبنی لاکتوباسیل و بیفیدوباکتریوم در محیط بافر مورد آزمون قرار گرفت. مدت زمان های مختلف بر روی میزان کاهش آفاتوکسین M_1 بی تاثیر بوده است. نظامی و همکاران نیز در تعیین زمان های مختلف در کاهش آفاتوکسین B1 همین نتیجه را بدست آوردند در حالی که پلتون در سال 2001 مشاهده کرد که *L. amylovarus CSCCI160* با گذشت زمان میزان بیشتری از آفاتوکسین را کاهش می دهد (16). در این بررسی مقایسه ای بین زمان های مختلف در میزان باند شدن و کاهش آفاتوکسین توسط سویه ای منتخب تفاوت معنی داری را نشان داده است. بدین معنا که با گذشت زمان جذب بیشتری از آفاتوکسین توسط سلول های زنده صورت گرفته است. در حالی که فاکتور زمان در کاهش آفاتوکسین توسط سلول های مرده موثر نبوده است. عدم تاثیر زمان در کاهش آفاتوکسین در سلول های حرارت دیده را می توان به دناتورده شدن پروتئین ها و از بین رفتن اتصالات بین پلی ساکاریدها، پپتیدها و پروتئین ها نسبت داد. به نظر می رسد حداکثر باند شدن در همان ساعت صفر صورت گرفته است و گذشت زمان تاثیری در افزایش میزان جذب ندارد.

در مطالعه ای شیتی و همکاران اثر دما در جذب و کاهش آفاتوکسین B1 را بررسی و مقایسه جذب در دماهای 15 و 37 درجه سانتی گراد نشان داد میزان جذب در 15°C بسیار کمتر از 37°C است. اگر چه میزان جذب در دامنه دمایی 25°C-37°C ثابت است. تیمار حرارتی 52°C به مدت 5 دقیقه سبب افزایش جذب از 38% به 46% و بعد از 10 دقیقه

References

1. Ambadoyiannis G, Hatzikamari M. *Probiotic and technological properties of enterococci isolates from infants and cheese*. Food Biotechnology. 2005; 18(3): 307-325
2. Aibara K, Miyaki K. *Aflatoxin and its radiosensitivity*. National Inst. of Health, Tokyo, 1970.
3. Dalié D, Deschamps A, Richard-Forget F. *Lactic acid bacteria-Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review*. Food Control. 2010;21(4):370-80.
4. Hernandez-Mendoza A, Garcia HS, Steele JL. *Screening of Lactobacillus casei strains for their ability to bind aflatoxin B1*. Elsevier; 2009; 1064-8.
5. Bennett GA, Anderson RA. *Distribution of aflatoxin and/or zearalenone in wet-milled corn products: a review*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1978;26(5):1055-60.
6. Caloni F, Stamatia A, Friggä G, De Angelis I. *Aflatoxin M1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model*. Elsevier; 2006. p. 409-15.
7. Commissions CA. *Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk*. Codex committee on food additives and cotaminants. 33rd sessions, Hauge, The Netherlands. 2001.
8. Tajkarimi M, Shojaee Aliabadi F, Salah Nejad M, Pursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. *Seasonal study of aflatoxin M contamination in milk in five regions in Iran*. Elsevier. 2007;346-9.
9. Farombi EO. *Review-Aflatoxin contamination of foods in developing countries: Implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies*. African Journal of Biotechnology. 2006;5(1).
10. Fuchs S, Sontag G, Stidl R, Ehrlich V, Kundi M, Knasmüller S. *Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria*. Food and chemical toxicology. 2008;46(4):1398-407.
11. Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. *Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1*. Food and chemical toxicology. 1998;36(4):321-6.
12. Salminen S, Von Wright A. *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*: CRC Press.
13. Tajabady EM, Hejazi MA, Ghafary R, Jafari P. *Study on antagonistic activity of acid and bile tolerance Lactobacillus isolated from traditional dairy products*. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2009;12:17-27.
14. Tajabady EM, Hejazi MA, Noohi A. *Study on probiotic properties of Lactobacillus isolated from traditional dairy products of Lighvan*. Quarterly Journal of Science, Tarbiat Moallem University. 2008;7:941-52.
15. Hernandez-Mendoza A, Garcia HS, Steele JL. *Screening of Lactobacillus casei strains for their ability to bind aflatoxin B1*. Food and chemical toxicology. 2009;47(6):1064-8.
16. Kabak B, Var I. *Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by Lactobacillus and Bifidobacterium strains*. Taylor & Francis. 2008;617-24.
17. 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 of Food Protection, 174;. 2000;63(5):645-50.
18. Shetty, P. H. and L. Jespersen. *Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents*. Trends in Food Science & Technology; 2006; 17(2): 48-55.
19. Bejaoui, H., F. Mathieu. *Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological Saccharomyces strains*. Journal of applied microbiology. 2004; 97(5): 1038-1044.
20. Yiannikouris, A., J. Francois. *Adsorption of Zearalenone by beta-D-glucans in the Saccharomyces cerevisiae cell wall*. Journal of Food Protection. 2004; 67(6): 1195-1200.