

تأثیر بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) به صورت خالص و در ترکیب با بنتونیت بر جذب آفلاتوکسین B₁ جیره بزهای شیری مهابادی

Impact of Bakery Yeast Cell Wall Beta-Glucan (*Saccharomyces cerevisiae*) and Bentonite on the Adsorption of Aflatoxin B₁ of Mahabadi Dairy Goats

(DOI) شناسه دیجیتال

10.22092/ASJ.2025.369545.2498

مونا سلیقه^۱، محمدحسن فتحی نسری^۲، مهدی گنج خانلو^۳، محبوبه سرابی جماب^۴

۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، ۳. استاد گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۴. دانشیار گروه زیست فناوری مواد غذایی مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد.

Mona Saligheh¹, Mohammad Hassan Fathi Nasri², Mehdi Ganj Khanloo³, Mahboobeh Sarabi Jamab⁴

1&2. PhD student, Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Birjand. 3. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran. 4. Associate Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Sciences and Technology, Mashhad.

تأثیر بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر نانوایی (ساکارومایسس سرویسیه) به صورت خالص و در ترکیب با بنتونیت بر جذب آفلاتوکسین B₁ جیره بزهای شیری مهابادی

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی کاهش انتقال آفلاتوکسین B₁ خوراک، به شیر بزهای تغذیه شده با بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر نانوایی به صورت خالص و در ترکیب با بنتونیت انجام شد. تعداد ۱۸ رأس بز شیری مهابادی با وزن اولیه $47/15 \pm 4/93$ کیلوگرم به سه گروه آزمایشی با شش تکرار اختصاص یافتند. گروه‌های آزمایشی شامل: (۱) شاهد (جیره حاوی ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ بر حسب ماده خشک)، (۲) شاهد + ۳ گرم در روز بتاگلوکان و (۳) شاهد + ۰/۶ گرم در روز بتاگلوکان + ۲/۴ گرم در روز بنتونیت تجاری بود. پس از یک هفته سازگاری، همه بزها یک چالش خفیف ۱۴ روزه با آفلاتوکسین B₁ را تجربه کردند که طی آن مصرف ماده خشک، راندمان مصرف خوراک، تولید و ترکیب شیر، غلظت آفلاتوکسین M₁ شیر و فراسنجه‌های خونی آن‌ها ارزیابی شد. نتایج نشان دادند وزن اولیه و نهایی، تولید شیر و ترکیب آن، مصرف ماده خشک و راندمان مصرف خوراک در گروه‌های مختلف مشابه بود. غلظت نیترژن اوره خون، آلانین ترانس آمیناز، آسپارتات ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز در گروه‌های مختلف نسبت به گروه شاهد تغییر یافت ($P < 0.05$). همچنین افزودن هر دو نوع جاذب سم به جیره بزها، سبب کاهش معنی داری در درصد انتقال، غلظت و ترشح آفلاتوکسین M₁، نسبت به گروه شاهد شد. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان دادند که ترکیب بتاگلوکان و بنتونیت با نسبت مشخص شده در این تحقیق توانایی جذب آفلاتوکسین B₁ را مشابه با بتاگلوکان خالص دارد و می‌تواند غلظت آفلاتوکسین M₁ شیر را به یک میزان کاهش دهد؛ بنابراین ترکیب بتاگلوکان و بنتونیت به عنوان یک جاذب مقرون به صرفه آفلاتوکسین B₁ نسبت به بتاگلوکان خالص در جیره دام‌ها قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، بتاگلوکان، بنتونیت، دیواره سلولی مخمر، مایکوتوکسین

Impact of Bakery Yeast Cell Wall Beta-Glucan (*Saccharomyces cerevisiae*) and Bentonite on the Adsorption of Aflatoxin B₁ of Mahabadi Dairy Goats

Abstract

This study aimed to investigate the reduction of aflatoxin B₁ transfer from feed to milk of goats fed a diet contaminated with aflatoxin B₁, by pure baker's yeast cell wall beta-glucan (*Saccharomyces cerevisiae*) in combination with bentonite. Eighteen Mahabadi dairy goats with an initial weight of 47.15±4.93 kg were randomly divided into three experimental groups with six replications. The treatments included: 1) control (diet containing 25 µg/kg dry matter of feed, aflatoxin B₁), 2) control + 3 g/day beta-glucan, and 3) control + 0.6 g/day beta-glucan + 2.4 g/day commercial bentonite. After one week of acclimation, all goats underwent a 14-day mild aflatoxin B₁ challenge during which dry matter intake, feed efficiency, milk production and composition, the concentration of aflatoxin M₁ in the milk, and blood parameters were evaluated. The results showed that the initial and final weight, milk production and composition, dry matter intake and feed efficiency were similar in different groups. The concentration of blood urea nitrogen, alanine transaminase, aspartate transaminase, and alkaline phosphatase, concentration, excretion and percentage of aflatoxin M₁ transfer in milk changed in different groups compared to the control group (P<0.05). Also, two groups 2 and 3 showed a significant decrease in the percentage of transfer, concentration and excretion of aflatoxin M₁ compared to the positive control group. In general, the results of this study showed that the combination of beta-glucan and bentonite with the ratio specified in this study has the ability to absorb aflatoxin B₁ similar to beta-glucan and can reduce the concentration of aflatoxin M₁ in milk to the same extent; Therefore, the combination of beta-glucan and bentonite is recommended as a cost-effective adsorbent of aflatoxin B₁ compared to pure beta-glucan in livestock diets.

Keywords: Aflatoxin, Bentonite, Beta-glucan, Mycotoxin, Yeast Cell Wall

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های سمی تولید شده توسط قارچ‌ها هستند که به صورت عمده، توسط قارچ‌های ساپروفیت در حال رشد روی بعضی از مواد غذایی نظیر خوراک دام تولید می‌شوند و به طور بالقوه برای انسان و دام خطرناک هستند. آلودگی مایکوتوکسین در مواد غذایی، تهدید بزرگی برای سلامت انسان، حیوانات و تجارت بین‌المللی محسوب می‌شود. براساس گزارش سازمان غذا و کشاورزی، سالیانه حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از محصولات غذایی تولید شده در دنیا توسط سموم قارچی آلوده می‌شوند که در این آلودگی آفلاتوکسین‌ها سهم بیشتری نسبت به سایر سموم دارند (Shams و Mehany، ۲۰۱۹). آفلاتوکسین‌ها، از خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌باشند که توسط گونه‌های جنس *آسپرژیلوس*، به ویژه *آسپرژیلوس فلاووس*^۱، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*^۲ و *آسپرژیلوس نومیوس*^۳ تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌ها، ممکن است به طور مستقیم از طریق بلعیدن محصولات آلوده یا به طور غیرمستقیم، توسط مصرف مواد غذایی مشتق شده از مواد اولیه آلوده، مانند مصرف شیر و محصولات لبنی حاصل از دام آلوده، وارد بدن انسان شوند؛ آفلاتوکسین M_1 متابولیت هیدروکسیله شده آفلاتوکسین B_1 می‌باشد که در شیر حیوانات شیرده که از خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 مصرف کرده‌اند وجود دارد. ارتباط مستقیمی بین حضور آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام و آفلاتوکسین M_1 در شیر دام وجود دارد. تخمین زده شده است که تا ۶ درصد از آفلاتوکسین B_1 مصرف شده توسط حیوانات در خوراک می‌تواند به آفلاتوکسین M_1 متابولیزه شود. این ترکیب، به حرارت پایدار است و به راحتی توسط حرارت‌دهی تجزیه نمی‌شود؛ بنابراین مصرف جیره‌های آلوده به آفلاتوکسین در دام‌های شیری علاوه بر به خطر افتادن سلامتی دام‌ها، می‌تواند سبب بروز انواع بسیاری از بیماری‌ها در انسان گردد (Nguyen و همکاران، ۲۰۲۰).

با افزایش دانش و آگاهی از این موضوع که آفلاتوکسین‌ها می‌توانند به طور بالقوه برای سلامت انسان و دام خطرآفرین باشند، تلاش برای حذف کامل یا کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی مضاعف گردیده است. روش‌های متعددی به منظور غیرفعال‌سازی، کاهش، تخریب و یا حذف مایکوتوکسین‌های موجود در خوراک دام

¹ *Aspergillus flavus*

² *Aspergillus parasiticus*

³ *Aspergillus nomius*

مورد بررسی قرار گرفته است. این روش‌ها می‌توانند در سه گروه: روش‌های فیزیکی (نظیر حرارت‌دهی، پرتودهی، شستشو، جداسازی، شناورسازی و استفاده از جاذب‌های غیرآلی همانند: آلومینوسیلیکات‌ها، زئولیت و بنتونیت)، روش‌های شیمیایی (نظیر استفاده از عوامل کلرینه‌کننده، عوامل اکسیدکننده و عوامل هیدرولیزکننده) و روش‌های بیولوژیکی (نظیر استفاده از جاذب‌های آلی همانند دیواره سلولی مخمر و باکتری‌های اسیدلاکتیک) طبقه‌بندی شوند (Donat و همکاران، ۲۰۱۷؛ Mohaghegh و همکاران، ۲۰۱۷؛ Aazami و همکاران، ۲۰۱۸). (۲۰۱۸).

در بین روش‌های مورد استفاده برای محافظت حیوانات در برابر اثرات سمی آفلاتوکسین‌ها، استفاده از جاذب‌های سموم قارچی یکی از مؤثرترین روش‌ها است. یکی از انواع جاذب‌های غیرآلی سموم قارچی، جاذب‌های رسی بوده که از دسته آلومینوسیلیکات‌ها می‌باشند و به دلیل باردار بودن ساختاری که دارند، در جهت خنثی نمودن بار ساختار خود، به سموم قطبی از جمله آفلاتوکسین متصل می‌شوند. از میان این جاذب‌ها، بنتونیت به دلیل ویژگی جذب بالا مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که توانایی جذب آفلاتوکسین در مطالعات آزمایشگاهی و کاهش اثرات سوء آفلاتوکسین‌ها در مطالعات مزرعه‌ای را دارد. بنتونیت که کانی غالب آن مونت موریلونیت بوده، دارای ظرفیت تبادل کاتیونی بالایی جهت ایجاد اتصال بین یون‌های فلزی موجود در آن و بخش بتا-کربونیل آفلاتوکسین می‌باشد (Savari و همکاران، ۲۰۱۳). از جمله جاذب‌های آلی سموم قارچی می‌توان به دیواره سلولی مخمر به ویژه دیواره مخمر ساکارومایسس سرویزیه اشاره نمود که به عنوان جایگزینی سازگار با محیط زیست مطرح است؛ زیرا به راحتی تجزیه می‌شود (Yiannikouris و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات قبلی نشان داده است که استفاده از بتاگلوکان دیواره سلولی به عنوان جاذب آفلاتوکسین به‌جای دیواره سلولی مخمر و یا مخمر کامل، می‌تواند منجر به افزایش قابل توجهی در پتانسیل اتصال شود (Aazami و همکاران، ۲۰۱۸). از سویی دیگر استفاده توأم از جاذب‌های آلی و جاذب‌های معدنی می‌تواند کارآیی آن‌ها را در جذب سموم قارچی در دستگاه گوارش حیوانات افزایش دهد؛ اما در خصوص نسبت اختلاط آن‌ها نتایج ضد و نقیض وجود دارد (Di Gregorio و همکاران، ۲۰۱۴).

بر اساس توضیحات فوق‌الذکر، در تحقیق حاضر، تأثیر بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر نانویی به‌صورت خالص و یا در ترکیب با بنتونیت به‌عنوان جاذب سم آفلاتوکسین M_1 در بزهای شیری مهابادی تغذیه شده با جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین B_1 بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و جیره‌های آزمایشی

این آزمایش در مرکز تحقیقات نشخوارکنندگان کوچک دانشگاه تهران- (واقع در کرج)، انجام شد. تمامی آزمایشات ونحوه نگهداری دامها به صورت انفرادی در باکسها مطابق با دستورالعملهای اخلاقی دانشگاه تهران برای استفاده از حیوانات در تحقیقات، انجام شد.

در این پژوهش ۱۸ رأس بز شیری نژاد مهابادی با میانگین وزن زنده $47/15 \pm 4/93$ کیلوگرم، میانگین روزهای شیردهی 84 ± 8 روز و میانگین تولید شیر $1/13 \pm 0/01$ کیلوگرم در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۳ تیمار شامل (۱) شاهد (جیره حاوی ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ بر حسب ماده خشک)، (۲) شاهد + ۳ گرم در روز بتاگلوکان و (۳) شاهد + ۰/۶ گرم در روز بتاگلوکان + ۲/۴ گرم در روز بنتونیت و ۶ تکرار به مدت ۲۸ روز، استفاده شد. جیره پایه بر اساس NRC (۲۰۰۷) با نسبت ۶۵ درصد علوفه به ۳۵ درصد کنسانتره فرموله شد به طوری که تمام نیازهای حیوانات را برآورده نماید (جدول ۱). تمامی بزها ۲۵ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در هر کیلوگرم ماده خشک جیره (۲۵ ppb)، دریافت کردند. در مورد میزان آفلاتوکسین B₁ در دامداریهای شیری، مقدار ۲۵ ppb آفلاتوکسین B₁ ذکر شده نزدیک به سطح تحمل خوراک دام در آمریکا ۲۰ ppb و پنج برابر بیشتر از سطح مجاز اتحادیه اروپا ۵ ppb است. این مقادیر با مطالعه‌هایی همچون آزمایش Aazami و همکاران (۲۰۱۸ و ۲۰۱۹)، Battacone و همکاران (۲۰۰۳ و ۲۰۰۹) و مطابق با استاندارد ملی ایران و مطالعه Ullah و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد. طبق یافته‌ها، مصرف خوراک آلوده به آفلاتوکسین B₁ منجر به تبدیل آن به آفلاتوکسین M₁ در شیر می‌شود و برای کنترل این موضوع، استانداردهای سختگیرانه‌ای در ایران اعمال می‌شود تا میزان سم وارد شده به شیر از حد مجاز تجاوز نکند. بنابراین، سطح آلودگی ۲۵ ppb آفلاتوکسین B₁ اشاره به تطابق با استاندارد ملی ایران (۵۹۲۵) و مطالعات معتبر دارد.

جدول (۱) درصد مواد خوراکی جیره بزهای شیرده

اجزای جیره	درصد ماده خشک
یونجه خشک	۳۰
سیلاژ ذرت	۲۵
کاه گندم	۱۰
دانه جو	۱۱
دانه ذرت	۱۲
سبوس گندم	۴
کنجاله سویا	۵
کربنات کلسیم	۱
مکمل ویتامینی معدنی*	۱/۴

۰/۳	نمک طعام	
۰/۳	جوش شیرین	
	ترکیب شیمیایی	
۲/۲	انرژی قابل متابولیسم (مگا کالری بر کیلوگرم ماده خشک)	
۱۲/۵	پروتئین خام (درصد)	
۳	چربی خام (درصد)	
۴۹/۳	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد)	
۲۵/۹	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)	بتا گلوکان مورد
۳۱	کربوهیدرات غیرالیافی ^۱ (درصد)	ها، از دیواره
۰/۷۵	کلسیم (درصد)	نانوایی، با استفاده
۰/۴	فسفر (درصد)	استخراج گردید.
ND ^۲	آفلاتوکسین B _۱ (ب، ۱، ۲، جی ۱، جی ۲)	بدین منظور منظور
ابتدا ۲۰ گرم پودر	در هر کیلوگرم مکمل به صورت: ۳۵ میلی گرم روی به صورت ZnSO _۴ ·۷H _۲ O. ۲۶ میلی گرم	مخمر توزین و
درون ۲۰۰ میلی	منگنز به صورت MnSO _۴ ·H _۲ O. ۰۶ میلی گرم ید به صورت KI. ۰۲ میلی گرم کبالت به عنوان	لیتر آب مقطر با
دمای ۱۰۰ درجه	CoCl _۲ ·۶H _۲ O. ۴۰ میلی گرم آهن به صورت FeSO _۴ ·۷H _۲ O. ۲۰ میلی گرم مس به صورت	سانتی گراد به
مدت ۳ ساعت	CuSO _۴ ·۵H _۲ O. ۱۸۰۰ واحد ویتامین آ؛ ۵۰۰ واحد ویتامین دی و ۲۶۰ واحد ویتامین ای. ۱. NFC=100-(Ash+CP+EE+NDF). ۲. شناسایی نشده	

هم زده شد و در حین حرارت دادن درپوش آلومینیومی بر روی سر ارلن قرار داده و چندین بار دمای آن چک می شد. پس از سرد شدن در ۷۵۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید تا مایع رویی جمع آوری گردد؛ همچنین در ادامه آزمایش به محلول رویی معادل حجم آن اتانول ۹۶ درصد (نسبت ۱:۱) افزوده شد و نمونه فوق به مدت یک شب به منظور رسوب پلی ساکاریدها از جمله بتا گلوکان در یخچال و دمای ۴ درجه سانتیگراد به حالت سکون قرار داده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۷۰۰۰ سانتیفیوژ انجام گردید، محلول رویی دور ریخته شد و رسوبات به منظور حذف یک سری ناخالصی های ریز مولکول از جمله مونوساکاریدها و ... به ظرفی انتقال داده شد. پس از آن به مدت یک شبانه روز داخل آون با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده و خشک شد (Jantaramanant و همکاران، ۲۰۱۴).

سطح استفاده از بتا گلوکان با توجه به آزمایش Aazami و همکاران (۲۰۱۸)، در نظر گرفته شد؛ همچنین تعیین نسبت ترکیب بتا گلوکان با بنتونیت، بر اساس نتایج بررسی های آزمایشگاهی Aazami و همکاران (۲۰۱۹)، از نظر بیشترین مقدار جذب سم آفلاتوکسین B_۱ صورت پذیرفت (نسبت ۸۰ درصد بنتونیت به ۲۰ درصد بتا گلوکان).

جاذب‌ها با دانه جو خیس خورده مخلوط و سپس به جیره کاملاً مخلوط مصرفی بزها اضافه گردید و در دو وعده ۸ صبح و ۶ عصر در اختیار دام‌ها قرار داده شد.

نمونه‌گیری از شیر، خون و وزن‌کشی دام‌ها

وزن زنده حیوانات در اولین و آخرین روز دوره سازگاری و دوره آزمایشی پس از ۱۲ ساعت ناشتا و شیردوشی صبحگاهی ثبت شد. در روز آخر آزمایش، نمونه‌های شیر هر بز با در نظر گرفتن مقدار تولید شیر صبح و عصر برای تعیین غلظت آفلاتوکسین M₁ شیر جمع‌آوری شد. بدین منظور از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Waters) ساخت کشور آمریکا که شامل سیستم تزریق خودکار برای تزریق عصاره نمونه‌ها و محلول‌های کالیبراسیون (Waters ۷۱۷)، پمپ ایزوکراتیک با شدت جریان حجمی یک میلی لیتر در دقیقه (Waters ۱۵۲۵)، ستون (UP) Inertsustain-C18-4.6×250 mm با آشکارساز فلورسانس دارای فیلتر قابل تنظیم برای طول موج تحریک ۳۶۰ نانومتر و طول موج نشر ۴۳۰ نانومتر (Waters ۲۴۷۵) استفاده شد.

ترکیب هر نمونه شیر (جمع‌آوری شده در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ آزمایش) با اسکندر شیر (دانمارک، هیلرود، فاس، M ۴۰۰۰) اندازه‌گیری شد. نمونه خون هر بز در روز ۲۸، قبل از تغذیه صبحگاهی از ورید گردن در لوله‌های آغشته به EDTA جمع‌آوری شد. غلظت فراسنجه‌های خونی (پلاسمایی) شامل آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین فسفات (ALP)، گلوکز و نیتروژن اوره‌ای خون با استفاده از آنالایزور بیوشیمیایی (Gesam Chem 200, Italy) اندازه‌گیری شد. سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به روش اسپکتروفتومتری، در واکنش با اسید تیوباریتوریک با مقدار چگالی نوری کروموژن صورتی تشکیل شده در طول موج ۵۳۲ نانومتر، تخمین زده شد. غلظت آفلاتوکسین M₁ نمونه‌های شیر با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) با استاندارد ملی به شماره ۷۱۳۳، اندازه‌گیری شد. همچنین درصد انتقال و ترشح آفلاتوکسین شیر، هم با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد انتقال آفلاتوکسین} = \frac{(\text{کیلوگرم در روز}) \times \text{تولید شیر} \times (\text{میکروگرم بر کیلوگرم}) \text{M}_1 \text{آفلاتوکسین}}{\text{آفلاتوکسین ب} \text{۱} (\text{میکروگرم در روز})}$$

تولید شیر (کیلوگرم در روز) × غلظت آفلاتوکسین M_1 در شیر (نانوگرم در لیتر) = ترشح آفلاتوکسین (نانوگرم در روز)

تجزیه آماری داده‌های آزمایش

داده‌های آزمایش، با استفاده از رویه GLM یا مدل خطی عمومی نرم‌افزار آماری مینی تب (نسخه ۲۲) و با مدل آماری زیر تجزیه شدند و میانگین تیمارها، با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار توکی در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) مورد مقایسه قرار گرفت.

$$Y_i = \mu + T_i + \varepsilon_i$$

در این مدل Y_i = متغیر وابسته؛ μ = میانگین کلی؛ T_i = اثر تیمار ($i = 1, 2, 3$)؛ ε_i = خطای آزمایشی است.

نتایج

داده‌های عملکردی (وزن بدن، تولید شیر، ترکیب شیر، مصرف ماده خشک و بازده مصرف خوراک) نشان داد که هیچ یک از بزهای مورد آزمایش با مصرف آفلاتوکسین B_1 تحت تأثیر منفی قرار نگرفتند و هیچ علائمی از مسمومیت با آفلاتوکسین در طول دوره آزمایش مشاهده نشد. تفاوت معنی داری در وزن اولیه و نهایی در گروه‌های آزمایشی مختلف وجود نداشت ($P \geq 0.05$). علاوه بر این، مصرف ماده خشک، تولید شیر و تولید شیر تصحیح شده برای ۴ درصد چربی در بین بزهای تغذیه شده با جیره‌های مختلف مشابه بود (جدول ۲).

جدول (۲) عملکرد تولیدی (وزن بدن، تولید شیر، ترکیب شیر، مصرف ماده خشک و بازده مصرف خوراک) بزهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	SEM	جیره ^۱			عنوان
		۳	۲	۱	
۰/۱۴	۰/۰۵	۱/۴۹	۱/۴۸	۱/۴۶	مصرف ماده خشک (کیلوگرم در روز)
۰/۰۸	۰/۰۰۶	۱/۱۳	۱/۱۲	۱/۱۴	تولید شیر (کیلوگرم در روز)

۰/۱۲	۰/۰۲	۱/۱۳	۱/۱۸	۱/۲۲	FCM ^۲ ۴ درصد (کیلوگرم در روز)
ترکیبات شیر					
۰/۱۷	۰/۱۳	۴/۰۳	۴/۳۳	۴/۴۵	چربی (درصد)
۰/۱۴	۱/۴۴	۴۵/۶۲	۴۸/۵۳	۵۰/۸۱	چربی (گرم در روز)
۰/۴۵	۰/۰۵	۳/۳۸	۳/۴۹	۳/۳۹	پروتئین (درصد)
۰/۶۸	۰/۵۵	۳۸/۲۱	۳۹/۰۶	۳۸/۷	پروتئین (گرم در روز)
۰/۴۲	۰/۱۵	۹/۲۲	۹/۵۶	۹/۳	ماده جامد بدون چربی (درصد)
۰/۶۱	۱/۵۸	۱۰۴/۱۸	۱۰۷/۱۱	۱۰۵/۹۹	ماده جامد بدون چربی (گرم در روز)
۰/۶۳	۰/۱۱	۴/۸۹	۵/۰۷	۵/۰۱	لاکتوز (درصد)
۰/۶	۱/۳	۵۵/۲۴	۵۶/۷۴	۵۷/۲۱	لاکتوز (گرم در روز)
۰/۱۸	۰/۲۲	۱۳/۲۶	۱۳/۹	۱۳/۷۵	ماده خشک (درصد)
۰/۱۹	۲/۴۳	۱۴۹/۸	۱۵۵/۶۴	۱۵۶/۷۹	ماده خشک (گرم در روز)
وزن بدن (کیلوگرم)					
۰/۶۶	۱/۹۷	۴۶/۲۰	۴۸/۷۰	۴۶/۵۳	ابتدایی
۰/۴۴	۱/۸۴	۴۶/۵۰	۴۹/۷۳	۴۷	انتهای
بازده					
۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۸	تولید شیر / مصرف ماده خشک
۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۷۷	۰/۸۱	۰/۸۳	تولید شیر تصحیح شده بر اساس چربی / مصرف ماده خشک

۱. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁، ۲. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۳ گرم بتاگلوکان در روز، ۳. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۰/۶ گرم بتاگلوکان در روز + ۲/۴ گرم بنتونیت در روز.

۲. FCM شیر تصحیح شده بر اساس چربی

$$\{(\text{کیلوگرم چربی شیر} \times 15) + (\text{کیلوگرم شیر} \times 0.4)\} = \text{FCM} \quad \text{شیر تصحیح شده بر اساس چربی}$$

بر اساس آنالیز نتایج، جیره حاوی بتاگلوکان خالص و جیره حاوی بتاگلوکان و بنتونیت، سبب کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در میزان آفلاتوکسین M₁ شیر بزهای مورد مطالعه شدند (جدول ۳)؛ گرچه جیره حاوی بتاگلوکان و بنتونیت مقادیر سم را در مقایسه با جیره حاوی بتاگلوکان خالص، قدری بیشتر کاهش داد، این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نبود ($P \geq 0.05$).

جدول ۳. غلظت، ترشح و انتقال آفلاتوکسین M₁ شیر بزهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی روز چهاردهم

P-value	SEM	جیره ^۱			مورد
		۳	۲	۱	
					غلظت آفلاتوکسین ام ۱ (میکروگرم بر لیتر)
۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۲۳ ^b	۰/۲۴ ^b	۰/۴۳ ^a	روز چهاردهم
					ترشح آفلاتوکسین ام ۱ (میکروگرم در روز)
۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۲۶ ^b	۰/۲۷ ^b	۰/۴۹ ^a	روز چهاردهم
					درصد انتقال
۰/۰۰۱	۰/۰۶	۰/۶۲ ^b	۰/۶۴ ^b	۱/۱۴ ^a	روز چهاردهم

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار در سطح (P < ۰.۰۵) هستند.

۱. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁، ۲. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۳ گرم بتاگلوکان در روز، ۳. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۰/۶ گرم بتاگلوکان در روز + ۲/۴ گرم بنتونیت در روز.

غلظت گلوکز و مالون‌دی‌آلدئید پلاسما بین گروه‌های آزمایشی، تفاوتی نداشت (جدول ۴)؛ ولی غلظت آنزیم‌های کبدی آسپاراتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز و همچنین نیترژن اوره در پلاسما نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند (P < 0.05).

جدول ۴. فراسنجه‌های خونی (پلاسمایی) بزهای تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

P-value	SEM	جیره ^۱			مورد
		۳	۲	۱	
۰/۶	۴/۱۳	۶۵/۶۱	۵۹/۴۴	۶۰/۷۵	گلوکز
۰	۱/۴۱	۵۳/۱۱ ^b	۵۳/۳۴ ^b	۸۵/۸۵ ^a	آسپاراتات ترانس آمیناز
۰/۰۰۲	۰/۸۶	۱۹/۳۵ ^b	۱۹/۶۶ ^b	۲۳/۶۹ ^a	آلانین ترانس آمیناز
۰	۳۴/۲۹	۲۹۹ ^b	۳۰۶ ^b	۸۱۸ ^a	آلکالین فسفاتاز
۰/۰۰۲	۰/۲۹	۱۹/۳۸ ^b	۱۹/۵۳ ^b	۲۱/۲۶ ^a	نیترژن اوره خون
۰/۳	۰/۰۰۲	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۰۹	مالون‌دی‌آلدئید

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف دارای اختلاف معنی دار در سطح (P < ۰.۰۵) هستند.

۱. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁، ۲. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۳ گرم بتاگلوکان در روز، ۳. جیره پایه آلوده به ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم آفلاتوکسین B₁ + ۰/۶ گرم بتاگلوکان در روز + ۲/۴ گرم بنتونیت در روز.

بحث

عملکرد دام‌ها

تولید شیر و مصرف خوراک روزانه همانند مطالعات قبلی، تحت تأثیر افزودن سم به جیره غذایی بدون توجه به افزودن جاذب سم قرار نگرفت (Queiroz و همکاران، ۲۰۱۲؛ Wang و همکاران، ۲۰۱۹). این نتایج نشان می‌دهند که ورود آفلاتوکسین به بدن دام، به تنهایی یا همراه با جاذب‌های بتاگلوکان و بنتونیت بر عملکرد دام تأثیری نداشت و ممکن است نیاز به تغذیه برای مدت طولانی‌تری داشته باشند تا بتوان تفاوت محسوسی میان بزهای تغذیه شده با جیره‌های مختلف مشاهده نمود. ترکیب شیر در بین گروه‌های آزمایشی مشابه بود (Santos و همکاران، ۲۰۱۴) و هیچ تفاوت معنی‌داری در چربی، پروتئین، مواد جامد بدون چربی و لاکتوز شیر، به صورت درصد و گرم در روز، وجود نداشت ($P \geq 0.05$). داده‌های تحقیق حاضر با بسیاری از تحقیقات انجام شده که از محصولات مبتنی بر ساکارومایسس سرویزیه، به عنوان جاذب سم در خوراک گاوهای شیری استفاده نمودند، مطابقت دارد. لازم به ذکر است داده‌های محدودی در مورد ارزیابی اثرات آفلاتوکسین‌ها بر عملکرد بزها وجود دارد. Aazami و همکاران (۲۰۱۹)، هیچ تفاوتی در ترکیب شیر بزهای تغذیه شده با جیره غذایی شاهد در مقایسه با جیره غذایی حاوی ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم ماده خشک آفلاتوکسین B₁ همراه با ۳ گرم جاذب بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر نانویی گزارش نکردند. همچنین در مطالعه Rodrigues و همکاران (۲۰۱۹)، که بر روی گاوهای شیری به مدت ۲۱ روز با استفاده از ۲/۸ میلی‌گرم آفلاتوکسین و ۱۰۰ گرم از جاذب‌های توکسی‌نیل (مواد معدنی رسی و مخمر غیرفعال ساکارومایسس سرویزیه) و یونیک‌پلاس (مواد معدنی رسی با جاذب بالا، مخمر غیرفعال ساکارومایسس سرویزیه، اجزای گیاهی و آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد نگهدارنده) انجام شد، در عملکرد دام و ترکیبات شیر تفاوتی مشاهده نشد. Xiong و همکاران (۲۰۱۵)، نیز از جیره غذایی آلوده به ۲۰ یا ۴۰ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در کیلوگرم ماده خشک به همراه ۰/۲۵ درصد جاذب سولیس‌موس (مخلوطی از سدیم مونتموریلونیت، مخمر زنده، اولیگوساکارید مانان و ویتامین ای) به منظور تغذیه گاوهای شیری استفاده نمودند. این محققان اظهار کردند، هیچگونه تفاوتی در تولید شیر و ترکیب شیر ایجاد نگردید. در مطالعه Gonçalves و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی گاوگیری، استفاده از ۴۸۰ میکروگرم در روز آفلاتوکسین B₁، در طول ۱۰ روز همراه با ۲۰ گرم جاذب تجاری دارای ساکارومایسس سرویزیه هیچ تغییری در تولید و ترکیبات شیر به همراه نداشت؛ همچنین در مطالعه Firmin و همکاران (۲۰۱۱)، بر روی میش‌های اواسط شیردهی در دو دوره کوتاه مدت (۳ روز)

و طولانی مدت (۲۱ روز) با ۲ گرم عصاره دیواره سلولی مخمر در کیلوگرم خوراک مصرفی، هیچ تفاوت معنی داری در مصرف خوراک، تولید شیر، ترکیب شیر یا وزن بدن حاصل نشد.

برخلاف مطالعات فوق، Huang و همکاران (۲۰۱۷)، نشان دادند که استفاده از جیره آلوده به ۵۰ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در کیلوگرم ماده خشک مصرفی در بزهای شیری، کاهش معنی داری را در مصرف ماده خشک و تولید شیر نسبت به گروه شاهد به دنبال داشت ($P < 0.05$).

در تحقیق دیگری، با استفاده از ۷۵ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ به ازای هر کیلوگرم ماده خشک مصرفی به همراه ۲۰۰ گرم جاذب بنتونیت سدیم و یا ۳۵ گرم جاذب ترکیبی (محصول تخمیر ساکارومایسس سرویزیه و بنتونیت سدیم) در خوراک گاوهای اوایل دوره شیردهی، هرچند میانگین مصرف خوراک در طول دوره آزمایش از نظر آماری تفاوتی نداشت؛ جاذب ترکیبی در حفظ تولید شیر در طول دوره مورد آزمایش بهتر از جاذب بنتونیت سدیم به تنهایی عمل کرد. محققان عنوان نمودند بهبود تولید شیر در گروه تغذیه شده با جاذب ترکیبی ممکن است به این دلیل باشد که محصولات تخمیر ساکارومایسس سرویزیه می تواند تخمیر شکمبه ای و قابلیت هضم ماده خشک جیره را بهبود بخشد و از اثرات منفی آفلاتوکسین B₁ بر روی این فاکتورها جلوگیری کند (Jiang و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین Kourousekos و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش دادند که جیره غذایی آلوده به ۵۰ یا ۱۰۰ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در روز به مدت ۳۵ روز، تأثیر منفی بر تولید شیر بزهای یونانی که در اواسط شیردهی بودند، داشت؛ در حالی که پروتئین و لاکتوز شیر و وزن بدن بدون تغییر باقی ماند. همچنین یک وابستگی منفی بین مقدار آفلاتوکسین B₁ مصرف شده و چربی شیر تولیدی گزارش نمودند؛ تغییرات در تولید و ترکیب شیر و عملکرد دام در آزمایشات مختلف می تواند به نژاد و جنس و همچنین مدت آزمایش همراه با میزان سم مصرفی و روزهای شیردهی دام بستگی داشته باشد.

شواهد فوق نشان می دهد محصولات استخراجی از دیواره سلولی مخمر (گلوکومانان یا MOS، بتاگلوکان) در ترکیب با بنتونیت معیارهای لازم را برای یک راه حل ایمن و مقرون صرفه جهت حذف آلودگی با آفلاتوکسین B₁ دارا هستند (Abdelhameed و Rabbo، ۲۰۲۲).

محتوای آفلاتوکسین M₁ شیر

همان طور که در بخش نتایج اشاره شد، جیره حاوی بتاگلوکان خالص و جیره حاوی بتاگلوکان و بنتونیت، سبب کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در میزان آفلاتوکسین M₁ شیر بزهای مورد مطالعه شدند. بنتونیت از لایه های آلومینیوم هشت وجهی و سیلیکون چهار وجهی با اتم های اکسیژن تشکیل شده است که دارای سطح تماس زیاد و ظرفیت تبادل کاتیونی بالایی است و بنابراین قادر است مواد آلی را با نفوذ کاتیون ها و مولکول های قطبی جذب

کند؛ به همین علت اثربخشی زیادی در جذب آفلاتوکسین نشان می‌دهد (Kong و همکاران، ۲۰۱۴). از سویی دیگر بخش‌های هیدروکسیلی، کتونی، لاکتونی و حلقه‌های قطبی آفلاتوکسین B₁ و واحدهای گلوکوزی گلوکان‌ها در تشکیل پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی با یکدیگر مشارکت دارند و مسلماً هر چه واحدهای گلوکوزی بیشتری از گلوکان‌ها (به ویژه بتاگلوکان) در معرض قرار گیرند، توانایی بیشتری در جذب آفلاتوکسین B₁ خواهند داشت (Aazami و همکاران، ۲۰۱۸)؛ علاوه بر این ساختار مارپیچی بتاگلوکان مانند یک اسفنج بیولوژیک عمل نموده، سموم قارچی را به دام می‌اندازد (Yiannikouris و همکاران، ۲۰۰۶)

فراسنجه‌های خونی

در مسمومیت با آفلاتوکسین، فعالیت آنزیم‌های خونی به‌طور کلی به‌دلیل آسیب سلول‌های کبدی افزایش می‌یابد؛ بنابراین، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز ۲۵ ppb آفلاتوکسین B₁، سبب ایجاد آسیب قابل توجه کبدی در بزهای شیری نمی‌گردد. در مورد بررسی اثرات آفلاتوکسین B₁ بر پارامترهای خونی بزهای شیری داده‌های محدودی موجود می‌باشد.

در مطالعه Aazami و همکاران (۲۰۱۹)، دریافتند که در جیره آلوده به ۲۵ میکروگرم آفلاتوکسین B₁، کیلوگرم ماده خشک جیره مصرفی بزهای شیری، به همراه جاذب بتاگلوکان و دیواره سلولی مخمر هیچ تغییری در غلظت آنزیم‌های سرمی کبدی مشاهده نگردید. همچنین در مطالعه Mehany و Shams (۲۰۱۹)، بر روی گاوهای شیری با استفاده از جاذب بنتونیت و زئولیت، هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت آنزیم‌های کبدی و اوره نسبت به گروه شاهد، مشاهده نگردید. Kourousekos و همکاران، (۲۰۱۲) نیز گزارش دادند که هیچ تفاوت معنی‌داری بین آلانین ترانس آمیناز بزهای شیری یونانی که با ۵۰ یا ۱۰۰ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ به مدت ۳۵ روز تغذیه شده بودند، وجود نداشت. به طور مشابه، Battacone و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که تغذیه میش‌های شیرده با ۱/۱۳، ۲/۳۰ و ۵/۰۳ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در کیلوگرم ماده خشک مصرفی هیچ تأثیری بر متابولیت‌های سرمی نداشت. این درحالی است که Omer و همکاران، (۲۰۱۸) که به مدت ۱۰ روز از ۱ میلی‌گرم آفلاتوکسین B₁ به ازای هر کیلوگرم خوراک مصرفی به همراه ۱ گرم جاذب آلومینوسیلیکات سدیم کلسیم هیدراته، ۲/۴ گرم بتاگلوکان‌ها و مانان الیگوساکارید (دیواره سلولی مخمر) در تغذیه گوساله‌ها استفاده نمودند کاهش سرمی آنزیم‌های کبدی و اوره خون را گزارش کردند.

برخی از مطالعات نشان می‌دهد که آفلاتوکسین B₁، اثر وابسته به دوز بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون دارد به طوری که مقادیر نسبتاً کم آفلاتوکسین B₁ هیچ تأثیری بر بیشتر شاخص‌های بیوشیمیایی خون ندارد. به طور مثال، در یک آزمایش ۷ روزه، تغذیه میش‌های شیری با خوراک آلوده به دوزهای ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میکروگرم آفلاتوکسین B₁ در روز، تغییرات آماری معنی‌داری در هیچکدام از فراسنجه‌های خونی ایجاد نکرد و مقادیر در طول دوره آزمایش در محدوده فیزیولوژیکی بود (Battacone و همکاران، ۲۰۰۵). این درحالی است که در آزمایشی که پیش از آن توسط محققان نام برده انجام شده بود، در اثر مسمومیت طولانی مدت (۱۴ روز) با سم، فعالیت آلانین ترانس آمیناز به طور قابل توجهی در گوسفندانی که ۱۲۸ میکروگرم در روز آفلاتوکسین B₁ تغذیه شده بودند، افزایش یافت (Battacone و همکاران، ۲۰۰۳).

در تحقیق حاضر، سطح گلوکز خون بزهای تغذیه شده با جیره حاوی جاذب نسبت به گروه شاهد تفاوتی نداشت که با نتایج برخی محققان همسو بود (Huang و همکاران، ۲۰۱۷)؛ این درحالی است که در آزمایش Salem و همکاران، (۲۰۰۱)، افزایش گلوکز سرمی خون در گروه تغذیه شده با جاذب سم گزارش شد. محققان عنوان نمودند احتمالاً ترکیبات شیر به دلیل افزایش فشار اسمزی در فولیکول پستان تغییر کرده و باعث افزایش جریان آب همراه با گلوکز از خون به فولیکول پستان شده باشد و این دلیل افزایش گلوکز خون است.

همچنین نتایج مطالعه Mehany و Shams، (۲۰۱۹) نشان داد که این افزایش گلوکز ممکن است به انتشار میزان هورمون‌های تیروئید (T₃) اشاره داشته باشد که گلیکوژن را به گلوکز اکسید می‌کند و به عبارتی هورمون تیروئید با تأثیر بر رشد سلول‌های بتا پانکراس و متابولیسم گلوکز از طریق چندین اندام مانند: کبد، دستگاه گوارش، پانکراس، بافت چربی، ماهیچه‌های اسکلتی و سیستم عصبی مرکزی، هموستاز گلوکز را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

مایکوتوکسین‌ها محرک‌های مهم استرس اکسیداتیو هستند و میزان کمی مایکوتوکسین می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را تحریک کند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را از بین ببرد. مالون‌دی‌آلدئید، یک محصول پراکسیداسیون لیپیدی است که معمولاً نشانگر استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود (Wang و همکاران، ۲۰۱۹)؛ با توجه به عدم تغییر سطح مالون‌دی‌آلدئید خون در سرم بزهای تغذیه شده با جیره‌های مختلف سطح آلودگی تغذیه با آفلاتوکسین B₁ برای بزهای شیری، استرس زا نبوده است.

نتیجه‌گیری

بر اساس تحقیقات انجام شده، تاکنون در مطالعات پیشین استفاده از بتاگلوکان استخراج شده از مخمر نانوایی (ساکارومایسس سرویزیه) به عنوان جاذب سم در ترکیب با سایر جاذب‌های آفلاتوکسین B₁، مورد بررسی قرار نگرفته است و غالباً بتاگلوکان به عنوان محرک سیستم ایمنی و جاذب سم در حیوانات تک‌معدده‌ای و به‌صورت تک، در جیره نشخوارکنندگان به کار برده شده است. نتایج این تحقیق نشان داند که اثرات استفاده از جاذب ترکیبی متشکل از بتاگلوکان و بنتونیت (با نسبت ۲۰ به ۸۰) در مقایسه با بتاگلوکان خالص موجب کاهش بیشتر انتقال آفلاتوکسین از خوراک به شیر می‌شود؛ از این جهت به نظر می‌رسد که جاذب ترکیبی (بتاگلوکان مخمر نانوایی و بنتونیت) این ظرفیت را دارد که در مطالعات آینده به عنوان جاذب عملکردی تر و مقرون‌به‌صرفه‌تر آفلاتوکسین‌ها نسبت به ترکیبات تک جزئی در جیره دام‌های شیری مورد بررسی و استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

از گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند و پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد به جهت حمایت و همکاری‌های شایسته برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Aazami, M. H., Nasri, M. H. F., Mojtahedi, M., & Mohammadi, S. R. (2018). In vitro aflatoxin B1 binding by the cell wall and (1→3)-β-D-glucan of Baker's yeast. *Journal of food protection*, 81(4), 670-676.
- Aazami, M. H., Nasri, M. H. F., Mojtahedi, M., & Battacone, G. (2019). Effect of yeast cell wall and (1→3)-β-D-glucan on transfer of aflatoxin from feed to milk in Saanen dairy goats. *Animal feed science and technology*, 254, 114191.
- Abdelhameed, O., & Rabbo, B. A. (2022). A Review on Management Considerations against Mycotoxins in Dairy Cattle Ration. *Journal Infect Dis Epidemiol Res*, 1(1), 1-6.
- Battacone, G., Nudda, A., Cannas, A., Borlino, A. C., Bomboi, G., & Pulina, G. (2003). Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *Journal of Dairy Science*, 86(8), 2667-2675.
- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Pascale, M., Nicolussi, P., & Pulina, G. (2005). Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88(9), 3063-3069.

- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Mazzette, A., & Pulina, G. (2009). The transfer of aflatoxin M1 in milk of ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. *Journal of Dairy Science*, 92(10), 4997-5004.
- Battacone, G., Nudda, A., Rattu, S. P. G., Decandia, M., & Pulina, G. (2012). Excretion pattern of aflatoxin M1 in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B1. *Journal of dairy science*, 95(5), 2656-2661.
- Di Gregorio, M. C., Neeff, D. V. D., Jager, A. V., Corassin, C. H., Carão, Á. C. D. P., Albuquerque, R. D., ... & Oliveira, C. A. F. (2014). Mineral adsorbents for prevention of mycotoxins in animal feeds. *Toxin Reviews*, 33(3), 125-135.
- Firmin, S., Morgavi, D. P., Yiannikouris, A., & Boudra, H. (2011). Effectiveness of modified yeast cell wall extracts to reduce aflatoxin B1 absorption in dairy ewes. *Journal of dairy science*, 94(11), 5611-5619.
- Gonçalves, B. L., Gonçalves, J. L., Rosim, R. E., Cappato, L. P., Cruz, A. G. D., Oliveira, C. A. F. D., & Corassin, C. H. (2017). Effects of different sources of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition, and aflatoxin M1 excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B1. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5701-5708.
- Huang, S., Zheng, N., Fan, C., Cheng, M., Wang, S., Jabar, A., ... & Cheng, J. (2017). Effects of aflatoxin B1 combined with ochratoxin A and/or zearalenone on metabolism, immune function, and antioxidant status in lactating dairy goats. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 31(4), 505.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2022). Standard No. 5925: Maximum tolerated level of mycotoxins in food and feed.
- Jantaramanant, P., Sermwittayawong, D., Noipha, K., Hutadilok-Towatana, N., & Wititsuwannakul, R. (2014). [Beta]-glucan-containing polysaccharide extract from the grey oyster mushroom [*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing.] stimulates glucose uptake by the L6 myotubes. *International Food Research Journal*, 21(2), 779.
- Jiang, Y., Ogunade, I. M., Kim, D. H., Li, X., Pech-Cervantes, A. A., Arriola, K. G., ... & Adesogan, A. T. (2018). Effect of adding clay with or without a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on the health and performance of lactating dairy cows challenged with dietary aflatoxin B1. *Journal of dairy science*, 101(4), 3008-3020.
- Kolosova, A., Stroka, J. 2011. Substances for reduction of the contamination of feed by mycotoxins. A review. *World Mycotoxin J.* 4, 225-256.
- Kong, C., Shin, S.Y., Kim, B.G. 2014. Evaluation of mycotoxin sequestering agents for aflatoxin and deoxynivalenol: an in vitro approach. *SpringerPlus*, 3,346-351.

- Kourousekos, G. D., Theodosiadou, E., Belibasaki, S., Deligiannis, K., Koukoulas, T., Zoulfos, K., & Lymberopoulos, A. G. (2012). Effects of aflatoxin B1 administration on Greek indigenous goats' milk. *International dairy journal*, 24(2), 123-129.
- Mehany, A. A., & Shams, A. S. E. (2019). Effect of Toxin Binder on Productive Performance of Lactating Friesian Cows. *Journal of Animal and Poultry Production*, 10(12), 405-413.
- Mohaghegh, A., Chamani, M., Shivazad, M., Sadeghi, A. A., & Afzali, N. (2017). Effect of esterified glucomannan on broilers exposed to natural mycotoxin-contaminated diets. *Journal of applied animal research*, 45(1), 285-291.
- Nguyen, T., Flint, S., & Palmer, J. (2020). Control of aflatoxin M1 in milk by novel methods: A review. *Food chemistry*, 311, 125984.
- Omer, N., Khan, J. A., Khan, M. S., Omer, M. O., Avais, M., & Sohail, M. L. (2018). Efficacy of b-glucans and manna oligosaccharides (Yeast Cell Wall) and hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS) in preventing aflatoxicosis in bovine calves. *Indian journal of animal research*, 52(6), 887-892.
- Pavlek, Z., Bosnir, J., Kuharic, Z., Racz, A., Jurak, I., Lasic, D., ... & Frece, J. (2022). The influence of binding of selected mycotoxin deactivators and aflatoxin M1 on the content of selected micronutrients in milk. *Processes*, 10(11), 2431.
- Queiroz, O. C. M., Han, J. H., Staples, C. R., & Adesogan, A. T. (2012). Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B1-contaminated diet. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5901-5908.
- Rodrigues, R. O., Ledoux, D. R., Rottinghaus, G. E., Borutova, R., Averkieva, O., & McFadden, T. B. (2019). Feed additives containing sequestrant clay minerals and inactivated yeast reduce aflatoxin excretion in milk of dairy cows. *Journal of dairy science*, 102(7), 6614-6623.
- Salem, F. A. F., El-Amary, H., & Hassanin, S. H. (2001). Effect of bentonite supplementation on nutrients digestibility; rumen fermentation; some blood physiological parameters and performance of growing lambs. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 4, 179-191.
- Santos, R. R., & Fink-Gremmels, J. (2014). Mycotoxin syndrome in dairy cattle: Characterisation and intervention results. *World Mycotoxin Journal*, 7(3), 357-366.
- Savari, M., Banadaki, M. D., Rezayazdi, K., & Javan-Nikkhah, M. (2013). A comparison of mineral adsorbents zeolite and Bentonite vs. organic adsorbent (Mycosorb) and mineral-organic adsorbent (Biotox) as their regardstheir potential of adsorbing aflatoxin B1.
- Ullah, H. A., Durrani, A. Z., Ijaz, M., Javeed, A., Sadique, U., Hassan, Z. U., ... & Khattak, I. (2016). Dietary mycotoxins binders: A strategy to reduce aflatoxin m1 residues and improve milk

quality of lactating Beetal goats. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 11, 305-309.

Vila Donat, P., Marín Sillué, S., Sanchís Almenar, V., & Ramos Girona, A. J. (2017). Evaluación de nuevos adsorbentes multimicotoxínicos basados en bentonitas para alimentación animal.

Wang, Q., Zhang, Y., Zheng, N., Guo, L., Song, X., Zhao, S., & Wang, J. (2019). Biological system responses of dairy cows to aflatoxin B1 exposure revealed with metabolomic changes in multiple biofluids. *Toxins*, 11(2), 77.

Wielogórska, E., MacDonald, S., & Elliott, C. T. (2016). A review of the efficacy of mycotoxin detoxifying agents used in feed in light of changing global environment and legislation. *World Mycotoxin Journal*, 9(3), 419-434.

Xiong, J. L., Wang, Y. M., Nennich, T. D., Li, Y., & Liu, J. X. (2015). Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2545-2554.

Yiannikouris, A., André, G., Poughon, L., François, J., Dussap, C. G., Jeminet, G., ... & Jouany, J. P. (2006). Chemical and conformational study of the interactions involved in mycotoxin complexation with β -D-glucans. *Biomacromolecules*, 7(4), 1147-1155.