# بررسی توانایی سویه های لاکتوباسیل جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی در حذف آفلاتوکسین $B_1$

مریم تاج آبادی ابراهیمی[۱]*، هدی بهرامی[۲]، مریم هاشمی[۳]، منصوره مظاهری[۴]، پروانه جعفری[۵]

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

۲- کارشناس زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

۳- استادیار پژوهشی بخش تحقیقاتی بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

۴- کارشناس مسئول گروه پژوهشی مواد غذایی پژوهشگاه استاندارد

۵- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک

**(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۳)**

## چکیده

آفلاتوکسین ها از متابولیت های ثانویه قارچ ها با بیشترین درجه مسمومیت در بین انواع مایکوتوکسین ها هستند. روشهای مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای کاهش میزان آفلاتوکسین ارزیابی شده است. یکی از روش های بیولوژیک کاهش آفلاتوکسین کاربرد باکتری‌های مفید مثل باکتری‌های اسید لاکتیک جهت حذف توکسین از محیط است. بسیاری از مطالعات اتصال فیزیکی لاکتوباسیل ها به موتاژن و حذف آنها از محیط را عامل اثر حفاظتی می دانند. در این بررسی توانایی جذب و کاهش آفلاتوکسین $B_1$ برخی لاکتوباسیل‌های جداشده از فرآورده‌های لبنی سنتی با روش الایزا و HPLC سنجیده و مقایسه شد. نتایج بدست آمده از غربال لاکتوباسیل‌ها با روش الایزا نشانگر تفاوت توانایی لاکتوباسیل‌ها در کاهش آفلاتوکسین $B_1$ می‌باشد. مقایسه نتایج دو روش الایزا و HPLC نشان داد روش الایزا به دلیل سرعت و سهولت انجام آزمون‌ها روش مناسبی برای غربال و انتخاب اولیه سویه‌های دارای توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 بوده اما در گام‌های بعدی بایستی از روش‌های کمی حساس‌تر مانند HPLC استفاده کرد. بررسی های تکمیلی *in vitro* و *in vivo* می تواند منجر به معرفی سویه‌های بومی ایران با پتانسیل کاربرد در صنایع مرتبط شود. از این سویه ها می‌توان در صنایع غذایی و تهیه خوراک دام و طیور به منظور کاهش آفلاتوکسین $B_1$ استفاده نمود.

**کلید واژه‌گان:** لاکتوباسیل، فرآورده‌های لبنی، آفلاتوکسین $B_1$

* مسئول مکاتبات: m.tajabadi@iauctb.ac.ir



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

## ۱- مقدمه

آفلاتوکسین ها متابولیت های ثانویه تولید شده به وسیله قارچ ها می باشند که دارای بیشترین درجه مسمومیت در بین سایر سموم قارچی یا مایکوتوکسین ها هستند. آفلاتوکسین ها به طورعمده توسط گونه های مختلف قارچ آسپرژیلوس مانند پارازیتیکوس و فلاووس تولید می‌شوند. به دلیل آنکه تولید این گروه از سموم قارچی ابتدا در آسپرژیلوس فلاووس شناسایی شده است به نام آفلاتوکسین خوانده می شوند[۱].

انواع مختلف آفلاتوکسین ها شناسایی شده است که در ساختار همگی آنها دو حلقه فوران و یک هسته کومارین متصل به لاکتون وجود دارد. از انواع مهم آفلاتوکسین‌ها می‌توان به آفلاتوکسین‌های B1, B2 , G1 , G2 , M1 اشاره نمود [۱, ۲].

آفلاتوکسین ها منجربه القاء سرطان در اندامها بخصوص کبد می شوند. مصرف مستقیم آفلاتوکسین از طریق خوردن غذاهای آلوده با منشا گیاهی مانند غلات، حبوبات، میوه‌ها و دانه های روغنی و ادویه جات و مصرف غیر مستقیم از طریق خوردن شیر یا فرآورده‌های آن، گوشت و تخم مرغ حاوی آفلاتوکسین بوجود می‌آید. مسمومیت ناشی از مصرف مستقیم به شدت حادتر است زیرا در مصرف مستقیم آفلاتوکسین B1 عامل مسمومیت است[۱, ۳].

از سوی دیگر آفلاتوکسین در محصولات کشاورزی زیان‌های جبران ناپذیری را به اقتصاد کشور وارد ساخته است. به طور مثال می توان به ارجاع ۷۶۹ محموله غذایی صادر شده به اروپا در سال ۱۳۸۲اشاره کرد. با توجه به حجم بالای میزان پسته مرجوعی در حد ۵۰۸ محموله، اتحادیه اروپا خواستار رسیدگی به وضعیت آلودگی آفلاتوکسین شد. بنابراین نه تنها مهار رشد کپک‌ها به منظور کاهش تولید آفلاتوکسین بلکه تخریب و کاهش آفلاتوکسین موجود در مواد غذایی از اولویت‌های تحقیقاتی کشور است[۴].

در پژوهش های متعددی روشهای مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای کاهش میزان آفلاتوکسین ارزیابی شده است. به طور کلی هر فرآیندی که به منظور سم زدایی به کار رود نباید منجر به تولید ترکیبات سمی و یا تغییر در خواص تغذیه ای محصول فرآوری شده شود. از سوی دیگر روش پیشنهادی بایستی آسان، ارزان و قابل اجرا در صنایع مرتبط باشد [۵, ۶].

با در نظر گرفتن نگرانی های مصرف کنندگان در زمینه مصارف افزودنی های شیمیایی و تمایل روزافزون به مصرف غذاهای سالم و عاری از هر گونه مواد سنتتیک ارائه راهکارهای همسو با چنین نگرشی از اهمیت بسیاری برخوردار است. گزارشاهای متعددی مبنی بر اثر حفاظتی باکتری‌های اسید لاکتیک در برابر عوامل موتاژن مانند آمین های هتروسیکلیک، ترکیبات ان- نیتروز و آفلاتوکسین ها منتشر شده است[۷]. بسیاری از این مطالعات اتصال فیزیکی لاکتوباسیل‌ها به موتاژن و حذف آنها از محیط را عامل اثر حفاظتی می‌دانند[۷, ۸]. در مطالعه‌ای هاسکارد و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که دو سویه پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) و *Lactobacillus rhamnosus* LC-705 (DSM 7061) توانایی حذف ۷۶٪ از توکسین محلول بافر فسفات حاوی ۶/۶ng آفلاتوکسین B1 را دارند[۶].

روش های مختلفی در مطالعات مربوط به اندازه گیری باقیمانده انواع آفلاتوکسین به کار می رود که از رایج ترین آنها انواع روش های کروماتوگرافی شامل کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی مایع/اسپکتروسکوپی جرمی/اسپکتروسکوپی جرمی(LC/MS/MS) می باشند علاوه بر آن استفاده از روش های سریع نیز توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است. از بین روش های سریع به کار رفته در اندازه گیری آفلاتوکسین می توان به روش الایزا (ELISA) و روش های مبتنی بر فلوریمتری اشاره نمود[۹, ۱۰].

بررسی توانایی اتصال و کاهش آفلاتوکسین B1 بوسیله لاکتوباسیل های بومی جهت استفاده و کاربرد در صنایع غذایی، تخمیری و مکمل های غذایی حائز اهمیت است. انواع فرآورده های لبنی سنتی منبع بسیار غنی از انواع باکتری های اسید لاکتیک با پتانسیل های متنوع می باشند. بر این اساس هدف از این بررسی ارزیابی توانایی اتصال و حذف آفلاتوکسین $B_1$ از محلول، توسط ۵۰سویه لاکتوباسیل جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی سنتی به دو روش الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) بوده است. از آنجایی که باکتری های مورد نظر از منابع لبنی جدا شده اند، در صورت داشتن قابلیت سم زدایی بکار گیری بعدی آن ها در فرآورده‌های لبنی صنعتی نیز آسان تر خواهد بود.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- باکتری ها و شرایط رشد

در این تحقیق از ۴۹ سویه لاکتوباسیل جدا شده از انواع فرآورده‌های لبنی تخمیری سنتی ایران (ماست، دوغ، پنیر و کشک) استفاده شد [۱۱]. سویه ها بر اساس نوع محصول لبنی، منطقه تهیه نمونه و مورفولوژی کلنی کد گذاری شده اند. حروف اول کدهای مربوطه نشانگر نوع محصول لبنی است به طوری که Y: ماست،D: دوغ، C: پنیر، و K: کشک را نشان می‌دهد. لاکتوباسیل‌های مورد نظر در محیط MRS broth(de Man, Rogosa and Sharpe)، دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و شرایط بی‌هوازی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی-گراد سانتریفیوژ و روماند تحت شرایط استریل جدا شد. سلول‌های ته نشست سه بار با بافر فسفات سدیم۶/۵ = pH شستشو شد. در نهایت سلول های شسته شده تحت شرایط استریل در بافر فسفات سدیم حل شد. کدورت باکتری در بافر فسفات با دستگاه اسپکتروفتومتر در محدوده ۱ $OD_{600nm}$=(۱×۱۰^۱۰CFU/ml) تنظیم شد. سپس تعداد باکتری زنده در ۱$OD_{600nm}$= با روش پورپلیت تعیین شد [۱۲].

### ۲-۲- تهیه محلول آفلاتوکسین B1

۱ میلی گرم آفلاتوکسین B1(Sigma 6636) در ۱۰ ml متانول(HPLC grade, Sigma 34860) حل شد. به منظور تهیه محلول ۱۰۰ µg/mlآفلاتوکسین، بافر فسفات مستقیما به سوسپانسیون اضافه و متانول محلول در حمام آب گرم ۸۰°C به مدت ۱۰ دقیقه تبخیر شد. غلظت آفلاتوکسین با روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۳۵۴ نانومتر بر اساس استاندارد ۶۴۰۱ ملی تعیین شد. محلول‌های استاندارد تا زمان استفاده در ظروف شیشه ای تیره در دمای ۴ °C نگهداری شدند[۱۳].

### ۲-۳- ارزیابی کاهش آفلاتوکسین B1

به منظور تهیه غلظت۵ µg/ml محلول آفلاتوکسین B1، ۵۰µl از محلول ذخیره به۹۵۰ µl بافر فسفات استریل اضافه شد. ۱ میلی لیتر بافر فسفات حاوی ۱۰^۱۰ CFU/ml باکتری سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰°C) و ته نشست به محلول آفلاتوکسین تهیه شده اضافه شد. سوسپانسیون حاصله به مدت ۲ ساعت در شیکر انکوباتور با دمای۲۵ C°و ۸۰ rpm نگه داری شد. در نهایت سلول‌ها پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ ۲۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۱۰ °C از مایع رویی جدا شد. شایان ذکر است از آنجا که کیت الایزا قادر به تعیین آفلاتوکسین بیشتر از ۵۰ppb نبود نمونه‌ها بعد از دومرحله سریال رقت ارزیابی شدند [۱۴].

### ۲-۴- تعیین آفلاتوکسین باقی مانده در بافر به روش الایزا

جهت تعیین آفلاتوکسین باند نشده از کیت الیزا ۹۶ تایی آفلاتوکسین B1(R-biopharm) ساخت کشور آلمان استفاده شد. این روش یک روش ایمونواسی آنزیم رقابتی و بر پایه واکنش آنتی‌ژن آنتی‌بادی است . طبق دستورالعمل چاهک ها با آنتی‌بادی بر علیه آفلاتوکسین B1 استاندارد یا نمونه های مورد بررسی، پوشانده شد ند. با اضافه کردن آفلاتوکسین B1 استاندارد (کنترل) یا نمونه، آنتی بادی‌ها به طور نسبی بر اساس غلظت آفلاتوکسین موجود به آن متصل می‌شوند. آنتی بادی های آزاد در مرحله بعد به وسیله توکسین نشاندار شده با آنزیم کونژوگه متصل می‌شوند. سپس سوبسترای آنزیم کروموژن به چاهک‌ها اضافه شد. واکنش پس از طی دوره انکوباسیون با اضافه کردن ترکیب متوقف کننده خاتمه یافت. تغییر رنگ آبی به زرد در دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ nm ارزیابی شد[۱۵]. پس از رسم منحنی استاندارد آفلاتوکسین B1، نتایج حاصل از اندازه گیری باقیمانده سم در ۴۹ نمونه مورد بررسی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

### ۲-۵- تعیین آفلاتوکسین باقی مانده در بافر به روش HPLC

ایزوله هایی که بالاترین میزان کاهش آفلاتوکسین B1 را در روش الایزا نشان دادند جهت بررسی و تایید نتایج با روش HPLC انتخاب شدند. همچنین ایزوله ای که کمترین میزان جذب و کاهش آفلاتوکسین B1 را نشان داد نیز جهت مقایسه نتایج در دو روش آزمون نیز در این مرحله انتخاب و ارزیابی شد.

با توجه به حساسیت دستگاه HPLC و جلوگیری از اشباع شدن ستون ایمنوافینیتی مورد استفاده



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

(C18 column Supelco Discovery® 250× 4.6mm I.D., 5mm particle diameter) از سم، نمونه ها به صورت رقیق شده و از هر کدام به میزان ۱۰ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد. ستون مورد استفاده فاز متحرک مورد استفاده شامل ۶۰٪ آب دوبار تقطیرشده، ۳۰٪ متانول و ۲۰٪ استونیتریل بود که برای مشتق سازی و افزایش حساسیت فلورسانس آفلاتوکسین B1، به یک لیترمخلوط آن، به مقدار ۳۵۰ میکرولیتر اسید نیتریک ۴ مول در لیتر و ۱۲/. گرم برمید پتاسیم اضافه شد. اندازه گیری و تشخیص پیک آفلاتوکسین B1 در طول موج تحریک ۳۶۵ نامنومتر و طول موج نشر۴۳۵ نانومتر انجام پذیرفت [۱۶]. برای تعیین مقدار آفلاتوکسین B1 در نمونه ها از محلول های استاندارد این سم که در غلظت های مختلف تهیه شده بود، به منظور رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

میانگین مقادیر جذب مربوط به محلول های استاندارد و نمونه ها بر میانگین جذب کنترل تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب شد. غلظت آفلاتوکسین B1 هر یک از نمونه ها با مقیاس ppb با توجه به میزان جذب بر اساس منحنی استاندارد تعیین و مقادیر واقعی غلظت آفلاتوکسین B1 نمونه ها با توجه به ضریب رقت با استفاده از نرم افزار RIDAWIN اندازه گیری شد.

### ۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون ها در سه تکرار انجام شد. داده های حاصل نیز با استفاده از نرم افزار SPSS و با روش آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه تفاوت میانگین ها نیز به روش دانکن انجام شد.

## ۳- یافته ها

### ۳-۱- ارزیابی قابلیت کاهش آفلاتوکسین $B_1$ ایزوله های مورد بررسی به روش الایزا

منحنی استاندارد آفلاتوکسین $B_1$ در دامنه ppb ۰-۵۰ توسط نرم افزار RIDAWIN رسم شد (شکل ۱) غلظت آفلاتوکسین B1 باقیمانده در هر کدام از نمونه‌ها نیز با استفاده از منحنی استاندارد آفلاتوکسین و نرم افزار کیت الایزا محاسبه شد. نتایج توانایی اتصال ایزوله‌های مختلف لاکتوباسیل جداسازی شده از انواع فرآورده‌های لبنی ستنی به آفلاتوکسین B1 در شکل ۲ نشان داده شده است.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آنالیز واریانس قابلیت اتصال ایزوله‌های مورد بررسی به آفلاتوکسین تفاوت معنی‌داری داشت ($p<0.05$). بیشترین میزان جذب در ایزوله P3 جدا شده از ماست ثبت شد. کمترین میزان جذب نیز مربوط به ایزوله های D1a1, C6m1, C3n1, C6p1, K2l3, K1l4 به ترتیب جداشده از دوغ لیقوان، پنیرتازه سبلان، پنیرلیقوان و کشک بود.

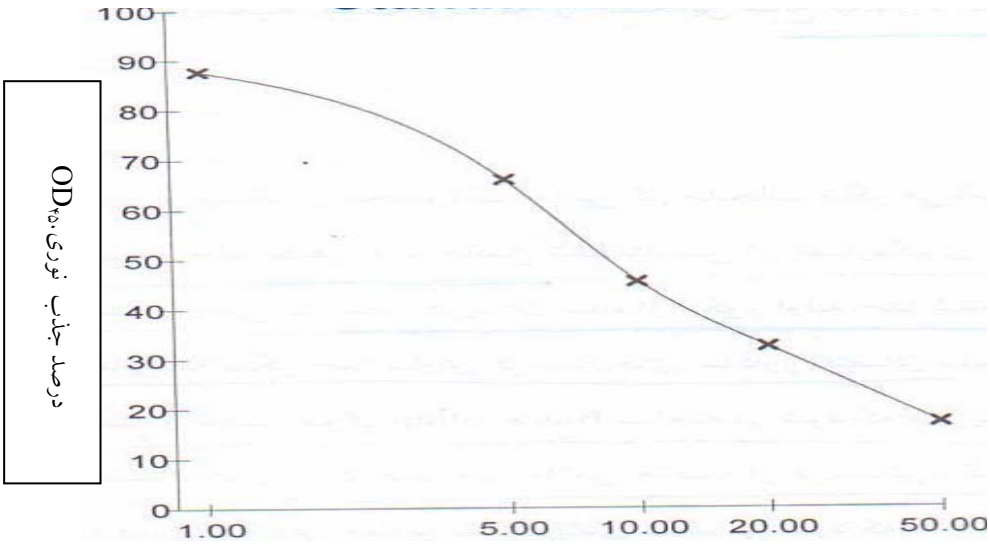
بر اساس نتایج حاصل از روش الایزا دامنه درصد جذب آفلاتوکسین B1 از ۹/۵٪ تا ۷۷/۸۵ ٪ متغییر بود. جذب بالای ۷۵٪ تنها در ایزوله Y2p3 مشاهده شد. در حالیکه ۴۹ ایزوله دیگر کمتر از ۴۵٪ قابلیت جذب نشان دادند. با توجه به تنوع منابع جداسازی لاکتوباسیل ها ارتباط معنی داری بین منبع جداسازی ایزوله ها و توانایی جذب آفلاتوکسین B1 مشاهده نشد. اما نتایج حاصل از مقایسه تفاوت میانگین توان سم زدایی ایزوله های مختلف به روش دانکن نیز حاکی از معنادار بودن تفاوت قابلیت ایزوله های مورد ارزیابی بدون در نظر گرفتن منبع جداسازی در اتصال به آفلاتوکسین B1 است.

### ۳-۲- ارزیابی قابلیت اتصال ایزوله های مورد بررسی به روش HPLC

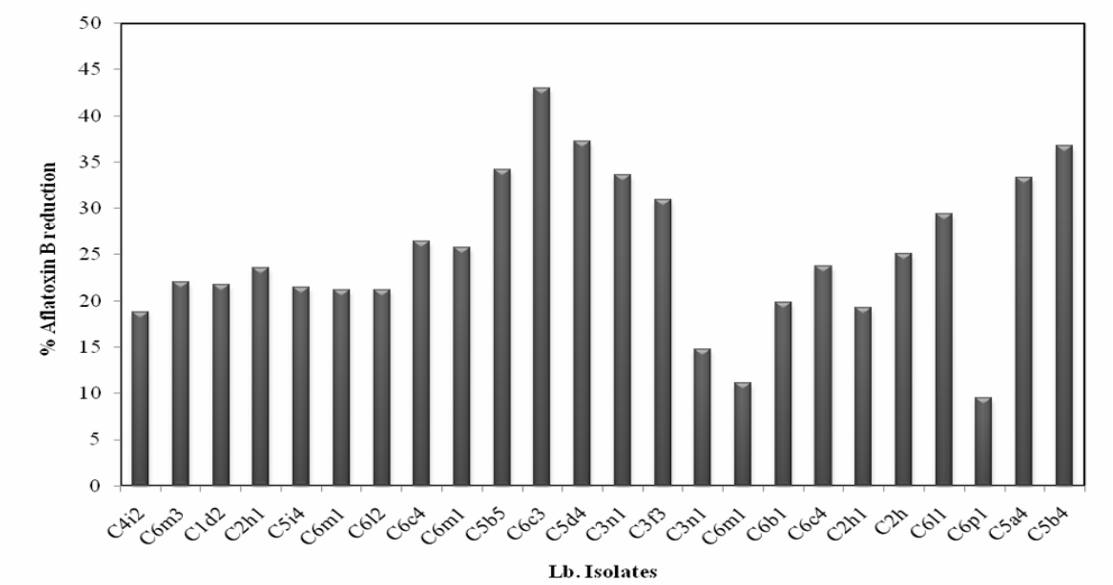
به منظور بررسی کارایی روش الایزا در تعیین غلظت آفلاتوکسین B1، قابلیت سم‌زدایی شش ایزوله شامل پنج ایزوله برتر به همراه ضعیف‌ترین ایزوله (بر اساس نتایج حاصل از روش الایزا) با استفاده از روش HPLC مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بررسی آفلاتوکسین B1 باقی مانده در بافر فسفات با روش HPLC نشان داد که ایزوله Y2p3 با ۶۰/۲۶ppb٪ کاهش، بیشترین جذب وC6p1 با ۱۱/۵۶٪کاهش آفلاتوکسین باقیمانده کمترین قابلیت جذب را نسبت به دیگر ایزوله‌های مورد بررسی داشته‌اند (شکل۳).



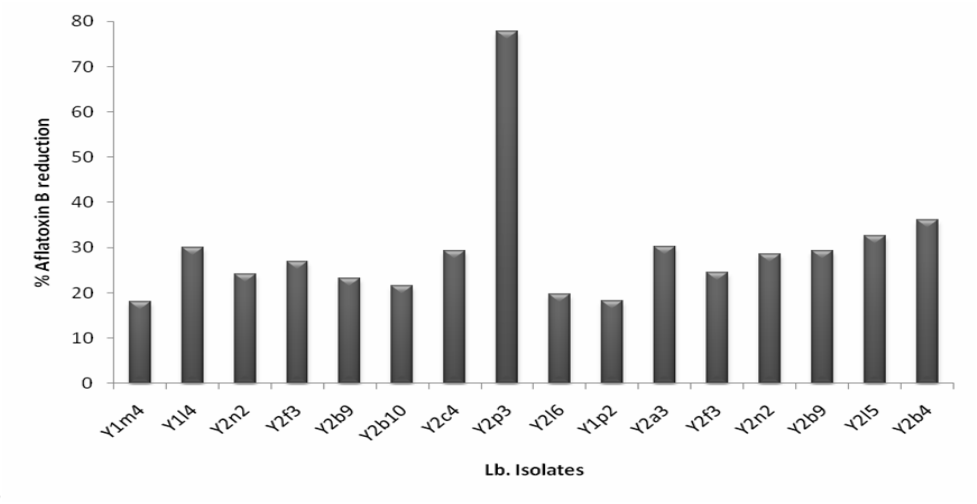
[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]




**شکل ۱** منحنی استاندارد آفلاتوکسین B1



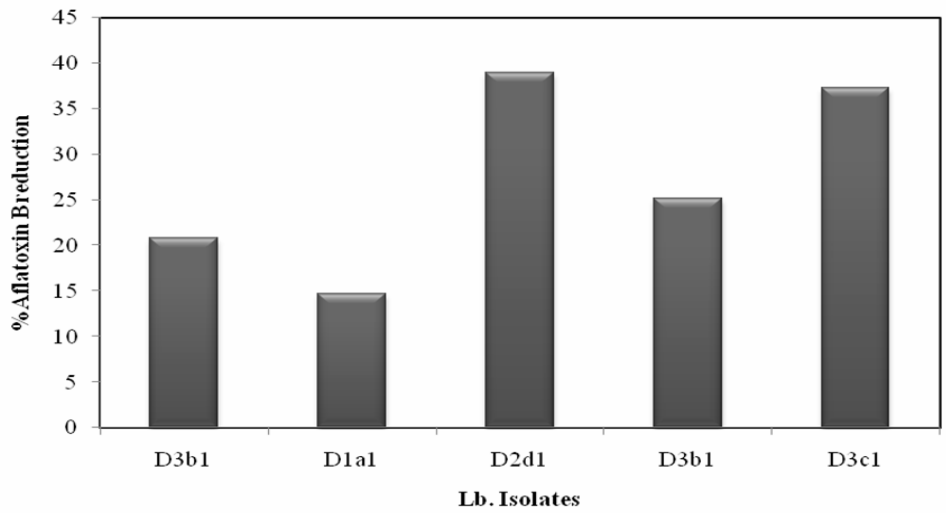

الف)



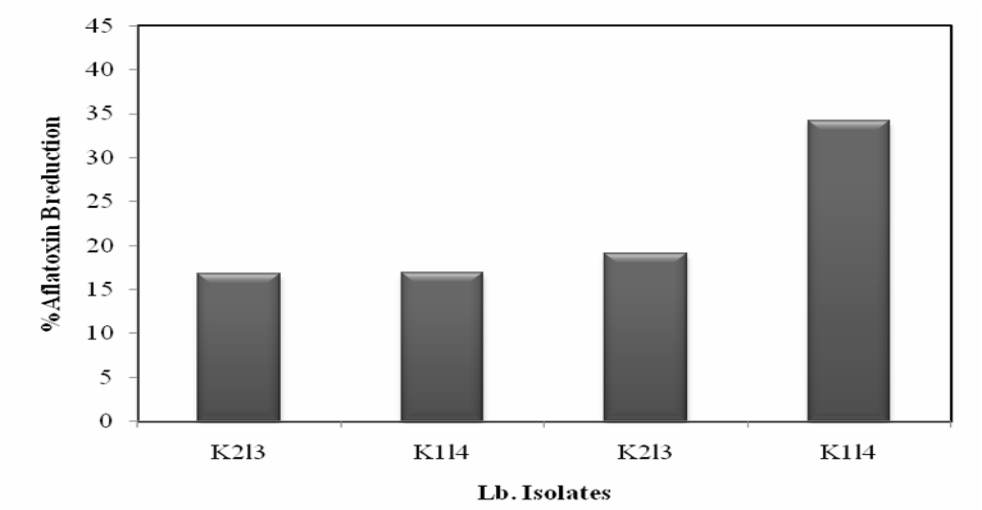

ب)



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

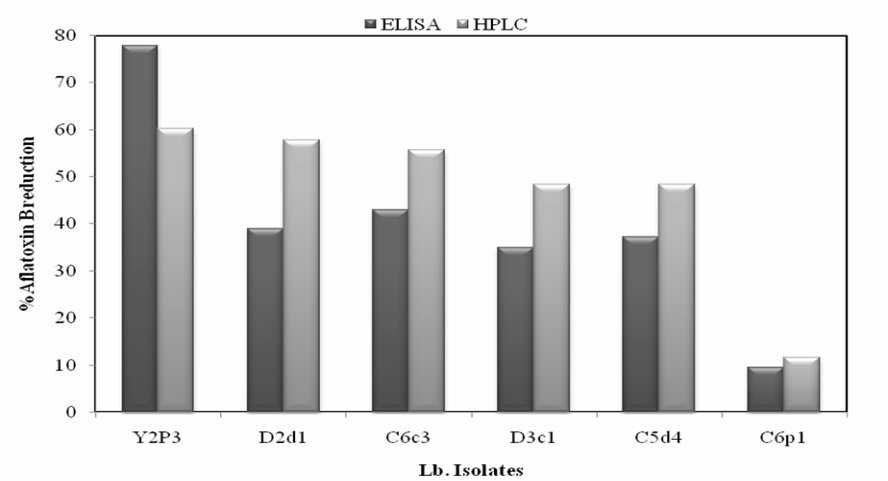



ج)




د)

**شکل ۲** قابلیت کاهش آفلاتوکسین $B_1$ در بافر فسفات ایزوله‌های لاکتوباسیل جداسازی شده از الف) پنیر ب)ماست ج)دوغ و د)کشک محلی به روش الایزا پس از دو ساعت گرمخانه‌گذاری




**شکل ۳** مقایسه نتایج حاصل از دو روش الایزا و HPLC در تعیین قابلیت اتصال ایزوله‌های لاکتوباسیل به آفلاتوکسین $B_1$ در بافر فسفات

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

## ۴- بحث

اتصال عوامل سرطان زا بخصوص مایکوتوکسین ها بعنوان مکانیسم محتمل ضدسرطانی برخی باکتری‌های اسید لاکتیک در مطالعات متعدد *in vitro, in vivo* به اثبات رسیده است. شواهد بدست آمده نشان می‌دهد اتصال عوامل سرطان زا بخصوص مایکوتوکسین‌ها به دیواره باکتری های اسید لاکتیک سبب ممانعت از جذب گوارشی و کاهش این سموم در مواد غذایی می شود[۱۷].

در این تحقیق کارایی دو روش الایزا و HPLC در اندازه گیری قابلیت ۴۹ ایزوله لاکتوباسیل جداسازی شده از چهار نوع محصول لبنی محلی در کاهش آفلاتوکسین B1 باقی مانده در بافر فسفات مقایسه شد. غربال سویه های منتخب با روش الایزا نشان داد توانایی اتصال در بین ایزوله ها از ۹/۵٪ تا ۷۷/۸۵٪ متغییر است. این نتیجه با نتایجی که مندوزا و همکاران (۲۰۰۹) و هاسکارد و همکاران (۲۰۰۱) بدست آوردند همخوانی دارد. مندوزا و همکاران توانایی اتصال به آفلاتوکسین B1 در بین سویه‌های مختلف *L. casei* را بررسی و نشان دادند، *L. casei*L30 جدا شده از مدفوع با جذب ۴۹/۲٪ از ۴/۶ µg/ml آفلاتوکسین B1 محیط بالاترین توانایی جذب را در بین سویه های تحت بررسی داشته است. پژوهش فوق الذکرهمچنین نشان داد نه تنها اتصال در بین سویه های مختلف *L. casei* متغییر است بلکه شرایط محیطی گوناگون نیز در روند و میزان اتصال موثر می باشد[۶, ۱۸].

هاسکارد و همکاران (۲۰۰۱) توانایی اتصال به آفلاتوکسین $B_1$ در بین ۱۲ سویه از باکتری های اسید لاکتیک را بررسی و نشان دادند که *L. rhamnosus* GG بعد از ۵ بار شستشو ۷۱٪ آفلاتوکسین B1 محیط را بصورت باند شده حفظ می کند. این بررسی‌ها نشان داد اتصال آفلاتوکسین $B_1$ برای سلول های زنده و کشته شده با حرارت بصورت خارج سلولی است و تیمار اسیدی سبب افزایش اتصال می شود در تمامی موارد توان اتصال آفلاتوکسین $B_1$ نه تنها به سویه باکتری اسید لاکتیک بلکه به شرایط فیزیکی و شیمیایی محیطی نیز وابسته بود[۶].

ایزوله های Y2p3, D2d1, C6c3, D3c1, C5d4, C6p1 با بالاترین قابلیت کاهش آفلاتوکسین $B_1$ بر اساس نتایج حاصل از روش الایزا در کنار ایزوله C6p1 با کمترین میزان جذب و کاهش آفلاتوکسین $B_1$ جهت تایید و مقایسه نتایج دو روش الایزا با روش HPLC انتخاب شدند.اگرچه روند نتایج حاصل از HPLC با داده های حاصل از روش الایزا همخوانی داشت مقایسه تفاوت های حاصل از ارزیابی قابلیت حذف آفلاتوکسین B1 به دو روش به کار رفته در این پژوهش حاکی از ۳۲-۱۷٪ تفاوت در نتایج به دست آمده است. نتایج این تحقیق با اظهارات Wilson مبنی بر این که روش الایزا یک روش کیفی یا نیمه کمی است و برای غربال-گری مناسب است مطابقت دارد[۱۹]. بر این اساس چنانچه به دلیل سرعت در غربالگری اولیه از روش الایزا استفاده شود لازم است برای دستیابی به داده های کمی دقیق تر از روش های حساس کمی مانند HPLC استفاده شود.

## ۵- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از غربال لاکتوباسیل های مورد بررسی با روش الایزا نشان می دهد لاکتوباسیل های جدا شده از فرآورده‌های لبنی محلی دامنه وسیعی از تغییرات را در اتصال به آفلاتوکسین B1 نشان می‌دهند. مقایسه نتایج دو روش الایزا و HPLC نشان داد روش الایزا به دلیل سرعت و سهولت انجام آزمون‌ها روش مناسبی برای غربال و انتخاب اولیه سویه های دارای توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 بوده اما در گام‌های بعدی بایستی از روش‌های کمی مناسب مانند HPLC استفاده کرد. نکته قابل توجه دیگر وابستگی قابلیت اتصال به آفلاتوکسین B1 به سویه میکروبی است. در این بررسی سویه های Y2p3، C6c3 و D2d1 توانایی جذب بالای ۵۰٪ آفلاتوکسین B1 را داشته و به عنوان سویه های منتخب معرفی می‌شوند. بررسی های تکمیلی *in vitro ,in vivo* می تواند منجر به معرفی این سویه ها بعنوان سویه‌های بومی ایران با پتانسیل کاربرد در صنایع مرتبط شود. با توجه به پیشینه طولانی و ایمن بودن مصرف باکتری های اسید لاکتیک فرآورده‌های لبنی محلی در ایران از این سویه ها می‌توان در صنایع غذایی و تهیه خوراک دام و طیور به منظور کاهش آفلاتوکسین B1 استفاده نمود.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

## ۶- منابع

[1] Farombi, E.O., 2006. Aflatoxin contamination of foods in developing countries: Implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies. African Journal of Biotechnology, 5(1): 1-14.

[2] Piva, G., Galvano, F., Pietri A., Piva A., 1995. Detoxification methods of aflatoxins. A review. Nutrition Research, 15(5): 767-776.

[3] Samarajeewa, U., Sen A.C., Cohen M.D., Wei C.I., 1990. Detoxification of aflotoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. Journal of Food Protection, 53(6): 489-501.

[4] Heidarzadeh K., Raheami Badr B., Dehghani A., 2007. Evaluation of pistatue commodity. http://www.tpo.ir/tpo2/Pistachio-final.htm,

[5] Fuchs, S., Sontag G., Stidl R., Ehrlich V., Kundi M., Knasmüller S., 2008. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. Food and chemical toxicology, 46(4): 1398-1407.

[6] Haskard, C.A., El-Nezami H.S., Kankaanpaa P.E., Salminen S., Ahokas J.T., 2001. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. Applied and environmental microbiology, 67(7): 3086.

[7] Pierides, M., El-Nezami H., Peltonen K., Salminen S., Ahokas J., 2000. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. Journal of Food Protection, 63(5): 645-650.

[8] Thyagaraja, N. Hosono A., 1994. Binding properties of lactic acid bacteria from [] Idly'towards food-borne mutagens. Food and chemical toxicology, 32(9): 805-809.

[9] Hu, Y.Y., Zheng P., Zhang Z.X., He Y.Z., 2006. Determination of aflatoxins in high-pigment content samples by matrix solid-phase dispersion and high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(12): 4126-4130.

[10] Nabney J., Nesbitt B.F., 1965. A spectrophotometric method for determining the aflatoxins. Analyst, 90(1068): 155-160.

[11] Tajabadi Ebrahimi M., Ouwehand A.C., Hejazi M.A., Jafari P., 2011. *Traditional Iranian dairy products: A source of potential probiotic lactobacilli.* African Journal of Microbiology Research, 5 (1): 20-27.

[12] Tajabadi Ebrahimi, M., Jafari P., Hashemi M., Bahrami, H., 2011. Evaluation of the reduction of aflatoxin B in presence of Tarkhineh and Doogh Tarkhineh lactobacilli isolates using ELISA approach. Microbial Biotechnology, 3 (8): 43-48.

[13] Shetty P.H., Hald B., Jespersen L., 2007. Surface binding of aflatoxin B1 by Saccharomyces cerevisiae strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. International journal of food microbiology, 113(1): 41-46.

[14] El-Nezami, H., Kankaanpaa P., Salminen S., Ahokas J., 1998. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. Food and chemical toxicology, 36(4): 321-326.

[15] R-Biopharm GmbH: Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxins. Ridascreen Aflatoxin M1 Art. No: R-1101. Darmstadt, Germany, 1999.

[16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Food and feed stuffs-Determination of aflatoxins B&G by HPLC method using immunoaffinity column clean up-Test method. ISIRI 6872. 1st. Revision.

[17] Haskard C., Binnion C., Ahokas J., 2000. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by Lactobacillus rhamnosus strain GG. Chemico-biological interactions, 128(1): 39-49.

[18] Hernandez-Mendoza A., Garcia H.S., Steele J.L., 2009. Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B1. Food and chemical toxicology, 47(6): 1064-1068.

[19] Wilson D.M., 1989. Analytical methods for aflatoxins in corn and peanuts. Archives of environmental contamination and toxicology, 18(3): 308-314.

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]

# Investigation of the potential of *Lactobacillus sp*. isolated from traditional dairy products in aflatoxin $B_1$ elimination

**Tajabadi Ebrahimi, M. [1] *, Bahrami, H. [2], Hashemi, M. [3], Mazaheri, M. [4], Jaafari, P. [5]**

1. Department of Biology Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran
2. Department of Biology, Islamic Azad University, Tehran Central Branch, Tehran, Iran
3. Department of Microbial Biotechnology & Biosafety, Agricultural Biotechnology Research Inistitute of Iran (ABRII), Karaj, Iran
4. Department of Food and Agriculture, Standard Research Institute, Karaj, Iran
5. Azad Islamic university of Iran, Arak Branch, Arak, Iran

**(Received: 89/12/23 Accepted: 90/8/3)**

Aflatoxins are among the secondary metabolites of moulds that have the most toxicity between the mycotoxins. Different physical, chemical and biological approaches have been evaluated to detoxify the aflatoxins. One of the biological methods to detoxify the aflatoxin is using beneficial microorganisms such as lactic acid bacteria to remove the toxin. A lot of studies believed that physical attachment of lactobacilli to mutagens and removing them is the main protection factor. In this study the potential of some of lactobacilli that have been isolated from traditional dairy products to absorb and remove aflatoxin $B_1$ was investigated through ELISA and HPLC methods. The results obtained from screening the lactobacilli through ELISA method indicated the difference potential of lactobacilli in detoxification of aflatoxin $B_1$. Comparison the results of ELISA and HPLC methods obtained point out that ELISA as a rapid and easy method is a suitable approach in initial screening of isolates with potential of aflatoxin $B_1$ detoxification but for next steps more sensitive methods such as HPLC should be used. Complementary *in vitro* and in *vivo* studies could lead to introduce Iranian native isolates that have potential to apply in related industries. Such isolates could be used in food and feed industries to detoxify the aflatoxin $B_1$.

**Key words:** Lactobacilli, Dairy products, Aflatoxin $B_1$

* Corresponding Author E-Mail Address: m.tajabadi@iauctb.ac.ir



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-11 ]