مقاله پژوهشی

ارزیابی کارایی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس در سم‌زدایی آفلاتوکسین B1 برپایه مدل شبیه‌سازی شده‌ی ترشحات دستگاه گوارش

مهران صیادی[1×]، حسین تاجیک[2]

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۲/۰۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: از آنجایی که آلودگی با آفلاتوکسین در مواد غذایی و خوراک دام مشکل جدی برای سلامت انسان و دام است در این پژوهش توانایی کاهش آفلاتوکسین B_1توسط باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس(ATCC 4356)* در محیط شبیه‌سازی شده‌ی ترشحات دستگاه گوارش انسان حاوی شیرسترون بررسی گردید.

مواد و روش کار: بدین منظور تعداد باکتری cfu/ml 1×10^{10} و غلظت آفلاتوکسین ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد که در محیط شبیه‌سازی‌شده ترشحات مصنوعی بزاق دهانی، معده و روده کوچک انسان تلقیح گردید. در این پژوهش شش گروه تیمار در بود و نبود باکتری، شیرسترون، سوسپانسیون شیره دستگاه گوارش بررسی شد. غلظت آفلاتوکسین باقیمانده توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و تخلیص با ستون ایمونوافینیتی تعیین گردید و نتایج توسط نرم افزار آماری SPSS20 تحلیل شد. نتایج نشان داد که کاهش آفلاتوکسین B1 در تمام تیمارها با استفاده از HPLC با حد تشخیص ۰/۲۵میکروگرم بر میلی‌لیتر و حد تعیین کمی ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. مقادیر بازیافت مایکوتوکسین AFB1 بین ۸۹ تا ۹۴درصد بود منحنی درجه‌بندی آفلاتوکسین B1 با ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ در گستره غلظتی ۱تا۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر خطی بود.

یافته‌ها: بیشترین میانگین درصد حذف آفلاتوکسین B_1 توسط سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نبود شیر سترون حدود۰/۰۲۲±۷۰درصد و کمترین میزان حذف مربوط به گروه یک به میزان ۰/۰۱۷±۱۳/۸۶بود که تفاوت معنی‌داری برای شش گروه وجود داشت($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشانگر این بود که باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، عامل زیستی مناسبی برای حذف یا کاهش آفلاتوکسین B1 را در دستگاه گوارش انسان هست و همچنین علاوه بر باکتری، شیره معده و روده کوچک هم در کاهش یا حذف آفلاتوکسین B1 موثر می‌باشند.

کلیدواژه‌ها: باکتری پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس*، آفلاتوکسین B1، دستگاه گوارش، سم‌زدایی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره چهارم، ص ۲۸۱-۲۷۰، تیر ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی. تلفن: ۰۹۱۷۹۲۴۸۷۰۳

Email: mehransayadi62@gmail.com

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها، متابولیت ثانویه بعضی از قارچ‌ها ازجمله گونه‌های آسپرژیلوس می‌باشند (۱-۴) که توانایی جهش‌زایی، سرطان‌زایی و مهار سیستم ایمنی در موجودات زنده را دارند (۵،۶). این قارچ‌ها در مواد غذایی خام و محصولات کشاورزی مخصوصاً فلفل،پسته ،آجیل، انجیر و میوه خشک‌شده رشد می‌کنند (۷). ۱۸ ترکیب مختلف از آفلاتوکسین‌ها شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها شامل آفلاتوکسین B1، B2، G1 وG2 هستند و ازنظر سمیت و کمیت در مواد غذایی ،AFB_1[1] در اولویت قرار دارد (۸-۱۱). سازمان غذا و داروی آمریکا(FDA)[2]حداکثر سطح مجاز AFB_1 در مواد غذایی ۲۰ppb و AFM_1[3] در شیر را ppb ۰/۵ (نانوگرم در میلی‌لیتر) تعیین کرده است (۱۲). با افزایش دانش و آگاهی از اینکه

[1] دانشجوی دکتری تخصصی گروه بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[2] استاد گروه بهداشت موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

1 Aflatoxin B_1

2 USA Food and Drug Administration

3 Aflatoxin M_1

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

آفلاتوکسین‌ها خطر جدی برای سلامت مصرف‌کننده دارند محققان به دنبال حذف و کاهش این نوع مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی هستند (۱۳). روش‌های متعددی جهت سم‌زدایی و کاهش آن‌ها در مواد غذایی و خوراک دام آلوده مثل جداسازی فیزیکی، غیرفعال کردن دمایی، تیمار با مواد شیمیایی، تشعشع و بیولوژیکی وجود دارد (۱۴) که یکی از اساسی‌ترین روش، استفاده از باکتری‌های خانواده اسیدلاکتیک می‌باشد (۱۵،۱۶). ترکیبات دیواره سلولی باکتری‌های اسیدلاکتیک شامل ماتریکس پپتیدوگلیکان، اسیدتیکوئیک، اسید لیپوتیکوئیک، لایه پروتئین، پلی‌ساکاریدهای خنثی و آمینواسیدپیرولیزین[4] می‌باشند که خاصیت هیدروفوبی بالایی دارند و درنتیجه در سازوکار جذب سطحی توکسین‌ها آن‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند (۱۷-۱۹). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که نقش حذف مایکوتوکسین‌ها به خاطر چسبیدن توکسین به ترکیبات دیواره سلولی بیشتر از چسبیدن کووالانسی یا متابولیسم سلولی است بنابراین سلول‌های مرده هم توانایی چسبیدن و سم-زدایی را دارند (۱۷،۲۰) اما تاکنون اثر باکتری *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس*[5] در مدل شبیه‌سازی‌شده دستگاه گوارش انسان بر سم‌زدایی AFB_1 بررسی نگردیده است بنابراین هدف از این مطالعه تعیین کارایی باکتری مذکور در کاهش AFB_1 در شرایط شبیه‌سازی ترشحات دستگاه گوارش می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه، اثر شش گروه تیمار به‌صورت سه بار تکرار در غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر AFB_1 در محیط برون تنی بررسی شد که درمجموع ۱۸ نمونه آماری داریم.

طراحی آزمایش:

شش گروه تیمار این مطالعه شامل: (۱)سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه + AFB_1 (گروه کنترل منفی)،(۲) بایندر HSCAS + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه + AFB_1 (گروه کنترل مثبت)، (۳)سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + AFB_1 ، (۴)سوسپانسیون باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* + سرم فیزیولوژی + شیر استریلیزه + AFB_1 ،(۵) سوسپانسیون‌باکتری*لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + سرم فیزیولوژی + AFB_1 و(۶) سوسپانسیون باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه + AFB_1 بودند.

آماده‌سازی آفلاتوکسینB_1:

برای آماده‌سازی آفلاتوکسین از روش ال-نظامی (۱۹۹۸)[6] با تغییرات جزئی استفاده شد بدین‌صورت که، یک میلی‌گرم AFB_1 جامد(Sigma-Aldrich 6636/USA) را در حلال بنزن/استونیتریل(۹۷:۳) حل گردید و برای رسیدن به غلظت ppm ۱۰ از محلول بافر فسفات(PBS, pH 7.3) استفاده کرده و ادامه حلال بنزن/استونیتریل را توسط حمام آب با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت۱۰ دقیقه تبخیر شد، ضمناً با مخلوط کردن ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون آفلاتوکسین(۱۰ ppm)با ۱۰ میلی‌لیتر شیر استریلیزه، غلظت نهاییppm ۵ به‌دست آمد و محلول استاندارد تا زمان مصرف در ظرف شیشه‌ی تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۱).

سویه باکتری، شرایط کشت و برآورد غلظت باکتری:

باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (ATCC 4356)* به‌صورت خالص و لیوفیلیزه از کلکسیون سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد و *لاکتوباسیلوس* موردمطالعه در محیط کشت ام.آر.اس‌براث[7] تلقیح گردید و در دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد و شرایط بی‌هوازی(جار بی‌هوازی) گرمخانه‌گذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت کشت باکتری به مدت ۱۵ دقیقه با دور۳۰۰۰در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (مدلRotofix 32A شرکت HETTICH کشور آلمان) شده و مایع رویی تحت شرایط سترون خارج گردید و سلول‌های ته‌نشین را سه بار با PBS شستشو داده شد درنهایت با محلول بافر فسفات سدیم، کدورت آن را توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج۶۰۰ نانومتر و مقدار جذب حدود یک که معادل1×10^{10} cfu/mlباکتری به دست آمد. تعداد باکتری با استفاده از شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت ام.آر.اس-آگار تعیین گردید (۲۲-۲۴).

آماده‌سازی نمونه غذایی(شیر سترون):

آماده‌سازی شیر سترون مطابق روش استفاده‌شده‌ی حدادیان(۲۰۱۰) شد، در ابتدا شیر استلریلیزه ۲/۵در صد (شرکت صنایع لبنی ایران، پگاه) خریداری شد و جهت اطمینان از استریل بودن در دمای ۱۲۱درجه سانتی‌گراد و فشار۱۵ پوند بر اینچ مربع(PSI) به مدت۱۵ دقیقه سترون شد (۲۵).

آماده‌سازی مایع گوارشی(بزاق دهان،شیره معده،شیره روده):

[4] Amino Acid Pyrrolysine
[5] Lactobacillus acidophilus
[6] El-nezami
[7] deMan, Rogosa, Sharpe broth, Oxoid, UK

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

محلول بزاق دهانی، معده و روده بر طبق پروتکل فرناندز و پالنسیا[8](۲۰۰۸) آماده گردید. سوسپانسیون بزاق دهانی شبیه‌سازی‌شده حاوی 6.2 g/L NaCl ، 2.2 g/L KCl، 0.22 g/L CaCl2، 1.2 g/L NaHCO3، 0.01% lysozyme و سوسپانسیون شیره معده شبیه‌سازی‌شده حاوی 6.2 g/L NaCl، 2.2 g/L KCl، 0.22 g/L CaCl2، 1.2 g/L NaHCO3، 0.3% pepsin و سوسپانسیون شیره روده شبیه‌سازی‌شده حاوی 5 g/L NaCl، 0.6 g/L KCl، 0.3 g/L CaCl2، 0.45% bile salts، 0.1% pancreatin بود و سپس pH شیره معده را به‌وسیله اسیدکلریدریک ۰/۱مولار به ۲/۵ و pH شیره روده و بزاق دهانی به‌وسیله سود ۰/۱مولار به ۷/۵ر سانده شد. هر سه سوسپانسیون حاصله به‌وسیله میکروفیلتر ۰/۲۲میکرومتر(مدل ایواکی ساخت ژاپن)[9]استریل گردید (۲۶،۲۷).

بایندر:

بایندر آزمایشی موردا ستفاده سدیم آلومینو سیلیکات‌کلسیم-هیدراته(HSCAS)[10] است. می‌توان آن را به‌عنوان ماده رس که حاوی آلومینیوم، سیلیس، سدیم و کلسیم کاتدی قابل تعویض و آب هیدراته تعریف شده است. مقدار استفاده از این بایندر در تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر ۱۰ میلی‌لیتر بود (۲۸).

آماده‌سازی مدل غذایی، تلقیح شده با باکتری و آلوده به سم AFB_1 حاوی محیط شبیه‌سازی‌شده‌ی ترشحات دستگاه گوارش:

ابتدا AFB_1 و باکتری به شیر تلقیح گردید بدین‌صورت که بعد از شیکرکردن سوسپانسیون حاصل، غلظت سم AFB_1 و باکتری موردمطالعه به ترتیب ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و1×10^{10} cfu/ml شدند (۲۴،۲۹). سپس ۴/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصله با ۶ میلی‌لیتر از بزاق دهانی شبیه‌سازی‌شده مخلوط و به مدت۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با انکوباتور شیکردار با۸۵ rpm تحت اتمسفر نیتروژن گرمخانه قرار داده شد بعد از طی شدن زمان مذکور سوسپانسیون را به۱۲ میلی‌لیتر شیره معده شبیه‌سازی‌شده اضافه و به مدت۲ ساعت در دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و درنهایت سوسپانسیون حاصله را به ۱۲میلی‌لیتر شیره روده شبیه‌سازی‌شده منتقل و به مدت ۲ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از نمونه‌برداری ،نمونه‌ها را در میکروتیوپ منتقل و با۷۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس محلول رویی حاصله(سوپرناتانت) را در لول‌های کرایوتیوپ جمع‌آوری و تا زمان آزمون HPLC[11] در۲۰- °C نگهداری شدند ضمناً اگر زمان تهیه سوپرناتانت تا انجام تست HPLC کمتر از ۲۴ ساعت باشد می‌توانیم سوپرناتانت را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری کنیم (۲۹) دیاگرام شماتیک از مدل آزمایشگاهی در مدل گوارش تیمار۶ در شکل یک نشان داده شده است.

استخراج آفلاتوکسین B_1 از سوسپاسیون با استفاده از ستون ایمنوافینیتی:

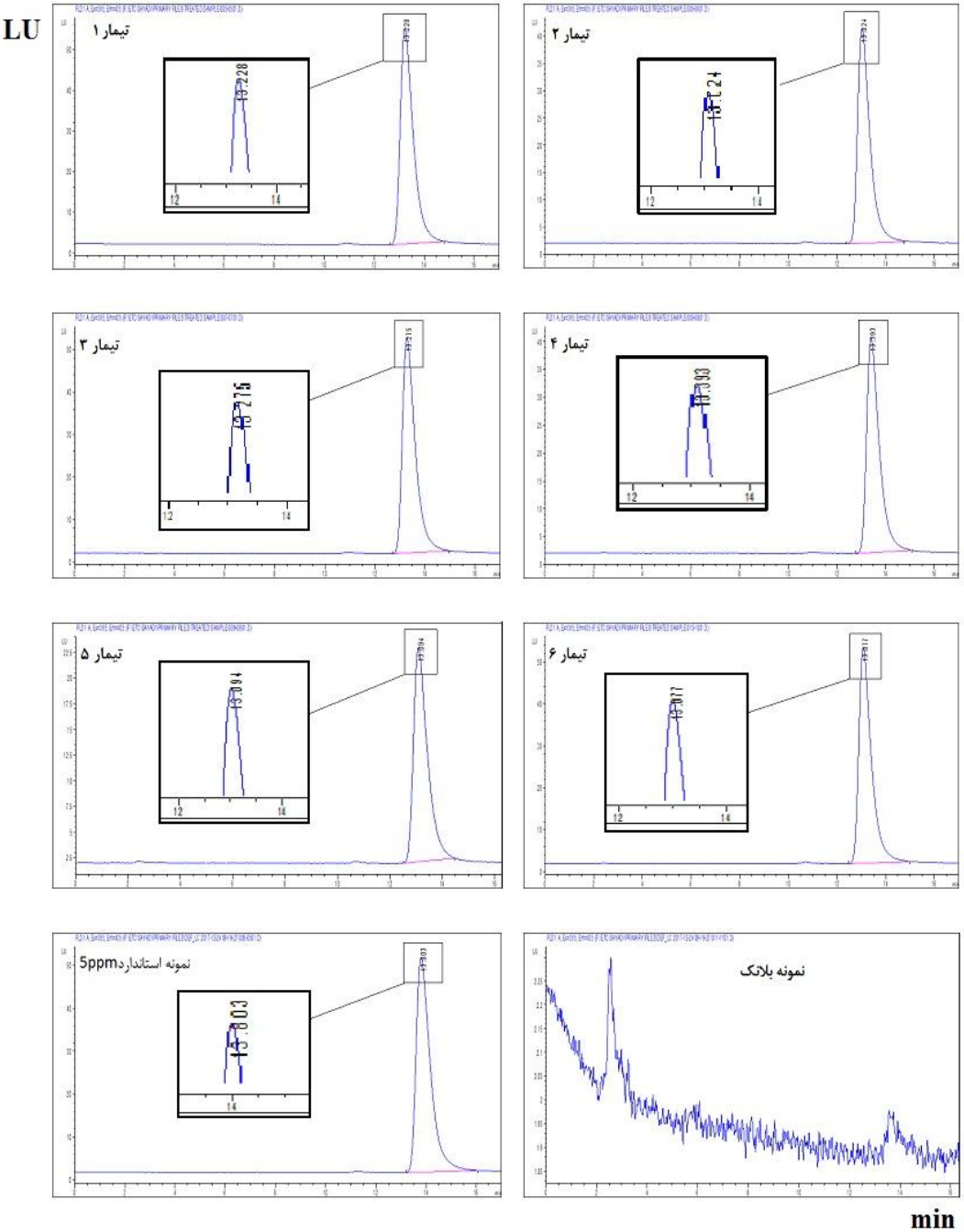
استخراج آفلاتوکسینB1 به روش باگنونو و همکارانش[12] (۲۰۰۶) با کمی تغییرات صورت گرفت بدین‌صورت که یک گرم سوسپاسیون‌های نهایی را با ۴ میلی‌لیتر حلال متانول به دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور۲۷۵۰ سانتریفیوژ شدند مایع‌رویی به‌طور کامل حذف و محلول باقیمانده را با کاغذ واتمن شماره۴ فیلتر و ۲میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده را با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شدند و سپس از ستون ایمنوافینیتی عبور داده شد و ستون دوبار با ۵۰۰ میکرولیتر متانول کروماتوگرافی شستشو و در ادامه با گاز نیتروژن حلال را خشک کردیم، آفلاتوکسین را با۵۰۰ میکرولیتر فاز حامل آب، متانول و استونیتریل با نسبت۶:۳:۲ حجمی حل شد و در آخر یک میکرولیتر به دستگاهHPLC تزریق گردید (۳۰).

اندازه‌گیری آفلاتوکسین B_1 استخراج‌شده با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا:

در این تحقیق از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی مدل Agilent Technology 1100و ستون کروماتوگرافی Agilent Zorbax XDB C18 به طول ۲۵ سانتی متر، قطر داخلی۴/۶میلی متر و مواد پر شده۵ میکرو متری استفاده شد. از آشکارساز فلورسانسRF-10AXL با طول‌موج تحریک ۳۶۵ و نشر ۴۳۵ نانومتر استفاده گردید. تنظیم دمای ستون با استفاده از آون ستون S4011دردمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. حجم تزریق یک میکرولیتر بود، فاز حامل مخلوطی از آب دیونیزه:استونیتریل:متانول (۶:۲:۳،حجمی/حجمی) بود، سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم گردید. کروماتوگرامHPLC استاندارد آفلاتوکسینB1، نمونه بلانک و شش تیمار در شکل۲ آورده شده است.

8 Fernandez de Palencia
9 Iwaki, Japan
10 Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicates
11 High-performance liquid chromatography
12 Bognanno

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]



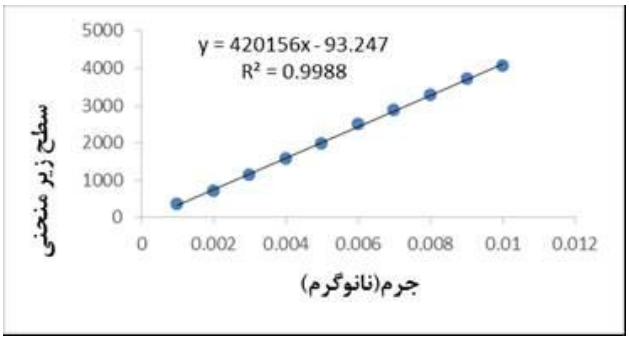
شکل(۲): کروماتوگرامHPLC نمونه استاندارد آفلاتوکسین B1 ، بلانک و شش تیمار

اعتبارسنجی روش HPLC:

خطی‌بودن، صحت، دقت، حد تشخیص (LOD) و حد تعیین کمی (LOQ) برای آزمایش اعتبار از روش HPLC مورد استفاده برای آفلاتوکسین تعیین شد. استاندارد کالیبراسیون با رقیق کردن محلول‌های استاندارد AFB1 با ماتریکس خالص تهیه شد که در نمودار یک نشان داده شده است. تعیین خطی بودن با رسم منحنی کالیبراسیون در محدوده ۱-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر(ppm) با ضریب همبستگی R^2 انجام شد، LOD وLOQ بر اساس نسبت سیگنال به نویز (S / N) به ترتیب۳:۱ و ۱۰:۱تعریف شد. مقادیر بازیافت توسط غنی کردن تیمار غیر آلوده با آفلاتوکسین درسه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

سطح غلظت ۳، ۵ و ۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای AFB1 تعیین شد و سه نمونه تکرار در هر سطح تعیین گردید. با تعیین میزان بازیابی آفلاتوکسین، صحت بررسی شد. آزمون دقت برای دستیابی به تجدیدپذیری از سه غلظت مختلف ۳، ۵ و ۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای AFB1، در سه روز انجام شد که دقت AFB1 بیانگر میانگین ± انحراف استاندارد نسبی (RSD) بیان می شود. تکرارپذیری با سنجش سه نمونه تکرار شده غنی شده با آفلاتوکسین B1 در سطوح ۳،۵و۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای AFB1برآورد شد. نمونه ها در همان روز توسط همان فرد تحلیلگر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.



نمودار(۱): منحنی کالیبراسیون و معادله خط به‌دست‌آمده از نمونه‌های استاندارد آفلاتوکسین B1

تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایش‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک راهه(ON WAY ANOVA) در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار توسط نرم‌افزار SPSS Statistics 22 انجام پذیرفت. مقایسه تعقیبی بین نتایج بدست آمده به‌وسیله آزمونهای آماری چند دامنه ای LSD در سطح اطمینان ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

اعتبار سنجی روش:

نتایج اعتبار سنجی شامل LOD، LOQ، خطی بودن، بازیابی، صحت و دقت در روش HPLC در جدول ۱ نشان داده شده است. این داده ها نشان داد که روش HPLC در این مطالعه پذیرفته شده است.

جدول(۱): اعتبارسنجی آفلاتوکسین B1 با استفاده از آنالیزHPLC

	درصد بازیافت (انحراف استاندارد نسبی)						
AFB_1	سطح آلودگی (µg/ml)			حد تشخیص (µg/ml)	حد تعیین کمی (µg/ml)	منحنی کالیبراسیون	ضریب همبستگی
	۷	۵	۳				
	۹۴ (۰/۰۶)	۹۸ (۰/۰۸)	۸۹(۰/۱)	۰/۲۵	۰/۷۵	y = ۴۲۰۱۵۶x – ۲۴۷.۹۳	۰/۹۹

اثر تیمارها بر کاهش آفلاتوکسین B1:

نتایج توانایی اتصال AFB_1 به سویه باکتری *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس* در شش تیمار مورد مطالعه درجدول۲ ذکر شده است. میزان اتصال در تیمارها متغییر بود. آنالیز داده‌ها حاکی از این است که دامنه اتصال سم از محدوده. ۱۳/۸۶ تا ۷۰ درصد می‌باشد و بیشترین و کمترین میزان جذب به ترتیب مربوط به تیمار۵ و۱ می‌باشد. بررسی‌های آماری حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که درصد حذف آفلاتوکسین در تمام تیمارها معنی‌دار بوده ($P<۰/۰۵$) وحضور باکتری و شرایط شبیه‌سازی شده ترشحات دستگاه گوارش تاثیر معنی‌داری در کاهش AFB_1 دارد و بین همه تیمارها ارتباط معنی‌داری وجود دارد($P<۰/۰۵$).

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

جدول(۲): حذف آفلاتوکسین B1 توسط سویه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر روی مدل شبیه‌سازی شده ترشحات سیستم گوارش

تیمار	میانگین آفلاتوکسین B1 (ppm) ±انحراف استاندارد (سه بار تکرار)	درصد کاهش آفلاتوکسین B1 (ppm) ±انحراف استاندارد (سه بار تکرار)	سطح معنی‌داری
تیمار۱	۴/۳۰۷±۰/۰۱۷	۱۳/۸۶±۰/۰۱۷	۰/۰۵
تیمار۲	۳/۱۵۶±۰/۰۲۷	۳۶/۸۸±۰/۰۲۷	
تیمار۳	۴/۰۰۳±۰/۰۲۸	۱۹/۹۴±۰/۰۲۸	
تیمار۴	۲/۸۲۵±۰/۰۱۴	۴۳/۵±۰/۰۱۴	
تیمار۵	۱/۵±۰/۰۲۲	۷۰±۰/۰۲۲	
تیمار۶	۳/۵۸۳±۰/۰۱۷	۲۸/۳۴±۰/۰۱۷	

بحث و نتیجه‌گیری

چندین راهبرد جهت کاهش یا حذف آفلاتوکسین در علم مواد غذایی وجود دارد بعضی از این روش‌ها تاثیر بیشتری در کاهش یا تغییر این سموم را دارند که می‌توان به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی اشاره کرد که تیمار بیولوژیکی بدلیل عدم کاهش کیفیت تغذیه‌ای غذا، گران نبودن تجهیزات نسبت دو روش قبلی در صنعت غذا و خوراک دام بیشتر استفاده می‌گردد (۳۱). در پژوهش حاضر، به بررسی تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک در کاهش AFB_1 در محیط دستگاه گوارش شبیه‌سازی شده در مدل غذایی(شیراستریلیزه) در شش گروه مورد بررسی قرار گرفت که اهداف و تفاوت هر یک از گروه‌ها را به اختصار بیان می‌شود:

۱-تیمار یک که گروه کنترل منفی می‌باشد بیانگر این مطلب بود که سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش و شیر استریلیزه چه تاثیری بر کاهش یا عدم کاهش آفلاتوکسین دارد و نتایج نشان داد که سوسپانسیون دستگاه گوارش تاثیر خیلی کمی در کاهش AFB1 دارد و شیر بصورت پوشش، اطراف سم را گرفته و مانع از عملکرد ترشحات دستگاه گوارش می‌گردد.

۲-علت استفاده از بایندرHSCAS در گروه کنترل مثبت، دستیابی به این مطلب بود که آیا سوسپانسیون شیره دستگاه گوارش وشیر در اتصال AFB1 اختلال ایجاد می‌کند یا نه. بایندرHSCAS حدود۳۰درصد از میزان AFB1 را کاهش داد.

۳-تیمارگروه سوم نشان داد که محیط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش توانایی کاهش سمAFB1 را دارد.

۴-تیمارگروه ۴ بیانگر این مطلب می‌باشد که عدم ترشحات شیره دستگاه گوارش شبیه‌سازی شده در پروسه ،چه تاثیر در کاهش آفلاتوکسین دارد.

۵-یکی از عواملی که باعث کاهش اتصالAFB1 به باکتری وجود شیر در تیمارها می‌باشد بنابراین یکی از عوامل موثر در کاهش میزان آفلاتوکسین تیمار پنج به دلیل عدم وجود شیر در پروسه می‌باشد زیرا شیر به دلیل داشتن پروتئین، چربی و کربوهیدرات مانند یک پوشش اطرافAFB1 قرار می‌گیرد و از اتصالAFB1 به باکتری جلوگیری می‌کند.

۶-تیمار گروه ۶ یک تیمار شبیه‌سازی شده کامل از یک وعده غذایی انسان می‌باشد زیرا حاوی باکتری، ترشحات دستگاه گوارش، شیر و AFB1 می‌باشد و این تیمار نشان داد که AFB_1 با وجود باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس* و موادغذایی حاوی سم در بدن انسان یا دام حدود ۲۸درصد کاهش می‌یابد.

دلیل انتخاب آفلاتوکسین B1 در این مطالعه، وجود گسترده آن در مواد غذایی و ضررهای انسانی و دامی می‌باشد. همانند مطالعات پیشین، کاهش آفلاتوکسین در تمام تیمارها مشاهده شد ولی بیشترین کاهش مربوط به تیمار پنج می‌باشد که در دامنه ۷۰ درصد بود (۲۱،۳۲). محققان حدس می‌زنند که اتصال مایکوتوکسین به باکتری به‌وسیله دیواره سلولی آن‌ها است (۳۲،۳۳). ولی هنوز عملکرد دقیق اتصال باکتری‌ها، روشن نیست با این حال، گمان می‌برند که این عملکرد باعث غیرفعال‌شدن آفلاتوکسین‌ها می‌گردد بنابراین باکتری‌های پروبیوتیک مانع از فعال‌شدن متابولیکی و جذب آن‌ها از لومن روده می‌شود. تفاوت باکتری‌ها در میزان اتصال یا تخریب AFB1 بستگی به دیوار سلولی و ساختارهای پوشش سلولی دارد (۳۴). اتصال AFB1 به دیواره سلولی و ترکیبات دیواره سلولی باکتری‌ها نسبت به تخریب متابولیک بیشتر می‌باشند (۳۴). کمپلکس یا اتصال AFs[1] به فلور میکروبی دستگاه گوارش(معده ،روده کوچک و روده بزرگ) بستگی به تعداد و نوع سویه میکروارگانیسم، حالات فیزیکی آن‌ها، شرایط محیطی و میزان

[1] Aflatoxins

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

ترشحات دستگاه گوارش دارد (۳۵). براساس تحقیقات انجام شده، بهترین غلظت سلول باکتری مورد نیاز جهت کاهش یا حذف AFM_1و AFB_1 به ترتیب، cfu/ml 10^8 و10^{10} می‌باشد که مشابه با میزان غلظت سویه باکتری استفاده شده در مطالعه حاضر می‌باشد (۲۱،۳۶). برطبق مطالعات پیشین چنین استنباط می‌شود که غلظت باکتری با میزان حذفAFM1 و AFB_1 رابطه مستقیم وجود دارد (۳۲،۳۷-۳۹). میزان اتصالAFB1 به باکتری *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس* در حضور شیر کاهش می‌یابد و در صورت حذف شیر از تیمارها میزان اتصال افزایش خواهد یافت که مشابه پژوهش کابک[2] (۲۰۰۴)می‌باشد (۴۰). در مطالعه دیگرAFM1 در حضور شیر هیچگونه کاهشی در میزان آن اتفاق نمی‌افتد (۴۱). فاکتور زمان عامل موثر دیگر بر میزان اتصال آفلاتوکسین به باکتری می-باشد. در این مطالعه با محدوده زمانی تقریبا ۴ ساعت، حدود۱۳ تا۷۰ درصدکاهش AFB1 مشاهده شد. ال-خوری[3] وهمکاران(۲۰۱۱) بیان کردند که با گذشت زمان بر میزان اتصال افزایش می‌یابد که با پژوهش‌های ال-نظامی (۱۹۹۸) و پلتونن[4](۲۰۰۱) مغایرت دارد از مطالعات این دو محقق چنین می-توان استنباط کرد که با گذشت زمانAFB1، ازکمپلکس *لاکتوباسیلوس/* آفلاتوکسین جدا می‌گردد زیرا این اتصال بخاطر پیوند ضعیف غیرکووالانسی می باشد (۱۵،۲۱،۳۴). سرانونینو[5] و همکاران در سال ۲۰۱۳ به ارزیابی باکتری‌های پروبیوتیک در کاهش AFM1 شیر در مدل دستگاه گوارش بصورت In vitro پرداختند و به این نتیجه رسیدند که میزان کاهش در محدوده۲۲-۴۵ بستگی به نوع باکتری می‌باشند آن‌ها بیان کردند که بخش کمی از کمپلکس آفلاتوکسین/باکتری برگشت‌پذیر هستند (۴۱). تیمار گروه ۳ نشان داد که ترشحات مصنوعی دستگاه گوارش باعث کاهش حدود۲۰ درصد میزان AFB_1 می‌گردد که علت آن وجود شرایط اسیدی، قلیایی، آنزیم‌ها، صفرا، نمک‌ها و... موجود در ترشحات است که با مطالعات پیشین مشابهت دارد. نمک صفراوی موجود در روده کوچک انسان که میزان آن از ۰/۲ تا ۲درصد می‌رسد تاثیر خیلی مهمی در اتصال مایکوتوکسین‌ها با میکروارگانیسم‌ها دارد زیرا صفرا دارای تاثیر مهمی در دیواره‌سلولی به ویژه در فسفولیپیدها، گلیکولیپید و پروتئین‌های غشا دارند (۴۲-۴۷). در پژوهشی که زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی در آب پنیر را در دستگاه گوارش بررسی می‌کردند، نشان دادند که باکتری *لاکتوباسیلوس‌پاراکازئی*[6] و *بیفیدوباکتریوم‌انیمالیس*[7] بالاترین نرخ مرگ و میر را در شیره معده و همچنین در برابر نمک صفرا دارند و بیشترین زنده‌مانی برای باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* مشاهده شد (۴۸). فاکتورهای اساسی مؤثر بر زنده‌مانی باکتری‌ها در دستگاه گوارش، شرایط pH معده و نمک صفرا روده است (۴۸،۴۹). بنابراین در صورت وجود صفرا، اتصال آفلاتوکسین با باکتری‌های پروبیوتیک افزایش می-یابد(۳۸). ال-نظامی و همکاران[8](۱۹۹۸) بیان کردند که pH یکی از فاکتورهایی می‌باشد که در حذف آفلاتوکسین موثر می‌باشد pH در محدوده ۶-۴ اثر مثبت به حذف آفلاتوکسین ندارد (۲۱). که با یافته های مگالا[9] و حافظ[10](۱۹۸۲) مغایرت داردآنها به این نتیجه رسیدند که در ماست اسیدی AFB1 بهAFB2 غیرسمی تبدیل می‌گردد همچنین راسیک[11] و همکاران(۱۹۹۱) به نتایج مشابهی دست یافتند که کاهشAFB1 در ماست تخمیری و شیر اسیدی مشاهده گردیده است (۵۰،۵۱). شرایط اسیدی با اثر بر پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و آزاد سازی مونومرها و با شکستن پیوند گلیکوزیدی آلدهید ها باعث ایجاد مکان‌های اتصال می‌گردد (۵۲). اسید کلریدریک ۲مولار به مدت ۶۰ دقیقه، باعث کاهش ۸۰درصد AFB1 در حضور ساکارومایسس‌سرویزیه[12] گردید (۵۳). تاثیر آنزیم پرونازو لیپاز در بافر فسفات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت بر اتصال AFB1 به باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* سویه GG[13] به‌صورت زنده، حرارت کشته حرارتی و کشته اسیدی، نشان داد که دامنه اتصال تقریبا مشابه ای در محدوده۶۶-۸۹ درصد داشتند. اوره هم بخاطر اثرمتقابل آبگریزی دارای نقش مهمی در این اتصال داشتند. نمک معمولی و کلرید کلسیم (۰/۱-۱ مولار) بخاطر اثرات متقابل الکترواستاتیک تاثیر جزئی در این اتصال داشتند (۵۴). یکی دیگر از فاکتورهای موثر بر اتصال مایکوتوکسین به دیواره باکتری‌ها، درجه حرارت می‌باشد که در این مطالعه از دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شده است که با توجه به مطالعات مشابه دمای ۳۷ درجه هیچگونه تاثیری در کمپلکس مایکوتوکسین/باکتری ندارد ولی دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش این اتصال می-گردد و میزان اتصال AFB1به مخمر ساکارومایسس‌سرویزیه با افزایش دما از ۲۵ تا۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، افزایش (۳۶-۷۹درصد) می‌یابد (۵۳). براساس گزارشات، تیمار حرارتی باعث حذف بیشتر AFB1می‌گردد (۵۵-۵۷). حرارت باعث دناتوره شدن، ایجاد محصولات واکنش میلارد و تجزیه مانان‌های

2 kabak
3 El-Khoury
4 Peltonen
5 Serrano-Nino
6 Lactobacillus paracasei
7 Bifidobacterium animalis
8 El-Nezami
9 Megalla
10 Hafez
11 Rasic
12 Saccharomyces cerevisiae
13 Lactobacillus rhamnosus GG

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

پروتیئن دیواره سلولی باکتری می‌گردد که نتیجه این واکنش‌ها، افزایش نفوذپذیری لایه خارجی دیواره‌سلولی و باعث ایجاد بیشتر سایت‌های اتصال در دیواره سلولی باکتری وقارچ‌ها می‌باشد(۵۸،۵۲).

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ترشحات دستگاه گوارش تأثیر مثبت در حذف سم داشتند؛ البته باید توجه داشت که مقاومت باکتریها در شرایط آزمایشگاهی در برابر ترشحات دستگاه گوارش، گویای رفتار واقعی آن‌ها در دستگاه گوارش نیست، زیرا همانند سایر شوک‌های فیزیولوژیک، شبیه‌سازی واقعی آن‌ها مشکل است. بسیار مشاهده می‌شود که عوامل محیطی باعث تقویت یا تضعیف رفتار میکروارگانیسم در برابر شرایط خاصی می‌شود. بعلاوه، برخلاف شرایط آزمایشگاهی، مقدار ترشحات دستگاه گوارش در روده و معده ثابت نیست به‌طور مثال تا زمان مصرف غذاهای پرچرب، مقدار صفرا در روده بسیار کم است، این خود عاملی است که میتواند در جهت سازگار شدن باکتری‌ها و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر صفرا عمل کند. بعلاوه، وجود مواد غذایی در معده و روده می‌تواند سبب ایجاد سپر حفاظتی برای میکروارگانسیم‌ها شود و برخی از پروبیوتیک‌ها بدون اینکه با صفرا و یا سم تماسی یابند، از روده و معده خارج می‌شوند. درمجموع می‌توان نتیجه گرفت که عملکرد عوامل حذف کننده مایکوتوکسین‌ها در شرایط مختلف درون تنی و برون تنی با هم متفاوت می‌باشد. بنابراین نیاز به پژوهش‌های بیشتری جهت تعیین میزان دقیق باکتری‌های پروبیوتیک و میزان کاهش انواع مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی در محیط درون تنی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه به خاطر تامین بودجه این تحقیق کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References:

1. Kusumaningtyas E, Widiastuti R, Maryam R. Reduction of aflatoxin B1 in chicken feed by using Saccharomyces cerevisiae, Rhizopus oligosporus and their combination. Mycopathologia 2006;162(4):307-11.
2. Butler W. Acute toxicity of aflatoxin B1 in rats . British journal of cancer. 1964;18(4):756.
3. Ciegler A. Mycotoxins: occurrence, chemistry, biological activity. Lloydia 1975;38(1):21-35.
4. Gabliks J, Schaeffer W, Friedman L, Wogan G. Effect of aflatoxin B1 on cell cultures. J Bacteriol 1965;90(3):720-3.
5. Kujawa M. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 56. Herausgegeben von der International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. 599 Seiten, zahlr. Abb. und Tab. World Health Organization. Geneva 1993. Preis: 95,—Sw. fr; 95, 50 US$. Food/Nahrung 1994;38(3):351.
6. Eaton DL, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1994;34(1):135-72.
7. Madrigal-Santillan E, Madrigal-Bujaidar E, Márquez-Marquez R, Reyes A. Antigenotoxic effect of Saccharomyces cerevisiae on the damage produced in mice fed with aflatoxin B1 contaminated corn. Food Chem Toxicol 2006;44(12):2058-63.
8. Teniola O, Addo P, Brost I, Farber P, Jany K-D, Alberts J, et al. Degradation of aflatoxin B 1 by cell-free extracts of Rhodococcus erythropolis and Mycobacterium fluoranthenivorans sp. nov. DSM44556 T. Int J Food Microbiol 2005;105(2):111-7.
9. Hua S-ST, Baker JL, Flores-Espiritu M. Interactions of Saprophytic Yeasts with anor Mutant of Aspergillus flavus. Appl Environ Microbiol 1999;65(6):2738-40.
10. Farombi OE. Aflatoxin contamination of foods in developing countries: Implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies. Afr J Biotechnol 2006;5(1):1-14.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

11. Mehan VK, International Crops Research Institute for the Semi-arid Tropics, editors. The groundnut aflatoxin problem review and literature database. India: ICRISAT; 1991.
12. Berg T. How to establish international limits for mycotoxins in food and feed? Food Control 2003;14(4):219-24.
13. Kabak B, Brandon EF, Var I, Blokland M, Sips AJ. Effects of probiotic bacteria on the bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochratoxin A using an in vitro digestion model under fed conditions. J Environ Sci Health B 2009;44(5):472-80.
14. Kubena L, Harvey R, Huff W, Elissalde M, Yersin A, Phillips T, et al. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. Poultry Sci 1993;72(1):51-9.
15. El Khoury 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(10):1695-9.
16. Sarimehmetoglu B, Kuplulu O. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. Ankara Univ Vet Fak Derg 2004;51(3):195-8.
17. Shetty PH, Jespersen L. Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. Trends Food Sci Tech 2006;17(2):48-55.
18. Sreekumar O. Amino acid pyrolysates competitive and combination binding with Lactobaillus gasseri cells. Milchwissenschaft 1998;53:73-6.
19. Hosono A. Desmutagenic properties of cell walls of Streptococcus faecalis on the mutagenicities induced by amino acid pyrolyzates. Milchwissenschaft 1988;43:168-70.
20. Devegowda G, Aravind B, Morton M, editors. Saccharomyces cerevisiae and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. Proceedings of Australian poultry science symposium Sydney; 1996.
21. El-Nezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B 1. Food Chem Toxicol 1998;36(4):321-6.
22. Lahtinen S, Haskard C, Ouwehand A, Salmin S, Ahokas J. Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of Lactobacillus rhamnosus strain GG. Food Addit Contam 2004;21(2):158-64.
23. Khanafari A, Soudi H, Miraboulfathi M. Biocontrol of Aspergillus flavus and aflatoxin B1 production in corn. J Environ Health Sci Engin 2007;4(3):163-8.
24. Martin A, Cubillos-Ruiz A, Von Groll A, Del Portillo P, Portaels F, Palomino JC. Nitrate reductase assay for the rapid detection of pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis using nicotinamide. J Antimicrob Chemother 2007;61(1):123-7.
25. Haddadin M. Effect of olive leaf extracts on the growth and metabolism of two probiotic bacteria of intestinal origin. Pakistan J Nutr 2010;9(8):787-93.
26. Kabak B, Ozbey F. Aflatoxin M1 in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bioaccessibility using an in vitro digestion model. Food Control 2012;28(2):338-44.
27. De Palencia PF, Lopez P, Corbi AL, Pelaez C , Requena T. Probiotic strains: survival under simulated gastrointestinal conditions, in vitro adhesion to Caco-2 cells and effect on cytokine secretion. Eur Food Res Tech 2008;227(5):1475-84.
28. Neeff D, Ledoux D, Rottinghaus G, Bermudez A, Dakovic A, Murarolli R, et al. In vitro and in vivo efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to bind and reduce aflatoxin residues

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

in tissues of broiler chicks fed aflatoxin B1. Poultry Sci 2013;92(1):131-7.

29. Shahin A. Removal of aflatoxin B1 from contaminated liquid media by dairy lactic acid bacteria. Int J Agric Biol 2007;9:71-5.
30. Bognanno M, La Fauci L, Ritieni A, Tafuri A, De Lorenzo A, Micari P, et al. Survey of the occurrence of Aflatoxin M1 in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. Molecular Nutr Food Res 2006;50(3):300-5.
31. Peltonen KD, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT. Binding of aflatoxin B1 by probiotic bacteria. J Sci Food Agriculture 2000;80(13):1942-5.
32. El-Nezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. J Food Protection 1998;61(4):466-8.
33. Thyagaraja N, Hosono A .Binding properties of lactic acid bacteria from Idly towards food-borne mutagens. Food Chem Toxicol 1994;32(9):805-9.
34. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J Dairy Sci 2001;84(10):2152-6.
35. Booijink CCGM, Zoetendal EG, Kleerebezem M, de Vos WM. Microbial communities in the human small intestine: coupling diversity to metagenomics. Future Microbiol 2007;2(3):285–95.
36. Elgerbi A, Aidoo K, Candlish A, Williams A. Effects of lactic acid bacteria and bifidobacteria on levels of aflatoxin M1 in milk and phosphate buffer. Milchwissenschaft 2006;61(2):197-9.
37. Bolognani F, Rumney C, Rowland I. Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens. Food Chem Toxicol 1997;35(6):535-45.
38. Hernandez-Mendoza A, Garcia H, Steele J. Screening of Lactobacillus casei strains for their ability to bind aflatoxin B1. Food Chem Toxicol 2009;47(6):1064-8.
39. Pranoto Y, Amanah HZ, Utami T, Rahayu ES. Study on factors affecting aflatoxin B1 binding by Lactobacillus acidophilus SNP-2. Proceedings of the International Agricultural Engineering Conference, Bangkok, Thailand, 3-6 December 2007 Cutting edge technologies and innovations on sustainable resources for world food sufficiency [Internet] 2007 [cited 2018 Jul 21]; Available from: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103035223
40. KABAK B, VAR I. Binding of aflatoxin M1 by Lactobacillus and Bifidobacterium strains. Milchwissenschaft 2004;59(5-6):301-3.
41. Serrano-Nino J, Cavazos-Garduño A, Hernandez-Mendoza A, Applegate B, Ferruzzi M, San Martin-Gonzalez M, et al. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M 1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. Food Control 2013;31(1):202-7.
42. Oozeer R, Leplingard A, Mater DD, Mogenet A, Michelin R, Seksek I, et al. Survival of Lactobacillus casei in the human digestive tract after consumption of fermented milk. Appl Environ Microbiol 2006;72(8):5615-7.
43. Hofmann AF. Enterohepatic circulation of bile acids and biliary lipid secretion. Minerva Med 1977;68(43):3011–7.
44. Begley M, Gahan CG, Hill C. The interaction between bacteria and bile. FEMS Microbiol Rev 2005;29(4):625-51.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

45. Leverrier P, Dimova D, Pichereau V, Auffray Y, Boyaval P, Jan G. Susceptibility and adaptive response to bile salts in Propionibacterium freudenreichii: physiological and proteomic analysis. Appl Environ Microbiol 2003;69(7):3809-18.
46. Kheadr EE. Impact of acid and oxgall on antibiotic susceptibility of probiotic Lactobacilli. African Journal of Agricultural Research. 2006;1(5):172-81.
47 Gunn JS. Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. Microbes Infect 2000;2(8):907–13.
48. Madureira A, Pereira C, Truszkowska K, Gomes A, Pintado M, Malcata F. Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. Int Dairy J 2005;15(6):921-7.
49. Pacheco KC, del Toro GV, Martinez FR, Duran-Paramo E. Viability of Lactobacillus delbrueckii under human gastrointestinal conditions simulated in vitro .Am J Agric Biol Sci 2010;5:37-42.
50. Megalla S, Hafez A. Detoxification of aflatoxin B1 by acidogenous yoghurt. Mycopathologia 1982;77(2):89-91.
51. Rasic JL, Skrinjar M, Markov S. Decrease of aflatoxin B1 in yoghurt and acidified milks. Mycopathologia 1991;113(2):117-9.
52. Bejaoui H, Mathieu F, Taillandier P, Lebrihi A. Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological Saccharomyces strains. J Appl Microbiol 2004;97(5):1038-44.
53. Shetty PH, Hald B ,Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B 1 by Saccharomyces cerevisiae strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. Int J Food Microbiol 2007;113(1):41-6.
54. Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by Lactobacillusrhamnosus strain GG. Chem Biol Interact 2000;128(1):39-49.
55. El-Nezami H, Chrevatidis A, Auriola S, Salminen S, Mykkanen H. Removal of common Fusarium toxins in vitro by strains of Lactobacillus and Propionibacterium. Food Additives Contaminants 2002;19(7):680-6.
56. 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. J Food Protec 2000;63(5):645-50.
57. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää PE, Salminen S, Ahokas JT. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. App Environ Microbiol 2001;67(7):3086-91.
58. Zlotnik H, Fernandez MP, Bowers B ,Cabib E. Saccharomyces cerevisiae mannoproteins form an external cell wall layer that determines wall porosity. J Bacteriol 1984;159(3):1018-26.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]

Original Article

ASSESSING THE EFFICIENCY OF PROBIOTIC BACTERIA LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS IN DETOXIFICATION OF AFLATOXIN B1 BASED ON A SIMULATED MODEL OF DIGESTIVE SYSTEM SECRETIONS

*Mehran Sayadi *[1], Hossein Tajik[2]*

Received: 21 Feb, 2018; Accepted: 28 Apr, 2018

Abstract

Background & Aims: Since aflatoxin contamination in food and livestock feed is considered as a serious health problem for human and animal health, this research focused on the ability of Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 in reducing aflatoxin B1 (AFB1) in a simulated human gastrointestinal tract containing Sterilized milk.

Materials & Methods: For this purpose, the bacteria count and aflatoxin concentration were adjusted to 1×1010 Cfu/ml and 5 ppm, respectively. In the simulated medium, artificial oral salivary, human small intestine and gastric secretions were inoculated. This study involved 6 treatment in the presence and absence of bacteria, sterilized milk, and gastrointestinal juice suspension. The concentration of residual aflatoxin was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) and purification by Immunoaffinity column. The results were statistically analyzed by SPSS 20 software. The results indicated that reduction of aflatoxin B1 at all treatments were determined using HPLC with a detection limit of 0.25mg/ml and a quantification limit of 0.75 mg/ml. The mycotoxin recovery was 89% and 94% for AFB1 Good linearity was observed for all the analytes of interest, with correlation coefficients 0.995 within their respective linear ranges.

Results: The highest percentage of AFB1 removal by probiotic strain of Lactobacillus acidophilus was 70±0.022% in the absence of sterilized milk, where there was a significant difference for the six groups ($P<0.05$).

Conclusion: The results also revealed that probiotic bacteria cell was a good biological agent for elimination or reduction of AFB1 in the human gastrointestinal tract. In addition to bacteria, gastric juice and small intestine contribute to elimination or reduction of AFB1.

Keywords: Probiotic bacteria, Lactobacillus acidophilus, Aflatoxin B1, Toxin binding, Digestive System, Detoxification, High-performance liquid chromatography

Address: Department of Food Hygiene and Quality Control, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +989179248703
Email: mehransayadi62@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2018: 29(4): 281 ISSN: 1027-3727

[1] *Ph.D Candidate, Department of Food Hygiene and Quality Control , School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Auther)*
[2] *Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control , School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-03-29]