

Review

Review on aflatoxins biodegradation strategies based on fungi

Parvaneh Afshar¹, Ali Motamedzadegan^{2*}, Mohammad Ahmady³, Mazdak Alimi⁴, Seyyed Ahmad Shahidi⁵, Leila Golestan³, Azade Ghorbani Hasansaraei⁴

1. Ph.D. candidate, Department of Food Science and Industry, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amole, Iran.
 2. Associated Professor, Department of Food Science and Industry, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
 3. Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amole, Iran,
 4. Assistant Professor, Department of Food Science and Industry, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amole, Iran.
 5. Associated Professor, Department of Food Science and Industry, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amole, Iran.
- *. Corresponding Author: E-mail: amotgan@yahoo.com

(Received 4 June 2017; Accepted 19 August 2017)

Abstract

Aflatoxins are secondary metabolites of fungi, particularly *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, that known to be the most dangerous mycotoxin. Among the more than 20 types of aflatoxin identified, four types of AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, and two AFM1 and AFM2 (hydroxylated metabolites of AFB1 and AFB2 in animals and livestock products, respectively) have been identified as major contributors to pathogenicity. The carcinogenic role of these toxins recognized in liver target tissue.

Human exposure to mycotoxins occurs directly through the intake of contaminated agricultural products or indirectly through the consumption of products of animal origin prepared or obtained from animals that were fed with contaminated material. For detoxification and reduce threats to public health in the context of communities, and the economic damage caused by the aflatoxins in food products of animal and plants, different techniques (physical, chemical and biological) has been studied.

All of these methods, by modifying and destroying the toxin molecular structure, inhibit its transfer to the digestive system, and reduce the accessibility of toxins to the target tissue and eliminate it. The current review performed based on search in database Scopus, Elsevier, PubMed, Google scholar, Science Direct, Iranmedex, Magiran, SID and Irandoc of biological substance (bacteria, fungi, and algae) reviews the biological degradation of AFs by fungal microorganisms and converting it into non-toxic, or less toxic products, and providing appropriate solutions.

Keywords: Aflatoxin, Cancer, Detoxification, Biodegradation, Probiotic, Fungi.

Clin Exc 2018; 7(1): 36-48 (Persian).

مروری بر استراتژی‌های تخریب بیولوژیکی آفاتوکسین‌ها توسط قارچ‌ها

پروانه افشار^۱، علی معتمدزادگان^{۲*}، محمد احمدی^۳، مزدک علیمی^۴، سیداحمد شهیدی^۵، لیلا گلستان^۲، آزاده قربانی حسن سرائی^۴

چکیده

آفاتوکسین‌ها از متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها بالخصوص گونه‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس و به‌عنوان خطرناک‌ترین میکوتوکسین‌های شناخته‌شده در انسان و دام هستند. بیش از حدود ۲۰ نوع آفاتوکسین‌ها شناخته‌شده که شش نوع AFM1، AFG2، AFG1، AFB2، AFB1 و AFM2 اصلی‌ترین نقش بیماری‌زایی از جمله پتانسیل کانسروژنیک را به خود اختصاص داده‌اند. انسان علاوه بر مصرف مستقیم غذاهای با منشأ گیاهی آلوده به این توکسین، از طریق انتقال توکسین و متابولیت‌های حاصل از آن‌ها در محصولات حیوانی می‌تواند به‌صورت غیرمستقیم در معرض آلودگی قرار گیرد. برای سم‌زدایی و کاهش خطرات تهدیدکننده بهداشت عمومی و آسیب‌های اقتصادی منتج از آفاتوکسین‌ها در محصولات غذایی، تکنیک‌های متفاوت (فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی) مورد مطالعه قرار گرفته است. تمام این روش‌ها از طریق تغییر و تخریب ساختار مولکولی توکسین، سبب مهار انتقال و کاهش قابلیت دسترسی توکسین‌ها به بافت هدف و حذف آن می‌گردند. مطالعه مروری حاضر با جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی Elsevier، Scopus، Elsevier، Scopus، Google scholar، Pubmed، Scince Direct، Iranmedex، Magiran، SID، Irandoc به بررسی تخریب بیولوژیکی AFs توسط میکروارگانیسم‌های قارچی (رشته‌ای و مخمری) و تبدیل آن به محصولات غیرسمی یا با سمیت کمتر و ارائه راهکارهای مناسب پرداخته است. با توجه به اینکه برخی گونه‌های قارچی دارای قابلیت تخریب آفاتوکسین‌ها 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.

واژه‌های کلیدی: مایکوتوکسین، آفاتوکسین، سرطان، تخریب بیولوژیکی، پروبیوتیک، قارچ.

۱. دانشجوی دکترا گروه علوم و صنایع غذایی، میکروبیولوژی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل.
 ۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری.
 ۳. استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل.
 ۴. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل.
 ۵. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل.
- * نویسنده مسئول: ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم و صنایع غذایی

E-mail: amotgan@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۲۸

مقدمه

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 گسترده‌ای از مشکلات سلامتی و اختلال عملکردی ارگان‌های زیستی و بافت‌های اصلی بدن از جمله؛ بیماری‌های دستگاه تناسلی، اختلالات روان‌شناختی، سرکوب سیستم ایمنی، آسیب و ناهنجاری در ارگان‌ها (کلیه و کبد...) و القاء و پیشرفت برخی از انواع سرطان می‌گردند (۱-۲).

مایکوتوکسین‌ها یکی از ترکیبات شیمیایی طبیعی و به‌عنوان مهم‌ترین متابولیت ثانویه گونه‌های مختلفی از قارچ‌ها بالاًخص جنس آسپرژیلوس، پنسیلیوم و فوزاریوم است (۳). این متابولیک‌ها به‌عنوان نوعی سیستم دفاع شیمیایی قارچ‌ها جهت حفاظت آن‌ها در برابر اغلب حشرات، میکروارگانیسم‌ها، نماتدها، حیوانات و انسان‌ها، تکامل یافته است (۴-۵).

مایکوتوکسین‌ها مولکول‌هایی پیچیده و با وزن مولکولی پائین هستند که ساختمان آن‌ها از حلقوی منفرد با وزن مولکولی ۵۰ دالتون تا گروه‌های حاوی ۶-۸ حلقه (و بیش از ۵۰۰ دالتون) متفاوت است (۶). مایکوتوکسین دارای ریشه یونانی مایکس^۱ به معنی قارچ و کلمه لاتین توکسیکوم^۲ به معنی سم بوده و فقط مسمومیت حاصل از غذا و خوراک دام را در برمی‌گیرد (۷). رشد و تکثیر قارچ‌ها و متعاقب آن تولید مایکوتوکسین‌ها در محصولات زراعی در مراحل قبل و پس از برداشت و یا در طول ذخیره‌سازی در انبارهایی تحت شرایط دمایی و رطوبت نامناسب رخ می‌دهد (۸،۳). گرچه این مواد در روند متابولیسم و رشد طبیعی قارچ هیچ نقشی ندارد، لیکن به دلیل پایداری در انواع مواد غذایی (خام، فرآوری یا پخته‌شده) غالباً از طریق مصرف خوراکی به بدن انسان و دام منتقل گشته و به‌عنوان یک عامل خطر مهم زیست‌محیطی ضمن ایجاد آسیب‌های بسیار جدی برای

سلامت (بالاًخص سرطان)، می‌تواند زمینه‌ساز ایجاد نگرانی‌های جدی در بهداشت مواد غذایی گردد (۹-۱۳). علاوه بر این، مایکوتوکسین‌ها سالانه منجر به ایجاد ضرر و زیان‌های بزرگ اقتصادی، از جمله مرگ انسان‌ها و حیوانات، افت محصولات علوفه‌ای، و غذای دام خواهند شد (۱۴). این توکسین‌ها علاوه بر مصرف مستقیم غذاهای با منشأ گیاهی آلوده به این سموم (از جمله غلات، حبوبات، میوه‌ها، فندق، بادام، تخمه، علوفه، ...) می‌تواند از طریق انتقال توکسین یا متابولیت‌های حاصل از آن‌ها در محصولات حیوانی (مانند بافت‌های حیوانی، فراورده‌های لبنی و تخم‌مرغ...) به صورت غیرمستقیم وارد زنجیره غذایی انسان گردد (۱۵-۱۸). بر اساس ارزیابی و گزارش سازمان غذا و کشاورزی^۳ سالانه در ۲۵ درصد از کل تولیدات جهان، آلودگی با بیش از حد مجاز مایکوتوکسین‌ها مشاهده می‌شود.

علاوه بر مسیر گوارشی که مهم‌ترین راه مواجهه با مایکوتوکسین‌ها است، احتمال بروز آلودگی از طریق استنشاقی و تماس پوستی نیز وجود دارد (۱۸). این نکته شایان ذکر است که نه تنها تمام گونه‌های قارچی توکسین‌زا نیستند بلکه تمام متابولیت‌های ثانویه قارچی نیز سمی نمی‌باشد (۱۷-۱۴).

از آنجائی که احتمال تولید انواع متفاوتی از مایکوتوکسین‌ها از یک گونه خاص قارچی و یا امکان تولید یک نوع مایکوتوکسین از گونه‌های متفاوت قارچی وجود دارد، لذا می‌توان علت جداسازی انواع مختلفی از مایکوتوکسین‌ها را در یک سوسترای اولیه (منفرد یا ترکیبی) آلوده غذایی توجیه نمود (۱۹). اگر چند نوع مایکوتوکسین متفاوت به صورت هم‌زمان در مواد غذایی مصرفی وجود داشته باشند، می‌توانند سبب تشدید عوارض سوء یکدیگر شوند. عوارض سوء مایکوتوکسین‌ها حتی در غلظت‌های کمتر از حداکثر حد مجاز، در صورت تغذیه طولانی‌مدت از مواد غذایی آلوده،

¹ Mykes² Toxicum³ FAO: Food and Agriculture Organization

شناخته شده‌اند که به‌طور عمده توسط آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌گردند (۱۷). در بین بیش از ۲۰ نوع آفلاتوکسین تشخیص داده‌شده، نقش اصلی در بیماری‌زایی را چهار تیپ AFG2، AFG1، AFB2، AFB1 (شکل شماره ۱) و دو نوع AFM1 و AFM2 (به ترتیب متابولیت‌های هیدروکسیله AFB1 و AFB2 در حیوانات و فراورده‌های دامی) به خود اختصاص داده‌اند (۳۵). برای چرخه بیوستز آفلاتوکسین‌ها از acetyl-CoA حداقل ۲۱ مرحله آنزیمی و ۳۴ ژن کدگذاری کننده تنظیم‌کننده تشخیص داده‌شده است. اغلب این ژن‌ها (۲۷ ژن) به‌صورت خوشه‌ای عمل کرده و با ژن‌های گسترده‌ای که در مرفولوژی، کینیزاسیون و یا تشکیل اسکروتیا نقش دارند، مرتبط هستند (۳۶-۳۷). کبد اصلی‌ترین اندام هدف برای AFs است. مصرف طولانی‌مدت مواد غذایی آلوده به این توکسین می‌تواند سبب ایجاد اثرات سوء در بافت کبد از جمله: صدمه به بافت و سلول‌های کبدی، و ناهنجاری‌های کاملاً واضح و یا ریز و میکروسکوپی در آن شود. این توکسین به‌عنوان یک عامل مهم سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، هپاتوتوکسی، تراتوژنیک و موتاژنیک مطرح است (۳۸-۳۹). بررسی‌های اپیدمیولوژیک صورت پذیرفته در ساکنین نواحی متفاوتی از آسیا و آفریقا، نشانگر وجود رابطه مستقیم بین میزان در معرض قرارگیری با آفلاتوکسین (مصرف) و شیوع بالای سرطان کبد می‌باشد (۴۰). با توجه به نقش مایکوتوکسین‌ها در بروز بسیاری از بیماری‌ها باید به‌صورت پیگیری حضور این توکسین در مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گیرد.

بالأخص در کودکان و افراد با ضعف سیستم ایمنی و ریسک خطر بالا، قابل مشاهده است (۶، ۲۰). با توجه به مقاومت انواع بسیاری از مایکوتوکسین‌ها به طیف وسیعی از عوامل محیطی از جمله؛ دما و فشار بالا (حتی در شرایط پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون)، PH پایین و دیگر مراحل متفاوت آماده‌سازی ماده غذایی، پایداری خود را در محصول نهایی تولیدی حفظ کرده و یا تخریب آن به آهستگی صورت می‌پذیرد. حتی ساختار شیمیایی آن نسبت به شیره معده هم مقاومت نشان داده و در صورت مصرف مواد غذایی آلوده می‌تواند نقش و اثرات جانبی خود را ایفا کند (۸، ۲۱-۲۵).

در حال حاضر، بیش از ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین شناسایی شده که اغلب مطالعات و مباحث علمی روی انواع سرطان‌زا یا سمی آن متمرکز گشته است (۲۶). در این بین آفلاتوکسین‌ها (AFs)^۴، اوکراتوکسین‌ها (OTs)^۵، فومینوزین‌ها^۶ (FBs)، زرانون^۷ (ZEA) و داکی نیوالنول^۸ (DON) با توجه به فراوانی بالا در مواد غذایی و اثرات تراتوژنیک، موتاژنیک و سرطان‌زایی، ژنوتوکسیک و سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی، در حوزه بهداشت عمومی جامعه، زمینه‌ساز نگرانی‌های گسترده‌ای شده‌اند (۱۷، ۳۰-۳۲).

عوارض سوء مایکوتوکسین‌ها تحت تأثیر عوامل متفاوتی از جمله نوع توکسین، حجم دریافتی توکسین، مدت‌زمان دریافت توکسین، سن مصرف‌کننده کننده توکسین، وضعیت سیستم ایمنی، عوامل محیطی استرس و ... قرار دارد. مایکوتوکسین‌ها اثرات سمی خود را با الگوهای مختلفی که مرتبط با ساختار شیمیایی آن‌ها است، القاء می‌نمایند. به‌طوری‌که آفلاتوکسین ضمن اتصال به باز آلی گوانین رشته DNA و ایجاد DNA Adduct سبب القا ایجاد سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۹، ۳۴-۳۱). آفلاتوکسین‌ها به‌عنوان خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌ها

4. Aflatoxins

5. Ochratoxins

6. Fumonisin

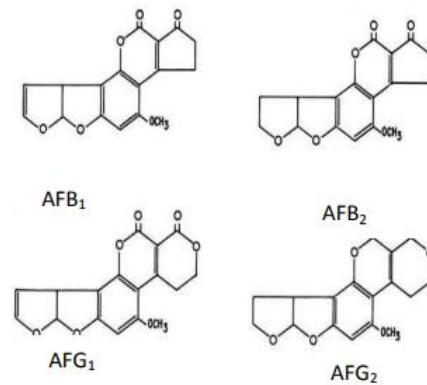
7. Zearalenone

8. Deoxynivalenol

طعم ماده غذایی، محدودیت در کارایی، اثربخشی و هزینه بالا همراه هستند (۸، ۲۱، ۴۱).

در سال‌های اخیر، استفاده از برخی عوامل جاذب دارای قدرت اتصال بالا به مایکوتوکسین‌های موجود در دستگاه گوارش حیوانات، منجر به کاهش قابلیت زیستی و سمیت آن‌ها شده است. این ترکیبات کاربردهای صنعتی بالقوه‌ای داشته و کارایی متفاوتی بین انواع مختلف عوامل جذب‌کننده موجود، جهت حذف مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین، وجود دارد (۱۴). عوامل جاذب بسیار مفیدی که برای مهار مسمومیت آفلاتوکسیکوزیز^{۱۱} وجود دارد، می‌تواند ضمن اختصاصی عمل کردن برای سایر مایکوتوکسین فاقد کارایی باشد (۸). لذا، یافتن یک فناوری مؤثر، با حساسیت و ویژگی بالا که علاوه برداشتن کاربرد و قابلیت اجرا، سازگار با محیط‌زیست نیز باشد ضروری است.

از این رو استفاده از عوامل بیولوژیکی که از جمله استراتژی‌های جدید جایگزین سم‌زدایی مایکوتوکسین‌ها است، پیشنهاد شده است. در این تکنیک میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌های استخراج‌شده از آن‌ها طی ایجاد تغییر در ساختار شیمیایی مایکوتوکسین‌ها سبب تبدیل آن‌ها به ترکیباتی با سمیت کمتر یا غیر سمی می‌شوند (۹). اثر آنتاگونیستی میکروارگانیسم‌های (باکتریایی، قارچی یا جلبک‌ها) روی قارچ‌های توکسین‌زا، بر پایه رقابت در فضای فیزیکی رشد، جذب مواد مغذی مورد نیاز برای رشد، تولید متابولیت‌های ضد قارچی، نقش پارازیتسم و انگلی با ایجاد بیوفیلم روی قارچ‌های پاتوژن، القاء یا تحریک مقاومت گیاه میزبان با ایجاد یک پاسخ دفاعی از طریق ترشح رادیکال‌های آزاد اکسیژن^{۱۲} ایفا می‌گردد. این میکروارگانیسم‌ها مواد مغذی مورد نیاز خود را از طریق لیز سلول‌های زنده یا مرده سایر میکروارگانیسم‌های موجود در محیط تأمین می‌نمایند (۹، ۲۱، ۲۲، ۳۳، ۴۴-۴۳). با توجه به درخواست و اعتراض بالای مصرف‌کنندگان در عدم مصرف تیمارهای شیمیایی، مطالعات گسترده‌ای



شکل شماره ۱: ساختار شیمیایی AFB₁، AFB₂، AFG₁ و AFG₂ (۴۱)

جهت کاهش یا حذف اثرات سوء مایکوتوکسین‌ها می‌توان از استراتژی‌های متفاوت پیشگیری از رشد قارچ‌های مایکوتوکسیک، سم‌زدایی مواد غذایی آلوده به توکسین‌ها و یا تخریب ساختاری و مهار جذب مایکوتوکسین‌ها بهره جست (۲۹). علی‌رغم اینکه در مطالعات متفاوت برای حذف و یا غیرفعال نمودن مایکوتوکسین‌های موجود در محصولات غذایی آلوده، به استراتژی‌های سنتی متعدد فیزیکی [حرارت (پختن، سرخ کردن، برشته کردن و خشک کردن، پاستوریزاسیون)، پرتو (خورشید، یونیزانگاما، ایکس و فرابنفش، ماکروویو)]، جذب سطحی و باند کردن (کربن فعال، خاک رس و یا هیدروژن، سدیم، کلسیم، آلومینیوم)] و شیمیایی [مواد اکسیدکننده (ازن، پر اکسید هیدروژن و کلر)]، مواد احیاکننده (سدیم بی‌سولفیت^۹، سدیم دی‌سولفید^{۱۰} و سولفیت پتاسیم)، اسید قوی (اسید هیدروکلریک)، قلیا (هیدروکسید پتاسیم، هیدروکسید کلسیم و کربنات سدیم همراه با حرارت دادن) و استفاده از آمونیاک (آمونیاک مایع یا گازی)] جهت مهار کلونیزاسیون زودهنگام عوامل بیماری‌زای گیاهی و ایجاد یک سطح حفاظتی مؤثر در مرحله قبل و یا پس از برداشت در شرایط ذخیره‌سازی و انبارداری اشاره شده است، لیکن اغلب آن روش‌ها، با محدودیت‌هایی در زمینه ایمنی زیستی، افت ارزش کیفی محصولات ارگانیک و

¹¹. Aflatoxicosis

¹². ROS

⁹. NaHSO₃

¹⁰. Na₂S₂O₅

روی روش‌های بیولوژیکی آلودگی‌زدایی که دارای حداکثر کارایی، حداقل هزینه تمام‌شده و سازگار با محیط‌زیست باشند، صورت می‌پذیرد (۴۵). اغلب مطالعات در این خصوص توسط باکتری‌های پروبیوتیک، مخمرها و پس‌از آن قارچ‌های رشته‌ای انجام شده است (۲۱).

از پرکاربردترین این جاذب‌های بیولوژیکی می‌توان به مخمرها و باکتری‌های پروبیوتیک اشاره نمود که با کاهش قابلیت دسترسی توکسین‌ها و مهار انتقال توکسین در سیستم گوارشی (انسان و حیوان) سبب حذف آن می‌گردند. این فرایند تحت تأثیر عوامل مختلف تیمار مانند؛ فشار مورد استفاده، غلظت آفلاتوکسین، PH، قدرت یونی، درجه تخمیر، محتوای پروتئینی، دمای و زمان انکوباسیون است (۱۰، ۴۶). اغلب گونه‌های باکتری‌های پروبیوتیک به PH کمتر از ۴/۲ حساسیت داشته و در این شرایط غیرفعال می‌شوند (۴۷).

مطالعه حاضر به روش میدانی با محوریت دتوکسیفیکاسیون بیولوژیکی آفلاتوکسین‌ها توسط قارچ‌های رشته‌ای و مخمری، طی بررسی منابع و اسناد معتبر موجود مرجع و مقالات علمی-پژوهشی منتشر شده در مجلات بین‌المللی داخل و خارج کشور و موجود در پایگاه داده‌ای Google، PubMed، Elsevier، Scopus، Magiran، Iranmedex، Scince Direct، scholar، SID، Irandoc و با در نظر گرفتن کلیدواژه‌های Probiotic، Detoxification، Cancer، Aflatoxin، Biodegradation، Fungi صورت پذیرفته است.

تخریب بیولوژیکی آفلاتوکسین‌ها

تخریب بیولوژیکی آفلاتوکسین‌ها توسط قارچ‌های رشته‌ای

متابولیت‌های برخی از گونه‌های قارچی می‌توانند با کاهش pH و ایجاد شرایط اسیدی سبب تخریب و کاهش سطح آفلاتوکسین‌ها در محیط کشت شوند (۹، ۴۹-۴۸). شناسایی این میکروارگانیسم‌ها از طریق داشتن ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های تخریب‌کننده آفلاتوکسین‌ها از جمله لاکاز، اکسیداز و پراکسیداز انجام می‌شود (۵۰).

مطالعات گسترده دهه‌های اخیر، نقش گونه‌های قارچی آسپرژیلوس از جمله؛ آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آسپرژیلوس وایت، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نایجر را در تخریب آفلاتوکسین‌ها ثابت کرده است (۹، ۵۱). در مطالعه Marth و Doyle تعیین نمود با افزودن یک مخلوط میسیلیومی سویه NRRL 2999 از قارچ A.parasiticus به مخلوط حاوی توکسین‌های AFB1 و AFG1 می‌توان ضمن افزایش میزان تخریب این توکسین‌ها، سطح نهایی آن‌ها را در نمونه کاهش داد، به طوری که میزان این تخریب نسبتی مستقیم با اندازه و حجم میسیلیوم‌های تلقیحی دارد (۵۱). در مطالعه‌ای پروتئین خام استخراج شده از میسیلیوم‌های آسپرژیلوس پارازیتیکوس (که توسط اسپری نمودن محلول آمونیوم سولفات بر روی محیط کشت ۱۶ روزه تهیه شده بود) توانایی خنثی‌سازی ۱۰۰-۸۰ درصدی توکسین AFB1 را تأیید کرد. به طوری که ارزیابی پس از تیمار این توکسین، علاوه بر فاقد فلورسنت بودن، هیچ نقش موتاژنیک و توکسیکی برای جوجه اردک‌ها هم نداشت. علت این تغییر عملکرد ساختار شیمیایی AFB1 توسط آنالیز طیف‌سنجی مادون‌قرمز، احیای گروه کربونیل موجود در حلقه سیکلوپنتون^{۱۳} و آسیب ایجاد شده در آن تعیین گشت (۵۲). نقش مهارکنندگی AFB1 توسط سایر گونه‌های قارچ آسپرژیلوس از جمله Asp.niger و تبدیل آن به یکی از انواع متابولیت‌های هیدروکسیله (AFM1, AFL, AFP1, AFQ1) در کبد که تحت عنوان آفلاتوکسیکول^{۱۴} (AFL) شناخته می‌شود و میزان توکسیسیته آن به نسبت حدود ۱:۱۸ کاهش یافته، هم تأیید گشته است (۴۲) (شکل شماره ۲).

با توجه به اینکه کومارین نقش اساسی در ساختار مولکولی AFB1 دارد، لذا در مطالعه‌ای با استفاده از محیط کومارین موفق به جداسازی سویه‌ای از قارچ Asp.niger گشتند که از کومارین به‌عنوان تنها منبع کربنی استفاده می‌کرد. با بررسی فیلوژنیکی مولکولی بر

¹³. Pentenone

¹⁴. Aflatoxicol

AFB1 2038 raistrickii NRRL از طریق تبدیل نمودن AFB1 به ترکیبی مشابه AFB2 است. طی حذف عامل کتونی حلقه سیکلوپنتان AFB1 توسط قارچ‌های رایزوپوس *R. stolonifer*، *R. arrhizus* و *R. oryzae* این توکسین به دو متابولیت فلورسنت دار که ایزومرهایی از استرئو هیدروکسیلات هستند تبدیل می‌شود (۲۹). علاوه بر اینکه سویه‌های رایزوپوس فوق‌الذکر از طریق تبدیل AFG1 به AFB3 هم ایفای نقش می‌کنند (۹، ۵۶).

سویه‌های *Mucor*، *Mucor ambiguous* (I.M.M. 115)، *Mucor alternans*، *griseocyanus* (NRRL 3359)، *Absidia repens* (NRRL 3358)، *Helminthosporium sativum* (NRRL 1336)، *Dactylium dendroides* (NRRL 2575)، *Trichoderma viride* (ATCC 13233) از طریق کاستن گروه کربنیلی موجود در حلقه سیکلوپنتان AFB1، قادر هستند ترکیب فلوروسنت آبی‌رنگ جدیدی بنام AFR0 (که عمدتاً AFL است) ایجاد نمایند (۵۷). قارچ رشته‌ای *Rhizopus oligosporus* (F0216) علاوه بر تخریب، قادر به مهار سنتز توکسین AFB1 هم هست (۵۵). برخی از قارچ‌های عامل پوسیدگی سفید از جمله *Peniophora* و قارچ‌های صدفی^{۱۷} پتانسیل لازم جهت تخریب آفلاتوکسین B1 را از طریق سطح بالای فعالیت آنزیم لاکاز خود تأمین کرده که سبب باز شدن حلقه لاکتونی می‌شوند (۵۸). مطالعه Liu و همکارانش تعیین نمود، آنزیم ADTZ^{۱۸} قارچ آرمیلاریلا تابسنس با باز نمودن حلقه دی‌فورانی آفلاتوکسین، عامل تخریب‌کننده و کاهش‌دهنده این توکسین است (۵۹). برای مدیریت آفلاتوکسین تولیدی در مزارع غلات با استفاده از کیندی‌های *Trichoderma* موفق به کاهش قابل توجه ۹۰-۲۰ درصد آلودگی‌های AFB1 از طریق رقابت در فضای رشد و مواد غذایی بین قارچ‌ها گردید (۶۰).

اساس هیبریداسیون ناحیه اختصاصی ژن rDNA^{۱۵} این سویه، به‌عنوان ND-1 نامگذاری شد که توانست طی یک دوره کشت ۴۸ ساعته در محیط مغذی نوترینت برات (NB) حاوی AFB1، توان حذف ۲۶/۳ درصد توکسین را نشان دهد. میزان تخریب حاصله از مایع سوپرناتانت محیط کشت نسبت به عصاره سلولی بطور معنی‌داری بالاتر بود که این نشانگر این نکته است که واکنش تخریبی فوق‌عمدتاً یک نوع فرایند متابولیک آنزیمی خارج سلولی است. با بهینه‌سازی شرایط تخمیر (تحت تأثیر تغییر شرایط تیمار PH، یون‌های فلزی، دما و زمان انکوباسیون) پس از ۲۴ ساعت میزان این تخریب به حدود ۵۸/۲ درصد رسید (۵۳). مطالعه Mishra & Das نیز به بررسی قابلیت تخریب AFs توسط سایر گونه‌های آسپرژیلوس پرداخته است (۵۴).

نتایج حاصل از بررسی توان مهار سنتز یا تخریب AFB1 توسط قارچ‌های ساکارومایسس سرویسیه^{۱۵} و رایزوپوس اولیگوسپوروس^{۱۶} در محیط کشت (حاوی قارچ آسپرژیلوس فلاووس بعنوان منبع تولید AFB1) در سه حالت (هرکدام از قارچ‌ها به تنهایی و به‌صورت میکس با هم) تحت شرایط دمایی ۲۸ درجه سانتی‌گراد، طی روزهای ۱۵، ۱۰، ۵، ۰ پس از تیمار تعیین نمود که بیشترین میزان کاهش سطح توکسین در روز پنجم و در هر سه حالت فوق قابل مشاهده است. با توجه به اینکه تفاوت محسوس و معنی‌داری در نتایج حاصل نشد، لذا به منظور توجیه اقتصادی، پیشنهاد استفاده از هرکدام از سویه‌ها به‌صورت جداگانه ارائه گشت. با توجه به اینکه ترکیبات آنتی‌فانگال مترشحه از قارچ ساکارومایسس توان ایجاد رشته‌های میسلیال غیرطبیعی و یا کاهش تعداد اسپورها در قارچ‌های تولیدکننده آفلاتوکسین را دارد لذا بعنوان یکی از مهم‌ترین علل کاهش سطح این توکسین شناخته شده است (۵۵).

مکانیسم عمل حذف یا غیرفعال نمودن هر قارچ روی AFB1 متفاوت است، به‌طوری‌که در *Penicillium*

¹⁷. *Pleurotus ostreatus*

¹⁸. Aflatoxin-detoxizyme

¹⁵. *Saccharomyces cerevisiae*

¹⁶. *Rhizopus oligosporus*

تخریب بیولوژیکی آفاتوکسین‌ها توسط قارچ‌های مخمری

برخی از گونه‌های مخمری ساپروفیتی مانند *Candida krusei* و *Pichia anomala* مشابه عوامل باکتریایی (پروبیوتیک‌ها)، ضمن ایفای نقش مهارکنندگی رشد قارچ‌های آسپرژیلوس بخصوص گونه‌های توکسین‌زا^{۱۹} به‌عنوان عوامل کنترل محیط‌زیست نیز شناخته می‌شوند (۶۱). معمولاً قدرت اتصال سویه‌های مخمری با آفاتوکسین‌ها علاوه بر اینکه نسبت به سویه‌های باکتریایی کمتر است، دارای یک‌روند سریع و برگشت‌پذیر نیز می‌باشد. معیار ایجاد این پیوند و اتصال ضعف فقط مختص برخی گونه‌های مخمری است و در میان گونه‌های مختلف کاملاً متفاوت می‌باشد. به‌طوری‌که اتصال *AFB1* با *S.cerevisiae* در محیط مایع، فرایندی سریع همراه با تشکیل یک کمپلکس برگشت‌پذیر بین توکسین و سطح دیواره سلولی مخمر را ایجاد می‌کند (۴۵). طی انکوباسیون هفت‌روزه بادام‌زمینی آلوده به *AFB1* با *S.cerevisiae* بین ۷۴-۵۵ درصد از کل محتوی قابل‌اندازه‌گیری این توکسین حذف گشت (۶۲). میزان باند شدن و غیرفعال شدن *AFs* به دیواره سلولی تیمارهای حاوی سلول‌های مخمری غیرفعال شده^{۲۰} (تحت شرایط اسیدی و حرارت) نسبت به سلول‌های مخمری فعال^{۲۱} بیشتر است. به‌طوری‌که در مطالعه‌ای افزایش قدرت اتصال فرم غیر فعال این مخمر با *AFB1*، در تمام شرایط متفاوت تیمار دمایی (۵۲، ۵۵ و ۶۰ درجه سانتیگراد) و در زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه مشاهده شد. حتی استفاده از سلول‌های غیر فعال شده *S.cerevisiae* در شرایط تیمار دمایی ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه و یا تیمار در محیط اسیدی به مدت ۶۰ دقیقه هم سبب تسریع سرعت میزان اتصال آن با توکسین *AFB1* در حد اشباع شد (۶۴-۶۳). این مطلب نقش احتمالی آنزیم‌های مقاوم به حرارت و اسید مخمر ساکارومایسس را در تخریب آفاتوکسین نشان می‌دهد.

متابولیت *AFM1* موجود در محصولات لبنی نیز از طریق جذب شدن توسط مخمر *S.cerevisiae* کاهش می‌یابد (۶۱). سویه‌های پروبیوتیکی *S.cerevisiae* علاوه بر داشتن قدرت جذب بالا با توکسین سرطان‌زای *AFB1* به دلیل داشتن مقاومت و توان رشد در محیط اسیدی دستگانه گوارش می‌توانند با انجام تخمیر مواد غذایی سبب بهبود شرایط گوارشی شوند. در مطالعه‌ای جهت بررسی توان ایجاد سد حفاظتی بیولوژیکی در خوراک آلوده به *AFB1* موش‌ها، به کمک تیمار با مخمرهای فعال *S.cerevisiae* علاوه بر اینکه سطح این توکسین کاهش چشمگیری داشت، هیچ عارضه ژنوتوکسیک و سایتوتوکسیکی هم در موش‌ها مشاهده نشد (۶۵). برخی مطالعات نشانگر نقش ساختار و ترکیبات دیواره سلولی مخمرها در اتصال با *AFs* هستند، گرچه تاکنون مکانیزم مشخصی برای این اتصال فیزیکی مشخص نشده است. در مخمرها ترکیبات پلیمری استریفاید گلوکان^{۲۲} و مانوالیگوساکارید^{۲۳} دیواره سلولی (که در ساختار آن‌ها بتا ۱و۳ گلوکان و بتا ۱و۶ گلوکان وجود دارد که با پروتئین‌های دیواره سلولی خود، مولکول‌های گلیکوپروتئینی را ایجاد می‌کنند) مسئول ایجاد کمپلکس با *AFs* می‌باشند، در حالی که در لاکتوباسیلوس‌ها، پپتیدوگلیکان و پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی این وظیفه را به‌عهده دارند (۶۷-۶۶). گزارشات مشابه دیگری از نقش توکسین‌زدایی *AFs* و ایجاد فرم‌هایی با توکسیسیته کمتر، متعاقب اتصال به قارچ‌های رشته‌ای و مخمری (*Pleurotus ostreatus*، *Trametes versicolor*، *Trichosporon mycotoxinivorans*، *S.cerevisiae*، *Armillariella tabescens*، *Trichoderma*، ...) ارائه شده است (۶۶، ۶۹-۶۸).

بحث و نتیجه‌گیری

در سراسر جهان آلودگی به *AFs* به‌عنوان مهمترین عامل شیوع بیماری‌های مرتبط با مایکوتوکسین‌ها که خود

19. *Asp.flavus*

20. Nonviable

21. Viable

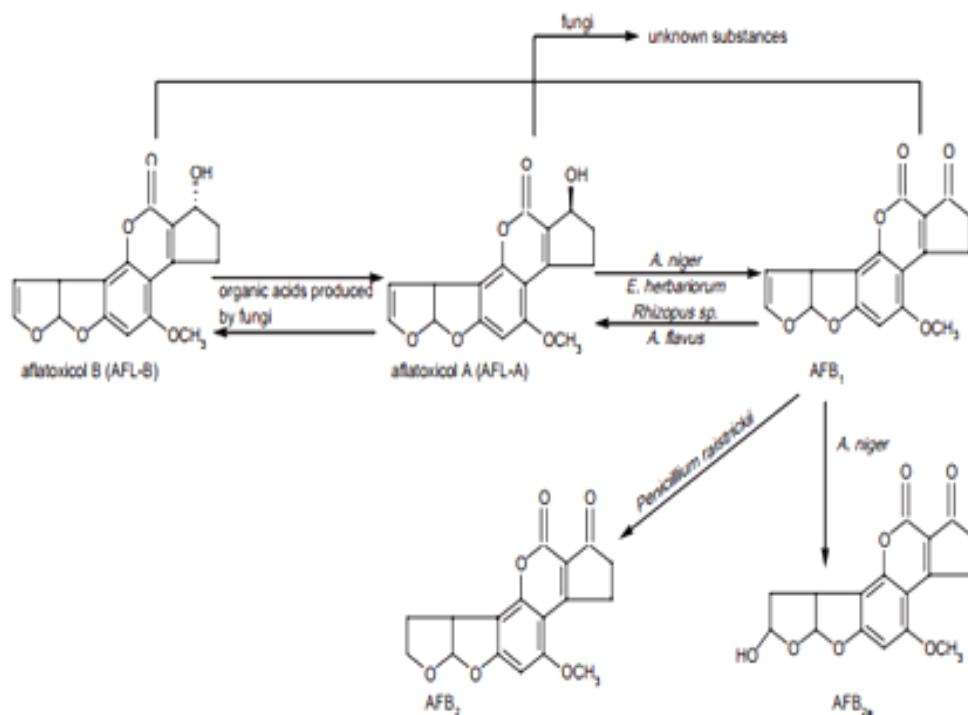
22. EGM

23. MOS

منتج از فقر دانش و مصرف مواد غذایی و خوراک آلوده است شناخته شده است. بر اساس ارزیابی سازمان غذا و کشاورزی، ۲۵ درصد از تولید محصولات کشاورزی جهان، آلوده به میکوتوکسین‌ها هستند که سالانه سبب کاهش حجم قابل ملاحظه حدود ۱ میلیارد مترمکعبی مواد غذایی و خوراکی می شود. نقش منفی اقتصادی میکوتوکسین‌ها در همه صنایع غذایی و خوراکی که سبب از دست دادن سرمایه اقتصادی می شود ناشی از کاهش عملکرد و ارزش تولید محصول، کاهش بهره‌وری حیوانات، ایجاد افزایش سطح سلامت در انسان و حیوانات و هزینه‌های اضافی مرتبط با پیشگیری، کنترل و سم‌زدایی میکوتوکسین‌ها است.

ارزیابی سطوح بیش از حد مجاز AFS موجود در مواد غذایی در تمام کشورهای صنعتی و غیرصنعتی از اهمیت بسزایی برخوردار است. با توجه به حجم بالای آلودگی مواد غذایی به AFS، گرچه می‌توان برای کاهش، کنترل و مدیریت آن، از تکنیک‌های فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و مهندسی ژنتیک متفاوتی استفاده نمود ولی هنگام بکار بردن هر کدام از این روش‌ها باید مواردی مانند میزان توکسین کاهش یافته، میزان ماده و ترکیب مورد استفاده، مدت زمان لازم جهت کاهش توکسین، هزینه مورد نیاز، میزان کاهش ترکیبات ریزمغذی و آلودگی‌های ایجاد شده احتمالی مانند دیوکسین‌ها را مدنظر قرار داد. داشتن نقطه ذوب بالای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد AFS و تخریب مواد غذایی در این دما و یا نیاز به دوز بالایی از مواد شیمیایی و وجود باقیمانده این مواد در ماده غذایی، استفاده از استراتژی‌های کنترل فیزیکی و شیمیایی محصولات پس از مرحله برداشت (مانند آلکالیزاسیون، آمونیزاسیون و تابش گرما یا اشعه گاما) به

دلیل هزینه بالا و کاهش کیفیت و غیرایمن بودن محصولات از نظر کشاورزان و مصرف‌کنندگان جایگاه مقبولی ندارد. علاوه بر این، استفاده از نو ترکیب ژنتیکی در *Asp. flavus* و سایر گونه‌های قارچی برای کاهش پتانسیل تولید میکوتوکسین‌ها و تولید محصولات هیبرید مقاوم در برابر ابتلا به عفونت قارچی و حشرات در مرحله قبل از برداشت و اطمینان از ایمنی و کیفیت غذا حاصله هنوز بعنوان یکی از مسائل مهم نگران‌کننده سلامت انسان جای بحث دارد. حضور برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در خاک، بدن و سیستم گوارش دام و بویژه انسان دارای توانایی تخریب و کاهش آلودگی AFS انواع مختلف محصولات کشاورزی، سبب تمرکز بر استفاده از آن‌ها در تکنیک‌هایی برای مهار رشد قارچ‌های توکسین‌زا یا تخریب توکسین‌های ایجاد شده، به طریق بیولوژیکی گشته که می‌تواند به عنوان یک رویکرد امیدوارکننده و موثر، نویدبخش پیشرفت‌های عمده‌ای در سیاست‌های کلان صنعت کشاورزی و پی‌آمد آن در پیشگیری از بروز برخی بیماری‌ها و ارتقا سلامت انسان باشد. کاربرد روش‌های بیولوژیکی آلودگی‌زدایی آفلاتوکسین‌ها، بخصوص لاشه فاقد حیات و یا آنزیم‌های حاصل از سلول‌ها به دلیل عدم استفاده از مواد شیمیایی و آلودگی‌های زیست محیطی، هزینه و خطر کمتر، بدلیل کاهش کمترین میزان ترکیبات ریزمغذی مواد غذایی و مهار اثر نامطلوب عطر و طعم ناشی از تخمیر ایجاد شده از فعالیت فرم زنده همان میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی ارجحیت بالایی دارد و می‌تواند با حمایت و فرهنگ‌سازی مناسب جایگزین مناسبی برای سایر روش‌ها شود.

شکل شماره ۲: مسیرهای متابولیکی AFB₁ توسط قارچ‌ها

References

- 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.
- 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.
- Hojnik N, Cvelbar U, Tavčar-Kalcher G, Walsh JL, Krizaj I. Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus "Classic" Decontamination. *Toxins*. 2017;9(5):151.
- Ertas N, Gonulalan Z, Yildirim Y, Karadal F. A survey of concentration of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Turkey. *Food Control*. 2011;22(12):1956-1969.
- Rohlf M, Churchill ACL. Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods. *Fungal Genetics and Biology*. 2011 2011/01/01;48(1):23-34.
- da Rocha MEB, Freire FdCO, Maia FEF, Guedes MIF, Rondina D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*. 2014;36(1):159-165.
- Aiko V, Mehta A. Occurrence, detection and detoxification of mycotoxins. *Journal of biosciences*. 2015;40(5):943-954.
- Stoev SD. Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2013;53(9):887-901.
- Ji C, Fan Y, Zhao L. Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal Nutrition*. 2016;2(3):127-133.
- Sarlak Z, Rouhi M, Mohammadi R, Khaksar R, Mortazavian AM, Sohrabvandi S, et al. Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M 1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). *Food Control*. 2017;71:152-159.
- Anfossi L, Giovannoli C, Baggiani C. Mycotoxin detection. *Current opinion in biotechnology*. 2016;37:120-126.

12. Wu L, Liao P, He L, Feng Z, Ren W, Yin J, et al. Dietary L-arginine supplementation protects weanling pigs from deoxynivalenol-induced toxicity. *Toxins*. 2015;7(4):1341-1354.
13. Alberts J, Lilly M, Rheeder J, Burger H, Shephard G, Gelderblom W. Technological and community-based methods to reduce mycotoxin exposure. *Food Control*. 2017;73:101-109.
14. Zain ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2011;15(2):129-144.
15. Capriotti AL, Caruso G, Cavaliere C, Foglia P, Samperi R, Laganà A. Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry. *Mass spectrometry reviews*. 2012;31(4):466-503.
16. Wu L, Liao P, He L, Feng Z, Ren W, Yin J, et al. Dietary l-Arginine Supplementation Protects Weanling Pigs from Deoxynivalenol-Induced Toxicity. *Toxins*. 2015;7(4):1341.
17. Afshar P, Shokrzadeh M, Kalhori S, Babae Z, Saravi SS. Occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin M1 in human breast milk in Sari, Iran. *Food Control*. 2013;31(2):525-529.
18. Steyn P. Ochratoxin and other dihydroisocoumarins. *Microbial toxins*. 2016;6:179-205.
19. Smith KM, Svendsen S. The effect of a rotary heat exchanger in room-based ventilation on indoor humidity in existing apartments in temperate climates. *Energy and Buildings*. 2016;116:349-361.
20. Streit E, Naehrer K, Rodrigues I, Schatzmayr G. Mycotoxin occurrence in feed and feed raw materials worldwide: long-term analysis with special focus on Europe and Asia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;93(12):2892-2899.
21. Pfliegler WP, Pusztahelyi T, Pócsi I. Mycotoxins—prevention and decontamination by yeasts. *Journal of basic microbiology*. 2015;55(7):805-818.
22. Milani J, Maleki G. Effects of processing on mycotoxin stability in cereals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014;94(12):2372-2375.
23. Kaushik G. Effect of processing on mycotoxin content in grains. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2015;55(12):1672-1683.
24. Gratz SW, Dinesh R, Yoshinari T, Holtrop G, Richardson AJ, Duncan G, et al. Masked trichothecene and zearalenone mycotoxins withstand digestion and absorption in the upper GI tract but are efficiently hydrolyzed by human gut microbiota in vitro. *Molecular nutrition & food research*. 2017;61(4).
25. Minervini F, Debellis L, Garbetta A, De Girolamo A, Schena R, Portincasa P, et al. Influence on functional parameters of intestinal tract induced by short-term exposure to fumonisins contaminated corn chyme samples. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;66:166-172.
26. Miró-Abella E, Herrero P, Canela N, Arola L, Borrull F, Ras R, et al. Determination of mycotoxins in plant-based beverages using QuEChERS and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2017;229:366-372.
27. Oueslati S, Romero-González R, Lasram S, Frenich AG, Vidal JLM. Multi-mycotoxin determination in cereals and derived products marketed in Tunisia using ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Food and chemical toxicology*. 2012;50(7):2376-2381.
28. Do KH, An TJ, Oh S-K, Moon Y. Nation-based occurrence and endogenous biological reduction of mycotoxins in medicinal herbs and spices. *Toxins*. 2015;7(10):4111-4130.
29. Hathout AS, Aly SE. Biological detoxification of mycotoxins: a review. *Annals of microbiology*. 2014;64(3):905-919.
30. Mansoreh Taghizadeh; Parvaneh Afshar; Golnous Madani; Fatemeh Mohammad Hasani MK, et al. Infants breastfed: a require or a potential risk. *Progress in Nutrition*. 2017;19(4):(in press).
31. Cheat S, Oswald IP, Kolf-Clauw M. 12 Mycotoxin Outbreak. *Foodborne Diseases: Case Studies of Outbreaks in the Agri-Food Industries*. 2016:257.
32. Mossanda KS. Hepatocellular carcinoma: Putative interactive mechanism between aflatoxins and hepatitis viral infections implicating oxidative stress during the onset and progression of cancer. *Hypothesis*. 2015;1:18.

33. Zhang N-Y, Qi M, Zhao L, Zhu M-K, Guo J, Liu J, et al. Curcumin Prevents Aflatoxin B1 Hepatotoxicity by Inhibition of Cytochrome P450 Isozymes in Chick Liver. *Toxins*. 2016;8(11):327.
34. Irani Z, Sanjarian F, Azimi M. Conversion Of Deoxynivalenol To 3-Acetyl Deoxynivalenol In Wheat And Tobacco Through The Expression Of Synthetic Acetyltransferase Gene. 2015.
35. Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG. Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in microbiology*. 2017;7:2170.
36. Yabe K, Nakajima H. Enzyme reactions and genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied microbiology and biotechnology*. 2004 Jun;64(6):745-755.
37. Xing F, Wang L, Liu X, Selvaraj JN, Wang Y, Zhao Y, et al. Aflatoxin B 1 inhibition in *Aspergillus flavus* by *Aspergillus niger* through down-regulating expression of major biosynthetic genes and AFB 1 degradation by atoxigenic *A. flavus*. *International Journal of Food Microbiology*. 2017.
38. Gholami-Ahangaran M, Rangsaz N, Azizi S. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) effect on biochemical and pathological parameters of liver and kidney in chicken aflatoxicosis. *Pharmaceutical biology*. 2016;54(5):780-787.
39. Kazemi Darsanaki R, Azizollahi Aliabadi M. Aflatoxin M1 Contamination in Milk and Milk Products in Iran: A Review. *Journal of Chemical Health Risks*. 2017;3(3).
40. Pitt JI. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British medical bulletin*. 2000;56(1):184-192.
41. Jalili M. A review on aflatoxins reduction in food. *Iranian Journal of Health, Safety and Environment*. 2016;3(1):445-459.
42. Zhang W, Xue B, Li M, Mu Y, Chen Z, Li J, et al. Screening a strain of *Aspergillus niger* and optimization of fermentation conditions for degradation of aflatoxin B(1). *Toxins (Basel)*. 2014 Nov 13;6(11):3157-3172.
43. Taylor Wj, Draughon Fa. *Nannocystis Exedens*: A Potential Biocompetitive Agent against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Protection*. 2001;64(7):1030-1034.
44. Liu J, Sui Y, Wisniewski M, Droby S, Liu Y. Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International journal of food microbiology*. 2013;167(2):153-160.
45. Oliveira CAF, Bovo F, Corassin CH, Jager AV, Reddy KR. Recent trends in microbiological decontamination of aflatoxins in foodstuffs. *Aflatoxins-recent advances and future prospects: InTech*; 2013.
46. 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.
47. Ferdousi R, Rouhi M, Mohammadi R, Mortazavian AM, Khosravi-Darani K, Rad AH. Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2013;12(Suppl):139.
48. Wu Q, Jezkova A, Yuan Z, Pavlikova L, Dohnal V, Kuca K. Biological degradation of aflatoxins. *Drug metabolism reviews*. 2009;41(1):1-7.
49. Adebo O, Njobeh P, Gbashi S, Nwinyi O, Mavumengwana V. Review on Microbial Degradation of Aflatoxins 2017. 3208-3217.
50. Adebo O, Njobeh P, Gbashi S, Nwinyi O, Mavumengwana V. Review on microbial degradation of aflatoxins. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2017;57(15):3208-32017.
51. Doyle M, Marth E. Aflatoxin is degraded by heated and unheated mycelia, filtrates of homogenized mycelia and filtrates of broth cultures of *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*. 1978;64(1):59-62.
52. Huynh V, Gerdes R, Lloyd A. Synthesis and Degradation of Aflatoxins by *Aspergillus parasiticus*. II. Comparative Toxicity and Mutagenicity of Aflatoxin B1 and its Autolytic Breakdown Products. *Australian journal of biological sciences*. 1984;37(3):123-130.
53. Zhang W, Xue B, Li M, Mu Y, Chen Z, Li J, et al. Screening a strain of *Aspergillus niger* and optimization of fermentation conditions for degradation of aflatoxin B1. *Toxins*. 2014;6(11):3157-3172.
54. Mishra HN, Das C. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2003;43(3):245-264.

55. Kusumaningtyas E, Widiastuti R, Maryam R. Reduction of aflatoxin B1 in chicken feed by using *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus* and their combination. *Mycopathologia*. 2006 October 01;162(4):307-311.
56. Cole RJ, Kirksey JW, Blankenship BR. Conversion of aflatoxin B 1 to isomeric hydroxy compounds by *Rhizopus* spp. *J Agric Food Chem*. 1972 Nov-Dec;20(6):1100-1102.
57. Mann R, Rehm H-J. Degradation products from aflatoxin B 1 by *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Mucor ambiguus*. *Applied microbiology and biotechnology*. 1976;2(4):297-306.
58. Alberts JF, Gelderblom WC, Botha A, van Zyl WH. Degradation of aflatoxin B(1) by fungal laccase enzymes. *Int J Food Microbiol*. 2009 Sep 30;135(1):47-52.
59. Liu DL, Yao DS, Liang R, Ma L, Cheng WQ, Gu LQ. Detoxification of aflatoxin B1 by enzymes isolated from *Armillariella tabescens*. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 1998 Jul;36(7):563-574.
60. Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG. Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7.
61. Corassin C, Bovo F, Rosim R, Oliveira C. Efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria strains to bind aflatoxin M 1 in UHT skim milk. *Food Control*. 2013;31(1):80-83.
62. Prado G, Cruz Madeira J, Morais V, Oliveira M, Souza R, Peluzio J, et al. Reduction of aflatoxin B1 in stored peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of food protection*. 2011;74(6):1003-1006.
63. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B 1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *International journal of food microbiology*. 2007;113(1):41-46.
64. Rahaie S, Emam-Djomeh Z, Razavi S, Mazaheri M. Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* as a potential aflatoxin decontaminating agent in pistachio nuts. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010;41(1):82-90.
65. González Pereyra M, Dogi C, Torres Lisa A, Wittouck P, Ortíz M, Escobar F, et al. Genotoxicity and cytotoxicity evaluation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* RC016: a 60-day subchronic oral toxicity study in rats. *Journal of applied microbiology*. 2014;117(3):824-833.
66. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol*. 2007 Jan 01;113(1):41-46.
67. Shetty PH, Jespersen L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends in Food Science & Technology*. 2006 2006/02/01;17(2):48-55.
68. Gonçalves BL, Rosim RE, de Oliveira CAF, Corassin CH. The in vitro ability of different *Saccharomyces cerevisiae*-Based products to bind aflatoxin B 1. *Food control*. 2015;47:298-300.
69. Guan S, Ji C, Zhou T, Li J, Ma Q, Niu T. Aflatoxin B(1) degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium. *International journal of molecular sciences*. 2008 Aug;9(8):1489-1503.