



## توکسین زدایی آفلاتوکسین B1 توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس در مدل شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش انسان

مهران صیادی\*<sup>۱</sup>، حسین تاجیک<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فارس، ایران، <sup>۲</sup> استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

### چکیده

**سابقه و هدف:** بر اساس گزارش سازمان فائو سالانه ۱۰ درصد از محصولات غذایی تولید شده در دنیا توسط سموم قارچی آلوده می‌شوند که در این آلودگی آفلاتوکسین‌ها سهم بیشتری نسبت به سایر سموم دارند. این پژوهش با هدف ارزیابی توانایی اتصال آفلاتوکسین به لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیرگونه GG در محیط شبیه‌سازی دستگاه گوارش انسان حاوی شیراستریلیزه به منظور کاهش سمیت آفلاتوکسین B1 انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** تعداد باکتری  $1 \times 10^{11}$  cfu/ml و غلظت آفلاتوکسین ۵ میکروگرم بر میلی لیتر در نظر گرفته شد که در محیط شبیه سازی شده ترشحات مصنوعی دستگاه گوارش انسان تلقیح گردید. در این مطالعه ۶ گروه تیمار در حضور و غیاب باکتری، شیراستریلیزه، سوسپانسیون شیره دستگاه گوارش مورد بررسی قرار گرفت. غلظت آفلاتوکسین باقیمانده توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و تخلیص با ستون ایمونوفینیتی تعیین گردید.

**یافته‌ها:** کاهش آفلاتوکسین B1 در تمام تیمارها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با حد تشخیص ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر و حد تعیین کمی ۰/۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. مقادیر بازیافت میکوتوکسین AFB1 بین ۸۹ تا ۹۴ درصد بود. منحنی درجه بندی آفلاتوکسین B1 با ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ در گستره غلظتی ۱ تا ۱۰ نانوگرم بر میلی لیتر خطی بود. بیشترین و کمترین میانگین درصد حذف آفلاتوکسین B1 به ترتیب مربوط به تیمار ۵ و ۱ (  $58/8 \pm 0/018$  و  $13/86 \pm 0/017$  ) بود که تفاوت معنی داری در بین شش گروه وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که علاوه بر باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیر گونه GG، شیره معده و روده کوچک نیز در کاهش یا حذف آفلاتوکسین B1 موثر می‌باشند.

**واژگان کلیدی:** لاکتوباسیلوس رامنوسوس، آفلاتوکسین B1، دستگاه گوارش، سم زدایی، HPLC.

پذیرش برای چاپ: مرداد ماه ۹۷

دریافت مقاله: تیرماه ۹۷

### مقدمه

(۱). که اهمیت این مسأله به متابولیت ثانویه حاصل از فعالیت این قارچ‌ها یعنی سم آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 برمی‌گردد (۲). رشد قارچ‌ها و به دنبال آن سنتز و تولید آفلاتوکسین، وابسته به شرایط محیطی به ویژه رطوبت، دما، سوبسترا و رقابت با دیگر میکروارگانیسم های هوایی می باشد

آفلاتوکسین‌ها توسط قارچ آسپرژیلوس به ویژه دو گونه آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus parasiticus*) و آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) تولید می‌گردد

(\* آدرس برای مکاتبه: فارس، فسا، دانشگاه علوم پزشکی فسا، دانشکده بهداشت. تلفن: ۰۹۱۷۹۲۴۸۷۰۳ پست الکترونیک: mehransayadi62@gmail.com

خوراک دام استفاده می‌کنند. این روش‌ها باید ارزش و خواص غذایی را حفظ و همچنین اقتصادی باشد. بسیاری از این روش‌ها در صنعت به دلیل هزینه بالا، راندمان پایین، تأثیر در بافت و طعم مواد غذایی و از نظر ایمنی و سلامت غذایی قابل استفاده نیستند. اما روش زیستی هیچکدام از مشکلات گفته شده را دارا نیست (۱۰).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که می‌توانند ضمن عبور از دستگاه گوارش، زنده مانده و اثرات مفید و سودمندی بر روی میزبان بر جا گذارند. انواع باکتری‌های اسید لاکتیک و گونه‌های بیفیدوباکتریوم به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند. پروبیوتیک‌ها در پیشگیری و درمان بیماری‌های گوارشی و غیرگوارشی و در حذف سم آفلاتوکسین موثر هستند (۱۱). مهمترین مکانیسم باکتری‌های پروبیوتیک که به وسیله آن می‌توانند موجب ارتقای سلامت انسان شوند شامل تولید اسیدهای آلی، پراکسیدها و باکتروسیدها و رقابت با باکتری‌های مضر و بیماری‌زای روده‌ای برای تصاحب جایگاه‌های اتصال روی موکوس می‌باشد (۱۲). محققان حدس می‌زنند که اتصال مایکوتوکسین به باکتری به وسیله دیواره سلولی آنها است (۱۳ و ۱۴). اما هنوز عملکرد دقیق اتصال باکتری‌ها، روشن نیست. با این حال، گمان می‌برند که این عملکرد باعث غیرفعال شدن آفلاتوکسین‌ها می‌گردد. تفاوت باکتری‌ها در میزان اتصال یا تخریب AFB1 بستگی به دیوار سلولی و ساختارهای پوشش سلولی دارد (۱۵).

اتصال AFB1 به دیواره سلولی و ترکیبات دیواره سلولی باکتری‌ها نسبت به تخریب متابولیک بیشتر می‌باشند (۱۵). اتصال آفلاتوکسین‌ها به فلور میکروبی دستگاه گوارش (معهده، روده کوچک و روده بزرگ) بستگی به تعداد و نوع سویه میکروارگانیسم، حالات فیزیکی آنها، شرایط محیطی و میزان ترشحات دستگاه گوارش دارد (۱۶).

ترکیبات ساختمانی دیواره سلولی باکتری‌ها حاوی پپتیدوگلیکان، اسید تیکوئیک و پلی‌ساکاریدها است که در جذب سطحی توکسین نقش دارند (۱۷). سم‌زدایی بیولوژیکی مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی انسان و دام یک روش جدید و بسیار

(۳). قوانین مربوط به مواد غذایی و فرآوری مواد غذایی پیشرفت زیادی کرده است. با این حال هنوز روشی جهت جلوگیری از ورود و تولید آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی وجود ندارد. بنابراین تولیدکنندگان و مصرف کنندگان باید شرایط رشد قارچ‌ها و تولید آفلاتوکسین‌ها از مراحل کاشت، برداشت، نگهداری و فرآوری تا زمان مصرف محصول مهیا نکنند (۴).

آفلاتوکسین‌ها باید از مواد غذایی حذف شود. زیرا مصرف طولانی مدت مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین می‌تواند موجب سرطان‌زایی و سمیت در انسان و حیوانات شود (۵). یکی از تأثیرات اصلی مواجهه با غذای آلوده به آفلاتوکسین، ایجاد آفلاتوکسیکوزیس می‌باشد که یک بیماری غذازاد است که به دو حالت مزمن و حاد تقسیم‌بندی می‌شود. آفلاتوکسیکوزیس حاد منجر به مرگ و آفلاتوکسیکوزیس مزمن باعث سرطان، سرکوب سیستم ایمنی، جهش‌زایی و ناقص الخلقه‌زایی می‌گردد (۶).

آفلاتوکسین B1 سمی‌ترین و خطرناک‌ترین، آفلاتوکسین از ۱۸ نوع شناخته شده است (۲). بر اساس قوانین وضع شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا، حداکثر مقدار مجاز برای آفلاتوکسین کل در غذای انسان ۲۰ ppb و آفلاتوکسین M1 مقدار ۰/۵ ppb تعیین شده است (۷). در حال حاضر حداکثر مجاز آفلاتوکسین M1 در شیرخام، انواع شیر حرارت دیده و فراورده‌های لبنی در ایران معادل ۰/۱ ppb تعیین گردیده است (۸).

میزان LD<sub>50</sub> انواع آفلاتوکسین‌ها به عوامل مختلفی مانند سن، جنسیت، نژاد، راه ورود به بدن، ترکیب رژیم غذایی و ... بستگی دارد. میزان آن به طور متوسط ۰/۵ تا ۱۰ درصد میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن می‌باشد (۹).

با افزایش دانش و آگاهی از این موضوع که آفلاتوکسین‌ها می‌توانند به طور بالقوه برای سلامت انسان و دام خطرآفرین محسوب شوند، تلاش برای حذف کامل یا کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی مضاعف گردیده است. امروزه از روش‌های مختلفی مانند روش‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی جهت کاهش یا از بین بردن آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی و

امیدوارکننده است (۱۸).

AFB<sub>1</sub>

ج) آماده‌سازی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> برای این منظور از روش ال-نظامی (El-nezami) با کمی تغییرات استفاده شد. به طور خلاصه، یک میلی گرم AFB<sub>1</sub> جامد (سیگما، آمریکا) با کد ۶۶۳۶ در حلال بنزن / استونیتریل (۳:۹۷) حل گردید. برای رسیدن به غلظت ۱۰ ppm از محلول بافر فسفات (PBS) با pH ۷/۳ استفاده شد. در ادامه حلال بنزن / استونیتریل به کمک حمام آب با دمای ۸۰ درجه سلیسیوس به مدت ۱۰ دقیقه تبخیر شد. با مخلوط کردن ۱۰ میلی لیتر سوسپانسیون آفلاتوکسین (۱۰ ppm) با ۱۰ میلی لیتر شیر استریلیزه، غلظت نهایی ۵ ppm به دست آمد. محلول استاندارد تا زمان مصرف در ظرف شیشه ای تیره در دمای ۴ درجه سلیسیوس نگهداری شد (۱۰).

د) سوبه باکتری، شرایط کشت و برآورد غلظت باکتری: باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیرگونه GG به صورت خالص و لیوفلیزه از کلکسیون سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (ATCC 53103) خریداری شد. لاکتوباسیلوس مورد مطالعه به محیط کشت MRS برات (Oxoid, UK) تلقیح گردید و تا رسیدن به فاز لگاریتمی در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس و شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شد. پس از ۲۴ ساعت کشت، سلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دمای ۴ درجه سلیسیوس سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل سه بار با PBS شستشو داده شد در نهایت با محلول بافر فسفات سدیم، کدورت آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر و مقدار جذب حدود یک که معادل  $1 \times 10^8$  cfu/ml است باکتری بدست آمد. تعداد باکتری با استفاده از شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت MRS آگار تعیین گردید (۲۰ و ۲۱).

ه) آماده‌سازی نمونه غذایی (شیر استریلیزه): آماده‌سازی شیر استریلیزه مطابق روش حدادیان (Hadadian) و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد (۲۲). در ابتدا شیر استریلیزه ۲/۵ درصد (شرکت صنایع لبنی ایران، پگاه) خریداری شد. جهت اطمینان از استریل بودن در دمای ۱۲۱ درجه سلیسیوس و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (PSI) به مدت ۱۵ دقیقه سترون شد.

لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) ابتدا به عنوان زیر گونه لاکتوباسیلوس کازنی (*L. casei*) شناخته شد. اما تحقیقات بعدی نشان داد که گونه‌ای مستقل از باکتری‌های جنس لاکتوباسیلوس می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که این گونه به اسید معده و نمک صفراوی روده مقاوم است و میل ترکیبی بالایی با سلول‌های موکوس روده انسان دارد. لاکتوباسیلوس رامنوسوس در جلوگیری از اسهال روتاویروسی در کودکان مفید بوده و مصرف آن به عنوان یک باکتری پروبیوتیک سبب کاهش خطر عفونت تنفسی به ویژه در کودکان می‌شود (۱۹).

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی کارایی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در کاهش AFB<sub>1</sub> در شرایط شبیه سازی ترشحات دستگاه گوارش انسان بود.

### مواد و روش کار

الف) جامعه مورد بررسی: در این مطالعه، اثر ۶ گروه تیمار به صورت سه بار تکرار در غلظت ۵ میکروگرم در میلی لیتر AFB<sub>1</sub> در شرایط *In vitro* بررسی شد. بنابراین در مجموع ۱۸ نمونه آماری وجود داشت.

ب) طراحی آزمایش: در این مطالعه ۶ گروه تیمار شامل:

۱- سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه + AFB<sub>1</sub> (گروه کنترل منفی).

۲- بایندر HSCAS + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه + AFB<sub>1</sub> (گروه کنترل مثبت).

۳- سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + AFB<sub>1</sub>.

۴- سوسپانسیون باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس + سرم فیزیولوژی + شیر استریلیزه + AFB<sub>1</sub>.

۵- سوسپانسیون باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + سرم فیزیولوژی + AFB<sub>1</sub>.

۶- سوسپانسیون باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس + سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش + شیر استریلیزه +

سوسپانسیون حاصل به ۱۲ میلی لیتر شیر روده شبیه سازی شده منتقل گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس قرار داده شد. پس از نمونه برداری، نمونه‌ها به میکروتیوپ منتقل و با دور ۷۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس روماندر لوله های کرایوتیوپ جمع‌آوری و تا زمان آزمون انجام HPLC در دمای ۲۰- درجه سلیسیوس نگهداری شد (۲۳). دیاگرام شماتیک از مدل آزمایشگاهی در مدل گوارش تیمار ۶ در شکل ۱ نشان داده شده است.

ط) استخراج آفلاتوکسین B1 از سوسپانسیون با استفاده از ستون ایمونوآفینیتی: استخراج آفلاتوکسین B1 به روش باگنونو (Bognanno) و همکاران با کمی تغییرات صورت گرفت. در

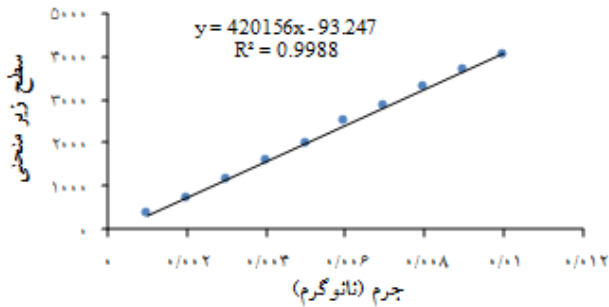


شکل ۱: دیاگرام شماتیک از مدل آزمایشگاهی دستگاه گوارش تیمار ۶

و) آماده‌سازی مایع گوارشی (بزاق دهان، شیر، معده، شیر، روده): محلول بزاق دهانی، معده و روده بر اساس پروتکل فرناندز (Fernandez) و پالنسیا (Palencia) آماده گردید. سوسپانسیون بزاق دهانی شبیه‌سازی شده حاوی ۶/۲ گرم بر لیتر کلرید سدیم، ۲/۲ گرم بر لیتر کلرید پتاسیم، ۰/۲۲ گرم بر لیتر کلرید کلسیم، ۱/۲ گرم بر لیتر بی‌کربنات سدیم، ۰/۰۱ درصد لیزوزیم و سوسپانسیون شیر معده شبیه‌سازی شده حاوی ۶/۲ گرم بر لیتر کلرید سدیم، ۲/۲ گرم بر لیتر کلرید پتاسیم، ۰/۲۲ گرم بر لیتر کلرید کلسیم، ۱/۲ گرم بر لیتر بی‌کربنات سدیم، ۰/۳ درصد پیسین و سوسپانسیون شیر روده شبیه‌سازی شده حاوی ۵ گرم بر لیتر کلرید سدیم، ۰/۶ گرم بر لیتر کلرید پتاسیم، ۰/۳ گرم بر لیتر کلرید کلسیم، نمک صفراوی ۰/۴۵ درصد، پانکراتین ۰/۱ درصد بود. سپس pH شیر معده به وسیله اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به ۲/۵ و pH شیر روده و بزاق دهانی به وسیله سود ۰/۱ مولار به ۷/۵ رسانده شد. هر سه سوسپانسیون حاصل به وسیله میکروفیلتر ۰/۲۲ میکرومتر (IWAKI، ژاپن) استریل گردید (۱۲ و ۲۳).

ز) بایندر: بایندر مورد استفاده سدیم آلومینوسیلیکات کلسیم هیدراته است. می‌توان آن را به عنوان ماده رس که حاوی آلومینوم، سیلیس، سدیم و کلسیم کاتدی قابل تعویض و آب هیدراته تعریف شده است. مقدار استفاده از این بایندر در تیمار، ۰/۲۵ میلی گرم بر ۱۰ میلی لیتر بود (۲۴).

ح) آماده‌سازی مدل غذایی، تلقیح شده با باکتری و آلوده به سم AFB1 حاوی محیط شبیه‌سازی شده‌ی ترشحات دستگاه گوارش: ابتدا AFB1 و باکتری به شیر تلقیح گردید. غلظت سم AFB1 و باکتری مورد مطالعه در سوسپانسیون حاصل به ترتیب ۵ میکروگرم بر میلی لیتر و  $1 \times 10^{10}$  cfu/ml بود. سپس ۴/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل با ۶ میلی لیتر از بزاق دهانی شبیه‌سازی شده مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس با انکوباتور شیکردار با دور ۸۵ rpm تحت اتمسفر نیتروژن گرمخانه قرار گرفت. سپس سوسپانسیون به ۱۲ میلی لیتر شیر معده شبیه‌سازی شده اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس انکوبه شد. در نهایت



نمودار ۱: منحنی کالیبراسیون و معادله خط به‌دست‌آمده از نمونه های استاندارد آفلاتوکسین B1

در سه سطح غلظت ۳، ۵ و ۷ میکروگرم بر میلی لیتر 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 میلی لیتر برای AFB1، در سه روز انجام شد. دقت AFB1 بیانگر میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد نسبی (RSD) بیان می شود. تکرارپذیری با سنجش سه نمونه تکرار شده غنی شده با آفلاتوکسین B1 در سطوح ۳، ۵ و ۷ میکروگرم بر میلی لیتر برای AFB1 برآورد شد. نمونه ها در همان روز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (۲۷).

ل) تجزیه و تحلیل آماری: طراحی آزمون‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار توسط نسخه بیست و دوم نرم افزار SPSS انجام شد. مقایسه تعقیبی بین نتایج به دست آمده به وسیله آزمون های آماری چند دامنه ای LSD در سطح اطمینان ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### یافته‌ها

الف) 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.

ب) اثر تیمارها بر کاهش آفلاتوکسین B1: نتایج توانایی اتصال AFB1 به سویه باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۶ تیمار

ابتدا یک گرم از سوسپانسیون های نهایی با ۴ میلی لیتر حلال متانول به دمای ۳۷ درجه سلیسیوس رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۷۵۰ سانتریفیوژ شدند. رومانند به طور کامل حذف و محلول باقیمانده با کاغذ واتمن شماره ۴ فیلتر گردید. ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده با ۳ میلی لیتر آب مقطر رقیق شد. سپس از ستون ایمونوآفینیتی عبور داده شد. ستون دوبار با ۵۰۰ میکرولیتر متانول کروماتوگرافی شستشو و در ادامه با گاز نیتروژن حلال خشک گردید. آفلاتوکسین با ۵۰۰ میکرولیتر فاز حامل آب، متانول و استونیتریل با نسبت ۳: ۲: ۶: حجمی حجمی حل شد. در آخر یک میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق گردید (۲۵).

ی) اندازه گیری آفلاتوکسین B1/ استخراج شده با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا: برای این منظور از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی مدل Agilent Technology 1100 و ستون کروماتوگرافی Agilent Zorbax XDB C18 به طول ۲۵ سانتی متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و مواد پر شده ۵ میکرومتری استفاده شد. از آشکارساز فلورسانس RF-10AXL با طول موج تحریک ۳۶۵ و نشر ۴۳۵ نانومتر استفاده گردید. تنظیم دمای ستون با استفاده از آون ستون S4011 در دمای ۲۵ درجه سلیسیوس انجام گردید. حجم تزریق یک میکرولیتر بود. فاز حامل مخلوطی از آب دیونیزه: استونیتریل: متانول (۳: ۲: ۶، حجمی/حجمی) بود. سرعت جریان بر روی یک میلی‌لیتر بر دقیقه تنظیم گردید (۲۶).

ک) اعتبارسنجی روش HPLC: خطی بودن، 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 ۱ نشان داده شده است. تعیین خطی بودن با رسم منحنی کالیبراسیون در محدوده ۱ تا ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر (ppm) با ضریب همبستگی R<sup>2</sup> انجام شد. LOD و LOQ بر اساس نسبت سیگنال به نویز (S / N) به ترتیب ۳:۱ و ۱۰:۱ تعریف شد. مقادیر بازیافت توسط غنی کردن تیمار غیر آلوده با آفلاتوکسین

جدول ۱: اعتبارسنجی آفلاتوکسین B1 با استفاده از آنالیز HPLC

ضریب همبستگی	منحنی کالیبراسیون	حد تعیین کمی (µg/ml)	حد تشخیص (µg/ml)	درصد بازیافت (انحراف استاندارد نسبی)		
				سطح آلودگی (µg/ml)		
				۳	۵	۷
۰/۹۹	$y = 420156x - 247.93$	۰/۷۵	۰/۲۵	(۰/۱) ۸۹	(۰/۰۸) ۹۸	(۰/۰۶) ۹۴

مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان اتصال در تیمارها متغیر بود. آنالیز داده ها نشان داد که دامنه اتصال سم از محدوده ۱۳/۸۶ تا ۵۸/۸ درصد است. همچنین بیشترین و کمترین میزان جذب به ترتیب مربوط به تیمار ۵ و ۱ بود. بررسی های آماری حاصل از این مطالعه نشان داد که درصد حذف آفلاتوکسین در تمام تیمارها معنی دار است ( $p < 0/05$ ). حضور باکتری و شرایط شبیه سازی شده ترشحات دستگاه گوارش تاثیر معنی داری در کاهش AFB<sub>1</sub> داشت و بین همه تیمارها ارتباط معنی داری وجود داشت ( $p < 0/05$ ).

خوراک دام بیشتر استفاده می گردد (۲۸). در پژوهش حاضر، تاثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در کاهش AFB<sub>1</sub> در محیط دستگاه گوارش شبیه سازی شده در مدل غذایی (شیراستریلیزه) در شش گروه مورد بررسی قرار گرفت. اهداف هر یک از گروه ها به اختصار به صورت زیر بود:

گروه تیمار اول که گروه کنترل منفی می باشد. بیانگر این مطلب بود که سوسپانسیون ترشحات دستگاه گوارش و شیر استریلیزه چه تاثیری بر کاهش یا عدم کاهش آفلاتوکسین دارد. نتایج نشان داد که سوسپانسیون دستگاه گوارش تاثیر خیلی کمی در کاهش AFB<sub>1</sub> دارد و شیر به صورت پوشش اطراف سم را گرفته و مانع از عملکرد ترشحات دستگاه گوارش می گردد.

در گروه تیمار دوم، دلیل استفاده از بایندر HSCAS در گروه کنترل مثبت دست یابی به این مطلب بود که آیا سوسپانسیون شیر دستگاه گوارش و شیر در اتصال AFB<sub>1</sub> اختلال ایجاد می کند یا نه. بایندر HSCAS حدود ۳۰ درصد از میزان AFB<sub>1</sub>

چندین راهبرد به منظور کاهش یا حذف آفلاتوکسین در علم مواد غذایی وجود دارد. برخی از این روش ها تاثیر بیشتری در کاهش یا تغییر این سموم را دارند. از این میان می توان به روش های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی اشاره کرد که تیمار بیولوژیکی به دلیل عدم کاهش کیفیت تغذیه ای غذا، گران نبودن تجهیزات نسبت به دو روش قبلی در صنعت غذا و

## بحث

چندین راهبرد به منظور کاهش یا حذف آفلاتوکسین در علم مواد غذایی وجود دارد. برخی از این روش ها تاثیر بیشتری در کاهش یا تغییر این سموم را دارند. از این میان می توان به روش های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی اشاره کرد که تیمار بیولوژیکی به دلیل عدم کاهش کیفیت تغذیه ای غذا، گران نبودن تجهیزات نسبت به دو روش قبلی در صنعت غذا و

جدول ۲: حذف آفلاتوکسین B1 توسط سویه لاکتوباسیلوس /سیا-وفیلوس بر روی مدل شبیه سازی شده ترشحات سیستم گوارش

تیمار	میانگین آفلاتوکسین B1 (ppm) ± انحراف استاندارد	
	درصد کاهش آفلاتوکسین B1 (ppm) ± انحراف استاندارد (سه بار تکرار)	سطح معنی داری
۱	۴/۳۱ ± ۰/۰۱۷	۰/۰۵
۲	۳/۱۶ ± ۰/۰۲۷	
۳	۴/۰۰ ± ۰/۰۲۸	
۴	۲/۸۱ ± ۰/۰۱۳	
۵	۲/۰۶ ± ۰/۰۱۸	
۶	۳/۳۱ ± ۰/۰۱۸	

را کاهش داد.

گروه تیمار سوم نشان داد که محیط شبیه سازی شده دستگاه گوارش توانایی کاهش سم AFB1 را دارد.

گروه تیمار چهارم بیانگر این مطلب بود که عدم ترشحات شیره دستگاه گوارش شبیه سازی شده در فرآیند چه تاثیری در کاهش آفلاتوکسین دارد.

در گروه تیمار پنجم یکی از عواملی که باعث کاهش اتصال AFB1 به باکتری می شود، وجود شیر در تیمارها بود. بنابراین یکی از عوامل موثر در کاهش میزان آفلاتوکسین تیمار پنجم به دلیل عدم وجود شیر در فرآیند می باشد. شیر به دلیل داشتن پروتئین، چربی و کربوهیدرات مانند یک پوشش اطراف AFB1 قرار می گیرد و از اتصال AFB1 به باکتری جلوگیری می کند.

گروه تیمار ششم یک تیمار شبیه سازی شده کامل از یک وعده غذایی انسان می باشد. زیرا حاوی باکتری، ترشحات دستگاه گوارش، شیر و AFB1 می باشد. این تیمار نشان داد که AFB1 با وجود باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و مواد غذایی حاوی سم در بدن انسان یا دام حدود ۳۳/۷۶ درصد کاهش می یابد.

دلیل انتخاب آفلاتوکسین B1 در این مطالعه، وجود گسترده آن در مواد غذایی و ضررهای انسانی و دامی می باشد. همانند مطالعات پیشین (۱۰ و ۲۹)، کاهش آفلاتوکسین در تمام تیمارها مشاهده شد. اما بیشترین کاهش مربوط به تیمار پنجم بود که در دامنه ۵۸ درصد بود.

بر اساس تحقیقات انجام شده، بهترین غلظت سلول باکتری مورد نیاز جهت کاهش یا حذف AFM<sub>1</sub> و AFB<sub>1</sub> به ترتیب، ۱۰<sup>۸</sup> و ۱۰<sup>۱۰</sup> می باشد (۱۰ و ۳۰). این میزان مشابه با مقدار غلظت سویه باکتری استفاده شده در مطالعه حاضر بود.

برطبق مطالعات پیشین چنین استنباط می شود که غلظت باکتری با میزان حذف AFM<sub>1</sub> و AFB<sub>1</sub> رابطه مستقیم دارد (۱۵ و ۳۱).

میزان اتصال AFB1 به باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در حضور شیر کاهش می یابد. در صورت حذف شیر از تیمارها میزان اتصال افزایش خواهد یافت. این یافته مشابه نتایج کابک

(Kabak) می باشد (۳۲).

همچنین مارز (Marrez) و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیان کردند که غلظت شیر از لحاظ چربی، پروتئین و قند بر روی میزان جذب آفلاتوکسین موثر است (۳۳).

متغییر زمان عامل موثر دیگر بر میزان اتصال آفلاتوکسین به باکتری می باشد. در این مطالعه با محدوده زمانی تقریباً ۴ ساعت، حدود ۱۳ تا ۷۰ درصد کاهش AFB1 مشاهده شد.

ال-خوری (El-Khoury) نشان دادند که با گذشت زمان میزان اتصال افزایش می یابد. همچنین پلتونن (Peltonen) و همکاران در سال ۲۰۰۱ قابلیت حذف فیزیکی آفلاتوکسین B1 توسط باکتری های خانواده اسید لاکتیک و بیفیدوباکتریوم را مورد مطالعه قرار دادند. میزان حذف سم پس از گذشت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس ۱۷ تا ۶۰ درصد بود (۱۵). این یافته با پژوهش ال-نظامی (El-Nezami) مغایرت دارد. از مطالعات این محقق چنین می توان استنباط کرد که با گذشت زمان AFB1، از کمپلکس لاکتوباسیلوس-آفلاتوکسین جدا می گردد. زیرا این اتصال به دلیل پیوند ضعیف غیرکووالانسی می باشد (۱۰، ۱۵ و ۳۴).

سرانونینو (Serrano-Nino) و همکاران در سال ۲۰۱۳ به ارزیابی باکتری های پروبیوتیک در کاهش AFM<sub>1</sub> شیر در مدل دستگاه گوارش به صورت *In vitro* پرداختند. نتایج آنها نشان داد که میزان کاهش در محدوده ۲۲ تا ۴۵ بستگی به نوع باکتری دارد. آنها بیان کردند که بخش کمی از کمپلکس آفلاتوکسین/باکتری برگشت پذیر است (۳۵).

تیمار گروه ۳ نشان داد که ترشحات مصنوعی دستگاه گوارش باعث کاهش حدود ۲۰ درصدی میزان AFB<sub>1</sub> می گردد. دلیل آن وجود شرایط اسیدی، قلیایی، آنزیم ها، صفرا و نمک های موجود در ترشحات است که با مطالعات پیشین مشابهت دارد.

نمک صفراوی موجود در روده کوچک انسان که میزان آن از ۰/۲ تا ۲ درصد می رسد، تاثیر خیلی مهمی در اتصال مایکوتوکسین ها به میکروارگانیزم ها دارد. زیرا صفرا تاثیر مهمی در دیواره سلولی به ویژه در فسفولیپیدها، گلیکولیپید و پروتئین های غشا دارند (۳۶ و ۳۷).

پروتئین و تغییر شکل دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها گردد. حرارت با انحلال مانانی سطح سلول موجب افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی می‌شود و در نهایت افزایش دسترسی بیشتر به مکان‌های اتصال را در پی دارد. شرایط اسیدی با شکست اتصالات، رهایی مونومرهای پلی‌ساکارید دیواره و تبدیل آنها به آلدئید سبب افزایش اتصال فیزیکی مایکوتوکسین‌ها می‌شوند (۱۰ و ۴۰).

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که حضور باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ترشحات دستگاه گوارش تأثیر مثبتی در حذف سم دارند. 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 تنش‌های فیزیولوژیک، شبیه‌سازی واقعی آنها مشکل است. بسیار مشاهده می‌شود که عوامل محیطی باعث تقویت یا تضعیف رفتار میکروارگانیسم در برابر شرایط خاصی می‌شود.

به علاوه، بر خلاف شرایط آزمایشگاهی مقدار ترشحات دستگاه گوارش در روده و معده ثابت نیست. به عنوان نمونه تا زمان مصرف غذاهای پرچرب، میزان 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. همچنین وجود مواد غذایی در معده و روده می‌تواند سبب ایجاد سپر حفاظتی برای میکروارگانیسم‌ها شود و برخی از پروبیوتیک‌ها بدون اینکه با صفرا و یا سم تماسی یابند از روده و معده خارج می‌شوند.

در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که عملکرد عوامل حذف‌کننده مایکوتوکسین‌ها در شرایط مختلف آزمایشگاهی (*in vitro*) و شرایط درون تن (*in vivo*) با هم متفاوت می‌باشند و عملاً قادر به ارائه نتایج قابل قبول نمی‌باشند. بنابراین به تحقیقات بیشتری برای تعیین میزان دقیق باکتری‌های پروبیوتیک و میزان کاهش انواع مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی در شرایط درون تن نیاز می‌باشد.

فاکتورهای اساسی مؤثر بر زنده ماندن باکتری‌ها در دستگاه گوارش، شرایط pH معده و نمک صفرا روده است (۳۸ و ۳۹). بنابراین در صورت وجود صفرا، اتصال آفلاتوکسین با باکتری‌های پروبیوتیک افزایش می‌یابد (۳۱).

ال-نظامی (El-Nezami) و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که pH یکی از عوامل مؤثر در حذف آفلاتوکسین است. pH در محدوده ۶-۴ تأثیر مثبتی بر روی حذف آفلاتوکسین ندارد (۱۰). این نتیجه با یافته شتی (Shetty) مغایرت دارد. شرایط اسیدی با اثر بر پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و آزاد سازی مونومرها و نیز با شکستن پیوند گلیکوزیدی آلدئیدها باعث ایجاد مکان‌های اتصال می‌گردد. اسید کلریدریک ۲ مولار به مدت ۶۰ دقیقه، باعث کاهش ۸۰ درصدی AFB1 در حضور ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) می‌گردد (۴۰).

تأثیر آنزیم پرونازو لپاز در بافر فسفات در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت یک ساعت بر روی اتصال AFB1 به باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس سویه GG به صورت زنده، کشته حرارتی و کشته اسیدی، نشان داد که دامنه اتصال تقریباً مشابه ای در محدوده ۶۶-۸۹ درصد داشتند. اوره نیز به دلیل اثر متقابل آب‌گریزی دارای نقش مهمی در این اتصال بود. نمک معمولی و کلرید کلسیم (۱-۰/۱ مولار) به دلیل اثرات متقابل الکترواستاتیک تأثیر جزئی در این اتصال داشتند (۴۱).

درجه حرارت، یکی دیگر از عوامل مؤثر بر اتصال مایکوتوکسین به دیواره باکتری‌ها است. در این مطالعه از دمای ۳۷ درجه سلیسیوس استفاده شد. با توجه به مطالعات مشابه دمای ۳۷ درجه هیچگونه تأثیری در کمپلکس مایکوتوکسین/باکتری ندارد. اما دمای ۱۵ درجه سلیسیوس باعث کاهش این اتصال می‌گردد (۴۰).

شتی (Shetty) و همکاران (۲۰۰۷) و ال-نظامی (El-Nezami) (۱۹۹۸) به بررسی اثر عامل حرارت و شرایط اسیدی بر کاهش مایکوتوکسین‌ها توسط میکروارگانیسم‌های متفاوت پرداختند. آنها بیان کردند که حرارت ممکن است باعث واسرشت شدن



## نتیجه گیری

نتایج نشان داد که علاوه بر لاکتوباسیلوس رامنوسوس زیر گونه GG، شیره معده و روده کوچک هم در کاهش یا حذف آفلاتوکسین B1 موثراند. پس مصرف غذای حاوی این باکتری تا حدودی از جذب آفلاتوکسین از بدن جلوگیری می‌کند.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم پزشکی فسا (دانشکده بهداشت) و دانشگاه ارومیه (دانشکده دامپزشکی) به دلیل در اختیار قرار دادن آزمایشگاه های تحصیلات تکمیلی کمال امتنان را دارند.

## References

1. Tola M, Kebede B. Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. *Cogent Food Agriculture*. 2016; 2(1): 119-125.
2. Cheraghali A, Yazdanpanah H, Doraki N, Abouhossain G, Hassibi M, Ali-Abadi S. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food Chem Toxicol*. 2007; 45(5): 812-816.
3. Abdulkadar A, Al-Ali A, Al-Jedah J. Aflatoxin contamination in edible nuts imported in Qatar. *Food Control*. 2000; 11(2): 157-160.
4. Udomkun P, Wiredu AN, Nagle M, Müller J, Vanlauwe B, Bandyopadhyay R. Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application– A review. *Food Control*. 2017; 76(1): 127-138.
5. Zain ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J Sau Chemi Soci*. 2011; 15(2): 129-144.
6. Kumar KS, Sastry N, Polaki H, Mishra V. Colon cancer prevention through probiotics: an overview. *J Cancer Sci Ther*. 2015; 7(2): 81-92.
7. Berg T. How to establish international limits for mycotoxins in food and feed? *Food Control*. 2003; 14(4): 219-224.
8. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Maximum validity Maycotoxins in human food. ISIRI no 7133. ISIRI; 1992 [In Persian].
9. Park DL, Ayala CE, Guzman-Perez SE, Lopez-Garcia R, Trujillo S. *Microbial toxins in foods: algal, fungal, and bacterial*: CRC Press, Boca Raton, FL; 2000.
10. El-Nezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. *Food Chem Toxicol*. 1998; 36(4): 321-326.
11. Salim A-B, Zohair A, Hegazy AE-S, Said A. Effect of some strains of probiotic bacteria against toxicity induced by aflatoxins in vivo. *J Am Sci*. 2011; 7(1): 1-12.
12. Kabak B, Ozbey F. Aflatoxin M1 in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bio-accessibility using an in vitro digestion model. *Food Control*. 2012; 28(2): 338-344.
13. Panwar R, Kumar N, Kashyap V, Ram C, Kapila R. Aflatoxin M 1 detoxification ability of probiotic lactobacilli of Indian origin in In vitro digestion model. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2018; 1: 1-10.

14. Martínez MP, González Pereyra ML, Fernandez Juri MG, Poloni V, Cavaglieri L. Probiotic characteristics and aflatoxin B1 binding ability of *Debaryomyces hansenii* and *Kazaschtania exigua* from rainbow trout environment. *Aquacult Res.* 2018; 49(4): 1588-1597.
15. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Int Dairy J.* 2001; 84(10): 2152-2156.
16. Saladino F, Posarelli E, Luz C, Luciano F, Rodriguez-Estrada M, Mañes J. Influence of probiotic microorganisms on aflatoxins B1 and B2 bioaccessibility evaluated with a simulated gastrointestinal digestion. *J Food Compos Anal.* 2018; 68: 128-132.
17. Damayanti E, Istiqomah L, Saragih JE, Purwoko T. Characterization of lactic acid bacteria as poultry probiotic candidates with aflatoxin B1 binding activities. *Earth Environ Sci.* 2017; 101: 120-130.
18. Liu N, Wang J, Deng Q, Gu K, Wang J. Detoxification of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria and hydrated sodium calcium aluminosilicate in broiler chickens. *Livest Sci.* 2018; 208: 28-32.
19. Hojsak I, Snovak N, Abdović S, Szajewska H, Mišak Z, Kolaček S. *Lactobacillus* GG in the prevention of gastrointestinal and respiratory tract infections in children who attend day care centers: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 2010; 29(3): 312-316.
20. Assaf JC, Atoui A, Houry AE, Chokr A, Louka N. A comparative study of procedures for binding of aflatoxin M1 to *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Braz J Microbiol.* 2018; 49(1): 120-127.
21. 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): 123-127.
22. 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): 787-793.
23. De Palencia PF, López P, Corbí AL, Peláez 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 Technol.* 2008; 227(5): 1475-1484.
24. Neeff D, Ledoux D, Rottinghaus G, Bermudez A, Dakovic A, Murarolli R, Oliveira C. In vitro and in vivo efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to bind and reduce aflatoxin residues in tissues of broiler chicks fed aflatoxin B1. *Poult Sci.* 2013; 92(1): 131-137.
25. Bognanno M, La Fauci L, Ritieni A, Tafuri A, De Lorenzo A, Micari P, Di Renzo L, Ciappellano S, Sarullo, V. Survey of the occurrence of Aflatoxin M1 in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. *Mol Nutr Food Res.* 2006; 50(3): 300-305.
26. Association of official analytical chemists. Official methods of association of official analytical chemists (17th Ed.). Gaithersburg, MD: AOAC; 2000.
27. Wei R, Qiu F, Kong W, Wei J, Yang M, Luo Z. Co-occurrence of aflatoxin B1, B2, G1, G2 and ochratoxin A in *Glycyrrhiza uralensis* analyzed by HPLC-MS/MS. *Food Control.* 2013; 32(1): 216-221.

28. Peltonen KD, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT. Binding of aflatoxin B1 by probiotic bacteria. *J Sci Food Agric*. 2000; 80(13): 1942-1945.
29. Nurul Adilah Z, Liew WP, Mohd Redzwan S, Amin I. Effect of high protein diet and probiotic *Lactobacillus casei* shirota supplementation in aflatoxin B1-induced rats. *Bio Med Res Int*. 2018; 2018.
30. Ismail A, Levin RE, Riaz M, Akhtar S, Gong YY, de Oliveira CA. Effect of different microbial concentrations on binding of aflatoxin M1 and stability testing. *Food Control*. 2017; 73: 492-496.
31. 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): 1064-1068.
32. Kaak B, Var I. Binding of aflatoxin M1 by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Milchwissenschaft*. 2004; 59(5-6): 301-303.
33. Marrez DA, Shahy EM, El-Sayed HS, Sultan YY. Detoxification of aflatoxin B1 in milk using lactic acid bacteria. *J Biol Sci*. 2018; 18(3): 144-151.
34. 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): 1695-1699.
35. Serrano-Niño J, Cavazos-Garduño A, Hernandez-Mendoza A, Applegate B, Ferruzzi M, San Martin-González M. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bio-accessibility of aflatoxin M1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. *Food Control*. 2013; 31(1): 202-207.
36. Oozer R, Leplingard A, Mater DD, Mogenet A, Michelin R, Seksek I, Marteau P, Dore J, Bresson J, Corthier G. Survival of *Lactobacillus casei* in the human digestive tract after consumption of fermented milk. *J Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(8): 5615-5627.
37. Kheadr EE. Impact of acid and oxgall on antibiotic susceptibility of probiotic lactobacilli. *Afr J Agric Res*. 2006; 1(5): 172-181.
38. 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(6-9): 921-927.
39. Pacheco KC, del Toro GV, Martínez FR, Duran-Paramo E. Viability of *Lactobacillus delbrueckii* under human gastrointestinal conditions simulated in vitro. *Am J Agric Biol Sci*. 2010; 5: 37-42.
40. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol*. 2007; 113(1): 41-46.
41. Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Chem Biol Interact*. 2000; 128(1): 39-49.



## Detoxification of aflatoxin b1 by *Lactobacillus rhamnosus* in a simulated model of the human digestive system

Mehran Sayadi<sup>1</sup>, Hossein Tajik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Food Safety and Hygiene, School of Public Health, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.

<sup>2</sup>Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

### Abstract

**Background & Objectives:** According to the FAO annual report, 10 percent of the world's food products are contaminated with fungal toxins, among which aflatoxins have the most contribution as compared to others. This research was aimed to assess the ability of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in the reduction of aflatoxin B1 (AFB1) in a simulated human gastrointestinal tract containing sterilized milk.

**Materials & Methods:** For this purpose, the bacterial count and aflatoxin concentration were adjusted to  $1 \times 10^{10}$  cfu/ml and 5 ppm, respectively, where artificial gastrointestinal tract discharges were inoculated in the simulated environment. In this study 6 treatment groups were assessed 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.

**Results:** The reduction of aflatoxin B1 at all treatments was determined using HPLC with a detection limit of 0.25 mg/ml and a quantification limit of 0.75 mg/ml. The mycotoxin recovery rate was between 89% and 94% for AFB1. The aflatoxin B1 calibration curve with a correlation coefficient of 0.95 was linear in the concentration range of 1 to 10 ng/ml. The highest and lowest average removal percentage of aflatoxin B1 was observed for 5 and 1 treatments ( $58.8 \pm 0.018$  and  $13.86 \pm 0.017$ ) respectively, where a significant difference in removal percentage was observed among six treatment groups.

**Conclusion:** The results indicated that beside *L. rhamnosus* strain GG, gastric and small intestine juices are suitable to eliminate or reduce aflatoxin B1, as well.

**Keywords:** *Lactobacillus rhamnosus*, Aflatoxin B<sub>1</sub>, Digestive system, Detoxification, HPLC.

---

Correspondence to: Mehran Sayadi

Tel: +98 89179248703

E-mail: [mehransayadi62@gmail.com](mailto:mehransayadi62@gmail.com)

Journal of Microbial World 2019, 11(4): 380-391.