حذف بیولوژیکی آفلاتوکسین B_1 توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه در خوراک دام

هاله صاحب‌قلم[1*]، علی محمدی ثانی[2]، معصومه مهربان[3]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران

[2] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران

[3] عضو هیات علمی گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۱۶

چکیده

از آنجایی که آلودگی با مایکوتوکسین ها در غذای انسان و خوراک حیوانات مشکل جدی محسوب می‌شود در این تحقیق توانایی اتصال آفلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر ساکاروماسیس سرویزیه جهت کاهش سمیت در خوراک دام مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور آفلاتوکسین B_1 در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ µg/lit (میکروگرم بر لیتر) به پنبه دانه به عنوان خوراک دام اضافه گردید و سپس توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه با شمارش سلولی 10^9 cell/ml در فاز لگاریتمی رشد، و همچنین مخمر تیمار شده با اسید و حرارت به مدت زمان‌های ۰، ۴، ۱۲، ۲۴ ساعت تلقیح گردید. در میانگین غلظت‌های مختلف سم بیشترین میزان کاهش توکسین مربوط به تیمار اسیدی (۳/۴۱۷) بوده و سپس تیمار حرارتی (۳/۶۰۷) و مخمر زنده (۳/۹۶) بیشترین کارآیی را از خود نشان دادند. همچنین بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین بعد از چهار ساعت مشاهده شد که نشانگر سرعت عمل و اشباع شدن محل‌های اتصال بعد از این زمان است. نتایج نشانگر این بود که سلول‌های مخمر زنده یا غیر زنده عوامل بیولوژیکی مناسبی جهت حذف آفلاتوکسین در محیط کشت آلوده هستند. همچنین مشخص شد که پدیده اتصال ماهیت فیزیکی دارد که این مسئله در غذا و خوراک‌های دامی که میزان بالای آفلاتوکسین آن‌ها یک عامل مخاطره آمیز محسوب می‌شود قابل توجه است.

واژه‌های کلیدی: ساکارومایسس سرویزیه، آفلاتوکسین B_1، اتصال سطحی، خوراک دام.

* مسوول مکاتبه: haleh.sahebghalam@gmail.com

۱- مقدمه

آفلاتوکسین ها گروهی از مایکوتوکسین ها با خصوصیات جهش زایی[1]، سرطان زایی[2] و متوقف کنندگی سیستم ایمنی[3] هستند (۷،۱۰)کهعمدتاً به عنوان متابولیت های ثانویه گونه‌های*Aspergillus flavus*،*Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus nomius* سنتز می‌شوند (۱۴).

این سموم بیولوژیک تاکنون در اقلام مختلف از جمله ذرت، بادام زمینی، سورگوم، برنج، گندم و مغزها مشاهده شده‌اند (۱۵). آفلاتوکسین B_1 به عنوانسمی‌ترینآفلاتوکسین شناخته شده است (۹). چنانچه خوراک دام آلوده به آفلاتوکسین B_1 و B_2، به مصرف دام برسد، تبدیل بیولوژیک انجام شده و به شکل آفلاتوکسین M_2و M_1تبدیل شده و به داخل بافت‌ها ومایعات زیستی و شیر پستانداران ترشح می‌شوند (۶). راهکارهای متعددی برای سم زدایی یا غیرفعال کردن خوراک دام آلوده وجود دارد که از جمله می‌توان به جداسازی فیزیکی، غیر فعال کردن گرمایی، تشعشع، تجزیه میکروبی و تیمار با مواد شیمیایی مختلف اشاره نمود (۱۳)، هر چند که ابهام در مورد سمیت محصولات حاصل از تجزیه آنزیمی و اثرات نامطلوب تخمیر با میکرو ارگانیسم‌های غیر بومی روی کیفیت غذا، همچنان باقی است(۳، ۵، ۱۱، ۲۰).

مخمرها و باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل وجود عامل باند کننده مانان در دیواره سلولی، قادر به اتصال مولکول‌های مختلفمانند سم‌های کشنده و یون های فلزی روی سطح دیواره سلولی خود هستند(۶). مطالعات نشان می‌دهد که حذف مایکوتوکسین ها در این روش بیشتر به دلیل چسبیدن توکسین به ترکیبات دیواره سلولی است تا ایجاد اتصال کووالانسی یا متابولیسم سلولی، به طوری که سلول‌های مرده توانایی اتصال را از دست نداده و قادرند در سم زدایی نقش داشته باشند(۱۹). این مطالعه به منظور تعیین کارآیی ساکارومایسس سرویزیه جهت حذف آفلاتوکسین ازخوراک دام آلوده شده انجام گردید. برای مقایسه توانایی سلول‌های زنده و غیرزنده، تیمارهای اتوکلاو و اسیدی روی سلول‌های مخمر انجام شدند.

۲-مواد و روش‌ها

همه مواد شیمیایی و واکنش دهنده‌های استفاده شده از شرکت Merck(Germany, Stuttgart) تهیه گردیده در غیر این صورت به طور خاص توضیح داده شده است.

مخمر ساکارومایسس سرویزیه (PTCC 5177) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌ها خریداری شد. گونه فوق در محیط کشت Yeast mold broth کشت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اینکوبه گردید. سپس سوسپانسیون حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دورg۳۴۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و دو بار با محلول بافر فسفات سالین شستشو و مجدداً سانتریفیوژ گردید). غلظت مخمر جهت استفاده مایه تلقیح به میزان $۲/۱ \times ۱۰^۹$ در هر میلی لیتر با استفاده از محلول استاندارد شده۷ مک فارلند تعیین شد (۲، ۱۶، ۱۸). برای تهیه سوسپانسیون مخمراز پلت‌های حاصل از سانتریفیوژ محیط کشت‌های براث استفاده می‌کنیم. مقداری از پلت‌ها و محلول بافر فسفات را در لوله‌های آزمایش ریخته و کدورت سوسپانسیون حاصله را در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه می‌گیریم. زمانی که میزان جذب سوسپانسیون مخمر با میزان جذب محلول ۷ مک فارلند که برابر ۱/۱۷۰ می‌باشد، برابر شد، سوسپانسیون مخمر معادل با ۷ مک فارلند داریم که معادل با $۲/۱ \times ۱۰^۹$ مخمردر هر میلی لیتر می‌باشد (۱۲).

به منظور تعیین توانایی سلول‌های غیر زنده جهت کاهش آفلاتوکسین در خوراک دام آلوده شده تیمارهای اسیدی و حرارتی توسط اتوکلاو روی سوسپانسیون مخمری انجام شد. جهت تیمار حرارتی، سوسپانسیون مخمر با عدد ۷ مک فارلند، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاوگردید (۱۷). برای انجام تیمار اسیدی،۱۰ میلی لیتر اسیدکلریدریک ۲ مولار به پلیت های مخمراضافه گردیدو سپس اینکوباسیون به مدت ۱ ساعت در اینکوباتور شیکردار(مدل پارس آزما ساخت ایران) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد(۱).

کنجاله پنبه دانه (از خوراک دام موجود در یکی از دامداری‌های مشهد تهیه شد) به عنوان خوراک دام توسط آسیاب (مارک و مدل) خرد و سپس ۵ گرم از آن را در ظروف آزمایش ۵۰ میلی لیتری توزین و سپس استریلیزاسیون در دمای ۱۲۱ درجه

[1]-Mmutagen
[2]-Ccarcinogeni
[3]-Iimmunosuppressiv

سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه توسط اتوکلاو انجام گردید(۱۲، ۱۴).

برای بدست آوردن غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر آفلاتوکسین B_1 جامد در بنزن/استونیتریل با نسبت(۹۸:۲) (حجمی/حجمی) به صورت سوسپانسیون در آمد. سپس ۰/۰۱ میلی لیتر از سم با ۹/۹۹ میلی لیتر از متانول مرک مخلوط شد تا سم با غلظت ppm ۱ بدست آمد. محلول آفلاتوکسین B_1 درغلظت‌های ۰، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در لیترتهیه شد (۸). سپس غلظت‌های مختلف محلول آفلاتوکسین B_1 به ظروف شیشه‌ای محتوی ۵ گرم کنجاله پنبه دانه استریل، ۲۰ میلی لیتر از محلول بافر فسفات و ۱۰ میلی لیتر سوسپانسیون مخمر اضافه گردید. سپس ظروف شیشه‌ای در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۷۰ آر.پی.ام درزمان‌های مختلف ۴، ۱۲ و ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از گذشت زمان‌های مورد نظر نمونه را در میکروتیوپ ریخته و سانتریفیوژ با دور ۷۵۰۰ آر.پی.ام در دمای محیط و مدت زمان ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس محلول رویی حاصله (سوپرناتانت) در لوله‌های کرایوتیوپ جمع آوری و تا زمان انجام آزمون الایزا در فریزر نگهداری شد. آزمایشات فوق سهبار تکرار انجام شد (۱۷).جهت انجام تیمارهای اتوکلاو و اسیدی مخمر از سوسپانسیون مخمر اتوکلاو شده و اسیدی به جای سوسپانسیون مخمر زنده استفاده و عملیات ذکر شده در بالا عیناً تکرار شد(۱۸).

نمونه‌های سوپرناتانت جهت تعیین میزان آفلاتوکسین B_1 باقی مانده با استفاده از روش الایزا آنالیز شدند. دستگاه الایزای (BioTek, USA) مورد استفاده شامل قسمت‌های Washer مدل ELx50 وRreade مدل ELx808 و کیت الایزای EuroProxima می‌باشد. مراحل کلی آزمون الایزا طبق دستورالعمل کیت الایزای شرکت یورو پروکسیما انجام شد.

این پژوهش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی سه بار تکرار شد. تیمارهای آزمایش شامل آفلاتوکسین B_1 در ۳ سطح و ۴ زمان مختلف اینکوباسیون روی یک گونه مخمردر خوراک دام انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. پس از آنالیز واریانس، میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha=$ ۰/۰۵ مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-تأثیر نوع پیش تیمار برمیزان آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام

همان گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود اضافه کردن مخمر به خوراک دام آلوده به آفلاتوکسین باعث کاهش میزان توکسین شده است. همچنین بین کاهش میزان توکسین در خوراک‌های دام تیمار شده با سوسپانسیون مخمر اسیدی، اتوکلاو شده، مخمر زنده و نمونه کنترل تفاوت معنی داری وجود دارد ($P<$۰/۰۵). مخمرهای تیمارشده با اسید باعث کاهش بیشتری در میزان سم شده و مخمرهای تیمارشده با حرارت و مخمرهای زنده به ترتیب (در فاز لگاریتمی) در مراتب بعدی قرار می‌گیرند.

شکل۱- تأثیرنوع پیش تیمار مخمری برمیزان آفلاتوکسین B_1 درخوراک دام

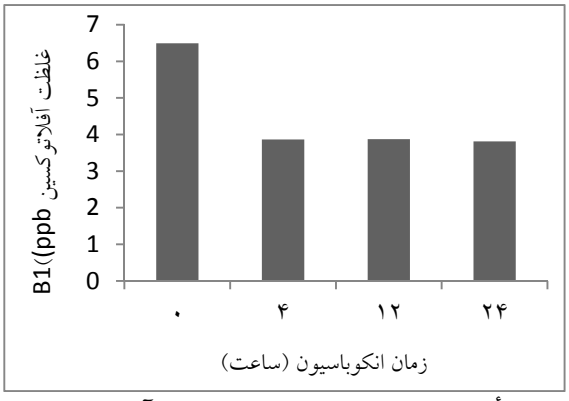
بر اساس تحقیق شتی و همکاران (۲۰۰۷)، سلول‌های تیمارشده در۵۲، ۵۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گرادبه مدت۵و۱۰ دقیقهو همچنین در دمای ۱۲۰درجه سانتی‌گرادبه مدت ۲۰ دقیقه به طور قابل توجهی مقادیر بالاتری ازآفلاتوکسین B_1 را در مقایسه با همتای زنده خود باند می‌کنند. به طور مشابه در تیمارسلول‌ها با اسیدکلریدریک ۲مولار به مدت یکساعت بیش از ۲ برابر افزایش در اتصال توکسین مشاهده شد (۱۸).

در مطالعه رهایی و همکاران (۱۳۸۹) مشاهده شد که تیمار گونه‌های مخمر با اسیدکلریدریک دو مولاربرای۹۰دقیقه در دمای اتاق،قدرت اتصال آفلاتوکسین را به حدود۶۰درصد می‌رساندو حرارت دادن در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۲۰ دقیقه قدرت اتصال به مخمررا افزایش می‌دهد که به حدود ۵۵درصد می‌رسد(۲).

شرایط اسیدی در فرآیندی مشابه از طریق اثرروی پلی ساکاریدها وتبدیل به منومرها و شکسته شدن به آلدهیدها عمل می‌کند. طبق پژوهش‌های پیشین، احتمال می‌رود که در شرایط اسیدی مقداری از اتصالات، درون سلولی باشد. حرارت دهی ممکن است باعث دناتوره شدن پروتئین‌ها یا تشکیل محصولات واکنش میلارد در دیواره سلولی شده ویا با انحلال بعضی ازمانو پروتئین‌های موجوددردیواره سلولی، نفوذ پذیری دیواره افزایش پیدا می‌کندکه منجر به افزایش دسترسی مکان‌های اتصال مخفی دیواره می‌شود(۲، ۴، ۱۸، ۲۲).

۳-۲-تأثیر زمان انکوباسیون بر میزان کاهش آفلاتوکسین B_1 درخوراک دام

همان گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با گذشت زمان میزان آفلاتوکسینB_1کاهش یافته به گونه‌ای که درمدت ۴ ساعت از مقدار ۶/۷۵۵ پی پی بی به ۳/۶۳ پی پی بی رسیده است. با این حال بعد از ۴ ساعت مقدار توکسین کاهش بسیار کمی داشته است.بنابراین مدت زمان ۴ ساعت اینکوباسیون از نظرآماری باعث کاهش معنی داری در میزان آفلاتوکسین نسبت به زمان شروع اینکوباسیون (صفر ساعت) شد ($p<۰/۰۵$).



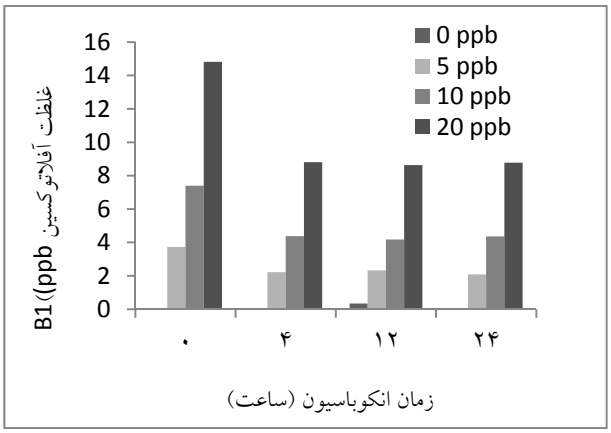
شکل۲- تأثیر زمان انکوباسیون بر میزان کاهش آفلاتوکسین B_1 درخوراک دام

طبق آزمایشات شتی و همکاران (۲۰۰۷)، اتصال آفلاتوکسین پدیده سریعی بوده که گونه‌های A18 و 26.1.11 به ترتیب۳۲و ۲۷ درصد از آفلاتوکسینB_1 را در ۳۰ دقیقه ابتدای اینکوباسیون باند کردند. گونه A18 بعد از ۲ ساعت و گونه 26.1.11 در مدت ۳ ساعت اینکوباسیون به درجه اشباع رسیدند (اتصال به ترتیب ۴۱/۵ و ۳۷/۵ درصد ازآفلاتوکسینB_1)و اینکوباسیون بیشتر افزایش قابل توجهی در میزان اتصال ایجاد نکرد(۱۸).

همچنین در تحقیق رهایی و همکاران(۱۳۸۹) بر اساس اندازه‌گیری آفلاتوکسین نمونه‌های پسته در زمان‌های ۱/۵، ۳، ۸ و ۱۲ ساعت پس از تثبیت سلول‌های مخمر برآن، مشاهده شد که متصل شدن آفلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر فرآیند نسبتاً سریع است که در زمان اندکی (حدود ۳ ساعت بعد ازتثبیت مخمر بر پسته آلوده) به حداکثر مقدار خود می‌رسد (۲).

۳-۳-اثر غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین بر میزان توکسین باقی مانده در مدت زمان اینکوباسیون در خوراک دام

همان گونه که در شکل۳ مشاهده می‌شود اینکوباسیون به مدت ۴ ساعت باعث کاهش میزان آفلاتوکسین می‌شودکه در غلظت ۵ پی پی بی میزان آن از۳/۹۲۳ به ۲/۱۲ ودر غلظت ۱۰ پی پی بی از ۷/۸۲۱ به ۴/۱۷ و در غلظت۲۰ پی پی بی از۱۵/۲۷ به ۸/۲۳۱ می‌رسد ولی پس از ۴ ساعت کاهش بسیار کمی داشته است.به عبارت دیگر سلول‌های مخمر ساکارومایسس سرویزیه در غلظت‌های بالاتر سم کاهش بیشتری در غلظت آفلاتوکسین ایجاد کردند چنانچه در غلظت۲۰ پی پی بی‌بیشترین‌کارآیی را در اتصال آفلاتوکسین از خود نشان دادند.



شکل۳- اثرغلظت‌های مختلف آفلاتوکسین بر میزان توکسین باقی مانده در مدت زمان اینکوباسیون در خوراک دام

در مطالعه شتی و همکاران (۲۰۰۷)، مقادیر مطلق اتصال آفلاتوکسین به طور خطی با افزایش غلظت آفلاتوکسینB_1افزایش می‌یابد. گونه‌های A18 و 26.1.11 به ترتیب ۰/۶۹ و ۰/۶۵ میکروگرم از آفلاتوکسینB_1 در غلظت ۱ میکروگرم برمیلی لیتر،

۲/۱ و ۱/۹ میکروگرم در غلظت ۵ میکروگرم برمیلی لیتر، ۳/۳و ۳/۱ میکروگرم در غلظت ۱۰ میکروگرم برمیلی لیتر و ۶/۸۵ و ۶/۵۲ میکروگرم در غلظت ۲۰ میکروگرم برمیلی لیتر را متصل می‌کنند. این نشان می‌دهد که غلظت ابتدایی آفلاتوکسینبه طور قابل توجهی ظرفیت اتصال آفلاتوکسین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۸).

٤- نتیجه گیری

۱- اضافه کردن مخمر ساکارومایسس سرویزیه 5177 PTCC به خوراک دام آلوده به توکسین، باعث کاهش قابل توجهی در میزان آفلاتوکسین B_1 حتی در غلظت‌های بالای سم (۲۰ پی پی بی) شد.

۲- مخمرهای تیمار شده بااسید و حرارت در مقایسه با مخمر زنده، کاهش بیشتری در میزان آفلاتوکسین در خوراک دام ایجاد کردند.

۳- مخمرهای تیمار شده با اسید در مقایسه با مخمرهای تیمار شده با حرارت باعث کاهش بیشتری در میزان توکسین شده، به عبارت دیگر کارآیی بیشتری در اتصال آفلاتوکسین از خود نشان دادند.

۴- فرآیند اتصال آفلاتوکسین به مخمر نسبتاً سریع بود و بیشترین کاهش میزان آفلاتوکسین در مدت ۴ ساعت انکوباسیون رخ داد و پس از آن کاهش مقدار توکسین کم بوده است.

۵- غلظت‌های ابتدایی آفلاتوکسین B_1 میزان اتصال توکسین را تحت تأثیر قرار داده و سلول‌های مخمر در غلظت‌های بالاتر آفلاتوکسین B_1 کارایی بیشتری از خود نشان می‌دهند.

۶- اتصال آفلاتوکسین به سلول‌های زنده و غیر زنده (تیمار شده اسیدی و حرارتی) نشان داد که پدیده اتصال توکسین ماهیت فیزیکی دارد.

٥- منابع

۱- رهایی، س. ۱۳۸۷. بررسی قدرت آفلاتوکسین زدایی سویه‌های میکروبیتثبیت شده در پسته، پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی بیوسیستم کشاورزی، دانشگاه تهران.

۲- رهایی، س. رضوی، س. ه. و امام جمعه، ز. ۱۳۸۹. بررسی توانایی گونه مخمر ساکارومایسس سروزیه جهت کاهش آفلاتوکسین موجود در پسته. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۷، شماره ۱، بهار ۸۹.

3- Bata, A., Lasztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*. 10: 223–228.

4- Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P., Lebrihi, A., 2004. Ochratoxin Aremoval in synthetic and natural grape juices by selected oenological Saccharomyces strains. *Journal of Applied Microbiology* 97, 1038–1044.

5- Bhatnagar, D., Lillehoj, E. B., & Bennett, J.W.1991. Biological detoxification of mycotoxins. 816–826.

6-Devegowda, G., Arvind, B.R., Morton, M.G., 1996. *Saccharomyces cerevisiae*and mannanooligosacharides to counteract aflatoxicosis inbroilers. *Proc. Aust. Poul. Sci. Symp*. Sydney. 8:103–106.

7- Eaton, D. L., and E. P. Gallagher. 1994. mechanism of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxico*l, 34: 135-172.

8- EL-Nezami, H., Kankaanpau, P. Salminen, S. And Ahokas, J. 1998a. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen ,aflatoxin B_1. *Food and Chemical Toxicology*. 36:321-326.

9- Hua , ST., Baker, JL., Flores-Espiritu, M.1999. Interactions of saprophytic yeasts with a nor mutant of Aspergillus flavus. *Appl Environ Microbiol*; 65: 2738–2740.

10- International agency for research on cancer (IARC). 1993. some naturally occurring substances: food items and constituents, het-erocyclic aromatic amines and mycotoxins. Pages 245-395 in IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 56. IARC, Lyon, France.

11- Karlovsky, P.1999. Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. *Natural Toxins*.7: 1–23.

12- Khanafari, A., Soudi, H., Miraboulfathi, M., 2007. Biocontrol of *Aspergillus Flavus* and Aflatoxin B_1 production in corn. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng*., vol.4, No.3, pp:163-168.

13- Kubena, L.F, Harvey R.B, Huff W.E, Elissalde, M.H, Yersin, A.G., Philips, T.D., Rottinghaus, G.E. 1993. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. *Poult Sci*; 72: 51–59.

14- Kusumaningtyas, E., Widiastuti, R., Maryam, R. 2006. Reduction of aflatoxin B_1 in chicken feed by using *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus* and their combination. *Mycopathologia*,162: 307-311.

15- Madrigal-Santillan, E., Madrigal-Bujaidar, E., Marquez-Marquez, R. & Reyes, A. 2006. Antigenotoxic effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the damage produced in mice fed with aflatoxin B_1contaminated corn. *Food and Chemical Toxicology*,44: 2058-2063.

16- Peltonen, K., EL-Nezami, H., Haskard, C., Ahokas, J., Salminent, s.2001.Aflatoxin B_1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and Bifidobacteria .*Journal of Dairy Science*. 84:2152-2156.

17- Shahin., A.A.M.2007.Removal of aflatoxin B_1 from contaminated liquid Media by Dairy lactic acid bacteria.*International Journal of Agriculture and Biology*.1:71-75.

18- Shetty, P.H., Hald, H., Jespersen, L. 2007. Surface binding of aflatoxin B_1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *International Journal of Food Microbiology*. 113: 41–46.

19- Shetty, P., Jespersen, L. 2006. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci. Technol.* 17:48–55.

20- Styriak, I., Concova, E.2002.Microbial binding and biodegradation of mycotoxins*. Veterinary and Human Toxicology*. 44:358–361.

21- Zarba, A., C.P.Wild, A. J. Hall, R., Montesano, G. J. Hudson and Groopman, J. D. 1992. Aflatoxin M_1 in human breast milk from the Gambia, west Africa, quantified by combinated monocolonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Carcinogenesis.* 13:891- 894.

22- Zlotnik, H., Fernandez, M.P., Bowers, B., Cabib, E., 1984. *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins form an external cell wall layer that determines wall porosity. *Journal of Bacteriology* 159, 1018–1026.