مروری بر روش های بیولوژیکی کاهش مایکوتوکسین در شیر و فرآورده های لبنی

A review of biological methods of Mycotoxin reduction in milk and dairy products

فرشته خیری* [۱]، مرجانه صداقتی [۲]

دریافت: ۱۴۰۰/۴/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۴

چکیده

استفاده از شیر و گوشت حیوانات آلوده ممکن است منجر به بیماری های انسانی شود. آفلاتوکسین ها (*AFs*)، متابولیت های ثانویه سمی هستند که بیشتر توسط گونه های آسپرژیلوس تولید می شوند. در بین میکروارگانیسم ها، سموم قارچی به ویژه آفلاتوکسین *(AFB1) B-1* از اهمیت ویژه ای برخوردار است. آفلاتوکسین *(AFM-1) M-1* متابولیتی است که با تبدیل و هیدروکسیلاسیون *AFB-1* تولید می شود. اگرچه فن‌آوری‌های مختلف (فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی) برای کاهش اثرات مضر مایکوتوکسین‌ها، از جمله آفلاتوکسین ها (*AFs*)، توسعه، آزمایش و به کار گرفته شده‌اند، روش‌های جهانی هنوز برای کاهش سطح *AF* در خوراک و غذا در دهه‌های گذشته در دسترس نیستند. گاوهای شیری هنگامی که از آفلاتوکسین *B1* تغذیه می شوند ممکن است در نتیجه قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی، آفلاتوکسین *M1* را در شیر دفع کنند. این مایکوتوکسین در برابر دما کاملاً مقاوم است بنابراین عملیات حرارتی مانند پاستوریزاسیون و فوق پاستوریزاسیون برای غیرفعال کردن آن کافی نیست. با توجه به اینکه برخی میکروارگانیسم ها دارای قابلیت تخریب آفلاتوکسینها بوده و میزان این تخریب با نوع سویه میکروبی ارتباطی قوی دارد، لذا انجام بررسیهای بیشتر و گسترده روی کاربرد آن در مواد غذایی میتواند در اتخاذ استراتژیهای پیشگیری از برخی بیماریها و در نتیجه ارتقا سلامت انسان حائز اهمیت باشد.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین،روش های بیولوژیکی، فرآورده های لبنی، گونه های قارچی

مقدمه

آفلاتوکسین ها (*AFs*) متابولیت های ثانویه سمی هستند که به طور طبیعی توسط برخی گونه های آسپرژیلوس به ویژه آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می شوند. آفلاتوکسین ها (*AFs*) مایکوتوکسین های مشتق شده از فورانوکومارین هستند که توسط گونه های *Aspergillus pergillus* بیوسنتز می شوند که در میان آنها *Aspergillus.flavus*، *Aspergillus.parasiticus*، *Aspergillus.nomiae* و *Aspergillus.pseudota marii* به عنوان تولیدکنندگان اولیه در نظر گرفته می شوند (Farombi, 2006) *AF* ها می توانند محصولات مختلف (مانند غلات، دانه های روغنی، آجیل، ادویه جات ترشی

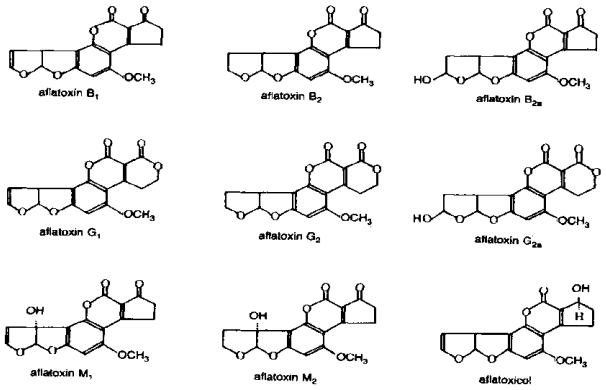
[۱] دانشجو دکترا، زیست فناوری مواد غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال،دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
نویسنده مسئول مکاتبه کننده: Email:feri2514@yahoo.com

جات، میوه ها، میوه های خشک و شیر) را آلوده کنند (Alborzi *et al.*,2006). انسان به صورت روزانه در معرض ترکیبات متفاوت شیمیایی طبیعی یا مصنوعی قرار دارد که از طریق مسیرهای متفاوت میتواند وارد بدن شود. این مواد متعاقب ورود، سبب ایجاد طیف گسترده ای از مشکلات سلامتی و اختلال عملکردی ارگانهای زیستی و بافتهای اصلی بدن ازجمله؛ بیماریهای دستگاه تناسلی، اختلالات روانشناختی، سرکوب سیستم ایمنی، آسیب و ناهنجاری در ارگانها (کلیه و کبدو ...) القاء و پیشرفت برخی از انواع سرطان میگردند(Shahbazi *et al*.,2015;2016) مایکوتوکسین ها یکی از ترکیبات شیمیایی طبیعی و به عنوان مهمترین متابولیت های ثانویه گونه های مختلفی از قارچها بالأخص جنس آسپرژیلوس، پنیسیلیوم و فوزاریوم است (Hojnik *et al*.,2017). علاوه بر این، مایکوتوکسین ها سالانه منجر به ایجاد ضرر و زیانهای بزرگ اقتصادی، ازجمله مرگ انسانها و حیوانات، افت محصولات علوفه ای، و غذای دام خواهند شد(Zain.,2011) بر اساس ارزیابی و گزارش سازمان غذا و کشاورزی سالیانه در ۲۵ درصد از کل تولیدات جهان، آلودگی با بیش ازحد مجاز مایکوتوکسین ها مشاهده میشود. علاوه بر مسیر گوارشی که مهمترین راه مواجهه با مایکوتوکسین ها است، احتمال بروز آلودگی از طریق استنشاقی و تماس پوستی نیز وجود دارد(Steyn.,2016). این نکته شایان ذکر است که نه تنها تمام گونه های قارچی توکسین زا نیستند بلکه تمام متابولیت های ثانویه قارچی نیز سمی نمی باشد(Applebaum *et al*.,1982; Zain.,2011). جهت کاهش یا حذف اثرات سوء مایکوتوکسین ها میتوان از استراتژی های متفاوت پیشگیری از رشد قارچ های مایکوتوکسیک، سمزدایی مواد غذایی آلوده به توکسینها و یا تخریب ساختاری و مهار جذب مایکوتوکسینها بهره گرفت(Doyle *et al*.,1982). *Aspergillus parasiticus* آفلاتوکسین کامل (*AFG1*، *AFG2*، *AFB1* و *AFB2*) را بر روی ذرت فرموله می کند در حالی که *Aspergillus.flavus* اساساً آفلاتوکسین *B1* و *B2* را روی ذرت تولید می کند. علاوه بر این، از آنجایی که تولید شیر و مواد غذایی مبتنی بر شیر نیاز به فرآیندهای مختلفی دارد، تأثیر فرآیند نگهداری و نگهداری پتانسیل زیادی بر انتشار و پایداری آلفاتوکسین *M1* دارد. با توجه به اینکه در مقایسه با آلفاتوکسین در سایر فرآورده های شیری مانند ، شیر، کره، خامه، شیر بدون چربی، پنیر و ماست به دلیل انجام برخی فرآیندهای مکانیکی، شیمیایی و بیولوژیکی، میزان آلفاتوکسین در شیر نسبتاً بیشتر است. بسته به نوع محصولات (Yitbarek and Birhan.,2013). در این زمینه، هدف از این مطالعه مروری بر روش‌های بیولوژیکی پاک‌سازی آفلاتوکسین *M1* در فرآورده های لبنی منتشر شده در سالیان گذشته به‌عنوان کمکی برای ارزیابی تکامل این استراتژی و همچنین کارایی آن بوده است.

ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین ها

آفلاتوکسین ها از نقطه نظر شیمیایی مشتقات فورانوکومارین محسوب می شوند. این ترکیبات هتروسیکلیک وزن مولکولی پایینی داشته و بر اساس منشأ اولیه ، زمان بازداری و نور فلورسانسی که در حضور اشعه فرابنفش دارند به چهار گروه اصلی *B_1*،*B2*،*G1* و *G2* تقسیم می شوند. آفلاتوکسین های *B_1* و *B_2* در طول موج ۴۲۵ نانومتر و *G_1*, *G_2* در طول موج ۴۵۰ نانومتر اشعه فرابنفش به ترتیب به رنگ آبی و سبز ـ زرد فلورسانس می کنند (Yitbarek and Birhan.,2013). گونه های مسمومیت

زای آسپرژیلوس به طور معمول ۲ یا ۳ فرم از آفلاتوکسین ها را سنتز می کنند که یکی از آن ها به طور ثابت آفلاتوکسین B_1 است. آفلاتوکسین B_1 سمی قوی است و در گروه ترکیبات سرطان زا قرار دارد. هنگامی که گاو شیری غذای آلوده به آفلاتوکسین را دریافت می کند، آفلاتوکسین B_1, B_2 به مشتقات ۴ ـ هیدروکسی خود به نام های آفلاتوکسین M_1 و M_2 تبدیل و از شیر دفع می شوند. غلظت آفلاتوکسین M_1 تولیدی در شیر گاو نسبت به آفلاتوکسین M_2 بیشتر بوده و سمیت آن نیز به مراتب بیشتر می باشد(Yitbarek and Birhan.,2013; Applebaum *et al*.,1982; Zain.,2011).



شکل۱-۱- انواع آفلاتوکسین ها

Figure 1-1- Types of aflatoxins

اثرات آفلاتوکسین بر سلامت:

AF ها از جمله خطرناک ترین ترکیباتی هستند که به طور نامطلوبی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی حیوانات و انسان ها تأثیر می گذارند. *AF* ها تحت قرار گرفتن طولانی مدت جهش زا، تراتوژن، ژنوتوکسیک و سرطان زا هستند (Jalili.,2015;Peles *et al*,2015). *AF* ممکن است در هر نقطه زمانی از قبل از برداشت تا مصرف انسانی وارد خوراک و زنجیره غذایی شود (Torres *et al*.,2014; Norlia *et al.,2019;* Ráduly *et al*.,2020). این سموم معمولاً هم در حیوانات و هم در انسان از روده جذب می‌شوند و به قسمت‌های مختلف بدن منتقل می‌شوند، جایی که می‌توانند از نظر شیمیایی پیوند یا اصلاح شوند. اختلال پاتولوژیک کبد و کلیه، دستگاه گوارش، و سیستم ایمنی و تولید مثل هم در انسان و هم در دام تحت *AF* گزارش شده است (Peles *et al*.,2019; Ráduly *et al*.,2020). مشتقات *AF* مانند آفلاتوکسین *M1 (AFM1)* در نهایت در حیوانات دفع می شود و باعث آلودگی شیر و فرآورده های شیر می شود (Warth *et al*.,2016; Ketney *et al*.,2017). در عین حال، *AFM1* می تواند در آلودگی قارچی تولید شود (Warth *et al*.,2016). ممکن است رشد اولیه جنین را پس از عبور از جفت مختل کند (Ráduly *et al*.,2020; Costamagna *et al*.,2019). در شیردهی، *AFM1* حتی نوزادان انسان را تهدید می کند (Maleki *et al*.,2015 .; Warth *et al*.,2016). آلودگی مستقیم محصولات شیر تخمیر شده مانند پنیر توسط کپک

هـای تولیـد کننـده *AF* و متابولیـت هـای آنهـا نیـز در بسـیاری از مـوارد شـرح داده شـده اسـت (Costamagna *et al.*,2019). محققـان بـه دلیـل اثـرات منفـی *AF* بـر سـلامت دام و انسـانبرای جلـوگیری از تشـکیل مایکوتوکسـین و انتقـال آنهـا تحقیقـات متعـددی انجـام داده انـد. روش‌هـا و پروتکل‌هـای پیشـگیری کـه قبـل و بعـد از برداشـت بـه اجـرا گذاشته می‌شـوند، بـرای مثـال، روش‌هـای خـوب کشـاورزی و تولیـدی (ماننـد شـخم عمیـق و جداسـازی دانـه‌ها) و شـرایط نگهـداری مناسـب (محـیط سـرد و خشـک)، بهتـرین گزینـه‌ها بـرای کـاهش آلـودگی *AF* هسـتند. (Ketney *et al.*,2017). *AF* هـا بـه دلیـل پایـداری قابـل توجـه خـود بـه سـرعت تجزیـه نمـی شـوند (Jasutiene *et al.*,2006; Peles *et al.*,2019).آفلاتوکسـین هـا منجربـه القـاء سـرطان در انـدامها بخصـوص کبـد مـی شـوند. مصـرف مسـتقیم آفلاتوکسـین از طریـق خوردن غذاهای آلـوده بـا منشـا گیـاهی ماننـد غـلات، حبوبـات، میـوه هـا، دانـه هـای روغنـی، ادویـه جـات و مصـرف غیـر مسـتقیم از طریـق خـوردن شـیر یـا فـرآورده هـای آن، گوشـت و تخـم مـرغ حـاوی آفلاتوکسـین بوجـود مـی آیـد. (Samarajeewa *et al.*, 1990; Farombi., 2006). قـرار گـرفتن طـولانی مـدت در معـرض *AF* هـا مـی توانـد جهـش زا، تراتـوژن، ژنوتوکسـیک و سـرطان زا باشـد (Adams and Moss.,2000). *AF* ممکـن اسـت در هـر نقطـه زمـانی از قبـل از برداشـت تـا مصـرف انسـانی وارد خـوراک و زنجیـره غـذایی شـود (Akande *et al.*,2006; Raters *et al.*,2008). ایـن سموم معمـولاً هـم در حیوانـات و هـم در انسـان از روده جـذب می‌شـوند و بـه قسـمت‌های مختلـف بـدن منتقـل می‌شـوند، و اخـتلال پاتولوژیـک کبـد و کلیـه، دسـتگاه گـوارش، و سیسـتم ایمنـی و تولیـد مثلـی هـم در انسـان و هـم در دام تحـت *AF* گـزارش شـده اسـت (Alborzi *et al.*,2006; Wu and Pornsri., 2010 ; Raters *et al.*,2008). مشـتقات *AF* ماننـد آفلاتوکسـین *M1 (AFM1)* در نهایـت در حیوانـات دفـع مـی شـود و باعـث آلـودگی شـیر و فـرآورده هـای شـیر مـی شود(Raters *et al.*,2008; Wu and Pornsri., 2010; Maleki *et al.*,2015; Panariti.,2001; Peles *et al.*,2019).

فاکتورهای موثر بر تولید آفلاتوکسین

رشـد آسـپرژیلوس هـا و تولیـد آفلاتوکسـین توسـط آنهـا بـه شـرایط محیطـی ، نـوع سوبسـترا و حضـور سـایر گونـه هـای قارچی بستگی دارد. با توجـه بـه گـزارش هـای ضـد و نقیضـی کـه در رابطـه بـا خاصـیت توکسـین زایـی قـارچ آسـپرژیلوس دردست اسـت، محققـان بـه ایـن نتیجـه رسـیده انـد کـه ایـن مسـئله هـم بـه خـاکی کـه آسـپرژیلوس فـلاووس از آن جـدا شـده و هـم بـه منطقـه جغرافیـایی آن مربـوط مـی باشـد. منطقـه جغرافیـایی در تولیـد آفلاتوکسـین توسـط آسـپرژیلوس فـلاووس نقـش اساسـی دارد، بـه طـوری کـه بـه نظـر مـی رسـد قـارچ هـای آسـپرژیلوس کـه از منـاطق حـاره جمـع آوری شـده انـد بـیش از انـواع جـدا شـده از منـاطق معتـدل ، مولـد سـم باشند(یوسـفی،۱۳۶۹). آسـپرژیلوس فـلاووس و آسـپرژیلوس پـارازیتیکوس در منـاطق گرمسـیری و نیمـه گرمسـیری بسـیار پراکنـده انـد. در ایـن نـواحی بـه علـت نگهـداری نامناسـب محصـولات کشـاورزی در انبـار، قـارچ هـای مختلـف از قبیـل آسـپرژیلوس و پنـی سـیلیوم بـه سـرعت رشد می کنند. گرمـای هـوا و رطوبـت بـالا باعـث مـی شـود کـه میـزان تولیـد آفلاتوکسـین هـا بـه سـرعت افـزایش یابـد و

اغلب از محدوده تعیین شده توسط *FAO* و *WHO*که ۳۰ میکروگرم در کیلوگرم برای مصارف غذای انسان است، بالاتر رود(Panariti,2001). امروزه مشخص شده که تولید آفلاتوکسین ها فقط در نتیجه نگهداری نامناسب در انبار نمی باشد بلکه این سموم می توانند قبل از برداشت محصول نیز تولید شوند. استرس آبی، استرس دمایی و صدماتی که حشرات به گیاه میزبان در مزرعه وارد می سازند، فاکتورهای اصلی برای هجوم قارچ ها و تولید سموم قبل از برداشت محصولات می باشند (مرتضوی و طباطبایی، ۱۳۷۶). شکل گیری آفلاتوکسین ها همچنین در ارتباط با رشد سایر قارچ ها و میکروب ها می باشد. آسپرژیلوس نیجر مهمترین ارگانیسم رقیب آسپرژیلوس فلاووس محسوب می شود. مطالعات انجام شده نشان دادند، درصورتی که آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نیجر توأماً به پسته های اتوکلاو شده تلقیح شوند، آفلاتوکسین تولید نخواهد شد. مهمترین مکانیسم احتمالی در مهار تولید آفلاتوکسین کاهش *pH* محیط در اثر تولید مقادیر زیاد اسیدهای آلی از جمله سیتریک اسید به وسیله آسپرژیلوس می باشد. افزون بر این، احتمال می رود سیتریک اسید تولید شده توسط آسپرژیلوس نیجر از طریق جذب فلزاتی نظیر روی که برای تولید توکسین ضروری اند، به طور غیر مستقیم از تولید آن جلوگیری می نمایند. مکانیسم دیگر برای اثر مهارکنندگی آسپرژیلوس نیجر در تولید آفلاتوکسین، به تشکیل متابولیت ها و یا ترکیباتی نسبت داده می شود که در بیوستتز آفلاتوکسین مداخله می نمایند. تعدادی از حشره کش ها و علف کش ها می توانند مانع از رشد قارچ های آفلاتوکسین زا و تولید آفلاتوکسین توسط آنها شوند(مرتضوی و طباطبایی، ۱۳۷۶).

آفلاتوکسین در شیر و فرآورده های لبنی

ایجاد آفلاتوکسین در شیر

آفلاتوکسین ها را می توان در محصولات کشاورزی قبل و هنگام برداشت یا در هنگام انبارداری پس از برداشت یافت. بسته به توانایی های ژنتیکی قارچ، بستر و شرایط محیطی آفلاتوکسین های مختلف ممکن است در مقادیر و نسبت های بسیار متنوعی تولید شوند. استفاده از خوراک دام ناسالم و آلوده به آفلاتوکسین ها سبب ایجاد اختلال در چرخه سلامت دام، شیر و افراد مصرف کننده شیر و فرآورده های لبنی می گردد. پژوهش های مختلف بر روی خوراک دام نشان داده است که آلودگی خوراک دام به کپک ها و خصوصا گونه های آسپرژیلوس(نظیر آسپرژیلوس فلاووس و آسپرزیلوس پارازیتیکوس) سبب تولید آفلاتوکسین و انتقال آن به شیر و فرآورده های آن می شود. بسیاری از محصولات کشاورزی که در تهیه خوراک دام استفاده می شوند مستعد آلودگی با گروهی از قارچها می باشند که قادرند متابولیت های سمی تولید کنند(۴۰).

سنتز و دفع آفلاتوکسین *M1*

یکی از شناخته‌شده‌ترین و پراکنده‌ترین گروه‌های مایکوتوکسین در غذا، آفلاتوکسین‌ها هستند (۷۸-۱۶) که می‌توانند توسط گونه های مختلف از جنس *Aspergillus* تولید شوند. آسپرژیلوس فلاووس تولید کننده اصلی

آفلاتوکسین است (۲۲). تأثیرگذارترین عوامل در رشد و تولید آفلاتوکسین ها رطوبت و دما است که رطوبت مطلوب بالای ۸۰ درصد و حداکثر دمای تولید سم بین ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی گراد است (۳). تولید آفلاتوکسین می تواند تحت تأثیر برخی عوامل دیگر مانند: ترکیب بستر، *pH*، محتوای اکسیژن و دی اکسید کربن، رقابت میکروبی، آسیب مکانیکی، نوع قارچ وجود آلایندهو استفاده از قارچ کش ها باشد (۵۴-۴۰).

شیوع آفلاتوکسین *M1* در شیر و پنیر

شیوع آفلاتوکسین *M1* در پنیر تولید شده از شیر آلوده به این سم، واقعیتی است که قبلاً توسط چندین نویسنده توضیح داده شده است (۱۱-۱۶-۳۵-۴۲-۴۷-۴۹-۵۷-۷۰-۸۲-۸۳-۸۷). در رابطه با وجود *AFM1* در پنیرها علاوه بر وجود سم در شیر، عوامل دیگری مانند: نوع پنیر، مراحل فرآوری، نوع شیر مورد استفاده برای تولید (خام یا پاستوریزه)، ، افزودن گیاهان دارویی نیز باید در نظر گرفته شود (۱۶)

شیوع آفلاتوکسین در شیر و فرآورده های جانبی آن

آفلاتوکسین دارای درجه شیوع، اثرات، غلظت و خصوصیات بسیار متفاوتی است که بستگی به بستر مورد استفاده، ماهیت کپک و شرایط آب و هوایی دارد (۱۳-۹). *Aspergillus parasiticus* آفلاتوکسین کامل (*AFG1*، *AFG2*، *AFB1* و *AFB2*) را بر روی ذرت فرموله می کند در حالی که *Aspergillus flavus* اساساً آفلاتوکسین *AFB1* و *AFB2*روی ذرت تولید می کند.. بادام زمینی، پنبه دانه و ذرت دارای خصوصیات بسیار خوبی برای حمله گونه های آسپرژیلوس در طول رشد، عملکرد و بارگیری یا ذخیره سازی هستند (۴۸).. تشکیل آفلاتوکسین با رطوبت زیاد، محیط ضعیف ذخیره سازی، آسیب فیزیکی به دانه، دمای بالا، عدم وجود تهویه تقویت می شود (۵۹). به دلیل انجام برخی فرآیندهای مکانیکی، شیمیایی و بیولوژیکیدر فرآورده های شیری مانند پنیر، ماست، شیر کره، خامه و شیر بدون چربی مقدار آفاتوکسین و ، . دلیل اصلی شیوع *AFM1* در شیر خام، واردات باقیمانده *AFB1* از خوراک آلوده حیوانات به شیر است. مورد دوم تولید *AFB1*، *AFB2*، *AFG1* و *AFG2* توسط قارچ هایی است که روی پنیر تکثیر می شوند. سومین مورد مصرف پنیر از پودر شیر آلوده به آفلاتوکسین *M1* است. همانطور که باربیرولی و همکاران (۶۸) بیان کردند، دمای بالا، *pH* و مدت زمان پرس کردن دلمه پنیر می تواند باعث افزایش حجم آب حذف شده و افزایش مقدار *AFM1* در پنیر شود.

روشهای کاهش آفلاتوکسین

استفاده از مواد و روشهایی که کاهش میزان آفلاتوکسین تولیدشده را از طریق جذب، حذف و تبدیل آن میسر میسازند میتوانند در کاهش آلودگی مواد غذایی مصرفی انسان به آفلاتوکسین ها مؤثر واقع شوند. اینکار به سه شکل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی صورت میپذیرد.

روشهای فیزیکی

در این روشها با استفاده از جذب سطحی، باند کردن و یا ایجاد تغییر در ساختار آفلاتوکسین، میزان آلودگی ماده غذایی را به آفلاتوکسین کاهش میدهند.

استفاده از حرارت

استفاده از حرارت برای غیرفعال آفلاتوکسین شامل فرایندهایی مانند پختن، سرخ کردن، برشته کردن و خشک کردن میباشد (۱۷). فرآیند خشک کردن در دمای بالا میتواند میزان آفلاتوکسین را به میزان ۴۸ تا ۸۳٪ کاهش دهد (۱۴).حرارت دادن و پختن تحت فشار میتواند حدوداً ۷۰٪، برشته کردن ۷۰-۵۰٪ خشک کردن در برابر نور خورشید نیز میتواند بیش از ۷۰٪ از میزان آفلاتوکسین را کاهش دهد (۳۲). در برخی از مطالعات انجام شده نشان داده شده است که آفلاتوکسین M_1 در طی فرآیند پاستوریزاسیون پایدار میباشد (۲۵-۶۷). این در حالی است که در برخی دیگر از مطالعات گزارش شده است که حرارت پاستوریزاسیون تا حدودی میتواند باعث کاهش میزان آفلاتوکسین در شیر گردد. بکار بردن درجه حرارت۹۵ درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه باعث کاهش ۱۸-۱۶ درصدی آفلاتوکسین M_1 در شیر میگردد که این کاهش احتمالاً در اثر از بین رفتن اثر محافظتی پیوند بین کازئین و سم در اثر ایجاد پیوند بین کازئین و پروتئینهای آب پنیر میباشد. استریلیزاسیون شیر در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه تا ۲۶٪ میزان آفلاتوکسین M_1 را کاهش میدهد(۶۷).

استفاده از پرتو

پرتو دهی باعث رادیو لیز آب و ایجاد رادیکالهای آزاد میگردد. آفلاتوکسین B_1 در برابر اشعه گاما، ایکس و فرابنفش حساس میباشد و با اشعه دادن به محصولات میتوان میزان این سم را در آنها کاهش داد. همچنین با استفاده از نور خورشید و ماکرویو نیز میتوان تا حدود زیادی میزان آفلاتوکسین را کاهش داد(۱۳-۳۰). میزان کاهش آفلاتوکسین B_1 و آفلاتوکسین کل بستگی به مدت زمان قرار گرفتن در برابر اشعه و دور مصرفی اشعه دارد. همچنین مشخص شده است که تأثیر تابش خورشید در کاهش میزان آفلاتوکسین بیشتر از تأثیر اشعه گاما و ماکرویو میباشد(۳۸) .

استفاده از زغال فعال

این ماده به شکل پودری غیر محلول و حاصل پیرولیز مواد آلی میباشد ، دارای سطح مقطع زیاد (۵۰۰ تا 3500 m^2/mg) بوده و به همین علت توانایی جذب ترکیبات زیادی را دارد و از قرن ۱۹ میلادی جهت حذف ترکیبات سمی مورداستفاده قرار میگرفته است(۴۱-۳۶). از جمله ترکیباتی که توسط این ماده جذب و از محیط خارج میگردند،

مایکوتوکسینها میباشند . مطالعات زیادی بر روی میزان کاهش آفلاتوکسینها با استفاده از کربن فعال صورت پذیرفته است که همگی آنها نشان دهنده کاهش میزان آفلاتوکسینها با استفاده از این ماده بوده اند(۷۴-۳۱-۲۷).

استفاده از جاذبهای سیلیکاتی

از پرکاربردترین ترکیبات سیلیکاتی جهت حذف آفلاتوکسینها، خاک رس و ترکیبات وابسته به آن بوده و به دو دسته کلی شامل دسته اول فیلوسیلیکاتها مانند سیلیکات آب دار آلومینیوم، سدیم و کلسیم (*HSCAs*)و بنتونیتها، نانوکامپوزیت مونت موریلونیت اصلاح شدهMMN_2 و دسته دوم به تکتوسیلیکاتها مانند زئولیتها تقسیم میشوند. این ترکیبات به صورت مخلوط با غذای دام مورد استفاده قرارگرفته و با باند شدن با آفلاتوکسین از جذب آن توسط دستگاه گوارش حیوان جلوگیری و مانع از انتقال این سم به محصولات به دست آمده از دام ها و همچنین ایجاد آفلاتوکسیکوزیس در آنها میشوند. (۴۱-۲۰-۲۱). از جمله ترکیبات سیلیکاتی دیگر مورد استفاده بنتونیت است که از خاکسترهای آتشفشانی منشأ گرفته و مونتموریلونیت به عنوان جزء اصلی این ماده میباشد. این ماده به طور گستردهای جهت حذف مایکوتوکسینها به خصوص آفلاتوکسینها از غذای دام مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۴-۳۷-۴۵). با استفاده از بنتونیت میتوان تا ۹۰٪ از آفلاتوکسین B_1 موجود در شیر را کاهش داد. اما آفلاتوکسین M_1 به میزان $71٪$ کاهش پیدا کرد (۴۵). (۶۵-۶۲-۶۰).

روشهای شیمیایی

در این روشها از ترکیبات شیمیایی استفاده نموده و با ایجاد تغییراتی در ساختار سم و غیرفعال نمودن آن، میزان آفلاتوکسین را کاهش میدهند. از جمله روشهای شیمیایی مورد استفاده به این منظور میتوان به اُکسایش، احیا، استفاده از آمونیاک، اسید و باز اشاره نمود. مواد شیمیایی مورد استفاده ضمن غیرفعال نمودن مایکوتوکسین، باقیمانده آن و محصولات نهایی تولیدشدهآنها نبایستی سمی باشند و نبایستی ارزش غذایی محصولات را کاهش دهند (۲۱-۷۵). از جمله ترکیبات اکسیدکننده قوی که تأثیر آنها در کاهش میزان آفلاتوکسینها مورد بررسی قرار گرفته است، ازن، پر اکسید هیدروژن و کلر میباشند (۵۴-۴۰). این ترکیبات با اکسید کردن پیوند دوگانه موجود در ساختار سم آن را غیرفعال مینمایند. به عنوان مثال ازن با اکسید کردن پیوند دوگانه انتهایی موجود در حلقه دی هیدروفورانی موجود در ساختار آفلاتوکسینهای B_1،G_1 وM_1 آنها را اکسید مینماید (۸۷). از مواد احیاکننده می توان به سدیم بیسولفیت ($NaHSO_3$) و سدیم دیسولفید ($Na_2S_2O_5$) اشاره کرد که جهت کاهش میزان آفلاتوکسین مورد استفاده قرار میگیرند (۸۷-۱۴). از سولفیت پتاسیم جهت کاهش آفلاتوکسین M_1 در شیر استفاده میگردد. افزودن ۰/۰۴ گرم سولفیت پتاسیم به ازای هر میلی لیتر شیر، باعث کاهش آفلاتوکسین M_1 به میزان ۴۵٪ میگردد (۵۵-۱۷). همچنین بی سولفیت سدیم در محیط آبی با آفلاتوکسینهای G_1، M_1 و B_1

واکنش میدهد(۲۲). همچنین با استفاده از اسیدهای قوی از طریق هیدراتاسیون باند غیراشباع در حلقه فورانی آفلاتوکسینهای G_1 و B_1 و تبدیل آنها به فرمهای همیاستال $AFG2^a$ و $AFB2^a$، میتوان فعالیت بیولوژیکی آنها از بین برد و به ترکیبات غیر سمی تبدیل نمود. به عنوان مثال با استفاده از اسیدهیدروکلریک و رساندن pH به 2، آفلاتوکسین را میتوان به میزان ۳-۱۹٪ طی ۲۴ ساعت کاهش داد (۸۷-۲۱). با استفاده از محلولهای قلیایی تولیدشده با هیدروکسیدپتاسیم، هیدروکسیدکلسیم وکربنات سدیم همراه با حرارت دادن جهت فراوری دانه های غلات، به خصوص ذرت به علت جدا کردن پوسته دانه کاهش مایکوتوکسینها از جمله آفلاتوکسین صورت می پذیرد (۳۳-۸۸). همچنین با استفاده از آمونیاک مایع یا گازی میتوان تا ۹۵٪ از آفلاتوکسین موجود در خوراک دام را کاهش داد (۶۹). برای بهبود میزان کاهش آفلاتوکسین توسط آمونیاک از اتوکلاو با دما و فشار بالا استفاده میگردد (۸۵).

روشهای بیولوژیکی

روشهای بیولوژیکی کاهش آفلاتوکسین به علت ارزان، ساده و اختصاصی بودن جهت کاهش میزان آفلاتوکسینها مورد توجه قرارگرفته اند (۳۴-۱۴). بنابراین مطالعات زیادی در این زمینه صورت پذیرفته است.

باکتریهای اسیدلاکتیک

باکتریهای اسیدلاکتیک توانایی کاهش آفلاتوکسین ها را دارا میباشند. مکانیسم حذف آفلاتوکسین توسط این باکتریها بر اساس تجزیه متابولیکی نیست بلکه از طریق باند شدن سم به دیواره سلولی این عمل انجام میگیرد (۳۴-۱۴). جذب سم توسط دیواره سلولی به وسیله هر دو نوع سلول زنده و کشته شده با تیمار حرارتی یا اسیدی صورت میپذیرد. جذب در سلولهای کشته شده بیشتر از سلولهای زنده میباشد (۱۴). در خصوص سلولهای زنده، برخی از محققان توانایی تولید اسید توسط باکتریهای اسیدلاکتیک و کاهش pH محیط را در کاهش میزان آفلاتوکسین مؤثر می دانند (۳۴).همچنین اثر باکتریهای پروبیوتیک در کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی به خصوص شیر و فراوردههای آن مورد مطالعه بسیاری از محققان قرار گرفته است. از بین باکتریهای پروبیوتیک، لاکتو باسیلوسها و بیفیدیو باکترها توانایی کاهش آفلاتوکسینها را از خود نشان دادهاند (۸۰-۶۰-۳۲). این باکتریها با اتصال به آفلاتوکسینها باعث محافظت DNA و غشای سلولها در برابر آسیبهای ایجادشده از این سم میشوند (۶۶). به عنوان مثال ترکیبات دیواره سلولی لاکتوباسیلوس رامنوسوس نژاد GG که با باند شدن به آفلاتوکسین B_1 باعث کاهش میزان آن میگردند مورد مطالعه قرارگرفته اند و عامل اصلی باند شدن را پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی دانسته اند(۵۷-۵۲). همچنین در مطالعه دیگری که توسط گائو و همکارانش انجام شد، اثر باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر روی کاهش آفلاتوکسینهای B_1،G_1 وM_1 مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داده شد که سویه$060ANSB$ این باکتری، بیشترین تأثیر در کاهش میزان این آفلاتوکسینها را دارا میباشد (۳۱).

مخمرها

از بین مخمرها، مخمر ساکارومایسس سرویسیه، بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۷۳). نژادهای *18A* و *11.1.26* در بین نژادهای مورد مطالعه از این مخمر ،بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین را در فاز اولیه رشدشان در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند (۷۳).این کاهش در اثر باند شدن آفلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر میباشد و یک پدیده فیزیکی تلقی میگردد. باند شدن آفلاتوکسین به دیواره سلولی در مخمرهای تیمار شده و غیرفعال شده در شرایط اسیدی و حرارت نسبت به سلولهای زنده بیشتر میباشد (۷۳).

قارچها

برخی از قارچها با احیای گروه کربونیل موجود در حلقه سیکلوپنتونی آفلاتوکسین B_1، توانایی تبدیل این سم را به آفلاتوکسیکول ^{A} *(AFL-A)* که سمیت آن *18* بار کمتر از B_1 است را دارند. از جمله این قارچها میتوان به آسپرژیلوس نیجر، یوروتیوم هرباریوم ،برخی از گونه های رایزوپوس و گونه هایی از آسپرژیلوس فلاووس که تولید سم نمیکنند اشاره نمود(۸۰-۲۱). از گونه های رایزوپوس که توانایی کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 را در همراهی با آسپرژیلوس فلاووس تولیدکننده سم از خود نشان داده اند، رایزوپوس اولیگوسپوروس میباشد که بیشترین میزان کاهش را در روز پنجم کشت از خود نشان میدهد(۵۱). برخی دیگر از قارچها مانند پنی سیلیوم رایستریکی آفلاتوکسین B_1 را متابولیزه کرده و تولید محصولات سمی مانند آفلاتوکسین B_2 و برخی ترکیبات ناشناخته مینمایند (۲۱). همچنین با استفاده از آنزیمهای به دست آمده از میکرواورگانیسمها میتوان مایکوتوکسینها را سم زدایی نمود(۸۷-۸۰-۱۴). در این خصوص آنزیم جدا و خالص سازی شده از قارچ پلئوروتوس استراتوس توانایی تجزیه آفلاتوکسین را دارا میباشد و این عمل را با باز کردن حلقه لاکتونی انجام میدهد (۱۵). همچنین در مطالعه ای که توسط لیو و هکمارانش انجام پذیرفت، آنزیمی تحت عنوان ^{1}*(ADTZ)* از قارچ آرمیلاریلا تابسنس به دست آمد که با باز نمودن حلقه دی فورانی آفلاتوکسین، سمیت آن را کاهش میدهد(۵۳). استفاده از روش‌های بیولوژیکی برای آلودگی‌زدایی آفلاتوکسین‌ها در سال‌های اخیر به‌طور قابل‌توجهی صورت گرفته است که منجر به داده‌های جدیدی مطابق مطالعات گزارش شده در جدول ۱ شده است.

جدول ۱. روشهای بیولوژیکی ضد عفونی شیر در کشورهای مختلف در ۱۰ سال گذشته (۲۰۰۹ تا به امروز)

Table 1. Biological methods of milk disinfection in different countries in the last 10 years (2009 to date)

مرجع	روش بیولوژیکی و غلظت	زمان تماس (دقیقه)	محدوده آلودگی زدایی (٪)	غلظت اولیه و نهایی سم (*µg/L1* یا *µg/kg2*)	نوع نمونه تحلیل شده
(۲۸)	ساکارومایسس سرویزیه با پرلیت ۱۰۸ *CFU/mL* بی حرکت شد	*40*	*100*	*0.08-0*[1]	شیر
(۵۰)	لاکتوباسیلوس پلانتاروم با عملیات حرارتی ۱۰۸ *CFU/mL*	*120*	*94.5*	*0.05-0.0028*[2]	شیر
(۴۳)	*Lactobacillus helveticus 1010 CFU/mL* مجموعه ای از میکروارگانیسم های ساکارومایسس سرویزیه ۱۰۱۰ *CFU/mL*	*60*	*100*	*0.05-0*[1]	شیر
(۲۳)	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۱۰۸ *CFU/mL*	*1440*	*30.9*	*0.050-0.030*	شیر
	بیفیدوباکتریوم لاکتیس ۱۰۸ *CFU/mL*	*1440*	*54.8*	*0.050-0.022*	
(۶۹)	بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ۱۰۹ *CFU/mL*		*45.17*	*10-5.48*[1]	شیر

۱ میکروگرم در لیتر؛ ۲ میکروگرم بر کیلوگرم؛ لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس هلوتیکوس، لاکتوکوکوس لاکتیس و ساکارومایسس سرویزیه (۲:۱:۱:۱). *b Lactobacillus rhamnosus ،Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus* و *Bifidobacterium lactis; c* لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، ساکارومایسس سرویزیه و کلویورومایسس لاکتیس.

1 microgram per liter; 2 µg/kg; Lactobacillus plantarum, Lactobacillus heloticus, Lactococcus lactis and Saccharomyces cerevisiae (2:1:1:1). b Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus and Bifidobacterium lactis; c Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Bifidobacterium bifidum, Saccharomyces cerevisiae and Kluyuromyces lactis .

نتیجه‌گیری

آفلاتوکسین یکی از اصلی ترین ترکیبات شیمیایی سمی مزمن طبیعی (مایکوتوکسین ها) است که در زیر خطرات شیمیایی بالقوه برای حیوانات و انسان گروه بندی می شود. آفلاتوکسین *M1* دلیلی برای نگرانی های بهداشتی مثبت در شیر و مواد غذایی بر پایه شیر گاوهای شیری است. آفلاتوکسین ها برای گاوهای شیری و عموم جامعه بسیار سمی هستند و باعث آسیب جدی به سلامت انسان و کاهش راندمان تولید شیر گاو می شوند. در حال حاضر بروز *AFM1* در شیر گاو شیری و محصولات مبتنی بر شیر به دلیل عدم وجود طرح کنترل شده مناسب در زنجیره تولید شیر و به دلیل تلاش ناکافی در کاهش مقدار *AFB1* در خوراک گاوهای شیرده گسترده است.

آلودگی لبنیات در سرتاسر جهان به آفلاتوکسین *M1* به عنوان یک موضوع مهم مطرح شده است که عمدتاً به دلیل قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی کودکان و افراد مسن، بحرانی تر می گردد. برخی از مطالعات در سراسر جهان، روش میکروبی کاهش آفلاتوکسین *M1* را به دلیل اثربخشی و رفتار سازگار با محیط زیست به عنوان امیدوارکننده‌ترین راهبرد تأیید کرده اند.گاوهای شیری هنگامی که از آفلاتوکسین *B1* تغذیه می شوند ممکن است در نتیجه قرار گرفتن در معرض رژیم غذایی، آفلاتوکسین *M1* را در شیر دفع کنند. این مایکوتوکسین در برابر دما کاملاً مقاوم است بنابراین عملیات حرارتی مانند پاستوریزاسیون و فوق پاستوریزاسیون برای غیرفعال کردن آن کافی نیست. با توجه به اینکه برخی گونه های قارچی دارای قابلیت تخریب آفلاتوکسینها بوده و میزان این تخریب با نوع سوش قارچی ارتباطی قوی دارد، لذا انجام بررسیهای بیشتر و گسترده روی کاربرد آن در مواد غذایی میتواند در اتخاذ استراتژیهای پیشگیری از برخی بیماریها و در نتیجه ارتقا سلامت انسان حائز اهمیت باشد.

منابع: **References**

۱. **یوسفی ف.۱۳۶۹.** بررسی اثر روابط متقابل میکروبی، درجه حرارت، *pH*و سوبسترا بر رشد و قدرت آفلاتوکسین زایی کپک های مختلف. پایان نامه دوره دکتری داروسازی.مشهد:دانشگاه علوم پزشکی مشهد،۱۱۸ص.

۲. **مرتضوی ع،طباطبایی ف.۱۳۷۶.** توکسین های قارچی.مشهد:انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.۲۲۴ص.

3. **Abbas, H. K. (2005).** Aflatoxin and food safety. Boca Raton: CRC Press. http://dx.doi.org/10.1201/9781420028171.
4. **Abbès, S., Salah-Abbès, J. B., Sharafi, H., Jebali, R., Noghabi, K. A., & Oueslati, R. (2013).** Ability of Lactobacillus rhamnosus GAF01 to remove AFM1 in vitro and to counteract AFM1 immunotoxicity in vivo. Journal of Immunotoxicology, 10(3), 279-286. http://dx.doi.or g/10.3109/1547691X.2012.718810. PMid:23030351.
5. **Abdallah, M. F., Ameye, M., Saeger, D. S., Audenaert, K., & Haesaert, G. (2018).** Biological control of mycotoxigenic fungi and their toxins : an update for the pre-harvest approach. In Njobeh, P.B., & Stepman, F. (Eds.), Fungi and mycotoxins - their occurrence, impact and health and economy. London: INTECHOPEN. https://doi.org/10.5772/ intechopen.76342.
6. **Abdelmotilib, N., Hamad, G., Elderea, H., Salem, E., & Sohaimy, S. (2018).** Aflatoxin M1 reduction in milk by a novel combination of probiotic bacterial and yeast strains. European Journal of Nutrition & Food Safety, 8(2), 83-99. http://dx.doi.org/10.9734/EJNFS/2018/39486.
7. **Adams M R,Moss MO.2000**.Food Microbiology.The Royal Society of Chemistry,282.
8. **Akande, K. E., M. M. Abubakar, T. A. Adegbola, and S. E. Bogoro. (2006):** "Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds: a review." Pakistan Journal of Nutrition 5, no. 5 398-403.
9. **Alborzi S,Porabbas M ,Rashidi B,Astaneh B.2006**.AflatoxinM1contamination in pasteurized milk in Shiraz.Food Control,17:582-590

10. **Applebaum, Rhona S., Robert E. Brackett, Dana W. Wiseman, and Elmer H. Marth**. "Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: feed intake and yield, toxin content, and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin." Journal of Dairy Science 65, no. 8 (1982): 1503-1508.
11. **Armorini, S., Altafini, A., Zaghini, A., & Roncada, P. (2016).** Occurrence of aflatoxin M1 in conventional and organic milk offered for sale in Italy. Mycotoxin Research, 32(4), 237-246. http://dx.doi.org/10.1007/ s12550-016-0256-8. PMid:27632224.
12. **Arab M, Sohrabvandi S, Mortazavian A, Mohammadi R, Tavirani MR**. Reduction of aflatoxin in fermented milks during production and storage. Toxin Reviews. 2012;31(3-4):44-53.
13. **Barbiroli, A., F. Bonomi, S. Benedetti, S. Mannino, L. Monti, T. Cattaneo, and S. Iametti**. "Binding of aflatoxin M1 to different protein fractions in ovine and caprine milk." Journal of Dairy Science 90, no. 2 (2007): 532-540.
14. **Burel, S. D., Favrot, M.-C., Fremy, J.-M., Massimi, C., Prigent, P., Debongnie, L. P., & Morgavi, D. (2009).** Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety: EFSA-Q-2009-00839, EFSA J. 8-Dec.-2009.
15. **Bovo, F., Corassin, C. H., Rosim, R. E., & de Oliveira, C. A. F. (2013).** Efficiency of Lactic Acid Bacteria Strains for Decontamination of Aflatoxin M1 in Phosphate Buffer Saline Solution and in Skimmed Milk. Food and Bioprocess Technology, 6(8), 2230-2234. http://dx.doi. org/10.1007/s11947-011-0770-9.
16. **Campagnollo, F. B., Ganev, K. C., Khaneghah, A. M., Portela, J. B., Cruz, A. G., Granato, D., Corassin, C. H., Oliveira, C. A. F., & Sant'Ana, A. S. (2016).** The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1 : a review. Food Control, 68, 310-329. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.007.
17. **Choudhary, A. K. and Kumari, P. (2010)**. Management of mycotoxin contamination in preharvest and post harvest crops: present status and future prospects. J. phytol., 2(7), 37-52
18. **Corassin, C. H., Bovo, F., Rosim, R. E., & Oliveira, C. A. F. (2013).** Efficiency of Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria strains to bind aflatoxin M1 in UHT skim milk. Food Control, 31(1), 80-83. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.033.
19. **Costamagna, D.; Gaggiotti, M.; Chiericatti, C.A.; Costabel, L.; Audero, G.M.L.; Taverna, M.; Signorini, M.L**. Quantification of aflatoxin M1 carry-over rate from feed to soft cheese. Toxicol. Rep. 2019, 6, 782–787. [CrossRef]
20. **Dixon, J., Kannewischer, I., Arvide, M. T. and Velazquez, A. B. (2008).** Aflatoxin sequestration in animal feeds by quality-labeled smectite clays: An introductory plan. Appl. Clay Sci., 40(1), 201-208.
21. **Doyle, M., Applebaum, R., Brackett, R. and Marth, E. (1982)**. Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. J. Food Prot., 45(10), 964-971.
22. **Elsanhoty, R. M., Salam, S. A., Ramadan, M. F., & Badr, F. H. (2014).** Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. Food Control, 43, 129-134. http://dx.doi.org/10.1016/j. foodcont.2014.03.002.
23. **El-Kest, M. M., El-Hariri, M., Khafaga, N. I. W., & Refai, M. K. (2016).** Studies on contamination of dairy products by Aflatoxin M1 and its control by probiotics. Journal of Global Bioscience, 4(1), 1294-1312.

24. **El Khoury, A., Atoui, A., & Yaghi, J. (2011).** Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. Food Control, 22(10), 1695-1699. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodcont.2011.04.001.
25. **Fallah, A., Farhoodi, M. and Moradi, V. (2013)**. An Assessment on Aflatoxin Control in Pistachio-Processing Units from Raw Material Reception to Packaging Based on ISO22000: 2005 Model. J. Food Saf., 33(4), 379-386.
26. **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.
27. **Fernandes, A. M., Corrêa, B., Rosim, R. E., Kobashigawa, E., & Oliveira, C. A. F. (2012).** Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing and storage of Minas Frescal cheese. Food Control, 24(1-2), 104-108. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.010
28. **Foroughi, M., Sarabi Jamab, M., Keramat, J., & Najaf Najafi, M. (2019).** The use of Saccharomyces cerevisiae immobilized on activated alumina, and alumina silicate beads for the reduction of Aflatoxin M1 in vitro. Journal of Food Processing and Preservation, 43(2), 1-7. http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13876.
29. **Fremy, J., Gautier, J., Herry, M., Terrier, C. and Calett, C. (1988).** Effects of ammoniation on the 'carry- over'of aflatoxins into bovine milk. Food Addit. Contam., 5(1), 39-44
30. **Galvano, F., Pietri, A., Fallico, B., Bertuzzi, T., Scirè, S., Galvano, M. and Maggiore, R. (1996).** Activated carbons: in vitro affinity for aflatoxin B1 and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. J. Food Prot., 59(5), 545-550.
31. **Gao, X., Ma, Q., Zhao, L., Lei, Y., Shan, Y. and Ji, C. (2011).** Isolation of Bacillus subtilis: screening for aflatoxins B1, M1, and G1 detoxification. Eur Food Res Technol., 232(6), 957-962.
32. **Gowda, N., Swamy, H., and Mahajan, P. (2013).** Recent advances for control, counteraction and amelioration of potential aflatoxins in animal feeds. INTECH Open Access Publisher
33. **Guzmán-de-Peña, D. (2009).** The destruction of aflatoxins in corn by "nixtamalización" Mycotoxins in food, feed and bioweapons (pp. 39-49): Springer.
34. **Hasheminya, S.-M. and Dehghannya, J. (2013).** Strategies for decreasing aflatoxin in livestock feed and milk. Intl. Res. J. Appl. Basic Sci., 4(6), 1506-1510
35. **Hassan, Z., Al-Thani, R., Atia, F., Almeer, S., Balmas, V., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2018).** Evidence of low levels of aflatoxin M1 in milk and dairy products marketed in Qatar. Food Control, 92, 25-29. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.038.
36. **Hatch, R., Clark, J., Jain, A. and Weiss, R. (1982).** Induced acute aflatoxicosis in goats: treatment with activated charcoal or dual combinations of oxytetracycline, stanozol, and activated charcoal [Aflatoxins, Aspergillus flavus]. Am. J. Vet. Res., 43(4), 644-648
37. **Hathout AS, Aly SE.** Biological detoxification of mycotoxins: a review. Annals of microbiology. 2014;64(3):905-919.
38. **Herzallah, S., Alshawabkeh, K. and Fataftah, A. A. (2008).** Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight, γ-radiation, and microwave heating. J. Appl. Poult. Res., 17(4), 515-521.
39. **Hojnik N, Cvelbar U, Tavčar-Kalcher G, Walsh JL, Križaj I.** Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus "Classic" Decontamination. Toxins. 2017;9(5):151.

40. **Hussein, H. S., & Brasel, J. M. (2001).** Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167(2), 101-134. http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00471-1. PMid:11567776.
41. **Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O. and Dutler, H. (2001).** Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol. Lett., 122(2), 179-188.
42. **Iha, M. H., Barbosa, C. B., Okada, I. A., & Trucksess, M. W. (2011).** Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in Brazil. Food Control, 22(12), 1971-1974. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.05.013.
43. **Ismail, A., Levin, R. E., Riaz, M., Akhtar, S., Gong, Y. Y., & Oliveira, C. A. F. (2017).** Effect of different microbial concentrations on binding of aflatoxin M1 and stability testing. Food Control, 73, 492-496. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.040
44. **Jasutiene, I.; Garmiene, G.; Kulikauskiene, M.** Pasteurisation and fermentation effects on Aflatoxin M1 stability. Milchwissenschaft 2006, 61, 75–79.
45. **Jaynes, W. F. and Zartman, R. E. (2011).** Aflatoxin toxicity reduction in feed by enhanced binding to surface-modified clay additives. Toxins, 3(6), 551-565.
46. **Jalili, M.** A review on aflatoxins reduction in food. Iran. J. Health Saf. Environ. 2015, 3, 445–459.
47. Kav, K., Col, R., & Kaan Tekinsen, K. (2011). Detection of aflatoxin M1 levels by ELISA in white-brined Urfa cheese consumed in Turkey. Food Control, 22(12), 1883-1886. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.030.
48. **Ketney, O.; Santini, A.; Oancea, S.** Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. Int. J. Dairy Technol. 2017, 70, 320–331. [CrossRef]
49. **Koluacik, A., Sivri, G. T., & Kaptan, B. (2015).** Aflatoxin M1 determination in Traditional Küp Cheese Samples of Turkey using immunoaffinity column and high-performance liquid chromatography. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology (Campinas), 3(12), 916-919. http://dx.doi.org/10.24925/turjaf.v3i12.916-919.504.
50. **Kuharić, Ž., Jakopović, Ž., Čanak, I., Frece, J., Bošnir, J., Pavlek, Ž., Ivešić, M., & Markov, K. (2018).** Removing aflatoxin M1 from milk with native lactic acid bacteria, centrifugation and filtration. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 69(4), 334-339. http://dx.doi. org/10.2478/aiht-2018-69-3160. PMid:30864375.
51. **Kusumaningtyas, E., Widiastuti, R. and Maryam, R. (2006).** Reduction of aflatoxin B1 in chicken feed by using Saccharomyces cerevisiae, Rhizopus oligosporus and their combination. Mycopathologia, 162(4), 307-311
52. **Lahtinen, S.J., Haskard, C.A., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J. and Ahokas, J.T. (2004).** Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of Lactobacillus rhamnosus strain GG. Food Addit. Contam., 21(2), 158-164.
53. **Liu, D.-L., Yao, D.-S., Liang, R., Ma, L., Cheng, W.-Q. and Gu, L.-Q. (1998).** Detoxification of aflatoxin B 1 by enzymes isolated from Armillariella tabescens. Food Chem. Toxicol., 36(7), 563-574.
54. **Magan & Olsen, 2006 Magan, N., & Olsen, M. (2006).** Mycotoxins in food: detection and control. Boca Raton: CRC Press.
55. Magan, N. and Olsen, M. (2004). Mycotoxins in food: detection and control: Woodhead Publishing

56. **Maleki, F.; Abdi, S.; Davodian, E.; Haghani, K.; Bakhtiyari, S.** Exposure of infants to aflatoxin M1 from mother's breast milk in Ilam, Western Iran. Osong Public Health Res. Perspec. 2015, 6, 283–287. [CrossRef] [PubMed]
57. **Manetta, A. C., Giammarco, M., Giuseppe, L. D., Fusaro, I., Gramenzi, A., Formigoni, A., Vignola, G., & Lambertini, L. (2009).** Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. Food Chemistry, 113(2), 595-599. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodchem.2008.07.091.
58. **Norlia, M.; Jinap, S.; Nor-Khaizura, M.; Radu, S.; Samsudin, N.; Azri, F.A.** Aspergillus section Flavi and aflatoxins: Occurrence, detection, and identification in raw peanuts and peanut-based products along the supply chain. Front. Microbiol. 2019, 10, 2602. [CrossRef]
59. **Panariti, Edmond.** "Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania." Arhiv za higijenu rada i toksikologiju 52, no. 1 (2001): 37-41.
60. **Peltonen, K., El-Nezami, H., Haskard, C., Ahokas, J. and Salminen, S. (2001).** Aflatoxin B 1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J. Dairy Sci., 84(10), 2152-2156.
61. **Peles, F.; Sipos, P.; Gy˝ori, Z.; Pfliegler, W.P.; Giacometti, F.; Serraino, A.; Pagliuca, G.; Gazzotti, T.; Pócsi, I.** Adverse effects, transformation, and channeling of aflatoxins into food raw materials in livestock. Front. Microbiol. 2019, 10, 2861. [CrossRef] [PubMed]
62. **Phillips, T.D., Afriyie-Gyawu, E., Williams, J., Huebner, H., Ankrah, N.-A., Ofori-Adjei, D., Jolly, P., Jhonson, N., Taylor J., Marroquin-Cardona, A., Xu, L., Tariq, L. and Wang, J.S. (2008).** Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review. Food Addit. Contam, 25(2), 134- 145
63. **Raters, M.; Matissek, R.** Thermal stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A. Mycotoxin Res. 2008, 24, 130–134. [CrossRef]
64. **Ráduly, Z.; Szabó, L.; Madar, A.; Pócsi, I.; Csernoch, L**. Toxicological and medical aspects of Aspergillus-derived mycotoxins entering the feed and food chain. Front. Microbiol. 2020, 10, 2908. [CrossRef]
65. **Romoser, A. A., Marroquin-Cardona, A., Phillips, T. D., and Eastridge, M. (2013).** Managing Risks Associated With Feeding Aflatoxin Contaminated Feed. Paper presented at the Proceedings of the 22nd Tri-State Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, Indiana, USA, 23-24 April 2013
66. **Salim, A.-B., Zohair, A., Hegazy, A. E.-S. and Said, A. (2011).** Effect of some strains of probiotic bacteria against toxicity induced by aflatoxins in vivo. J. Am. Sci., 7(1), 1-12.
67. **Şanli, T., Deveci, O. and Sezgin, E. (2012).** Effects of Pasteurization and Storage on Stability of Aflatoxin M1 in Yogurt. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 18, 987-990.
68. **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.
69. **Serrano-Niño, J. C., Cavazos-Garduño, A., Hernandez-Mendoza, A., Applegate, B., Ferruzzi, M. G., San Martin-González, M. F., & García, H. S. (2013)**. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. Food Control, 31(1), 202-207. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.023.
70. **Shahbazi, Y., Nikousefat, Z., & Karami, N. (2017).** Occurrence, seasonal variation and risk assessment of exposure to aflatoxin M1 in Iranian traditional cheeses. Food Control, 79, 356-362. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.021

71. **Shahbazi Y, Ahmadi F, Fakhari F.** Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals. Food chemistry. 2016;192:1060-1067.
72. **Shahbazi Y, Ahmadi F, Karami N.** Screening, determination and confirmation of tetracycline residues in chicken tissues using four-plate test, ELISA and HPLC-UV methods: comparison between correlation results. Food and Agricultural Immunology. 2015;26(6):821-834.
73. **Shetty, P. H., Hald, B. and Jespersen, L. (2007).** Surface binding of aflatoxin B 1 by Saccharomyces cerevisiae strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. Int. J. Food Microbiol., 113(1), 41-46
74. **Sief, M. M., Abdel-Galil, M. M., Khalil, F. A., and Hussein, A.-H. F. (2012).** Biochemical studies on the protective effects of Egyptian montmorillonite clay and activated carbon against health hazards resulting from the exposure to deoxynivalenol mycotoxin in food. J. Agroal. Proces. Technol., 18(4), 283-295
75. **Spinosa, H. S., Górniak, S. L., & Palermo-Neto, J. (2008).** Toxicologia aplicada à medicina veterinária. Barueri: Manole
76. **Steyn P.** Ochratoxin and other dihydroisocoumarins. Microbial toxins. 2016;6:179-205.
77. **Torres, A.M.; Barros, G.G.; Palacios, S.A.; Chulze, S.N.; Battilani, P.** Review on pre- and post-harvest management of peanuts to minimize aflatoxin contamination. Food Res. Int. 2014, 62, 11–19. [CrossRef]
78. **Varga, E., Wiesenberger, G., Hametner, C., Ward, T. J., Dong, Y., Schöfbeck, D., McCormick, S., Broz, K., Stuckler, R., Schuhmacher, R., Krska, R., Kistler, H. C., Berthiller, F., & Adam, G. (2015).** New tricks of an old enemy: Isolates of Fusarium graminearum produce a type A trichothecene mycotoxin. Environmental Microbiology, 17(8), 2588-2600. http://dx.doi.org/10.1111/1462-2920.12718. PMid:25403493.
79. **Warth, B.; Braun, D.; Ezekiel, C.N.; Turner, P.C.; Degen, G.H.; Marko, D**. Biomonitoring of mycotoxins in human breast milk: Current state and future perspectives. Chem. Res. Toxicol. 2016, 29, 1087–1097. [CrossRef] [PubMed]
80. **Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V. and Kuca, K. (2009).** Biological degradation of aflatoxins. Drug Metab. Rev., 41(1), 1-7
81. **Wu, Felicia, and Pornsri Khlangwiset**. "Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin-reduction strategies in Africa: case studies in biocontrol and post-harvest interventions." Food Additives and Contaminants 27, no. 4 (2010): 496-509.
82. **Xiong, J., Xiong, L., Zhou, H., Liu, Y., & Wu, L. (2018).** Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M1 in UHT and pasteurized milk in central China. Food Control, 92, 386-390. http:// dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.022
83. **Yilmaz, S. Ö., & Altinci, A. (2019).** Incidence of aflatoxin M1 contamination in milk, white cheese, kashar and butter from Sakarya, Turkey. Food Science and Technology (Campinas), 39(suppl 1), 190-194. http:// dx.doi.org/10.1590/fst.40817
84. **Yitbarek, Melkamu Bezabih, and Birhan Tamir.** "Mycotoxines and/or aflatoxines in milk and milk products." American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS) 4, no. 1 (2013): 1-32.

85. **Yoon, B. R., Hong, S.-Y., Cho, S. M., Lee, K. R., Kim, M., & Chung, S. H. (2016).** Aflatoxin M1 levels in dairy products from South Korea determined by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Food and Nutrition Research, 55(2), 171-180.
86. **Zain ME**. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society. 2011;15(2):129-144
87. **Zaki, M. M., El-Midany, S., Shaheen, H. and Rizzi, L. (2012).** Mycotoxins in animals: Occurrence, effects, prevention and management. J. Toxicol. Environ. Health Sci., 4(1), 13-28.
88. **Zheng, N., Li, S. L., Zhang, H., Min, L., Gao, Y. N., & Wang, J. Q. (2017).** A survey of aflatoxin M1 of raw cow milk in China during the four seasons from 2013 to 2015. Food Control, 78, 176-182. http://dx.doi. org/10.1016/j.foodcont.2017.02.055.

A review of biological methods of Mycotoxin reduction in milk and dairy products

Fereshteh Kheiri *[3] , Marjaneh Sedaghati [4]

Received: 2021/07/02 **Accepted:2021/12/25**

ABSTRACT

Consumption of milk and meat from infected animals may lead to human diseases. Aflatoxins (AFs) are toxic secondary metabolites produced mostly by Aspergillus species. Among microorganisms, fungal toxins, especially aflatoxin B-1 (AFB1), are of particular importance. Aflatoxin M-1 (AFM-1) is a metabolite produced by the conversion and hydroxylation of AFB-1. Although various technologies (physical, chemical and biological) have been developed, tested and applied to reduce the harmful effects of mycotoxins, including aflatoxins (AFs), universal methods are still not available to reduce the level of AFs in feed and food in the past decades. . Dairy cows when fed aflatoxin B1 may excrete aflatoxin M1 in milk as a result of dietary exposure. This mycotoxin is completely resistant to temperature, so heat treatment such as pasteurization and ultra-pasteurization is not enough to inactivate it. Considering that some microorganisms have the ability to degrade aflatoxins and the extent of this degradation is strongly related to the type of microbial strain, therefore, conducting more and extensive studies on its use in food can help in adopting strategies to prevent some diseases and thus improve human health. be important

Key words: aflatoxin, biological methods, dairy products, fungal species

[3] PhD student, food biotechnology, North Tehran branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[4] Assistant Professor, Department of Food Science and Industry, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: Email:feri2514@yahoo.com