



การสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ โดยจุลินทรีย์

ณมน วัฒนกิจ เสาวลักษณ์ อุดลพัชรารมณ์ และอวันวี เพชรคงแก้ว*

Microorganism to Degrade the Bioavailability of Aflatoxin B₁

Namon Watanakij, Saowalak Adunphatcharaphon and Awanwee Petchkongkaew*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต) อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University (Rangsit Campus), Khong Luang, Pathumthani, 12120

* Corresponding author. E-mail address: awanwee@tu.ac.th

บทสรุป

อะฟลาท็อกซินบี₁ เป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. โดยเฉพาะ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* สารพิษชนิดนี้มีความร้ายแรง เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็ง สารก่อการกลายพันธุ์ และเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคตับ ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์กลุ่มต่างๆ จึงสนใจที่จะศึกษาถึงวิธีการที่จะสลายหรือลดความเป็นพิษของสารพิษชนิดนี้ โดยวิธีที่จะสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ มีหลากหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ วิธีการทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ แต่เนื่องจากวิธีการทางกายภาพและทางเคมีมีข้อจำกัดหลายอย่าง ดังนั้นการสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ โดยใช้วิธีการทางชีวภาพ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ รา และโปรโตซัว จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ทั้งนี้เนื่องจากว่าจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวมีความสามารถในการสลายหรือลดความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินบี₁ โดยความสามารถในการสลายสารพิษชนิดนี้ มาจากส่วนต่างๆ ของเซลล์ เช่น เซลล์ที่มีชีวิต เยื่อหุ้มเซลล์ Intracellular enzyme และ Extracellular enzyme เป็นต้น คณะผู้เขียนจึงได้รวบรวมวิธีการทางชีวภาพต่างๆ ที่สามารถใช้ในการสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ ไว้ในบทความปริทัศน์นี้ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ เพื่อเพิ่มคุณภาพ ความปลอดภัย และการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ ทั้งในอาหารและอาหารสัตว์ได้

คำสำคัญ: อะฟลาท็อกซินบี₁ การสลายอะฟลาท็อกซินบี₁ ทางชีวภาพ แบคทีเรีย ยีสต์ รา โปรโตซัว

SUMMARY

Aflatoxin B₁ is a naturally occurring mycotoxin that is produced as secondary metabolites by *Aspergillus* spp., especially *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. This toxin is the most toxic substance due to its carcinogenic, mutagenic and teratogenic properties. Hence, methods for toxin detoxification/degradation have increasingly interested from both scientific and food committees. The physical, chemical and biological methods have been employed in order to degrade this toxin. Due to some limitations of the physical and chemical methods, the biodegradation by bacteria, yeast, fungi and protozoa is one of an interested way. The degrading activities come from various parts of cells such as viable cells, cell membranes, intracellular enzymes and extracellular enzymes. Thus, the aflatoxin B₁ degradation by biological techniques has been compiled in this review article. This biodegradation method is a new choice which can apply in aflatoxin B₁ degradation to improve the quality, safety and acceptability of foods and feeds.

Keywords: Aflatoxin B₁, Biological degradation, Bacteria, Yeast, Fungi, Protozoa



บทนำ

อะฟลาท็อกซิน คือ สารพิษที่สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* โดยตามธรรมชาติจะมีอะฟลาท็อกซินอยู่ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ อะฟลาท็อกซินบี1 บี2 จี1 และจี2 โดยอะฟลาท็อกซินบี1 มีความเป็นพิษมากที่สุด เนื่องจากอะฟลาท็อกซินบี1 ออกฤทธิ์ทำลายตับซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมายสามารถทำให้เกิดพิษแบบต่างๆ (เฉียบพลัน กึ่งเฉียบพลัน กึ่งเรื้อรัง และเรื้อรัง) ได้ทั้งในคนและในสัตว์ ซึ่งหากได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าไปเป็นจำนวนมาก จะทำให้เกิดอาการพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) โดยอาจแสดงอาการดังนี้ ไข้สูง บัสสาวะสีเข้ม อาเจียน ท้องบวม ตีขาน ความดันโลหิตสูงและถึงแก่ชีวิตในที่สุด หรือหากได้รับสารพิษชนิดนี้เข้าไปเป็นจำนวนน้อยแต่ได้รับเป็นประจำ จะทำให้เกิดอาการพิษแบบเรื้อรัง (Chronic toxicity) จนทำให้เกิดอาการชัก หายใจลำบาก ตับถูกทำลาย หัวใจและสมองบวม นอกจากนั้นการที่ร่างกายได้รับสารพิษอะฟลาท็อกซินบี1 เป็นประจำยังเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับ (Hepatoma) การเกิดไขมันมากในตับ (Fatty liver) และพังผืดในตับ (Liver fibrosis) (European Food Safety Authority, 2004) โดยองค์การอนามัยโลก จัดให้อะฟลาท็อกซินบี1 เป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงมากที่สุดชนิดหนึ่ง และเนื่องจากความเป็นพิษที่ร้ายแรงของอะฟลาท็อกซินบี1 นี้เอง นักวิทยาศาสตร์จึงให้ความสนใจที่จะศึกษาหาวิธีที่ใช้ในการสลายหรือลดความเป็นพิษของสารพิษชนิดนี้ให้ลดลง ซึ่งในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ เช่น การแยกเมล็ดที่ปนเปื้อนเชื้อราออก การใช้รังสียูวี และการใช้กระบวนการแปรรูปทางอาหาร เช่น ไมโครเวฟหรือเอ็กซ์ทราซัน เป็นต้น (Das, & Mishra, 2000, pp. 483-487; Saalia, & Philips, 2011, pp. 1496-1501) วิธีทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีต่างๆ เช่น ไอโซน (Inan, Pala, & Doymaz, 2007, pp. 425-429) หรือการดูดซับบนพื้นผิวของหินแร่ เช่น มอนต์มอริลโลไนต์ ออร์แกโนซิลิโอสต์ HSCAS หรือถ่านกัมมันต์ เป็นต้น (Daković, et al., 2008, pp. 20-25; Jaynes, Zartman, & Hudnall, 2007, pp. 197-205; Juan-juan, Suo, & Su, 2010, pp. 449-

456; Tomašević-Čanović, Daković, A., Rottinghaus, G., Matijašević, S., & Đurić, 2003, pp. 173-180) และ วิธีทางชีวภาพ เช่นการใช้แบคทีเรีย ยีสต์ และรา เป็นต้น (Wu, et al., 2009, pp. 1-7) ซึ่งในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ทั้ง 3 วิธีนี้ พบว่า การสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยวิธีทางกายภาพ มีข้อเสียบางประการ เช่น ต้นทุนที่ใช้ในการกำจัดและจัดการกับวัตถุดิบที่ปนเปื้อนมียาคาสูง นอกจากนี้ ยังเป็นการยากที่จะกำจัดวัตถุดิบที่ปนเปื้อนออกโดยไม่เสียส่วนที่ไม่ปนเปื้อนไป (Hernandez-Mendoza, Garcia, & Steele, 2009, pp. 1064-1068) ดังนั้น วิธีการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ด้วยวิธีทางกายภาพจึงไม่เป็นที่นิยมมากนัก ในทำนองเดียวกัน การสลายสารพิษชนิดนี้ด้วยวิธีการทางเคมี ก็มีข้อเสียเช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น การใช้วิธีทางเคมีทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สูญเสียสารอาหารและคุณภาพด้านกลิ่นรสหรือรสชาติไป อีกทั้งเครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ก็มีราคาแพงอีกด้วย (Basappa, & Shantha, 1996, pp. 95-107) ดังนั้นวิธีทางเคมีจึงไม่ค่อยเป็นที่นิยมใช้เช่นเดียวกันกับวิธีการทางกายภาพ ด้วยเหตุนี้ ในปัจจุบัน นักวิจัยส่วนใหญ่จึงสนใจที่จะศึกษาการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยใช้วิธีการทางชีวภาพแทน เนื่องจากวิธีนี้ ช่วยรักษาคุณภาพของอาหารและอาหารสัตว์ได้ โดยที่คุณภาพอาหารยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอยู่ (Alberts, Gelderblom, Botha, & van Zyl, 2009, pp. 47-52; Hormisch, et al., 2004, pp. 653-660)

การสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยใช้เทคนิคทางชีวภาพ

วิธีการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ด้วยวิธีทางชีวภาพนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น การใช้แบคทีเรีย ยีสต์ รา และโปรโตซัว ซึ่งผู้เขียนสรุปไว้ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. การใช้แบคทีเรียในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1

จากงานวิจัยพบว่ามีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ดังตัวอย่างเช่น

(i) *Mycobacterium fluoranthenorans*

Mycobacterium fluoranthenorans เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งมีความสามารถในการเปลี่ยน



โครงสร้างของสารประกอบจำพวกซีโนไบโอติก (Xenobiotic) ทำให้ความเป็นพิษลดลง Hormisch, et al. (2004, pp. 653-660) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากดินที่อยู่ในพื้นที่ของโรงงานเชื้อเพลิงจากถ่านหิน ซึ่งปนเปื้อนสารประกอบในกลุ่ม Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) จากนั้น ทำการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้งหมดที่คัดแยกมาได้ใน การสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า แบคทีเรีย *Mycobacterium fluoranthenorans* DSM 44556^T มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพโดยพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง ปริมาณของอะฟลาท็อกซินบี1 ลดลงร้อยละ 70 - 80 จากปริมาณเริ่มต้น และเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง จะสามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ทั้งหมดนอกจากนี้ Teniola, et al. (2005, pp. 111-117) ได้ทำการศึกษการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยใช้ ส่วนสกัดของเซลล์ (Cell-free extract) ของแบคทีเรีย *Mycobacterium fluoranthenorans* DSM 44556^T (DSM 14304) และพบว่ามีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ในเวลาอันสั้น โดยสามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 70 ภายในเวลา 1 ชั่วโมง และหลังจาก 4 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 90

(ii) *Rhodococcus erythropolis*

Rhodococcus erythropolis เป็นแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร Xenobiotic หลากหลายชนิด และอะฟลาท็อกซินบี1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Difuranocoumarin ที่มีโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับสารประกอบ Xenobiotic เช่นกันดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่า *Rhodococcus erythropolis* จะสามารถสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้โดย Teniola, et al. (2005, pp. 111-117) ได้ทำการศึกษการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยใช้ Cell-free extract ของแบคทีเรีย *Rhodococcus erythropolis* DSM 14303 และพบว่า Cell-free extract ของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ในระยะเวลาอันสั้น คือ สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 70 ภายในเวลา 1 ชั่วโมง และหลังจาก 4 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1

ได้ถึงร้อยละ 90 เช่นเดียวกันกับ *Mycobacterium fluoranthenorans* ที่กล่าวไปแล้วข้างต้น

(iii) *Stenotrophomonas* spp.

Liang, et al. (2008, pp. 1433-1437) ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยทำการคัดแยกแบคทีเรีย จำนวน 1,500 สายพันธุ์จากมูลสัตว์ ไม้ที่ผุเน่า อาหารที่ปนเปื้อนเชื้อรา และอาหารหมักจากนั้นดำเนินการคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการใช้คูมาริน (Coumarin) เป็นแหล่งคาร์บอนและมีความสามารถสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ ซึ่งจากการทดลองนี้ จะพบว่า แบคทีเรีย *Stenotrophomonas* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 85.7 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว แบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการใช้คูมารินเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต ส่งผลให้อะฟลาท็อกซินบี1 มีปริมาณลดลงไปด้วย เนื่องจากแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะไปทำลายโครงสร้างของคูมารินซึ่งเป็นหนึ่งในโครงสร้างหลักของอะฟลาท็อกซินบี1

(iv) *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียที่ใช้ในธัญพืชหมักหลากหลายชนิด โดยเฉพาะในกระบวนการหมักถั่ว (Kiers, Van laeken, Rombouts, & Nout, 2000, pp. 163-169) เป็นที่ทราบกันดีว่า ถั่วเป็นหนึ่งในธัญพืชที่มีปริมาณของอะฟลาท็อกซินบี1 ปนเปื้อนอยู่มาก ดังนั้น ในปัจจุบันการศึกษความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ของแบคทีเรียชนิดนี้ จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก Petchkongkaew, Taillandier, Gasaluck, & Lebrihi, (2008, pp. 1495-1502) ได้ทำการศึกษความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จำนวน 23 สายพันธุ์ ซึ่งคัดแยกได้จากถั่วเน่า และพบว่า *Bacillus subtilis* MHS13 มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 85 ทั้งนี้คาดว่าความสามารถในการสลายสารพิษของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มาจากส่วนของ Extracellular enzyme ต่อมา Farzaneh, et al. (2011, pp. 100-106) ได้ทำการศึกษถึงความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เช่นกัน โดยทำการคัดแยก *Bacillus subtilis* UTBSP1



จากถั่วพิทาชิโอ ผลจากการทดลอง พบว่า *Bacillus subtilis* UTBSP1 มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 80.53 นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อนำเฉพาะส่วนใสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ (Culture supernatant) ของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มาศึกษาพบว่า สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ร้อยละ 78.39 ดังนั้นความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ของ *Bacillus subtilis* UTBSP1 นี้คาดว่ามาจากส่วนของ Extracellular enzyme เช่นเดียวกัน

(v) *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei จัดอยู่ในกลุ่มของ Lactic acid bacteria (LAB) ซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับการรับรองว่าเป็น GRAS และถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากมาย จึงมีการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำ LAB มาประยุกต์ใช้ในการลดปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 จากงานวิจัยต่างๆ พบว่า ส่วนที่ห่อหุ้มเซลล์ (Envelope) ของเซลล์แบคทีเรียกลุ่มนี้ เป็นส่วนที่จับกับอะฟลาท็อกซินบี1 นอกจากนี้ยังพบว่า ส่วนของโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) และ เปปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) เป็นส่วนสำคัญในการจับกับสารพิษ (Haskard, El-Nezami, Kankaanpaa, Salminen, & Ahokas, 2001, 3086-3091; Lahtinen, Haskard, Ouwehand, Salminen, & Ahokas, 2004, pp. 158-164; Peltonen, El-Nezami, Salminen, & Ahokas, 2000, pp. 1942-1945) โดย Hernandez -Mendoza, et al. (2009, pp. 1064-1068) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์แตกต่างกัน โดยดำเนินการคัดแยก *Lactobacillus casei* มาจากแหล่งต่างๆ และพบว่า การจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของ *Lactobacillus casei* นั้น จะมีความจำเพาะเจาะจงในแต่ละสายพันธุ์ โดย *Lactobacillus casei* จำนวน 8 สายพันธุ์มีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 14 - 49 และ *Lactobacillus casei* L30 สามารถจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 สูงที่สุด (ร้อยละ 49.2) เมื่อทำการศึกษาเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแบคทีเรียและอะฟลาท็อกซินบี1 (Bacteria-aflatoxin B₁ complex stability) โดยทำการล้างเชื้อจำนวน 3 ครั้ง พบว่าความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของ

Lactobacillus casei แต่ละสายพันธุ์มีค่าลดลงแต่อย่างไรก็ตาม *Lactobacillus casei* L30 ยังคงมีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้มากกว่า *Lactobacillus casei* สายพันธุ์อื่นๆ

(vi) *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกอีกชนิดหนึ่งที่พบในธรรมชาติ สามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ปัจจุบันได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการศึกษาความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 Topcu, Bulat, Wishah, & Boyacı, (2010, pp. 202-250) ได้ทำการศึกษาถึงความสามารถของ *Enterococcus faecium* พบว่ามีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้สูงสุดประมาณร้อยละ 37.5 นอกจากนี้ยังพบว่า เซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้วมีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ไม่แตกต่างกันอีกด้วย อย่างไรก็ตาม *Enterococcus faecium* สายพันธุ์แตกต่างกันมีความสามารถในการจับกับสารพิษได้ไม่เท่ากันเช่นเดียวกับ *Lactobacillus casei*

(vii) *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่จัดอยู่ในกลุ่มของ Lactic acid bacteria (LAB) สามารถตรวจพบได้ในอาหารหมักดองหลายชนิด อาทิ แหนม ผักกาดดอง และข้าวโพดหมัก เป็นต้น Khanafari, Soudi, Miraboufathi, & Karamei, (2007, 2553-2556) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของ *Lactobacillus plantarum* PTCC1058 ในหลอดทดลองพบว่า เซลล์ที่มีชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* PTCC 1058 ที่เวลา 1 ชั่วโมง สามารถสลายปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ร้อยละ 45 และที่ 90 ชั่วโมง สามารถกำจัดอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ร้อยละ 100 นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียในช่วง Log phase มีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับ การเจริญเติบโตในช่วงอื่นๆ นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Oluwafemi, & Da-silva (2009, pp. 871-876) พบว่า *Lactobacillus plantarum* สามารถจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ 76 นาโนกรัมต่อกรัม (ร้อยละ 95) จากปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 เริ่มต้น 80 นาโนกรัมต่อกรัม ในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหมัก ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้น แสดงให้เห็นความสามารถในการ



ประยุกต์ใช้ *Lactobacillus plantarum* ในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของ *Lactobacillus plantarum* ในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดหมักที่มีการปนเปื้อนของสารพิษชนิดดังกล่าวได้

(viii) *Lactobacillus amylovorus*

จากความหลากหลายของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์นม อาจพบการปนเปื้อนของกับอะฟลาท็อกซินบี1 หรือสารอนุพันธ์ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ (Zarba, et al., 1992, pp. 891-894; El Nezami, Nicoletti, Neal, Donohue, & Ahokas, 1995, pp. 173-179; Abdulrazzaq, Osman, Yousif, & Al-Falahi, 2003, pp. 173-179; Turconi, et al., 2004, pp. 191-197; Polychronaki, et al., 2006, 700-708) ซึ่งปริมาณของอะฟลาท็อกซินบี1 เพียงเล็กน้อยก็อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ได้เช่นกัน จากงานวิจัยของ Peltonen, El-Nezami, Haskard, Ahokas, & Salminen, (2001, pp. 2152-2156) ได้ทำการศึกษา Lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria* จำนวน 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น *Lactobacillus* จำนวน 12 สายพันธุ์ *Bifidobacteria* จำนวน 5 สายพันธุ์และ *Lactococcus* จำนวน 3 สายพันธุ์ ในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 พบว่าเชื้อ *Lactobacillus amylovorus* จำนวน 2 สายพันธุ์ มีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้มากกว่าร้อยละ 50 นอกจากนี้ ยังมีรายงานความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ของแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria สายพันธุ์อื่นๆ เช่น *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus brevis* และ *Lactobacillus delbrueckii* เป็นต้น โดยสามารถจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ที่มีความเข้มข้นประมาณ 100 นาโนกรัมต่อกรัม ได้ในช่วงร้อยละ 31-46 (Oluwafemi, & Da-Silva, 2009, pp. 871-876) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่า มีแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยใช้ทั้งส่วนของเซลล์แบคทีเรีย ส่วนของ Intracellular enzyme และส่วนของ Extracellular enzyme ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดและแต่ละสายพันธุ์ จะมีความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังมีกลไกการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ที่แตกต่างกันไปอีกด้วย

2. การใช้ยีสต์ในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1

มีงานวิจัยบางส่วนที่ได้ทำการศึกษาความสามารถในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 จากยีสต์ ซึ่งพบว่า มียีสต์บางชนิดที่สามารถจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ ได้แก่

(i) *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหมัก การแปรรูปและการถนอมอาหาร และการผลิตเครื่องดื่มจำพวกไวน์และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์บางประเภท ได้มีงานวิจัยซึ่งศึกษาความสามารถของผนังเซลล์ *Saccharomyces cerevisiae* และ Lactic acid bacteria ในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 (Shetty, & Jespersen, 2006, pp. 48-55) จากงานวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าผนังเซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae* ประกอบด้วยสายของ β -1,3 glucan ที่มี β -1,6 glucan ต่อเป็นกิ่งก้านสาขา และมี Mannoprotein เกาะอยู่ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ชั้นนอกสุด โปรตีนและกลูแคนที่มีอยู่ในผนังเซลล์นี้ จะทำหน้าที่เป็น Binding site ของกลไกการยึดเกาะและยังมีการรายงานความสามารถในการจับกับสารพิษจากเชื้อราชนิดอื่นๆ เช่น โอคราที่ออกซิน (Ochratoxin) และซีราลีโนน (Zearalenone) บนพื้นที่ผิวของผนังเซลล์ยีสต์อีกด้วย (Bejaoui, Mathieu, Taillandier, & Lebrihi, 2004, pp. 1038-1044; Raju, & Devegoda, 2000, pp. 640-650; Yiannikouris, et al., 2004, pp. 1195-1200) นอกจากนี้ Shetty, Hald, & Jespersen, (2007, pp. 41-46) ได้ทำการคัดเลือก *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งคัดเลือกได้จากอาหารพื้นบ้านในแถบประเทศแอฟริกา มาศึกษาพบว่า *Saccharomyces cerevisiae* ทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 10 ไปจนถึงมากกว่าร้อยละ 40 แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 นั้น มีความจำเพาะเจาะจงและขึ้นกับ *Saccharomyces cerevisiae* แต่ละสายพันธุ์สรุปได้ว่า *Saccharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการจับกับอะฟลาท็อกซินบี1 ซึ่งส่งผลให้ปริมาณอะฟลาท็อกซินบี1 ลดลง ถือว่าเป็นวิธีสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ทางชีวภาพอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการลดปริมาณของสารพิษได้



3. การใช้ราในการสลายอะพลาที่อกชินบี1

นอกจากแบคทีเรียและยีสต์แล้ว ราคีมีความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ได้เช่นเดียวกันโดยเฉพาะราจำพวก White rot fungi และเห็ด

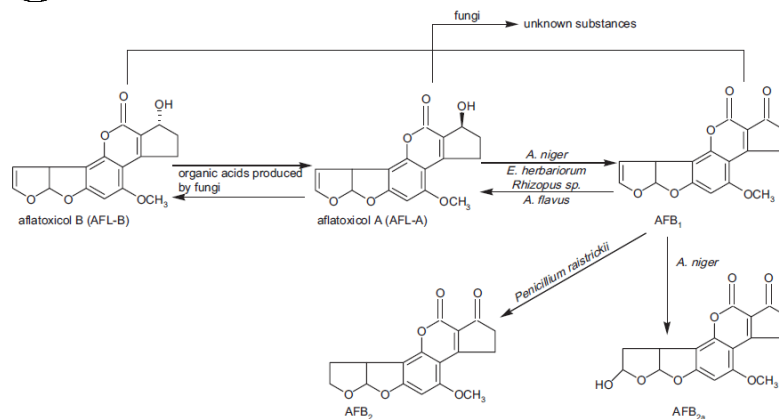
(i) White rot fungi

Pleurotus ostreatus เป็นเห็ดชนิดหนึ่ง โดยปกติจะรู้จักกันในนามของ Oyster mushroom ในปี ค.ศ. 2003 Motomura, Toyomasu, Mizuno, & Shinozawa, 2003, pp. 237-242 ได้ทำการศึกษาความสามารถของราจำนวน 19 ชนิดในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ผลการทดลองพบว่า ส่วนเหนือตะกอน (Supernatant) ของ *Pleurotus ostreatus* มีความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ได้มากที่สุดนอกจากนี้ยังพบว่า เอนไซม์จาก *Pleurotus ostreatus* มีความสามารถในการตัดวงแหวนแลคโตน (Lactone ring) ซึ่งเป็นส่วนประกอบในโครงสร้างของอะพลาที่อกชินบี1 ส่งผลให้การเรืองแสงของอะพลาที่อกชินบี1 ลดลง โดยวงแหวนแลคโตนนี้จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเป็นสารก่อมะเร็งของอะพลาที่อกชินบี1 ดังนั้น เมื่อวงแหวนแลคโตนถูกกำจัดออกไป จึงทำให้ความเป็นพิษของอะพลาที่อกชินบี1 ลดลงตามไปด้วย โดยเอนไซม์ดังกล่าวนี้เป็นเอนไซม์ชนิดใหม่ที่ได้ถูกค้นพบ นอกจากนี้ Alberts, et al. (2009, pp. 47-52) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ของราในกลุ่ม White rot fungi ซึ่งรวมไปถึง *Pleurotus ostreatus* ผลการทดลองพบว่า สารนอกเซลล์ที่ได้จากการสกัด (Extracellular extract) ของ *Pleurotus ostreatus* ที่ความเข้มข้น 416.39 ยูนิตต่อลิตร สามารถสลายอะพลาที่อกชินบี1 ได้สูงสุดถึงร้อยละ 76 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Minimal Salt Medium (MSM) *Peniophora* spp. เป็นราอีกชนิดหนึ่งในกลุ่ม White rot fungi ซึ่งได้มีการศึกษาถึงความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 โดยจากการศึกษาของ Alberts, et al. (2009, pp. 47-52) พบว่า นอกจาก *Peniophora ostreatus* แล้ว *Peoniophora* spp. ก็สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ได้เช่นเดียวกัน โดยส่วน Extracellular extract ที่ถูกทำให้เข้มข้นของ *Peoniophora* spp. นี้ จะมีความ

สามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ได้รองลงมาจาก Extracellular extract ที่ถูกทำให้เข้มข้นของ *Peniophora ostreatus* คือร้อยละ 52.36 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Mineral Salts-Malt Extract Medium (MSB-MEB)

(ii) *Aspergillus* สายพันธุ์ที่ไม่สร้างอะพลาที่อกชินบี1 (Nontoxigenic *Aspergillus* spp.)

จากงานวิจัยพบว่า *Aspergillus* บางสายพันธุ์ เช่น *Aspergillus flavus* *Aspergillus parasiticus* และ *Aspergillus niger* มีความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตทางการเกษตรในปี 1990 Cotty, et al. (1990, pp. 223-235) พบว่า *Aspergillus flavus* AF36 มีความสามารถในการลดการปนเปื้อนของอะพลาที่อกชินบี1 ในเมล็ดฝ้ายที่ปลูกในเรือนทดลอง ต่อมา Dorner, et al. (2004, pp. 425-450) ได้นำสายพันธุ์ดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในแปลงปลูกถั่วลิสง พบว่า *Aspergillus flavus* AF36 สามารถลดการปนเปื้อนของอะพลาที่อกชินบี1 ได้ถึงร้อยละ 79-90 ในขณะที่ *Aspergillus flavus* CT3 *Aspergillus flavus* K49 และ *Aspergillus flavus* BN30 ก็สามารถลดการปนเปื้อนของอะพลาที่อกชินบี1 ในข้าวโพดได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกัน (Dorner, & Cole, 2002, pp. 329-339; Abbas, Zablotowicz, Bruns, & Abel, 2006, pp.437-449) *Aspergillus niger* เป็นราอีกชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการสลายอะพลาที่อกชินบี1 โดยเปลี่ยนหมู่ไซโคลเพนทีโนน คาร์บอนิล (Cyclopentenone carbonyl) ของอะพลาที่อกชินบี1 ให้เป็นอะพลาที่อกชินคอลเอ (Aflatoxinol-A) จากนั้นสารอินทรีย์และกรดอินทรีย์ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำการเปลี่ยนอะพลาที่อกชินคอลเอ ให้เป็นอะพลาที่อกชินคอลบี (Aflatoxinol-B) อย่างไรก็ดีตาม Nakazato, et al. (1990, pp. 1465-1470) พบว่า *Aspergillus niger* ยังคงมีความสามารถในการเปลี่ยนอะพลาที่อกชินคอลเอ เป็น อะพลาที่อกชินบี1 จากนั้น อะพลาที่อกชินบี1 จะถูกเปลี่ยนเป็นอะพลาที่อกชินบีทูเอ (Aflatoxin B2a) โดยกลไกการสลายอะพลาที่อกชินบี1 สามารถสรุปได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 วิธีทางเกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของอะฟลาท็อกซินบี1 โดยเชอร์รา (Wu, et al., 2009, pp. 1-7)

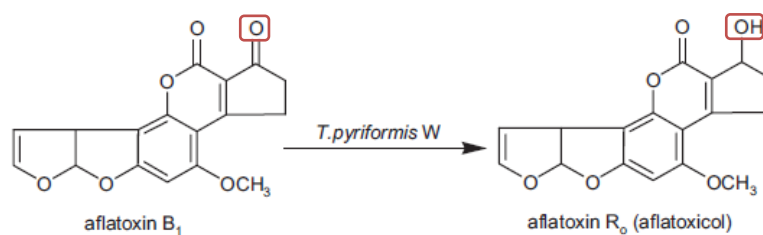
(ii) *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp. เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือเป็นศัตรูต่อเชื้อราโรคพืชหลายชนิด *Trichoderma viride* และ *Trichoderma harzianum* ได้รับการยอมรับว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์อะฟลาท็อกซินบี1 ในระดับโมเลกุลของ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* (Shantha, 2000, pp. 175-178; Santamarina, Roselló, Llacer, & Sanchis, 2002, pp. 99-103; Thanaboripat, Sappakitjanon, Prommi, & Chareonsettasilp, 2009, pp. 95-102) โดย Ghisalberti, & Sivasithamparam, (1991, pp. 1011-1020) Haran, Schickler, & Chet, (1996, pp. 980-985) และ Benhamou, & Chet. (1993, pp. 1062-1071) ได้เสนอแนะกลไกที่เกี่ยวข้องต่อการยับยั้งว่าอาจเกิดขึ้นเนื่องจาก 1.) การสร้างสารปฏิชีวนะ เช่น Harzianic acid Alamethicins และ Tricholin ซึ่งสารปฏิชีวนะดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* จนเกิดการเหี่ยวสลายและตายได้ 2.) การผลิตเอนไซม์ที่

เกิดจากการสลายตัวเนื่องจากการดูดซึม (Hydrolytic enzyme) ไม่ว่าจะเป็น อะไมเลส เพคติเนส โปรทีเอส และ เซลลูเลส ช่วยย่อยสลายผนังเส้นใยของ *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในทำให้สูญเสียความมีชีวิตลง 3.) การเกิดภาวะปรสิต

4. การใช้โปรโตซัวในการสลายอะฟลาท็อกซินบี1

ในปี 1967 Teunissen และ Robertson ได้ทำการศึกษาความสามารถของโปรโตซัวต่อการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 พบว่า *Tetrahymena pyriformis* W สามารถสลายอะฟลาท็อกซินบี1 ได้ถึงร้อยละ 80 ภายในเวลา 10 ชั่วโมง ซึ่งต่อมา Robertson, Teunissen, & Boudreaux, (1970, pp. 1090-1091) พบว่ากลไกการสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดย *Tetrahymena pyriformis* W คือ การเปลี่ยนหมู่คาร์บอนในวงแหวนไซโคลเพนเทน (Cyclopentane ring) ให้กลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิล ทำให้อะฟลาท็อกซินบี1 เปลี่ยนเป็นอะฟลาท็อกซิคอล ดังแสดงตามรูปที่ 2



รูปที่ 2 การสลายอะฟลาท็อกซินบี1 โดยโปรโตซัว (Wu et al., 2009, pp. 1-7)



บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลทั้งหมดที่ได้กล่าวไปนั้น จะพบว่า มีจุลินทรีย์หลากหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ รา หรือ โปรโตซัวที่มีศักยภาพในการสลายอะฟลาท็อกซิน บี₁ โดยกลไกที่ใช้ในการสลายจะมีความแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ โพลีแซคคาไรด์ และเปปทิโดไกลแคนในผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มแลคติกจะเป็นองค์ประกอบหลักในการจับอะฟลาท็อกซิน บี₁ ในขณะที่ Extracellular enzyme และ Cell-free extract จะเป็นกลไกหลักในการสลายอะฟลาท็อกซิน บี₁ ใน *Mycobacterium fluoranthenorans* และ *Rhodococcus erythropolis* สำหรับยีสต์นั้น องค์ประกอบที่สำคัญต่อการจับอะฟลาท็อกซิน บี₁ คือ โปรตีนและกลูแคนในผนังเซลล์ ทั้งนี้เราจะใช้ภาวะปรสิตร สารปฏิชีวนะและ Extracellular enzyme ในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์อะฟลาท็อกซิน บี₁ ส่วนโปรโตซวานั้นจะใช้ตัวเซลล์ในการสลายสารพิษชนิดนี้ ซึ่งในการใช้จุลินทรีย์ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในการกำจัดอะฟลาท็อกซิน บี₁ ถือว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ในการที่จะลดปริมาณอะฟลาท็อกซิน บี₁ ให้มีปริมาณน้อยลงหรือหมดไป นอกจากนี้ยังช่วยทำให้อาหารและอาหารสัตว์มีคุณภาพความปลอดภัย และการยอมรับของผู้บริโภคที่ดีขึ้นอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Abbas, H. K., Zablotowicz, R. M., Bruns, H. A., & Abel, C. A. (2006). Biocontrol of aflatoxin in corn by inoculation with non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolates. *Biocontrol Sci. Technol.*, 16(5), 437-449.
- Abdulrazzaq, Y. M., Osman, N., Yousif, Z. M., & Al-Falahi, S. (2003). Aflatoxin M₁ in breast-milk of UAE women. *Ann Trop Paediatr.*, 23, 173-179.
- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Botha, A., & van Zyl, W. H. (2009). Degradation of aflatoxin B₁ by fungal laccase enzyme. *Int J Food Microbiol.*, 135(1), 47-52.
- Basappa, S. C., & Shantha, T. (1996). Methods for detoxification of aflatoxins in foods and feeds-a critical appraisal. *J Food Sci Tech.*, 33, 95-107.
- Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P., & Lebrihi, A. (2004). Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *J Appl Microbiol.*, 97(5), 1038-1044.
- Benhamou, N., & Chet, I. (1993). Hyphal interaction between *Trichodema harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold chemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology.*, 83, 1062-1071.
- Cotty, P. J. (1990). Effect of atoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of developing cottonseed. *Plant Dis.*, 74(3), 233-235.
- Daković, A., Matijašević, S., Rottinghaus, G. E., Ledoux, D. R., Butkeraitis, P., & Sekulic, Ž. (2008). Aflatoxin B₁ adsorption by natural and copper modified montmorillonite. *Colloid Surfaces B.*, 66, 20-25.
- Das, C., & Mishra, H. N. (2000). Effect of aflatoxin B₁ detoxification on the physicochemical properties and quality of ground nut meal. *Food Chemistry.*, 70, 483-487.
- Dorner, J. W. (2004). Biological control of aflatoxin contamination of crops. *J. Toxicol. Toxin Rev.*, 23(2&3), 425-450.



- Donner, J. W., & Cole, R. J. (2002). Effect of application of nontoxic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage. *J. Stored Products Res.*, 38(4), 329–339.
- European Food Safety Authority. (2004). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B₁ as undesirable substance in animal feed (Request N° EFSA-Q-2003-035) (adopted on 3 February 2004). *The EFSA Journal.*, 39, 1–27.
- El-Nezami, H. S., Nicoletti, G., Neal, G. E., Donohue, D. C., & Ahokas, J. T. (1995). Aflatoxin M₁ in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol.*, 33, 173–179.
- Farzaneh, M., Shi, Z. Q., Ghassempour, A., Sedaghat, N., Ahmadzadeh, M., & Mirabolfathy, M., et al. (2011). Aflatoxin B₁ degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. *Food Control.*, 1(23), 100–106.
- Ghisalberti, E. I., & Sivasithamparan, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biol Biochem.*, 23, 1011–1020.
- Haran, S., Schickler, A., & Chet, I. (1996). Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology.*, 86, 980–985.
- Haskard, C., El-Nezami, H., Kankaanpää, P., Salminen, S., & Ahokas, J. (2001). Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol.*, 67(7), 3086–3091.
- Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H. S., & Steele, J. L. (2009). Screening of *Lactobacillus casei* for their ability to bind aflatoxin B₁. *Food Chem Toxicol.*, 47(6), 1064–1068.
- Hormisch, D., Brost, I., Kohring, G. W., Giffhorn, F., Kroppenstedt, R. M., & Stackebrandt, E., et al. (2004). *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov. a fluoranthene and aflatoxin B₁ degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. *Syst Appl Microbiol.*, 27(6), 653–660.
- Inan, F., Pala, M., & Doymaz, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B₁ in red pepper. *J Stored Prod Res.*, 43, 425–429.
- Jaynes, W. F., Zartman, R. E., & Hudnall, W. H. (2007). Aflatoxin B₁ adsorption by clays from water and corn meal. *Appl Clay Sci.*, 36, 197–205.
- Juan-juan, L. I., Suo, D. C., & Su, X. O. (2010). Binding capacity for aflatoxin B₁ by different adsorbents. *Agr Sci China.*, 9(3), 449–456.
- Kiers, J. L., Van laeken, A. E. A., Rombouts, F. M., & Nout, M. J. R. (2000). *In vitro* digestibility of *Bacillus* fermented soya bean. *Int J Food Microbiol.*, 60, 163–169.
- Khanafari, A., Soudi, H., Mirabolfathi, M., & Karamei, O. R. (2007). An *invitro* investigation of aflatoxin B₁ biological control by *Lactobacillus plantarum*. *Pak J Biol Sci.*, 10(15), 2553–2556.
- Lahtinen, S. J., Haskard, C. A., Ouwehand, A. C., Salminen, S. J., & Ahokas, J. T. (2004). Binding of aflatoxin B₁ to cell wall components of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Food Addit Contam.*, 21(2), 158–164.



- Liang, Z. H., Li, J. X., He, Y. L., Guan, S., Wang, N., & Ji, C., et al. (2008). AFB₁ bio-degradation by a new strain – *Stenotrophomonas* sp. *Agr Sci China*, 12(7), 1433–1437.
- Motomura, M., Toyomasu, T., Mizuno, K., & Shinozawa, T. (2003). Purification and characterization of an aflatoxin degradation enzyme from *Pleurotus ostreatus*. *Microbiol Res.*, 158(3), 237–242.
- Nakazato, M., Morozumi, S., Saito, K., Fujinuma, K., Nishima, T., & Kasai, N. (1990). Interconversion of aflatoxin B₁ and aflatoxicol by several fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1465–1470.
- Oluwafemi, F., & Da-Silva, F. A. (2009). Removal of aflatoxins by viable and heat-killed *Lactobacillus* species isolated from fermented maize. *J Appl Biosci.*, 16, 871–876.
- Peltonen, K., El-Nezami, H., Salminen, S., & Ahokas, J. (2000). Binding of aflatoxin B₁ by probiotic bacteria. *J Sci Food Agr.*, 13(80), 1942–1945.
- Peltonen, K., El-Nezami, H., Haskard, C., Ahokas, J., & Salminen, S. (2001). Aflatoxin B₁ binding by dairy strains of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci.*, 84(10), 2152–2156.
- Petchkongkaew, A., Taillandier, P., Gasaluck, P., & Lebrihi, A. (2008). Isolation of *Bacillus* spp. from Thai fermented soybean (Thua-nao): screening for aflatoxin B₁ and ochratoxin A detoxification. *J Appl Microbiol.*, 104(5), 1495–1502.
- Polychronaki, N. C., Turner, P., Mykkanen, H., Gong, Y., Amra, H., & Abdel-Wahhab, M., et al. (2006). Determinants of aflatoxin M₁ in breast milk in a selected group of Egyptian mothers. *Food Addit. Contam.*, 23, 700–708.
- Raju, M. V., & Devegowda, G. (2000). Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *Br Poult Sci.*, 41(5), 640–650.
- Robertson, A. J., Teunissen, D. J., & Boudreaux, G. J. (1970). Isolation and structure of a biologically reduced aflatoxin B₁. *J. Agr. Food Chem.*, 18, 1090–1091.
- Saalia, F. K., & Phillips, R. D. (2011). Degradation of aflatoxins by extrusion cooking: Effects on nutritional quality of extrudates. *LWT – Food Science and Technology.*, 44, 1496–1501.
- Santamarina, M. P., Roselló, J., Llacer, R., & Sanchis, V. (2002). Antagonistic activity of *Penicillium oxalicum* Corrie and Thom, *Penicillium decumbens* Thom and *Trichoderma harzianum* Rifai isolates against fungi, bacteria and insects *in vitro*. *Rev Iberoam Micol.*, 19, 99–103.
- Shantha, T. (2000). Fungal degradation of aflatoxin B₁. *Nat. Toxins.*, 7, 175–178.
- Shetty, P. H., & Jespersen, L. (2006). *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci Tech.*, 2(17), 48–55.



- Shetty, P. H., Hald, B., & Jespersen, L. (2007). Surface binding of aflatoxin B₁ by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol.*, 113(1), 41–46.
- Teniola, O. D., Addo, P. A., Brost, I. M., Färber, P., Jany, K. D., & Alberts, J. F., et al. (2005). Degradation of aflatoxin B₁ by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov. DSM44556. *Int J Food Microbiol.*, 105(2), 111–117.
- Teunissen, D. J., & Robertson, A. J. (1967). Degradation of pure aflatoxins by *Tetrahymena pyriformis*. *Appl. Microbiol.*, 15, 1099–1103.
- Thanaboripat, D., Sappakitjanon, N., Prommi, L., & Chareonsettasilp, S. (2009). Screening of fungi for the control of *Aspergillus parasiticus*. *KMITL Sci. Tech. J.*, 9, 95–102.
- Tomašević-Čanović, M., Daković, A., Rottinghaus, G., Matijašević, S., & Đuričić, M. (2003). Surfactant modified zeolites—new efficient adsorbents for mycotoxins. *Micropor Mesopor Mat.*, 61, 173–180.
- Topcu, A., Bulat, T., Wishah, R., & Boyacı, I. H. (2010). Detoxification of aflatoxin B₁ and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *Int J Food Microbiol.*, 139(3), 202–205.
- Turconi, G., Guarcello, M., Livieri, C., Comizzoli, S., Maccarini, L., & Castellazzi, A. M., et al. (2004). Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn—an epidemiological survey in Lombardy (Northern Italy). *Eur. J. Nutr.*, 43, 191–197.
- Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V., & Kuca, K. (2009). Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metab Rev.*, 41(1), 1–7.
- Yiannikouris, A., Francois, J., Poughon, L., Dussap, C.G., Bertin, G., & Jeminet, G., et al. (2004). Adsorption of zearalenone by beta-D-glucans in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J Food Prot.*, 67(6), 1195–1200.
- Zarba, A., Wild, C. P., Hall, A. J., Montesano, R., Hudson, G. J., & Groopman, J. D. (1992). Aflatoxin M₁ in human breast milk from The Gambia, West Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Carcinogenesis*, 13, 891–894.