مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۵، فروردین ۱۳۹۵، ۱۶-۳

تأثیر جدایه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس برویس بر رشد آسپرژیلوس فلاووس و کاهش آفلاتوکسین B_1

علیرضا صادقی[۱]، مریم ابراهیمی[۲]، بلال صادقی[۳]

دریافت مقاله: ۹۴/۶/۱۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۴/۸/۱۳ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۴/۱۱/۴ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۱/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: آفلاتوکسین B_1، سمی‌ترین نوع آفلاتوکسین و از قوی‌ترین مواد سرطان‌زای کبدی است که توسط برخی از گونه‌های جنس *آسپرژیلوس* تولید می‌گردد. کنترل موفق رشد این کپک می‌تواند گامی مهم در پیشگیری از سرطان باشد. این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر جدایه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش آفلاتوکسین B_1 به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی که در سال ۱۳۹۳ انجام شد، پس از شناسایی جدایه‌های لاکتیکی یک نمونه خمیرترش سنتی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، تأثیر آنها بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و توانایی آنها در کاهش آفلاتوکسین B_1 با کمک آزمون الایزای رقابتی مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری و تیمار حرارتی بر میزان باقیمانده آفلاتوکسین B_1 در حضور جدایه‌های مذکور ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل و آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در پایان دوره گرمخانه‌گذاری، قطر کلنی *آسپرژیلوس فلاووس* در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس برویس* و نمونه کنترل به ترتیب ۱/۵۰، ۳/۴۶ و ۹/۰۰ سانتی‌متر بود. همچنین درصد باقیمانده آفلاتوکسین B_1 پس از گرمخانه‌گذاری در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در زمان‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۵۰/۶۰، ۴۸/۹۳ و ۴۱/۲۴٪ و در حضور *لاکتوباسیلوس برویس* به ترتیب ۶۶/۲۶، ۶۴/۴۰ و ۵۵/۶۱٪ بود. سلول مرده این جدایه‌ها در مقایسه با سلول زنده آنها به نحو مؤثرتری ($p<0/05$) توانست آفلاتوکسین B_1 را کاهش دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به قابلیت بالای باکتری‌های لاکتیکی مورد مطالعه در این پژوهش در کنترل رشد *آسپرژیلوس* فلاووس و کاهش آفلاتوکسین B_1، شاید بتوان از قابلیت نگهدارندگی زیستی آنها با هدف کاهش خطر ابتلاء به سرطان استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس برویس*، الایزای رقابتی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، آفلاتوکسین B_1

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
تلفن: ۴۴۲۶۴۳۲-۰۱۷۱، دورنگار: ۴۴۲۶۴۳۲-۰۱۷۱، پست الکترونیکی: sadeghi.gan@gmail.com
۲- دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳- استادیار گروه آموزشی پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

مقدمه

رشد کپک‌ها در فرآورده‌های مختلف، علاوه بر خسارت اقتصادی جبران‌ناپذیر، سبب تولید آفلاتوکسین‌ها شده و مشکلات عدیده‌ای را برای سلامت افراد جامعه در پی دارد. آلودگی مواد غذایی با آفلاتوکسین‌ها، یک مشکل رایج در مناطق گرمسیری و نیمه حاره‌ای دنیا به خصوص در کشورهای در حال توسعه می‌باشد [۱]. آفلاتوکسین B_1 (Aflatoxin B_1; AFB_1)، سمی‌ترین نوع آفلاتوکسین و از قوی‌ترین مواد سرطان‌زای کبدی محسوب می‌گردد که تا به امروز شناخته شده است. این مایکوتوکسین توسط تعداد زیادی از گونه‌های *آسپرژیلوس* تولید می‌شود [۲]. استفاده از میکروارگانیسم‌هایی با اثر آنتاگونیسمی و بی‌ضرر (Generally Recognized as Safe; GRAS) برای کاهش رشد کپک *آسپرژیلوس* و متعاقباً کاهش آفلاتوکسین از مهم‌ترین روش‌های نگهداری زیستی مواد غذایی محسوب می‌شود [۳]. با توجه به اثرات سلامتی‌بخش باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان ارگانیسم‌های پروبیوتیک، این باکتری‌ها مورد توجه بسیار زیادی قرار گرفته‌اند [۴]. باکتری‌های اسید لاکتیک از قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی نظیر اسیدهای آلی، دی‌استیل، استون، پراکسید هیدروژن، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین‌ها برخوردارند که در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا و مولد فساد مؤثر می‌باشند [۵].

Rejiniemon و همکاران [۶] و Lavermicocca و همکاران [۷-۸]، طی پژوهش‌هایی جداگانه به ترتیب نشان دادند که جدایه‌های *لاکتیکی* به دست آمده از مالت و خمیرترش، می‌توانند با تولید فنیل لاکتیک اسید و ۴-هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید به طور قابل‌ملاحظه‌ای رشد *آسپرژیلوس*، *پنی‌سیلیوم* و *فوزاریوم* را مهار کنند.

Tropcheva و همکاران [۹] نیز طی پژوهشی مشخص ساختند که زیرگونه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس برویس* جدا شده از ماست تخمیری بلغاری می‌توانند به طور کامل، رشد *آسپرژیلوس آواموری* و *پنی‌سیلیوم کلاویفورم* را مهار نموده و همچنین رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و تولید آفلاتوکسین B_1 را به صورت معنی‌داری کاهش دهند. Fuchs و همکاران نیز دریافتند که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* زیرگونه VM20 و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* زیرگونه VM12 به ترتیب می‌توانند بیش از ۹۵٪ اکراتوکسین و تا ۸۰٪ پاتولین را کاهش دهند[۱۰]. بر اساس یافته‌های محققین مذکور، عوامل مختلفی نظیر غلظت توکسین، جمعیت باکتری، میزان pH و زنده یا غیر زنده بودن باکتری در میزان اتصال سموم به دیواره سلولی آن مؤثر است.

در مطالعه Rezaei و همکارش [۱۱]، توانایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در حذف آفلاتوکسین M_1 در کفیر با استفاده از الایزای رقابتی محرز گردید. Shetty و همکارش [۱۲] و Karimi dastjerd و همکاران [۱۳] نیز با استفاده از الایزای رقابتی نشان دادند که باکتری‌های اسید لاکتیک در حالت زنده و غیر زنده، توانایی کاهش انواعی از آفلاتوکسین را دارند. اتصال باکتری‌های اسید لاکتیک به مایکوتوکسین‌ها از طریق اتصال دیواره سلولی باکتری با این سموم صورت می‌گیرد. پپتیدوگلیکان باکتری با تمایل زیاد برای اتصال به ترکیبات خارجی باعث محافظت از باکتری در برابر آلودگی‌های خارجی می‌شود [۱۴]. اتوکلاو نیز موجب دناتوره شدن پروتئین‌ها و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

آنزیم‌های موجود در پیکره باکتری شده و با تأثیر بر مکانیسم اتصال، سبب افزایش اتصالات پپتیدوگلیکان با سموم گردیده و به شکل معنی‌داری میزان حذف آفلاتوکسین را افزایش می‌دهد [۱۳-۱۲].

همواره استفاده از روش‌های نوین شناسایی و تعیین ویژگی‌های کاربردی باکتری‌های اسید لاکتیک در زیست‌بوم‌هایی که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند امکان دستیابی به جدایه‌هایی با قابلیت‌های منحصر به فرد را افزایش داده است. امروزه با در نظر گرفتن محدودیت‌های روش‌های شناسایی مبتنی بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی، شناسایی مولکولی این میکروارگانیسم‌ها از اعتبار بسیار بیشتری برخوردار می‌باشد. فرآورده‌های غذایی تخمیری نظیر خمیرترش، زیستگاه بسیار مناسبی برای باکتری‌های اسید لاکتیک محسوب می‌شوند. از فلور میکروبی خمیرترش به عنوان آغازگر اختصاصی و به دلایل خاصی نظیر بهبود آروما، طعم، زمان ماندگاری، ارزش تغذیه‌ای و یا حتی ایجاد خواص سلامتی‌بخش در فرآیند تخمیر نان استفاده می‌گردد [۱۵]. هدف از انجام این پژوهش، جداسازی، شناسایی مولکولی و بررسی تأثیر جدایه‌های لاکتیکی غالب موجود در یک نمونه خمیرترش سنتی بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش آفلاتوکسین B_1 بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی که در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان از مهر تا اسفند ۱۳۹۳ انجام شد، تک پرگنه خالص جدایه‌های لاکتیکی مورد استفاده، از کشت خطی سوسپانسیون میکروبی یک نمونه خمیرترش سنتی که دارای قابلیت کاهش کپک‌زدگی نان بود در محیط کشت اختصاصی MRS Agar (Merck، آلمان) به دست آمد. پس از شناسایی اولیه جدایه‌های مورد نظر با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی نظیر آزمون کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم، DNA تک پرگنه آنها، استخراج (Bioneer، AccuPrep K-3032، کره جنوبی) و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction; PCR) دارای پرایمر اختصاصی، تکثیر و متعاقباً محصولات PCR، توالی‌یابی (MWG، آلمان) شد [۱۶]. شرایط واکنش این آزمون و پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده برای آزمون PCR شناسایی جدایه‌های لاکتیکی

میزان اختصاصیت پرایمر	توالی پرایمر: ۵ پریم به ۳ پریم	طول توالی هدف	مرجع
باکتری‌های اسید لاکتیک	F: GAACGCGAAGAACCTTAC R: GCGTGTGTACAAGACCC	۵۰۰ جفت باز	۱۶

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرو لیتر، شامل یک واحد بافر استاندارد PCR، ۲۵ پیکامول از هر پرایمر، مخلوطی از هر dNTP با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار، ۲۵ میکروگرم سرم آلبومین، Taq پلیمراز با فعالیت ۲/۵ واحد (Robust، فرانسه) و ۲ میکرو لیتر DNA با غلظت ۱۰۰ نانوگرم انجام شد. سپس در مرحله اول تکثیر، واسرشت

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

DNA با شروع داغ در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، آغاز گشته و طی ۳۵ چرخه با برنامه حرارتی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و ۶۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. سرانجام مرحله تکثیر انتهایی نیز به مدت ۷ دقیقه در دمای ۶۸ درجه سانتی‌گراد (Corbett، مدل CG1-96، استرالیا) خاتمه پیدا کرد [۱۶].

پس از شناسایی جدایه‌های لاکتیکی، این جدایه‌ها در محیط MRS broth (Merck، آلمان)، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط بی‌هوازی به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس باکتری‌ها به کمک سانتریفوژ یخچال‌دار (Sigma، مدل 3K30، آمریکا) در ۴۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیده و پس از حذف سوپرناتانت در سرم فیزیولوژی حل شدند. عمل شستشو سه بار تکرار گردید و نهایتاً میزان جذب سرم حاوی باکتری به کمک اسپکتروفتومتر (PG instruments، مدل LTD T80، انگلستان) در OD=۶۰۰nm اندازه‌گیری و تعداد باکتری در مقادیر مشخص تنظیم گردید [۱۰]. *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC ۵۰۰۴) نیز پس از کشت بر روی محیط (PDA) Potato Dextrose Agar به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. در مرحله بعد، اسپورها از سطح پلیت جمع‌آوری و در بافر فسفات سالین با pH=۷ به صورت سوسپانسیون درآورده شد و نهایتاً به کمک لام هموسایتومتر، میزان اسپور در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون معادل $۱۰^{۶}$ تنظیم گردید [۹].

در ادامه به منظور ارزیابی تأثیر جدایه‌های لاکتیکی بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس*، ابتدا یک درصد از سلول‌های شسته شده هر کدام از جدایه‌های لاکتوباسیلوس ($۱۰^{۸}$ CFU/ml)، به محیط کشت MRS broth تلقیح گردید و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس محیط مذکور با محیط PDA (۴۵ درجه سانتی‌گراد) در حجم‌های مساوی، مخلوط و در پلیت ریخته شد. نمونه کنترل، شامل پلیت‌های آگاردار حاوی محیط کشت MRS broth و فاقد باکتری لاکتیکی بود. پس از انعقاد محیط کشت، ۳ میکرولیتر از اسپور قارچ به صورت نقطه‌ای بر روی سطح و در قسمت مرکزی پلیت گذاشته شد. سپس پلیت‌ها در شرایط هوازی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و به صورت روزانه، قطر رشد کلنی کپک در آنها تا زمانی که کپک در نمونه کنترل به طور کامل سطح پلیت را پوشاند، اندازه‌گیری گردید [۹].

آفلاتوکسین B_1 مورد استفاده در این پژوهش از شرکت Sigma (۶۶۳۶) به صورت ویال یک گرمی حاوی پودر توکسین خریداری شد. این پودر پس از افزودن به محلول بنزن و استونیتریل (Merck، آلمان) به نسبت ۹۷:۳ و تبخیر حلال، در بن‌ماری (بهداد، مدل ۳۵۰۵، ایران) و زیر هود شیمیایی در بافر فسفات با pH=۷ حل گردید. برای تعیین توانایی جدایه‌های لاکتیکی در جذب آفلاتوکسین B_1 به هر میلی‌لیتر از ویال‌های حاوی توکسین، غلظت مشخصی از سویه باکتریایی مورد نظر افزوده شد. سپس ویال‌ها در زمان‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار (ژال، مدل JTSL20، ایران)، گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گرمخانه‌گذاری، محلول بافر فسفات حاوی هر یک از دو جدایه باکتری و آفلاتوکسین به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید تا سلول باکتری

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

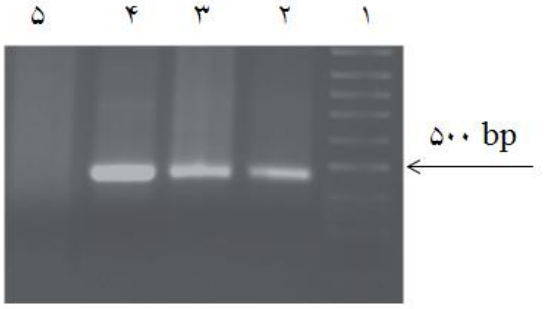
رسوب داده شود. سپس میزان آفلاتوکسین B_1 محلول فوقانی با روش الایزای رقابتی مستقیم (واکنش رقابتی بین آنتی‌ژن نمونه با آنتی‌ژن نشان‌دار شده در اتصال به آنتی‌بادی اختصاصی) به کمک کیت الایزای خریداری شده از شرکت Rocket international (آلمان) و دستگاه الایزا ریدر (Biotek، مدل S2000، آلمان) اندازه‌گیری و با نمونه کنترل (فاقد باکتری و حاوی همان مقدار آفلاتوکسین)، مقایسه گردید [۱۷].

جهت بررسی توانایی سلول‌های غیر زنده در کاهش میزان آفلاتوکسین B_1، از تیمار حرارتی استفاده شد. برای انجام تیمار حرارتی، پس از برداشت سلول در مرحله رشد لگاریتمی و سانتریفوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه)، ۱۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات حاوی غلظت مشخصی از جدایه‌های لاکتیکی تهیه شد و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو (ایران طب زعیم، مدل ۸۷۴۱۹، ایران) شد، سپس تأثیر آن بر حذف آفلاتوکسین به روش مشابه بررسی گردید [۱۸].

نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از آزمون‌های آماری t مستقل و آنالیز واریانس یک طرفه با مقایسات زوجی حداقل اختلاف معنی‌داری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با سه تکرار و به کمک نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [۱۹] و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد. لازم به توضیح است که در تیمارهایی که صرفاً تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری در مورد هر کدام از جدایه‌های لاکتیکی به شکل مستقل در بازه‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت بر کاهش آفلاتوکسین مورد ارزیابی قرار گرفته بود و همچنین در تیمارهایی که تأثیر دو جدایه لاکتیکی و نمونه کنترل در هر یک از روزهای اول تا ششم پس از کشت به شکل مستقل بر رشد آسپرژیلوس سنجیده شده بود از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. علاوه بر این، در مورد مقایسه دو جدایه لاکتیکی با یکدیگر به لحاظ قابلیت کاهش آفلاتوکسین در زمان‌های یکسان گرمخانه‌گذاری و همچنین مقایسه بین دو حالت زنده و مرده هر یک از دو جدایه لاکتیکی بر کاهش آفلاتوکسین نیز از آزمون t مستقل استفاده شد.

نتایج

ارزیابی اولیه تکثیر DNA تک پرگنه‌های حاصل از کشت خطی سوسپانسیون میکروبی خمیرترش سنتی با ژل الکتروفورز محصولات تولیدی، تأیید گردید (شکل ۱).



شکل۱- ژل الکتروفورز محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی با توالی هدف ۵۰۰ جفت بازی جهت شناسایی پرگنه جدایه‌های لاکتیکی سوسپانسیون میکروبی خمیرترش سنتی (لاین ۲ و ۳) در مجاورت مارکر صد جفت بازی (لاین ۱) و همچنین نمونه‌های کنترل مثبت حاوی DNA حاصل از کشت خالص Lactobacillus spp.(لاین ۴) و کنترل منفی یا فاقد باکتری (لاین ۵).

نتایج توالی‌یابی محصولات PCR دارای پرایمر اختصاصی از DNA این تک پرگنه‌ها نیز پس از مقایسه توالی‌های مذکور با داده‌های موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی NCBI (National Center for Biotechnology

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

(Ribosomal Database Project) RDP و (Information منجر به شناسایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* شد.

نتایج تأثیر سویه‌های *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به عنوان جدایه‌های لاکتیکی خمیرترش سنّتی بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- مقایسه تأثیر دو جدایه لاکتیکی و نمونه کنترل بر رشد آسپرژیلوس فلاووس با تعیین قطر کلنی کپک (سانتی‌متر) در هر یک از روزهای اول تا ششم پس از کشت

جدایه	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم	روز پنجم	روز ششم
لاکتوباسیلوس برویس	۰/۱۲±۰/۰۱^{b}	۰/۷۹±۰/۰۳^{b}	۱/۲۷±۰/۱۲^{b}	۱/۶۳±۰/۱۲^{b}	۲/۳۳±۰/۱۷^{b}	۳/۴۶±۰/۱۲^{b}
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۰/۱۱±۰/۰۱^{b}	۰/۶۷±۰/۰۲^{b}	۱/۰۰±۰/۰۸^{b}	۱/۱۷±۰/۰۴^{b}	۱/۴۶±۰/۰۴^{c}	۱/۵۰±۰/۰۲^{c}
نمونه کنترل	۰/۷۹±۰/۵۵^{a}	۱/۹۳±۰/۲۴^{a}	۳/۸۶±۰/۲۱^{a}	۶/۳۶±۰/۴۰^{a}	۸/۷۳±۰/۲۰^{a}	۹/۰۰±۰^{a}

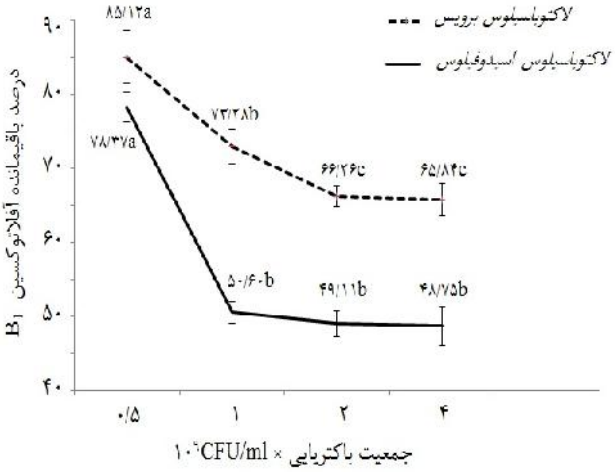
حروف مشابه در هر ستون، نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است (آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات زوجی حداقل اختلاف معنی‌داری)

همان‌طور که ملاحظه می‌گردد هر دو جدایه مذکور دارای فعالیت بالای بازدارندگی علیه *آسپرژیلوس فلاووس* بودند. بررسی‌های آماری نشان داد که بین قطر کلنی *آسپرژیلوس فلاووس* در پلیت کنترل در مقایسه با پلیت‌های حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* در هر یک از روزهای اول تا ششم رشد کپک، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین بین تأثیر دو جدایه *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* از روز اول تا روز چهارم، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما در روزهای پنجم و ششم، اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)؛ میزان رشد کپک مذکور نیز در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به طور معنی‌داری کمتر از رشد آن در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس برویس* بود. لازم به ذکر است که در طول دوره بررسی شش روزه، قطر کلنی *آسپرژیلوس فلاووس* در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* حداکثر ۱/۵ سانتی‌متر بود (جدول ۲).

با توجه به تأکید تحقیقات صورت گرفته بر اهمیت تعداد باکتری‌های مورد نیاز برای ایجاد اتصال بهینه با آفلاتوکسین، در بخش دیگری از این پژوهش، تأثیر جمعیت‌های مختلف جدایه‌های لاکتیکی بر میزان آفلاتوکسین B_1 مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، میانگین مقادیر جذب آفلاتوکسین مربوط به محلول‌های استاندارد و مقادیر جذب این نمونه‌ها بر میانگین جذب استاندارد صفر (نمونه فاقد آفلاتوکسین)، تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب گردید تا نتایج به صورت درصد بیان شود. نتایج نشان داد که جمعیت سلول باکتریایی، یک عامل اصلی جهت تأثیرگذاری بر میزان کاهش آفلاتوکسین می‌باشد (نمودار ۱).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]



نمودار ۱- درصد باقیمانده آفلاتوکسین B1 در حضور جدایه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس برویس
حروف مشابه در هر جدایه، نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است (آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون مقایسات زوجی حداقل اختلاف معنی‌داری)

درصد باقیمانده آفلاتوکسین B_1 با افزایش جمعیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* به ترتیب تا ۱×۱۰^{۹} و ۲×۱۰^{۹}CFU/ml روندی نزولی داشت ولی پس از آن، تغییر معنی‌داری در کاهش مقدار آفلاتوکسین B_1 مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$). بر اساس این نتایج، تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* مورد نیاز برای اتصال بهینه با آفلاتوکسین B_1 و حذف آن، به ترتیب ۱×۱۰^{۹} و ۲×۱۰^{۹}CFU/ml برآورد گردید.

پس از تعیین تعداد مناسب جدایه‌های لاکتیکی برای برقراری اتصال بهینه با آفلاتوکسین B_1 و حذف آن، تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری بر میزان حذف آفلاتوکسین B_1 توسط جدایه‌های لاکتیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، میزان باقیمانده آفلاتوکسین B_1 پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در هر یک از زمان‌های صفر (بلافاصله پس از افزودن جدایه و بدون گرمخانه‌گذاری)، ۲۴ و ۴۸ ساعت در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به شکل معنی‌داری کمتر از نمونه حاوی جدایه *لاکتوباسیلوس برویس* بود ($P <۰/۰۵$). علاوه بر این، میزان باقی‌مانده آفلاتوکسین در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در زمان‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۱/۶۰±۵۰/۶۰، ۱/۳۴±۴۸/۹۳ و ۱/۴۵±۴۱/۲۴ درصد و میزان باقیمانده آفلاتوکسین در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس برویس* در زمان‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۱/۱۶±۶۶/۲۶، ۰/۷۵±۶۴/۴۰ و ۶/۴۶±۵۵/۶۱٪ به دست آمد. بر این اساس، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از توانایی بیشتری در حذف آفلاتوکسین B_1 در مقایسه با *لاکتوباسیلوس برویس* در هر یک از زمان‌های مورد بررسی برخوردار می‌باشد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود در مورد هر کدام از دو جدایه لاکتیکی، بین میزان باقیمانده آفلاتوکسین B_1 در زمان صفر با میزان باقیمانده آفلاتوکسین پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p<۰/۰۵$). اما میزان باقیمانده آفلاتوکسین B_1 بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در مقایسه با زمان صفر در هر کدام از دو جدایه لاکتیکی به شکل معنی‌داری متفاوت بود ($p<۰/۰۵$).

در بخش دیگری از این پژوهش، به منظور بررسی توانایی سلول‌های غیر زنده باکتریایی در کاهش میزان آفلاتوکسین، از تیمار حرارتی (اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه) استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان باقیمانده

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

آفلاتوکسین در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از ۱/۶۰±۵۰/۶۰ به ۱/۴۹±۳۱/۲۳ درصد و در حضور جدایه *لاکتوباسیلوس برویس* از ۱/۱۶±۶۶/۲۶ به ۱/۳۲±۴۳/۳۰ درصد کاهش یافت ($p<0/05$).

بحث

امروزه آلودگی مواد غذایی با انواع مختلف قارچ‌های توکسین‌زا یکی از مشکلات جدی جامعه جهانی به شمار می‌آید. از این بین، *آسپرژیلوس فلاووس* از مهم‌ترین کپک‌های توکسین‌زاست که به علت قابلیت تولید کنیدی‌های آلرژی‌زا و آفلاتوکسین B_1 بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آفلاتوکسین B_1 از طریق خوردن یا استنشاق، به بدن وارد و با عبور از روده کوچک، جذب خون شده و سپس در بافت‌های مختلف از جمله کبد، ریه، کلیه، سیستم‌های ایمنی، تناسلی، عصبی و گوارشی تجمع پیدا می‌کند. این آفلاتوکسین همچنین در کبد، تغلیظ گردیده و در نهایت سرطان کبد را به وجود می‌آورد [۲۰]. روزانه میلیون‌ها نفر در کشورهای در حال توسعه به طرق مختلف در معرض مقادیر متفاوتی از انواع سموم قارچی قرار می‌گیرند که اهمیت استفاده از نگهدارنده‌های مناسب برای محافظت از این افراد را نشان می‌دهد [۲۱]. اخیراً گزارشات متعددی درباره فعالیت‌های ضد قارچی باکتری‌های اسید لاکتیک و امکان استفاده از آنها به عنوان نگهدارنده‌های زیستی گزارش شده است [۲۵-۲۲].

بر اساس نتایج این پژوهش، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* جدا شده از یک نمونه خمیرترش سنتی ایران، توانایی مهار رشد *آسپرژیلوس فلاووس* را دارا هستند. Gerbaldo و همکاران [۲۲]، در ارزیابی ویژگی‌های جدایه‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* L60 و *لاکتوباسیلوس* فرمنتوم L23 دریافتند که آنها دارای طیف وسیعی از اثرات ضد قارچی در برابر *آسپرژیلوس* بوده و ضمن کاهش معنی‌دار رشد این کپک، میزان آفلاتوکسین B_1 تولید شده را نیز به ترتیب ۹۹/۸-۹۷/۵٪ و ۱۰۰-۲۷/۵٪ کاهش دادند. همچنین Magnusson و Schnurer [۲۶]، Tropcheva و همکاران [۹] و Khanafari و همکاران [۲۷] به ترتیب در مطالعاتی جداگانه، اثرات ضد قارچی *لاکتوباسیلوس کورینی فورمیس*، *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را نشان دادند. تولید اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی استیل و پپتیدهای زیست‌فعال از دلایل بروز اثرات ضد قارچی این باکتری‌ها به شمار می‌آید. در برخی منابع نیز فعالیت ضد قارچی باکتری‌های اسید لاکتیک به اثر سینرژیستی این ترکیبات نسبت داده می‌شود [۲۲].

باکتری‌های اسید لاکتیک علاوه بر مهار رشد قارچ‌های توکسین‌زا، توانایی اتصال به توکسین‌هایی نظیر آفلاتوکسین B_1 و حذف آنها را نیز دارند. باید در نظر داشت که جمعیت سلول باکتریایی، یکی از عوامل مؤثر در کاهش آفلاتوکسین B_1 است. لذا می‌بایست برای محافظت مصرف کننده در برابر آفلاتوکسین B_1، جمعیت مناسبی از آن را در رژیم غذایی مورد استفاده قرار داد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که جمعیت باکتریایی لازم برای حذف معنی‌دار آفلاتوکسین توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، 10^9 CFU/ml و در مورد *لاکتوباسیلوس برویس*، 2×10^9CFU/ml می‌باشد. Kabak و Var [۲۸]، مشخص نمودند که جمعیت سلول باکتریایی، مهم‌ترین عامل جهت تأثیرگذاری بر میزان کاهش

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

آفلاتوکسین است. Karimi dastjerd و همکاران [۱۳] نیز میزان مؤثر جمعیت باکتریایی لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از ماست‌های سنتی ایران برای حذف آفلاتوکسین B_1 را 10^9 CFU/ml مشخص کردند. همچنین در پژوهش دیگری، Bueno و همکاران [۲۹] دریافتند که در حضور 2×10^8 CFU/ml از زیر گونه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، دامنه کاهش آفلاتوکسین B_1 از ۲۵/۴ تا ۴۲/۸٪ متغیر است. Guevara-Gonzalez [۳۰] نیز نشان داد که در حضور 2×10^8 CFU/ml از جدایه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی*، دامنه حذف آفلاتوکسین B_1 از ۱۳٪ تا ۴۲٪ متغیر است. البته باید در نظر داشت علاوه بر جمعیت باکتریایی، مقدار توکسین، دمای گرمخانه‌گذاری و pH نیز در میزان جذب و کاهش آفلاتوکسین تأثیر دارند [۳۰].

بر اساس نتایج این پژوهش، میزان باقی‌مانده آفلاتوکسین B_1 در هر یک از زمان‌های ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کمتر از نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس برویس* بود. همچنین با گذشت زمان گرمخانه‌گذاری، تفاوت معنی‌داری در حذف آفلاتوکسین نسبت به زمان صفر در خصوص هر کیک از دو جدایه لاکتیکی مذکور مشهود بود. محققین مختلفی [۳۲-۳۱، ۱۳] با بررسی توانایی اتصال و کاهش آفلاتوکسین توسط برخی از لاکتوباسیل‌های جدا شده از محصولات تخمیری نشان دادند که با گذشت زمان گرمخانه‌گذاری، جذب آفلاتوکسین توسط سلول‌های زنده افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر، مطابق دارد. بر اساس نتایج این محققین، به موازات افزایش زمان گرمخانه‌گذاری و به واسطه افزایش تولید متابولیت‌هایی نظیر اگزوپلی‌ساکاریدها که در جذب مایکوتوکسین مؤثر هستند قابلیت کاهش آفلاتوکسین نیز افزایش می‌یابد. این در حالی است که نتایج تحقیق حاضر با نتایج برخی پژوهش‌ها [۳۴-۳۳، ۳۰] در تناقض می‌باشد. در این پژوهش‌ها مشخص شده است که زمان گرمخانه‌گذاری تأثیری بر کاهش میزان آفلاتوکسین ندارد.

بر اساس نتایج این پژوهش‌ها، کاهش آفلاتوکسین به واسطه واکنش آن با لایه پوشش باکتری و بدون تغییر شیمیایی توکسین صورت می‌گیرد و لذا ضرورتی برای ورود آفلاتوکسین B_1 به سلول و تبدیل متابولیکی آن وجود ندارد. بنابراین نقش اصلی در حذف آفلاتوکسین به ترکیبات دیواره سلولی باکتری نسبت داده می‌شود [۳۰]. از طرف دیگر، تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری [۲۸]، غلظت اولیه آفلاتوکسین مورد بررسی [۳۵]، جمعیت باکتری مورد نظر، pH [۱۰]، دمای گرمخانه‌گذاری و نوع جدایه [۳۶] نیز در این زمینه اهمیت دارند.

برای مطالعه بهتر مکانیسم حذف آفلاتوکسین B_1، در بخش دیگری از این پژوهش، تأثیر سلول‌های زنده و مرده با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج به دست آمده، تفاوت معنی‌دار بین این دو حالت را نشان داد. این نتایج با نتایج پژوهش‌هایی [۳۴-۳۳] که بین توانایی باکتری‌ها در اتصال با توکسین در دو حالت زنده و مرده تفاوتی مشاهده نکردند، در تناقض بوده و با نتایج برخی پژوهش‌ها [۳۵، ۳۰، ۱۲] هم‌خوانی دارد. ترکیبات مؤثر در اتصال آفلاتوکسین B_1 به دیواره سلول باکتری هنوز کاملاً

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

شناخته نشده است اما به نظر می‌رسد که کربوهیدرات‌های غنی از مانو پروتئین‌ها یا گلیکان‌ها در این فرایند نقش داشته باشند. تیمار حرارتی نیز ممکن است سبب دناتوره شدن پروتئین و شکل‌گیری هزاران واکنش بینابینی در دیواره سلولی شود. حرارت همچنین می‌تواند با انحلال برخی از واحدهای مانانی سطح سلول سبب افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی گردیده و در نهایت افزایش دسترسی جایگاه‌های اتصالی و حذف بیشتر آفلاتوکسین را در پی داشته باشد [۳۵، ۳۰، ۱۲].

از یک سو به علت قابلیت نگهدارندگی زیستی باکتری‌های اسید لاکتیک که عموماً در فرآوری محصولات غذایی تخمیری به عنوان کشت آغازگر مورد استفاده قرار می‌گیرند و از طرف دیگر، به دلیل نیاز به معرفی جایگزین‌های ایمن و طبیعی برای نگهدارنده‌های سنتزی و آنتی‌بیوتیک‌ها، همواره تعیین ویژگی‌های ضد میکروبی بالقوه جدایه‌های لاکتیکی حاصل از محصولات تخمیری سنتی مورد توجه بوده است. بر اساس نتایج این پژوهش، تأثیر بازدارنده دو جدایه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 مورد تأیید قرار گرفت. بر این اساس، باکتری‌های مذکور از قابلیت بالایی برای استفاده به عنوان کشت آغازگر و یا کشت همراه در فرآوری محصولات تخمیری برخوردار بوده و می‌توان از قابلیت نگهدارندگی زیستی آنها با هدف کاهش خطر ابتلاء به سرطان‌های ناشی از این مایکوتوکسین نیز استفاده نمود. جالب‌تر این‌که حتی در صورت اعمال فرآیند استریلیزاسیون بر محصولات حاوی این باکتری‌ها، تأثیر آنها بر کاهش آفلاتوکسین افزایش یافته و نشان می‌دهد که قابلیت استفاده از آنها به منظور کاهش آفلاتوکسین، به این مواد غذایی محدود نمی‌گردد. کاهش رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش میزان آفلاتوکسین توسط جدایه‌های مورد مطالعه در این پژوهش از جنبه افزایش زمان ماندگاری محصولات تخمیری و ارتقاء ایمنی مصرف‌کنندگان این فرآورده‌ها نیز از اهمیت بسزایی برخوردار است. البته به منظور استفاده از جدایه‌های لاکتیکی مذکور به عنوان کشت همراه در فرآوری محصولات تخمیری، قاعدتاً باید اثر متقابل آنها با کشت آغازگر اصلی به واسطه تأثیر بر خصوصیات فرآورده تولیدی و همچنین اثر سینرژیستی یا آنتاگونیسمی آنها مد نظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش پس از تأیید شناسایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* جدا شده از یک نمونه خمیرترش سنتی با استفاده از PCR دارای پرایمر اختصاصی، تأثیر این جدایه‌ها بر رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و توانایی آنها در کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 تحت تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری (۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و تیمار حرارتی (اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه) به کمک آزمون الایزای رقابتی مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده جدایه‌های لاکتیکی شناسایی شده بر کاهش رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش آفلاتوکسین B_1 مؤثر بودند. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از قابلیت بیشتری در کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 برخوردار بود و سلول اتوکلاو شده این جدایه‌ها نیز در مقایسه با سلول زنده آنها به نحو مؤثرتری توانست آفلاتوکسین B_1 را کاهش دهد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

افزایش میزان حذف آفلاتوکسین طی گرمخانه‌گذاری، به تفاوت ساختار دیواره سلولی باکتری، غلظت اولیه آفلاتوکسین مورد بررسی، جمعیت باکتری مورد نظر، pH، دمای گرمخانه‌گذاری و نوع باکتری بستگی دارد. بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان از دو جدایه مورد مطالعه به عنوان آغازگر میکروبی در فرآوری مواد غذایی تخمیری با هدف کنترل رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و کاهش آفلاتوکسین B_1 موجود در چنین فرآورده‌هایی و متعاقباً کاهش خطر ابتلاء به سرطان ناشی از محصولات آلوده با این مایکوتوکسین استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که بخشی از هزینه‌های اجرایی این پژوهش را تأمین نمودند، قدردانی می‌گردد.

References

[1] Gupta RC. Aflatoxins; ochratoxins and citrinins. *Repprod Toxicol* 2011; 55(1): 753-61.

[2] Wild CP, Montesano R. A model of interaction: aflatoxins and hepatitis viruses in liver cancer aetiology and prevention. *Cancer Lett* 2009; 286(1): 22-8.

[3] Silva JF, Peluzio JM, Prado G, Madeira JE, Silva Mo, de Morais Pb, et al. Use of probiotics to control aflatoxin production in peanut grains. *Sci entific World J* 2015; 2015; 959138.

[4] Dalie DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. Lactic acid bacteria; potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Control* 2010; 21(4): 370-80.

[5] Galvez A, Abriouel H, Lucas Lopez R, Ben Omar N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Inter J Food Microbiol* 2007; 120(1-2): 51-70.

[6] Rejiniemon TS, Hussain RR, Rajamani R. In-vitro functional properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented ragi malt. *S Ind J Biol Sci* 2015; 1(1): 15-23.

[7] Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, Lazzaroni S, Corsetti A, Gobbetti M. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl Microbiol* 2000; 66(9): 4084-90.

[8] Lavermicocca P, Valerio F, Visconti A. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. *Appl Environ Microb* 2003; 69(1): 634-40.

[9] Tropcheva R, Nikolova D, Evstatieva Y, Danova S. Antifungal activity and identification of Lactobacilli, isolated from traditional dairy product “katak”. *Anaerobe* 2014; 28(1): 78-84.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

[10] Fuchs S, Sontag G, Stid R, EhrlichV, Kundi M, Knasmüller S. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(4): 1398-407.

[11] Rezaei M, Marhamatizadeh MH. Study on chicory effect of aflatoxin in kefir probiotic contain chicory and *Lactobacillus acidophilus* or *Bifidobacterium bifidum*. *B Environ Pharmacol Life Sci* 2015; 4(4): 18-22.

[12] Shetty PH, Jespersen L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci Tech* 2006; 17(2): 48-55.

[13] Karimi dastjerd A, Tajabadi Ebrahimi M, Sharifan A, Nikoopour H, Hashemi M. Binding ability of some Iranian native *Lactobacillus* spp. to aflatoxin M. *J Microbial Biotech* 2012; 4(12): 7-12. [Farsi]

[14] Guan R, Wang Q, Sundberg EJ, Mariuzza RA. Crystal structure of human peptidoglycan recognition protein S (PGRP-S) at 1.70 A resolution. *J Mol Biol* 2005; 347(4): 683-91.

[15] Katina K. Sourdough a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. VTT publication 569, VTT technical research center of Finland. 2005; pp: 13-41.

[16] Ferchichi M, Valcheva R, Vost H, Onno B, Dousset X. Molecular identification of the microbiota of french sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Food Microbiol* 2007; 24(7-8): 678-86.

[17] Hernandez-Mendoza A, Garcia HS, Steele JL. Screening of *Lactobacillus casei* strains for their ability to bind aflatoxin B_1. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(6): 1064-8.

[18] Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B_1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol* 2007; 113(1): 41-6.

[19] SAS Institue. 2003. SAS Statistics and Graphics Guide, Release 9.1. SAS Institute, Cary, North Carolina 27513, USA.

[20] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74-108.

[21] William JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and intervention. *Am Soc Clin Nutr* 2004; 80(1): 1106-22.

[22] Gerbaldo GA, Barberis C, Pascual L, Dalcero A, Barberis L. Antifungal activity of two Lactobacillus strains with potential probiotic properties. *FEMS Microbiol Lett* 2012; 332(1): 27-33.

[23] Delavenne E, Ismail R, Pawtowski A, Mounier J, Barbier G, Le Blay G. Assessment of lactobacilli

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

strains as yogurt bioprotective cultures. *Food Control* 2012; 30(2013): 206-13.

[24] El-Mabrok ASW, Hassan Z, Mokhtar AM, Hussin KM. Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* LAB-C5 and LAB-G7 isolated from Malaysian fruits. *Acta Biol Malaysiana* 2013; 2(1): 22-30.

[25] Oliveira PM, Zannini E, Arendt EK. Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: from crop farming to cereal products. *Food Microbiol* 2014; 37(1): 78-95.

[26] Magnusson J, Schnürer J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. coryniformis strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(1): 1-5.

[27] Khanafari A, Soudi H, Miraboulfathi M. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B_1 production in corn. *Iranian J Environ Health Sci Eng* 2007; 4(3): 163-8.

[28] Kabak B, Var I. Factors affecting the removal of aflatoxin M_1 from food model by Lactobacillus and Bifidobacterium strains. *J Environ Sci Health* 2008; 43(7): 617-24.

[29] Bueno D, Casale C, Pizzolitto R, Salvano M, Oliver G. Physical adsorption of aflatoxin B_1 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: a theoretical model. *J Food Protect* 2007; 70(7): 2148-54.

[30] Guevara-Gonzalez RG. Aflatoxins, biochemistry and molecular biology, InTech, Croatia. 2011; pp 323-46.

[31] El-Khoury A, Atoui A, Yaghi J. Analysis of aflatoxin M_1 in milk and yogurt and AFM_1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control* 2011; 22(10): 1695-9.

[32] Peltonen K, El-Nezami, H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B_1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Dairy Sci* 2001; 84(10): 2152-6.

[33] Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanaa PE, Salminen S, Ahokas JT. Surface binding of aflatoxin B_1 by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(7): 3086-91.

[34] El-Nezami HS, Kankaanp P, Salminen SJ, Ahokas JT. Ability of dairy strains of acid lactic bacteria to bind food carcinogens. *Food Chem Toxicol* 1998; 36(4): 321-6.

[35] Lee Y, El-Nezami H, Haskard C, Gratz S, Puong K, Salminen S, et al. Kinetics of adsorption and desorption of Aflatoxin B_1 by viable and nonviable bacteria. *J Food Protect* 2003; 66(3): 426-30.

[36] kateh Shamshiri M, Mohammadi Sani A, Sarabi Jamab M, Rahnama Vosough P, Mehraban Sangatash M. Biodetoxification of aflatoxin M_1 using *Lactobacillus acidophilus* in simulated gastric model. *Iran Food Sci Tech Res J* 2014; 10(3): 204-10. [Farsi]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]

Effect of Isolated *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus brevis* on Growth of *Aspergillus flavus* and Reduction of Aflatoxin B_1

A.R. Sadeghi[1], M. Ebrahimi[2], B. Sadeghi[3]

Received: 08/09/2015 Sent for Revision: 04/11/2015 Received Revised Manuscript: 24/01/2016 Accepted: 13/02/2016

Background and Objectives: Aflatoxin B_1 is the most toxigenic aflatoxin and one of the most liver carcinogenic agent produced by some of the *Aspergillus* species. Successful control of this mold growth would be an important step in the prevention of cancer. This study was carried out for evaluating the effect of isolated *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus brevis* on growth of *Aspergillus flavus* and reduction of aflatoxin B1.

Materials and Methods: In this laboratory study conducted in 2014, after identification of lactic acid bacteria (LAB) isolated from a traditional sourdough using polymerase chain reaction, the effect of these isolates on growth of *Aspergillus flavus* and reduction of aflatoxin B_1 was studied by direct competitive ELISA. The effects of incubation time and heat treatment on residue of aflatoxin B_1 in present of mentioned isolated LAB were also determined. Results were analysed by using t-test and one way ANOVA followed by LSD test.

Results: After incubation period, the diameter of *Aspergills flavus* colonies in present of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* and control sample were 1.50, 3.46 and 9.00 cm, respectively. The amount of aflatoxin B_1 residue, after 0, 24 and 48 h incubation in present of *Lactobacillus acidophilus* were 50.60%, 48.93%, 41.24% and in present of *Lactobacillus brevis* were also 66.26%, 64.40% and 55.61%, respectively. Furthermore, non-viable cells of mentioned isolated LAB reduced the amount of aflatoxin B_1, more effective than their viable cells ($P<0.05$).

Conclusion: By considering the high potential of LAB studied in this project for growth control of *Aspergillus flavus* and reduction of aflatoxin B_1, it is possible to use their biopreservative ability for reduction of cancer risk.

Key words: *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis,* Competitive ELISA, Polymerase Chain Reaction, Aflatoxin B_1

Funding: This research was funded by Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources approved the study.

How to cite this article: Sadeghi AR, Ebrahimi M, Sadeghi B. Effect of Isolated *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus brevis* on Growth of *Aspergillus flavus* and Reduction of Aflatoxin B_1. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2016; 15(1): 3-16. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Food Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0171) 4426432, Fax: (0171) 4426432, Email: sadeghi.gan@gmail.com
2- PhD Student of Food Microbiology, Faculty of Food Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3- Assistant Prof., Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1395.15.1.7.2]