

بررسی و مقایسه میزان آفلاتوکسین M1 در پنیرهای سفید و پروبیوتیک

حمیده نوروزبابایی¹، علی محمدی ثانی^{2*}، ساسان رضایی³، منان حاجی محمودی⁴

¹ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

² باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

³ دانشیار گروه بهداشت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

⁴ دانشیار گروه شیمی مواد خوراکی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: 1393/1/20

تاریخ دریافت: 1392/6/3

چکیده

با توجه به مخاطرات جدی سم آفلاتوکسین به ویژه سرطان زایی و حضور آفلاتوکسین M₁ در شیر و فراورده های لبنی از یک طرف و پتانسیل سویه های میکروبی با خاصیت پروبیوتیکی در حذف این توکسین از طرفی دیگر، هدف از این مطالعه بررسی و تعیین توان سویه های پروبیوتیک مورد استفاده در تولید پنیرهای پروبیوتیکی در ایران در حذف آفلاتوکسین بود. بدین منظور تعداد 64 نمونه پنیر شامل 38 نمونه پنیر سفید (17 نمونه مربوط به برند A و 21 نمونه مربوط به برند B) و 26 نمونه پنیر پروبیوتیک (10 نمونه مربوط به برند A و 16 مورد مربوط به برند B) از سطح توزیع در فصل زمستان و به روش تصادفی جمع آوری و تا زمان آزمون به روش الیزا در دمای یخچال نگهداری گردید. نتایج نشان داد که بین پنیرهای سفید و پروبیوتیک هر کارخانه از نظر میزان آفلاتوکسین M₁ اختلاف معنی داری وجود دارد. میزان آفلاتوکسین M₁ در پنیر سفید و پروبیوتیک برند A به ترتیب 71/91±40/36 ppt و 29/52±22/27 ppt تعیین شد. در مورد برند B میانگین آفلاتوکسین M₁ پنیر سفید 177/65±43/52 ppt و در پنیر پروبیوتیک 131/51±43/85 ppt تشخیص داده شد. اختلاف میانگین آفلاتوکسین M₁ در پنیرهای سفید معمولی (130/35±67/58 ppt) با پنیرهای پروبیوتیک (92/28±62/39ppt) معنی دار بود (p<0.05). با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گیری کرد که در پنیرهای پروبیوتیک میزان آفلاتوکسین M₁ حدود 30 درصد در مقایسه با پنیرهای سفید کمتر است. باکتری های پروبیوتیک که خواص مفیدی بر روی سلامتی انسان دارند می توانند میزان آفلاتوکسین را در محصول کاهش دهند، بنابراین مناسب است که صنایع لبنی برای تولید این محصولات تشویق گردند و آگاهی عمومی مصرف کنندگان در زمینه مصرف این محصولات افزایش یابد.

واژه های کلیدی: پنیر سفید، پروبیوتیک، آفلاتوکسین M₁، الیزا

1- مقدمه

باکتریایی در طول عبور از طریق مجاری روده‌ای با آن مواجه می‌شوند (11).

پیردیس وهمکاران (2000) در مطالعه‌ای نتایج آنها نشان داد که همه گونه‌های زنده یا با حرارت کشته شده (LAB) می‌توانند آفلاتوکسین M_1 (AFM₁) در محیط کشت مایع را کاهش دهند. و گونه‌های ویژه- ای از باکتریهای اسید لاکتیک را به عنوان روش نوین در کاهش آفلاتوکسین M_1 در شیر تشخیص دادند (16).

وظیفه این گونه‌های ویژه کاهش اثر سمی غذاهای سرطان‌زا، از طریق باند شدن با توکسین‌ها می‌باشد و یا اینکه از نظر متابولیسمی این مواد غذایی را به محصولات با سمیت و سرطان‌زایی کمتری تغییر شکل دهند (6).

مطالعاتی که اخیراً منتشر شده اند ثابت کرده اند که باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند برای کاهش در معرض قرار گیری مواد غذایی به آفلاتوکسین استفاده شوند.

مطالعات بیان کننده این است که باند شدن آفلاتوکسین‌ها با پروبیوتیک‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها رشد قارچ و تولید توکسین را کاهش می‌دهند. ممانعت از بیوسنتز آفلاتوکسین به دلیل اسید لاکتیک یا متابولیک‌های اسید لاکتیک که مقاوم به گرما بوده و ترکیباتی با وزن مولکولی پایین هستند، می‌باشد (9).

بر طبق نظر ال- خوری و همکاران در مطالعات آزمایشگاهی باند شدن آفلاتوکسین M_1 توسط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در طی ساخت ماست مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که این مقدار (87/6%) می‌باشد (5).

مهمترین پروبیوتیکهای روده ای لاکتوباسیلوسها و بیفیدوباکترها هستند که نقش زیادی را در سلامتی دارند. پنیرهای پروبیوتیک مانند دیگر محصولات پروبیوتیک دارای میکروارگانیسمهای پروبیوتیک هستند که پنیرهای معمولی این باکتریها راندارند.

امروزه مطالعاتی در مورد میزان افلاتوکسین M_1 در محصولات مختلف از جمله پنیرهای مختلف انجام شده ولی گزارشی در مورد میزان افلاتوکسین M_1 در مورد پنیر پروبیوتیک به طور جداگانه تاکنون نشده، بنابراین با توجه به میزان بالای الودگی شیر و سایر محصولات لبنی مانند پنیر که به طور خیلی زیاد مورد مصرف عموم قرار می‌گیرد، خصوصاً کودکان و سالخورده‌گان و اثرات سمی بسیار زیادی که افلا توکسینها دارند و از طرفی به دلیل خواص بسیار مفیدی که باکتریهای پروبیوتیک بر سلامتی دارند لذا هدف از انجام این تحقیق تعیین و مقایسه میزان

آفلا توکسینها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که در بسیاری از محصولات کشاورزی وجود دارند و تحت شرایط خاصی از درجه حرارت و رطوبت تولید میشوند. افلاتوکسینها دارای اثرات بالقوه سرطان‌زایی و موتاژنیک و ناقص الخلقه زایی و استروژنیک میباشند و نقش مهمی در ایجاد سرطان کبد و سیروز کبدی دارند (20). گزارشها حاکی از آن است، بسیاری از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، کپک‌ها، اکتینومیست- ها و جلبک‌ها قادر به حذف یا تجزیه آفلاتوکسین در مواد غذایی و خوراک دام می‌باشند (14).

غربال‌گری بیشتری از میکروارگانیسم‌ها ممکن است منجر به تشخیص باکتری‌های با قابلیت کاربرد بهتر و کارایی بیشتر گردد. قبل از همه، واکنش میکروارگانیسم‌ها با مایکوتوکسین‌ها باید مورد بررسی قرار گیرد. مطالعه مکانیسم‌های مرتبط با مقاومت (مثل جذب انتخابی از طریق غشاء، تخریب آنزیم‌های انتخابی، مسدود نمودن با استفاده از تشکیل کمپلکس و...) ممکن است در ارزیابی کارایی میکروب‌ها مفید باشد (4). واکنش باند شدن به طور عمده با پلی ساکاریدها اتفاق می‌افتد. پلی ساکاریدها، در سه شکل اصلی در دیواره سلولی این باکتری‌ها حضور دارند، آگروپلی ساکارید، پپتد و گلیکان و اسید تیکوئیک و یا اسید لیپوتیکوئیک همه این مواد به جز اسید لیپوتیکوئیک معمولاً هیدروفیل می‌باشند (10).

بررسیها بیانگر این مسئله است که اتصال آفلاتوکسین‌ها باعث کاهش قطبیت ترکیب میشود و اتصالات هیدروفوبیک نقش مهمی را در مکانیسم آن‌ها ایفا می‌کند (13).

لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتری‌ها به دلیل ایمن بودن مصرف آن- ها، برای کاهش دسترسی زیستی آفلاتوکسین‌ها مورد توجه هستند پایداری کمپلکس سلول باکتری با آفلاتوکسین در موقع ارزیابی توانایی یک گونه به کاهش دسترسی زیستی آفلاتوکسین در مواد غذایی یک عامل مهم است، بطوری که رها شدن آفلاتوکسین در طی عبور از معده می‌تواند اثر منفی واضحی روی اختلالات سلامتی بگذارد. باند شدن آفلاتوکسین به باکتری برگشت پذیر می‌باشد و پایداری کمپلکس سلول باکتری با آفلاتوکسین، به گونه مورد استفاده، شرایطی که در طول تشکیل کمپلکس به کار می‌رود و تیمار استفاده شده بستگی دارد شرایط مطلوب ویژه شامل pH کم و حضور نمک‌های صفاوی می‌باشد یعنی همان استرس‌های محیطی ویژه‌ای که سلول‌های

گیرد. مقدار 100 میکرولیتر از محلولهای استاندارد یا نمونه به حفره های دوتایی مورد نظر اضافه شده عمل مخلوط کردن به طوردستی با ملایمت و از طریق تکان دادن پلیت انجام گرفت و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق 20-25 درجه سانتی گراد در محلی تاریک نگهداری شد.

مایع از داخل حفره ها خارج شده و به ظرف نگهدارنده میکروول به صورت وارونه در مقابل کاغذ جذب کننده محکم ضربه می خورد تا بدین ترتیب از خروج کامل مایع از حفره ها اطمینان حاصل شود. همه حفره ها سه بار با محلول رایسینگ شستشو داده شد. 100 میکرولیتر از محلول کونژوکه به چاهکها اضافه شد و چند ثانیه به هم زده شد و به مدت 30 دقیقه در دمای 25-20 درجه سانتی گراد در محلی تاریک نگهداری گردید. و سپس سه بار با محلول رایسینگ شستشو انجام گرفت در مرحله بعد 100 میکرولیتر محلول سوبسترا به چاهکها اضافه شد و مجددا در دمای 25-20 درجه سانتیگراد به مدت 30 دقیقه انکوباسیون انجام گرفت. 100 میکرولیتر محلول کروموژن به چاهکها اضافه گردید سپس مقدار 100 میکرولیتر از محلول متوقف کننده به هریک از چاهکها اضافه شد و طبق روش گفته شده مخلوط گردید

2-3- قرائت

میزان جذب نورتوسط دستگاه الیزا مدل (4027-002) در طول موج 450 نانومتر خوانده شد.

2-4- آنالیز نتایج

داده های آماری بر اساس برنامه SPSS به دست آمد و مقدار (p-value) با استفاده از آزمون (t-test) مستقل به دست آمد.

3- نتایج و بحث

از 64 نمونه مورد بررسی تمامی نمونه ها جزء یک مورد از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین M1 مثبت بودند و از کل نمونه ها تعداد 38 نمونه پنیر سفید معمولی (37/59 درصد) و 26 نمونه پنیر پروبیوتیک (62/40 درصد) بود تمام نمونه های پروبیوتیک آلودگی زیر حد مجاز را نشان دادند و 8 نمونه از پنیرهای سفید (21 درصد) آلودگی بالاتر از حد استاندارد را نشان دادند که در واقع 5/12 درصد از کل نمونه ها را شامل میشود و حد مجاز طبق استاندارد 2953 تحت عنوان بیشینه رواداری مایکوتوکسینها 200 نانوگرم

آفلاتوکسین M1 در پنیر سفید غیر پروبیوتیک و پروبیوتیک تولیدی توسط واحدهای تولیدی داخل کشور بود تا اگر کاهشی مشاهده گردید آگاهی کارخانجات برای تولید بیشتر محصولات پروبیوتیک و آگاهی عموم برای مصرف این محصولات راه حلی مناسب برای کاهش ورود این سموم به بدن علاوه بر بهره بردن از خواص باکتریهای پروبیوتیک می باشد.

2- مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد 64 نمونه پنیر سفید و پروبیوتیک مربوط به دو کارخانه تولید کننده داخلی تهیه گردید. 38 نمونه پنیر سفید (17 نمونه مربوط به برند A و 21 نمونه مربوط به برند B) 26 نمونه پنیر پروبیوتیک (10 نمونه مربوط به برند A و 16 مورد مربوط به برند B) از سطح توزیع و به روش تصادفی جمع آوری گردید. نمونه ها در فصل زمستان در ماههای دی، بهمن و اسفند تهیه، تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری و سپس میزان آفلاتوکسین M1 به روش الیزا تعیین گردید.

تمامی این پنیرها به طور قابل انتظار دارای تاریخ تولید و انقضای بودند و نمونه هایی خریداری گردید که در موقع انجام آزمون تاریخ انقضای آنها تمام نشده بود چون در غیر این صورت نتایج کاذبی را می توانست ایجاد کند.

2-1- آماده سازی نمونه ها

2 گرم از نمونه پنیر هموژن شده در لوله های شیشه ای وزن شده و به آن 8 سی سی دی کلرومتان اضافه شد و به مدت 30 دقیقه داخل شیکر قرار داده شد. سپس با کاغذ واتمن صاف گردید. 4 سی سی از مایع فیلتر شده برداشته شد و با بخار نیتروژن ملایم در دمای 50 درجه سانتیگراد خشک گردید. باقیمانده با آسی سی از بافر رقیق کننده کیت و برای چربی گیری هم با آسی سی هپتان حل گردید. و به هم زده شد. به مدت 5 دقیقه با دور 2000 سانتریفوژ شد. سپس 100 میکرولیتر از مایع زیرین به چاهکها برای تست الیزا اضافه شد کیتهای مورد استفاده در این تحقیق توسط شرکت شیمی طب سینا ایران تهیه شد که این شرکت نیز کیتها را از سازنده کره ای به نام یوروپروکسیما وارد نموده است.

2-2- مراحل اضافه کردن نمونه به میکروولهای کیت الیزا

تعداد کافی از حفره های میکرویتیر به داخل ظرف نگهدارنده وارد شده به گونه ای که استانداردها و نمونه ها همزمان انجام

است که میانگین آفلاتوکسین در پنیر پروبیوتیک کمتر از پنیر سفید می باشد

از آنجاییکه که آلودگی شیر و فراورده های آن به آفلاتوکسین M_1 میتواند بهداشت و سلامت مصرف کنندگان خصوصاً افراد حساس نظیر اطفال و سالخوردگان را به خطر بیاندازد مطالعات متعددی در مورد تعیین وجود و تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین شیر و فراورده های آن در سرتاسر دنیا انجام شده و میشود نتایج حاصل از چنین مطالعاتی بیانگر این واقعیت است که در بعضی از موارد درصد شیوع و غلظت آلودگی بالا بوده و میتواند خطر ساز باشد ولی در بعضی از موارد بررسی این پارامترها پایین تر از حدود مجاز می باشد.

در گزارشی که توسط فلاح و همکارانش انجام گرفت در سال 2009 روی 210 نمونه که 116 نمونه پنیر سفید و 94 نمونه پنیر خامه ای بود آفلاتوکسین در 161 نمونه مشاهده گردید که 93 مورد پنیر سفید و 68 مورد پنیر خامه ای بود دارای رنج آلودگی 52/1-785/4 نانوگرم بر کیلوگرم مشاهده گردید در مقایسه با حد قانونی 250 نانوگرم بر کیلوگرم 24.2% از نمونه ها از حد استاندارد بالاتر بودند (7).

در مطالعه دیگری که توسط اردیک و همکاران انجام گرفت در ترکیه آفلاتوکسین M_1 در 193 پنیر سفید به روش الیزا اندازه گیری شد که 82/4% از نمونه ها آفلاتوکسین مشاهده شد در رنج 52-860 نانوگرم در کیلوگرم که 26/4% از نمونه ها از حد مجاز کدکس غذایی ترکیه که 250 نانوگرم در کیلوگرم میباشد بیشتر بود (2).

در تحقیق دیگری که توسط تکینسن در ترکیه در سال 2008 انجام گرفت میزان آفلاتوکسین در 92 نمونه کره 100 نمونه پنیر خامه ای به روش الیزا بررسی شد که 100% نمونه های کره و 99% نمونه های پنیر آلوده بودند که در کره در رنج 10-7000 و پنیر 10-4100 نانوگرم در کیلوگرم بود و 28% از نمونه های کره و 18% از نمونه های پنیر از حد مجاز تعیین شده توسط کدکس غذایی ترکیه که 250 نانوگرم در کیلوگرم میباشد بالاتر است (18).

در گزارش دیگری که توسط یار گلو و همکاران انجام گرفت در ترکیه در سال 2005 میزان آفلاتوکسین در 600 نمونه پنیر سفید و کشر و پروسس به روش الیزا اندازه گرفته شد در 5% نمونه ها آلودگی مشاهده شد که در رنج 800-100 نانوگرم در کیلوگرم

در کیلوگرم میباشد. با توجه به جدول شماره (1) از این 64 نمونه 17 مورد پنیر سفید (26/6%) و 10 نمونه پنیر پروبیوتیک (15/6%) مربوط به برند A و 21 مورد پنیر سفید (32/8%) و 16 نمونه پنیر پروبیوتیک (25%) مربوط به برند B می باشد.

جدول (2) نشان میدهد پنیر سفید معمولی برند A دارای میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 $40/36 \pm 71/91$ و رنج آلودگی حداقل $22/40$ و حداکثر $143/90$ میباشد. پنیر پروبیوتیک برند A دارای میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 $29/52 \pm 22/27$ و رنج حداقل 0 حداکثر 76 میباشد و پنیر سفید معمولی برند B دارای میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 $43/52 \pm 177/65$ و رنج آلودگی حداقل $94/20$ و حداکثر $239/60$ میباشد. و پنیر پروبیوتیک برند B دارای میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 $43/85 \pm 131/51$ و حداکثر $87/90$ و حداکثر $195/60$ نانوگرم در کیلوگرم می باشد.

با توجه به جدول (3) مقایسه بین غلظت آفلاتوکسین M_1 در پنیر سفید معمولی و پروبیوتیک برند A به ترتیب $40/36 \pm 71/91$ و $29/52 \pm 22/27$ اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/01$). همینطور با توجه به میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 در پنیر سفید معمولی برند B که $43/52 \pm 177/65$ و پنیر پروبیوتیک برند B که $43/85 \pm 131/51$ نانوگرم در کیلوگرم میباشد اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/01$).

جدول شماره (3) نشان میدهد میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 در پنیر سفید معمولی هر دو برند A و برند B به ترتیب $40/36 \pm 71/91$ و $43/52 \pm 177/65$ نانوگرم در کیلوگرم میباشد که اختلاف معنی داری را نشان می دهد. ($p < 0/001$).

همینطور با توجه به جدول فوق میانگین غلظت آفلاتوکسین M_1 پنیر پروبیوتیک برند A $29/52 \pm 22/27$ و پنیر پروبیوتیک برند B $43/85 \pm 131/51$ اختلاف معنی داری بین این دو مشاهده می شود ($p < 0/001$).

با توجه به شکل یک منحنی پنیر پروبیوتیک هر برند زیر منحنی پنیر سفید معمولی همان برند قرار گرفته است. که نشان دهنده این

مقایسه استارترها ومدت تخمیر تاثیر مهمی در پایداری آفلاتوکسین‌ها نداشت (12).

پلتون و همکاران (2001) میزان اتصال به آفلاتوکسین توسط *Lb rhamnosus GG* را در حالت زنده $18/8 \pm 1/9$ و در شکل غیر زنده $26/6 \pm 3/2$ درصد و برای *Lb rhamnosus LC-705* به ترتیب $69/6 \pm 0/9$ ، $27/4 \pm 4/8$ درصد در شی گزارش کردند (15).

در این مطالعه نیز اگر کلی بررسی کنیم با توجه به نتایج (در 98 درصد نمونه ها سم مشاهده شد $12/5$ درصد هم بالاتر از حد مجاز بودند) از این نظر مشابه سایر تحقیقات است ولی اگر بخواهیم نتایج را جداگانه بررسی کنیم در مورد میزان آلودگی پنیرهای پروبیوتیک گزارشی تاکنون نشده ولی در مقایسه با سایر پنیرها رنج آلودگی کمتر شده و 100% نمونه ها زیر حد مجاز بودند ولی در مورد پنیرهای سفید نتایج با سایر تحقیقات همخوانی دارد. با توجه به گزارشات انجام شده در مورد کاهش آفلاتوکسین M₁ توسط باکتریهای پروبیوتیک می تواند نتایج این بررسی را تایید کند.

مصرف فراورده های شیری که دارای آلودگی آفلاتوکسینی بالاتر از حد مجاز هستند میتواند به طور بالقوه برای مصرف کنندگان خطر ساز باشند لذا بایستی به فکر چاره و کنترل آلودگی در شیر و فراورده های آن بود از جمله موثرترین و مهمترین راههای کنترل آلودگی شیر و فراورده های آن تولید شیر سالم که یا فاقد افلاتوکسین M₁ و یا میزان آفلاتوکسین آن پایین باشد است با توجه به اینکه ظهور افلاتوکسین M₁ در شیر نتیجه مصرف آفلاتوکسین B₁ از طریق مواد خوراکی توسط دامهای تولید کننده شیر است بنابراین می توان نتیجه گرفت که کنترل آلودگی مواد مصرفی دامهای شیری با دادن غذای سالم و قاعد آلودگی می تواند ما را در تولید شیرهای فاقد سم و یا شیرهای که دارای حداقل آلودگی هستند یاری نماید بر اساس مطالعات انجام شده بیشترین میزان آلودگی علوفه به آفلاتوکسین در دوره بعد از برداشت به دلیل رشد قارچها مخصوصا قارچهای از خانواده آسپرژیلوس صورت میگیرد. و همینطور استفاده از باکتریهای پروبیوتیک در این محصولات راه حل دیگری در کاهش این سموم می تواند باشد.

گزارش گردید. که 1% آنها بالاتر از حد تعیین شده توسط کدکس غذایی ترکیه بود (19).

معمولا اختلافاتی که در ارائه نتایج توسط محققین کشورهای مختلف مشاهده می گردد میتواند دلایل متعددی داشته باشد که از جمله آنها میتوان به نحوه ساخت پنیر-میزان آلودگی شیرهای مورد استفاده برای تهیه پنیر-شرایط موجود در طی دوران رسیدن پنیر و روش مورد استفاده جهت آنالیز نمونه های پنیر اشاره نمود (8). علاوه بر موارد ذکر شده میزان آفلاتوکسین M₁ شیرهای تولید شده در نقاط مختلف تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر شرایط جغرافیایی و فصلی قرار می گیرند به عنوان مثال مشاهده شده است که درصد و میزان آلودگی در فصل تابستان در مقایسه با فصل زمستان به صورت معنی داری پایین تر می باشد (8). ضمنا همانگونه که بیان گردید خود تکنیکهای مورد استفاده جهت آنالیز سم بر روی نتایج میتواند تاثیر گذار باشد امروزه روشهای متعددی برای این منظور استفاده می شود که از جمله معروفترین آنها روشهای کروماتوگرافی لایه نازک - کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و روش الیزا میباشد. همچنین مطالعاتی در زمینه کاهش آفلاتوکسین M₁ توسط باکتریهای پروبیوتیک انجام گرفته که در زیر به چند مورد آن اشاره شده:

پیریدس و همکاران (2000) مطالعه ای بر روی میزان اتصال آفلاتوکسین M₁ به لاکتوباسیلوس رامنوسوس انجام دادند. نتایج آنها نشان داد بعد از 4 ساعت انکوباتور گذاری $77 \pm 0/4$ درصد از آفلاتوکسین M₁ توسط *Lb rhamnosus GG* و $75/2 \pm 1/2$ درصد با *Lb rhamnosus LC-705* باند شدند. همچنین در بررسی که توسط آنها بر روی این باکتریها در حالتی که آنها به وسیله حرارت از بین رفتند انجام شد، نشان داد پس از 15-16 ساعت انکوباتور گذاری در محیط PBS به ترتیب با $57/8 \pm 3/3$ و $51/6 \pm 3$ درصد از آفلاتوکسین M₁ باند شدند (16).

جاسوتینی و همکاران (2007) به بررسی تعیین پایداری آفلاتوکسین M₁ در طی تولید محصولات لبنی تخمیری پرداختند. شیری که از شیر خشک حل شده بدست آمده به طور مصنوعی با آفلاتوکسین M₁ به میزان $0/044 \pm 0/006$ میکروگرم در گرم آلوده کردند. مقدار آفلاتوکسین باقی مانده را در خاتمه پس ازین رفتن با HPLC تعیین کردند. تحقیق آنان بر روی شیر قبل و بعد از پاستوریزاسیون نشان داد که 3 دقیقه حرارت در 95 درجه و استارتر لاکتوکوکوس در تولید شیرهای تخمیری استفاده شد.

جدول 1- میانگین و انحراف معیار غلظت آفلاتوکسین M_1 در پنیرهای سفید و پروبیوتیک (نانوگرم در کیلوگرم)

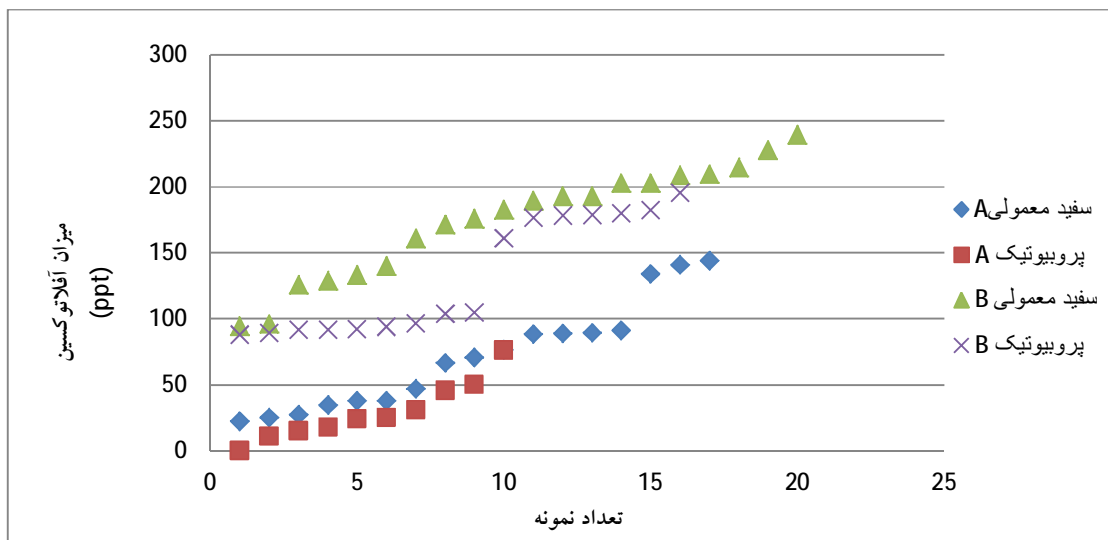
نمونه	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
پنیرسفید برند A	71/91	40/36	22/40	143/90
پنیر پروبیوتیک برند A	29/52	22/27	0	76
پنیرسفید برند B	177/65	43/52	94/20	239/60
پنیر پروبیوتیک برند B	131/51	43/85	87/90	195/60
جمع کل	114/88	67/69	0	239/60

جدول 2- مقایسه بین غلظت آفلاتوکسین M_1 در انواع پنیرهای سفید و پروبیوتیک (نانوگرم در کیلوگرم)

نام تجاری محصول	غلظت آفلاتوکسین M_1	¹ P_value
پنیر سفید برند A	71/91±40/36	<0/01
پنیر پروبیوتیک برند A	29/52±22/27	
پنیر سفید برند B	177/65±43/52	<0/01
پنیر پروبیوتیک برند B	131/51±43/85	
پنیر سفید برند A	71/91± 40/36	<0/001
پنیر سفید برند B	177/65±43/52	
پنیر پروبیوتیک برند A	29/52±22/27	<0/001
پنیر پروبیوتیک برند B	131/51±43/85	

جدول 3- مقایسه بین غلظت آفلاتوکسین M_1 در انواع پنیرهای سفید و پروبیوتیک (نانوگرم در کیلوگرم)

نام تجاری محصول	غلظت آفلاتوکسین M_1	¹ P_value
پنیر سفید برند A	71/91±40/36	<0/01
پنیر پروبیوتیک برند A	29/52±22/27	
پنیر سفید برند B	177/65±43/52	<0/01
پنیر پروبیوتیک برند B	131/51±43/85	
پنیر سفید برند A	71/91± 40/36	<0/001
پنیر سفید برند B	177/65±43/52	
پنیر پروبیوتیک برند A	29/52±22/27	<0/001
پنیر پروبیوتیک برند B	131/51±43/85	



شکل 1- منحنی میزان آفلاتوکسین در پنیرهای مختلف بر حسب تعداد نمونه

می تواند ایمنی مواد غذایی را افزایش داده و به سلامتی جامعه کمک کند. نتایج حاصل از این بررسی می تواند بیانگر این مسئله باشد که بین برندهای موجود در بازار از لحاظ وجود سم آفلاتوکسین اختلاف معنی داری وجود دارد. تشویق شرکتهایی که محصول ایمن تری تولید می کنند همراه با کنترل مستمر فرآورده های لبنی از نظر وجود آفلاتوکسین M₁، از طریق وارد کردن این آزمون در استاندارد مربوط، می تواند به ارتقاء سطح ایمنی محصولات لبنی کمک نماید.

5- منابع

- 1- Amra, H.A. 1998. Survey of aflatoxin M₁ in Egyptian raw milk by enzyme-linked immunosorbent assay. in Mycotex 98, Toulouse July, 2-4.
- 2- Ardic, M., Karakaya, Y., Atasever, M., & Adiguzel, G. 2009. Aflatoxin M₁ levels Turkish white brined cheese. *Food Control*. 20: 196-199.
- 3- Belgin S. 2004. Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA, *Food Control*, 15, 45-49.
- 4- Bata, A., Lasztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*. 10: 223-228.
- 5- 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: 1695-1699.

4- نتیجه گیری

آنچه که از مجموع مطالب ذکر شده می توان نتیجه گرفت این است که مواد غذایی مورد مصرف دامها بایستی از نظر آلودگیهای آفلاتوکسینی به خصوص آفلاتوکسین B₁ مورد بررسی قرار گرفته و در صورت آلوده بودن از گردونه مصرف خارج شوند. ضمناً شرایط نگهداری این دسته از مواد خوراکی بایستی از نظر وجود عوامل مستعد کننده، کاملاً تحت کنترل باشد و بالاخره برنامه بررسی آلودگی آفلاتوکسین مواد غذایی مورد مصرف دامها، شیر و فرآورده های شیری به صورت منظم و مرتب اجراء گذاشته شود.

به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده از این بررسی کاهش معنی داری از لحاظ وجود آفلاتوکسین M₁، در پنیرهای پروبیوتیک در مقایسه با پنیرهای معمولی مشاهده شد. از طرفی پنیرهای پروبیوتیک حاوی باکتریهای پروبیوتیک هستند، این باکتریها خواص زیادی بر سلامتی مصرف کننده دارند به طوری موجب تحریک رشد باکتریهای مفید روده شده و به کاهش بیماری زایی میکروب های مضر کمک می کنند. علاوه بر کمک به گوارش مولکولهای پیچیده، ترکیباتی مانند ویتامینها و آنتی بیوتیکهای مختلف را تولید کرده که برای بدن مفید هستند و موجب تحریک سیستم ایمنی می شوند (17). لذا توصیه عموم به مصرف این محصولات و تشویق کارخانجات به تولید آن ها،

- 18-Tekinsen, K. Ucar, G. 2008. Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control*.19:27-30.
- 19- Yaroglu, T. Oruc, H. and Tayar, M. 2005.Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control*.16:883-889.
- 20- Zinedine, A. and Manes, J. 2009. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*. 20: 334-340.
- 6-El-Nezami,H., Kankaanpa, P., Salminen, S., Akokas, J. 1997. Ability of dairy strain of lactic acid Bacteria to bind a common food carcinogen, Aflatoxin B₁. *Food and Chemical Toxicology*. 36:321-326.
- 7- Fallah, A. A., Jafari, T., Fallah, A., & Rahnama, M. 2009. Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and Chemical Toxicology*.47(8): 1872-1875.
- 8-Galvano,F.,Galofaro,V.and Galvano, G. 1996.Occurrence and review. *Journal of Food Protection* .59(10):1079-1090
- 9-Gratz,s., 2007.Aflatoxin Binding by probiotics: Experimental studies on Intestinal Aflatoxin Transport, Metabolism and Toxicology. Doctoral dissertation ,School of public Health and Clinical Nutrition, Clinical Nutrition and Health Research centre, University of Kuopio.
- 10-Haskard, C., Binnion, Ch., Ahoka, J. 2000.Factors affecting the sequestration of aflatoxin by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Chemico- Biological Interaction*. 128:39-49.
- 11-Hernandez-Mendoza,A., Garcia,H.S., Steele, J.L. 2009. Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B₁. *Food and Chemical Toxicology*.47(6):1064-1068.
- 12-Jasutienė,I., Kulikauskienė,M., Garmienė,G. 2007.Stability of aflatoxin M₁ during production of F fermented dairy products. *Veterinarija IR Zootechnika*.T.37(59): 1392-2130.
- 13-Kabak,B., Dobson,a.d.w., Var,I. 2006.Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of food and Animal Feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.46:593-619.
- 14-Mokoena,M.P., Chelule,P.K., Gqaleni,N. 2005.The toxicity and decreased concentration of aflatoxin B₁ in natural lactic acid fermented maize meal. *Journal of Applied Microbiology*. 100:773-777.
- 15-Peltonen.K., EL-Nezami.H., Hskard.C., Ahokas.J., Salminen. S. 2001. Aflatoxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Dairy Sci*. 84:2152-2156.
- 16-Pierides. M., El-Nezami.H., Peltonen.K., Salminen,S., Ahokas. J. 2000.Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food mode. *J Food Prot*.63:645-650.
- 17-Possemiers S, Grootaert C, Vermeiren J, Gross G, Marzorati M, Verstraete W. 2009. The intestinal environment in health and disease e recent insights on the potential of intestinal bacteria to influence human health. *Curr Pharm* .15 :2051-2065.