دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۴، صفحه ۷۱۰ – ۷۰۱ (مهر و آبان ۱۳۹۴)

ISMJ 2015;18(4): 701-710

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

کاهش زیستی آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم با استفاده از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*

مهسا عظیمی [۱]، عیسی غلامپورعزیزی [۲]، سمانه روحی [۳و۴]، فاطمه زابلی [۵*]

[۱] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل
[۲] گروه قارچ‌شناسی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل
[۳] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج
[۴] مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی و گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج
[۵] گروه زیست‌شناسی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل

(دریافت مقاله: ۹۳/۲/۲۰- پذیرش مقاله: ۹۳/۵/۲۱)

چکیده

زمینه: مطمئن‌ترین روش کاهش مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی آلوده به آن استفاده از گونه‌های خاصی از میکروب‌ها است. هدف از این مطالعه ارزیابی کاهش زیستی آفلاتوکسین B_1 توسط مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در نمونه‌های آرد گندم جمع‌آوری شده در شهرستان چالوس (استان مازندران، شمال ایران) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۲۲ نمونه از آرد گندم از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین B_1 به روش الایزا اندازه‌گیری و سپس مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به آرد گندم اولیه افزوده شد. پس از ۴۸ ساعت برای بار دوم میزان سم به روش الایزا اندازه‌گیری گردید. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۱۹ و آزمون آماری تی تست استفاده شد.

یافته‌ها: طبق نتایج به‌دست آمده تمامی ۲۲ نمونه از آرد گندم آلوده به آفلاتوکسین B_1 بودند. بیشترین و کمترین غلظت این سم در آرد گندم اولیه یا خام به‌ترتیب ۱۰/۶ و ۱/۱ نانوگرم بر گرم بود. پس از افزودن مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به آرد گندم مقدار این سم کاهش یافت و به‌ترتیب ۹/۱ و ۰/۵ نانوگرم بر گرم تعیین شد.

نتیجه‌گیری: اثر مهارکنندگی *ساکارومایسس سرویزیه* و کاهش دادن آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم در این تحقیق ثابت شد. بنابراین می‌توان امیدوار بود از مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به‌عنوان عامل خنثی کننده این سم در آرد می‌توان استفاده نمود. مصرف محصولات آلوده به آفلاتوکسین B_1 سلامت مصرف کنندگان را به مخاطره می‌اندازد، لذا کاهش این سم در مواد غذایی می‌بایست مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین B_1، *ساکارومایسس سرویزیه*، آرد گندم، الایزا

* آمل، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

Email: microbiol_sci@yahoo.com

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه حاصل از قارچ‌های رشته‌ای مختلف هستند که موجب از بین رفتن ارزش غذایی شده و با اثرهای بیولوژیک فراوان و ایجاد بیماری‌های حاد و مزمن مختلف در انسان و حیوان ایجاد خطر می‌کنند (۳-۱).

اکثر مایکوتوکسین‌ها توسط سه جنس معروف *آسپرژیلوس*، *فوزاریوم* و *پنیسیلیوم* در انواع غلات مانند: ذرت، پنبه، سویا، برنج و گندم تولید می‌شوند (۶-۴). *آسپرژیلوس فلاووس*، آفلاتوکسین‌های B_1 و B۲ و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، آفلاتوکسین‌های B_1، B_2، G_1 و G_2 را تولید می‌کند (۴ و ۵).

آفلاتوکسین‌ها در انسان‌ها و حیوانات با اتصال به DNA و جهش‌زایی در ژن P53 (ژن باز دارنده تومور) باعث ابتلا به سرطان کبد و اختلال در سیستم ایمنی می‌شوند. آژانس پژوهشی بین‌المللی سرطان آفلاتوکسین‌ها را در گروه ۱ ترکیبات سرطان‌زا قرار داده است (۶ و ۷). استاندارد جهانی حد مجاز ۲۰-۱ نانوگرم بر گرم و استاندارد ایران حد مجاز ۵ نانوگرم بر گرم (=ppb پی‌پی‌بی) را برای آفلاتوکسین B_1 در مواد غذایی مورد مصرف انسان تعیین نموده‌اند (۸ و ۹). جهت کاهش میزان این سم در مواد غذایی از روش‌های مختلف شیمیایی، فیزیکی و میکروبی استفاده می‌شود. گونه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک، پربیوتیک‌ها، انواع قارچ‌ها و گونه مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* از جمله میکروب‌های مورد استفاده در کاهش مایکوتوکسین‌ها به شمار می‌روند (۱۰). از این میان مخمرها دسته‌ای از یوکاریوت‌های تک سلولی و پروبیوتیک می‌باشند. پروبیوتیک‌ها ارگانیسم‌هایی زنده هستند که باعث ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می‌شوند و معروف‌ترین آن‌ها *ساکارومایسس سرویزیه* است (۱۳-۱۱). این مخمر دارای آنزیم‌های تجزیه کننده مانند استیل ترانسفراز بوده و به این ترتیب در ساختار این سم تغییر به‌وجود می‌آورد و از خاصیت سمی آن می‌کاهند. همچنین *ساکارومایسس سرویزیه* به علت حضور عامل باند کننده بتا گلوکان و مانان در دیواره سلولی خود قادر به اتصال مولکول‌های این سم به دیواره سلولی خود و بی‌حرکت شدن (کلاته کردن) آن می‌شود و میزان آن را در بدن کاهش می‌دهد (۱۶-۱۴).

مطالعات مختلف حضور و کاهش میزان مایکوتوکسین‌ها را در مواد غذایی را به روش‌های مختلف توسط میکروارگانیسم نشان داده است. سعیدی اصل و صفری در سال ۲۰۱۰ در ایران در نمونه‌های پودر ماهی کیلکا به روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا High Performance Liquid Chromatography(HPLC) میزان آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 را قبل و بعد از تأثیر مخمر *ساکارومیسس* اندازه‌گیری کرده و نشان دادند که توانایی کاهش آفلاتوکسین‌ها توسط مخمر *ساکارومیسس سرویزیه* برای آفلاتوکسین B_1 ۹۱-۸۵ درصد و برای آفلاتوکسین B_2 ۸۷/۷۰-۸۷/۰۵ درصد بود (۱۷).

حمیدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در ایران نشان دادند که *لاکتوباسیلوس پنتوسوس* و *لاکتوباسیلوس برویس* به‌ترتیب توانایی جذب و جداسازی ۱۷/۴ و ۳۴/۷ درصد از آفلاتوکسین B_1 موجود در نمونه‌های مواد غذایی، بالینی و محیطی را داشتند. میزان آفلاتوکسین B۱ قبل و بعد از تأثیر میکروبی در تحقیق حمیدی به روش الایزا Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELSA) تعیین شد (۱۸). همچنین در مطالعه

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

دیگری که در ایران توسط کریمی دستجرد و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد، کروماتوگرافی مایع با فشار بالا جهت تعیین میزان کاهش آفلاتوکسین M_1 توسط لاکتوباسیلوس‌ها در شیر مورد استفاده قرار گرفت و به این ترتیب دامنه کاهش آفلاتوکسین M_1 ۵۱/۲۶–۴۷/۶۵ درصد تعیین گردید (۱۶). غلامپور عزیزی و روحی در سال ۲۰۱۳ در ایران به روش الایزا نشان دادند که از ۳۰ نمونه کلوچه تهیه شده از آرد گندم، ۷/۹ درصد به آفلاتوکسین توتال آلوده بودند (۱۹). گندم و محصولات آن از مهم‌ترین مواد غذایی مورد مصرف در ایران و جهان می‌باشند و با توجه به شرایط آب و هوایی معتدل و مرطوب استان مازندران که برای رشد قارچ مناسب است، ارزیابی و کاهش مایکوتوکسین‌ها در این منطقه ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق تعیین میزان کاهش آفلاتوکسین B۱ در نمونه‌های آرد گندم با استفاده از روش الایزا در حضور مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

در این مطالعه ۲۲ نمونه از آرد گندم به‌طور تصادفی در طی سه هفته در فصل بهار و در ماه خرداد در سال ۱۳۹۱ از ۲۲ نانوایی (با کسب اجازه از صاحبان نانوایی‌ها) در شهرستان چالوس (شمال ایران، استان مازندران) جمع‌آوری شد و از نظر وجود آفلاتوکسین B_1 مورد سنجش قرار گرفت.

عصاره‌گیری

در ابتدا ۵ گرم از هر نمونه آرد گندم به‌وسیله ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و داخل ۲۲ ارلن به‌طور جداگانه ریخته شد. در مرحله بعد ۲۵ سی‌سی متانول ۷۰ درصد به ارلن‌های حاوی آرد اضافه و به‌مدت ۳ دقیقه یا بیشتر به‌وسیله شیکر تکان داده تا به خوبی مخلوط شد. سپس محلول به‌دست آمده با کاغذ صافی (واتمن ۱) صاف و عصاره جدا گردید (۱۹).

اصول تست الایزا

با استفاده از کیت تشخیصی الایزای رقابتی آگراکوآنت Agraquant (تهیه شده از شرکت رومر Romer سنگاپور)، میزان کمی آفلاتوکسین B_1 در نمونه مطابق با روش ذکر شده در کیت مورد سنجش قرار گرفت. در اولین مرحله ۲۰۰ میکرولیتر کونژوگه آنزیمی به چاهک‌های که به‌وسیله آنتی‌بادی پوشیده نشده بودند اضافه و سپس ۱۰۰ میکرولیتر µl از هر محلول استاندارد و عصاره نمونه به چاهک‌های مذکور اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط فوق برداشته و به چاهک‌هایی که به‌وسیله آنتی‌بادی پوشیده شده بودند انتقال داده و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. آفلاتوکسین B_1 در نمونه و استانداردهای کنترل با کونژوگه آنزیمی جهت اتصال به آنتی‌بادی در فاز جامد رقابت کردند. بعد از مرحله شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای آنزیمی به هر چاهک اضافه و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در نتیجه رنگ آبی در چاهک‌ها مشاهده گردید. غلظت رنگ با غلظت آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌ها و استانداردها نسبت عکس دارد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به چاهک‌ها اضافه و رنگ آبی به زرد تبدیل شد. جذب چاهک‌ها در طول موج اولیه ۴۵۰ نانومتر و ثانویه ۶۳۰ نانومتر توسط یک خوانشگر الایزا خوانده شد. غلظت نمونه‌ها در مقایسه با غلظت استانداردها و جذب با استفاده از منحنی استاندارد به‌دست آمد. اطلاعات به‌وسیله آزمون تی تست t-test و نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

کشت مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*

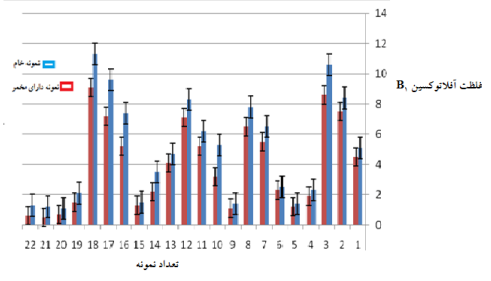
محیط کشت سابارو دکستروز آگار با توجه به دستورالعمل شرکت مربوطه (Merk، آلمان) تهیه و در اتوکلاو برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به‌صورت آمپول لیوفیلیزه تهیه و آمپول روی تنظیف قرار گرفت. در محلی که پنبه درون آمپول قرار داشت الکل ریخته شد. روی آن را با قلم الماس خط انداخته و دوباره روی همان قسمت الکل ریخته و با تنظیف خشک شد. این کار مانع از کشیده شدن الکل به داخل آمپول هنگام شکسته شدن خلا می‌شود. با فشار دست آمپول از محل خراش شکسته و با استفاده از پنس استریل پنبه درون آمپول خارج شد. با پیپت پاستور استریل ۰/۳ تا ۰/۴ میلی‌لیتر از محلول استریل به ماده خشک درون آمپول اضافه و مخلوط شد تا به شکل سوسپانسیون یکنواختی در آید. چند قطره از سوسپانسیون روی پلیت حاوی محیط سابارو دکستروز آگار به‌صورت خطی کشت داده شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید.

افزودن مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به آرد گندم

در این مرحله تعداد ۲۲ ارلن تهیه و در هر کدام ۹۷ سی‌سی آب مقطر جوشیده و ۳ گرم آلژینات سدیم ریخته و مخلوط شد. مقداری از مخمر رشد یافته در لوله حاوی آب مقطر ریخته و مخلوط شد. سپس مخلوط مورد نظر به ارلن‌های حاوی آلژینات و آب مقطر اضافه شد. سپس کربنات کلسیم ۰/۲ مولار (به ازای ۱ لیتر۱۰ سی‌سی) به آن اضافه شد تا اینکه به شکل رشته‌های ژله‌ای سفت در آید. در مرحله بعد ۵۰ سی‌سی از محلول به‌دست آمده را به عصاره هر کدام از نمونه‌های آرد افزوده و سپس سر آن‌ها با پارافیلم بسته و تکان داده شد. بعد از ۴۸ ساعت به نمونه‌ها متانول اضافه و از صافی عبور داده شد.در انتها برای بار دوم مقدار آفلاتوکسین B_1 به روش الایزا سنجیده شد (۱۰).

یافته‌ها

نتیجه مطالعه ما نشان داد که همه ۲۲ نمونه از آرد گندم مورد بررسی آلوده به آفلاتوکسین B_1 بودند. بیشترین و کمترین غلظت آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم خام (آرد گندم اولیه بدون مخمر) مورد بررسی به ترتیب ۱۰/۶ و ۱/۱ نانوگرم بر گرم بود. بعد از تأثیر مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به آرد گندم بیشترین و کمترین غلظت سم به‌ترتیب ۹/۱ و ۰/۵ نانوگرم بر گرم تعیین شد. همچنین بیشترین و کمترین درصد کاهش میزان این سم به‌ترتیب ۵۸/۳۳ و ۸ درصد ارزیابی شد (نمودار ۱، جدول ۱).



نمودار ۱) مقایسه کاهش غلظت آفلاتوکسین B_1 قبل و بعد افزودن مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به نمونه‌های آرد گندم (محور عمودی: غلظت آفلاتوکسین B_1 (نانوگرم بر گرم) در نمونه‌های خام و نمونه‌های حاوی مخمر، محور افقی: تعداد نمونه)

نتایج حاصل از آزمون تی تست نیز نشان داد که بین میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم اولیه یا خام و کاهش آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم حاوی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* رابطه معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۵$). بنابراین نتیجه این آزمون یک خروجی است که ضریب همبستگی و سطح معنی‌داری را ارائه می‌دهد. ضریب همبستگی برابر با ۰/۹۵ و سطح

معنی‌داری برابر با ۰/۰۰ به‌دست آمد که کمتر از ۰/۰۵ است و این بدان معنی است که فرض صفر رد می‌شود. در نتیجه بین میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم اولیه که بدون حضور مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بود و کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم حاوی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱) غلظت آفلاتوکسین B_1 (نانوگرم بر گرم) قبل و بعد افزودن مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* به نمونه‌های آرد گندم

تعداد نمونه	میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم خام فاقد مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*	میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم حاوی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*	درصد کاهش میزان آفلاتوکسین B_1
۱	۵/۱	۴/۵	۱۱/۷۶
۲	۸/۴	۷/۵	۱۰/۷۱
۳	۱۰/۶	۸/۶	۱۸/۸۷
۴	۲/۳	۱/۹	۱۷/۳۹
۵	۱/۴	۱/۲	۱۴/۲۹
۶	۲/۵	۲/۳	۸
۷	۶/۵	۵/۵	۱۵/۳۸
۸	۷/۸	۶/۵	۱۶/۶۷
۹	۱/۴	۱/۱	۲۱/۴۳
۱۰	۵/۳	۳/۲	۳۹/۶۲
۱۱	۶/۲	۵/۲	۱۶/۱۳
۱۲	۸/۳	۷/۱	۱۴/۴۶
۱۳	۴/۷	۱/۴	۱۲/۷۷
۱۴	۳/۵	۲/۲	۱۴/۳۷
۱۵	۱/۵	۱/۳	۱۳/۳۳
۱۶	۷/۴	۵/۲	۲۹/۷۳
۱۷	۹/۶	۷/۲	۲۵
۱۸	۱۱/۳	۹/۱	۱۹/۴۷
۱۹	۱/۲	۱/۵	۲۸/۵۷
۲۰	۱/۱	۰/۷	۳۶/۳۶
۲۱	۱/۲	۰/۵	۵۸/۳۳
۲۲	۱/۳	۰/۶	۵۳/۸۴

جدول ۲) نتایج حاصل از آزمون تی تست برای مقایسه بین آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌های خام و حاوی مخمر در آرد گندم

تعداد نمونه	میانگین	انحراف از معیار	میانگین دو متغیر	انحراف از	فاصله اطمینان ۹۵٪		T	مقدار P
					بالاترین	پایین ترین		
۲۲	۱/۰۲	۰/۷۲	۰/۱۵		۱/۳۴	۰/۷۰	۴۱	۶/۶۱

*میانگین: Mean، انحراف از معیار: Standard. Deviation: انحراف از میانگین دو متغیر: Standard. Error Mean، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: 95% Confidence Interval of the Difference: بالاترین: Upper: پایین‌ترین: Lower، درجه آزادی: df: Degrees of Freedom ، t: شاخص آماری تی تست، p-مقدار: Probability Value :p-value

بحث

آفلاتوکسین‌ها سموم قارچی هستند و توسط گروهی از قارچ‌ها به ویژه جنس *آسپرژیلوس* در اکثر محصولات گیاهی از جمله گندم ایجاد می‌گردند (۲۰). در مطالعه حاضر تعداد ۲۲ نمونه از آرد گندم جمع‌آوری شده از نانوایی‌های شهرستان چالوس از نظر آلودگی به آفلاتوکسین B_1 مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌های مورد بررسی آلوده به این سم بودند. همچنین در ۱۱ نمونه آلودگی بیش از ۵ نانوگرم بر گرم که بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران بود مشاهده شد اما آلودگی که بیشتر از حد مجازی که استاندارد جهانی جهت بی‌خطر بودن آفلاتوکسین B_1 تعیین کرده است وجود نداشت (بر اساس استاندارد ایران، حد مجاز آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم ۵ نانوگرم بر گرم و بر اساس استاندارد جهانی حد مجاز ۲۰-۱ نانوگرم بر گرم می‌باشد). بیشترین و کمترین غلظت آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌های مورد سنجش در این تحقیق به‌ترتیب ۱۰/۶ و ۱/۱ نانوگرم بر گرم تعیین شد. هدایتی و محمدپور در سال ۲۰۰۵ به روش کروماتوگرافی لایه نازک Thin Layer

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

Chromatography (TLC) در ایران در ۱۱۸ نمونه از گندم نشان دادند که ۲/۵۴ درصد از نمونه‌ها به آفلاتوکسین B_1 آلوده بودند (۲۱). مهم‌ترین راه ورود آفلاتوکسین به مواد غذایی قارچ‌های توکسین‌زای موجود در آن می‌باشد، در نتیجه رعایت اصول بهداشتی در نگهداری مواد غذایی اهمیت به‌سزایی دارد و علت کاهش مایکوتوکسین‌ها در آن‌ها است. لازم است تلاش و کوشش بیشتری هنگام برداشت اقلام تشکیل دهنده مواد غذایی از مزرعه تا مصرف و ذخیره‌سازی به عمل آید تا میزان آلودگی به کمترین حد ممکن برسد (۲۲). طاهری و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ایران به روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا در ۲۰۰ نمونه از آرد گندم گزارش دادند که ۷۷ درصد از نمونه‌ها در زمستان و ۳۳ درصد از نمونه‌ها در تابستان به آفلاتوکسین B_1 آلوده بودند. در مطالعه طاهری میزان این سم در فصل زمستان از تابستان بیشتر بود و رابطه بین رطوبت و میزان آفلاتوکسین در فصل زمستان مستقیم و قابل توجه بود اما به رغم آلودگی در نمونه‌ها، آلودگی بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط مؤسسه استاندارد ایران وجود نداشت (۲۳و ۲۴). مطالعات مختلف نشان داده است که بهترین و مطمئن‌ترین روش سم‌زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین‌ها استفاده از گونه‌های مؤثر میکروبی است که دارای خصوصیت کاهش دادن این سموم می‌باشند (۱۰). از جمله این میکروب‌ها می‌توان به *ساکارومایسس سرویزیه*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *لاکتوکوکوس لاکتیس*، *لاکتوکوکوس سانفرانسیسکو* و *لوکونوستوک مزانتروئیدس* اشاره کرد (۲۵ و ۲۶). در مطالعه حاضر نیز اثر مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* در کاهش آفلاتوکسین B_1 مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این مخمر در کاهش میزان این سم در آرد گندم مؤثر است. بعد از افزودن مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد گندم کاهش یافت و بیشترین و کمترین میزان آفلاتوکسین B_1 به ترتیب ۹/۱ و ۰/۵ نانوگرم بر گرم به‌دست آمد. پرادو (Prado) و همکاران در سال ۲۰۱۱ در برزیل با استفاده از *ساکارومایسس سرویزیه* در نمونه‌های بادام زمینی نشان دادند که میزان کاهش این سم بعد از استفاده از این مخمر در طی ۷ روز ۷۴/۴ درصد بود. تعیین میزان کاهش این سم قبل و بعد از تأثیر مخمر به روش کروماتوگرافی لایه نازک صورت گرفت (۲۷). *ساکارومایسس سرویزیه* بر اساس پدیده اتصال سم به دیواره سلولی، تولید آنزیم‌های تجزیه کننده و عمل بیوترانسفورماسیون یا تغییر شکل بیولوژیکی قادر به تبدیل مایکوتوکسین‌ها به مواد کمتر سمی می‌باشد (۲۵ و ۲۶).

در مطالعه دیگر صاحب‌قلم و همکاران در سال ۲۰۱۳ در ایران گزارش دادند که *ساکارومایسس سرویزیه* قادر به کاهش دادن میزان آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام می‌باشد و در میانگین غلظت‌های مختلف از این سم بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین B_1 به ترتیب مربوط به تیمار اسیدی (۳/۴۱ درصد)، تیمار حرارتی (۳/۶۰ درصد) و مخمر زنده (۳/۹۶ درصد) بود. همچنین ارزیابی میزان کاهش این سم در این تحقیق به روش الایزا قبل و بعد از افزودن مخمر انجام گرفت (۱۴).

آرماندو (Armando) و همکاران در سال ۲۰۱۲ در آرژانتین نشان دادند که مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* توانایی اتصال به آفلاتوکسین B_1 را در محیط کشت *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (در شرایط pH برابر با ۶ و ۴، درجه حرارت ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد) دارد و این اتصال در حضور اکسیژن کاهش می‌یابد. در

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

مطالعه آرماندو بیشترین میزان جذب و کاهش آفلاتوکسین توسط این میکروارگانیسم در فاز لگاریتمی رشد و دمای ۳۷ درجه بود که به‌روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا تأیید شد (۲۸). نتایج مطالعات مختلف نشان داده تحت شرایط محیطی متفاوت میزان تجزیه سم تغییر می‌کند.

تیمارهای اسیدی و حرارتی توانایی کاهش را به‌ترتیب ۶۰ درصد و ۵۵ درصد افزایش می‌دهند. بنابر این می‌توان نتیجه گرفت که شرایط محیطی نیز در روند و میزان اتصال مؤثر است و می‌تواند یکی دیگر از علت‌های تفاوت در میزان کاهش سم در مطالعات مختلف باشد (۱۰). همچنین به‌کارگیری سویه مناسب از مخمر که توانایی رشد و فعالیت ضد قارچی بیشتری را داشته باشد و در مقابل اثرات محیطی مقاوم‌تر باشد مطلوب تر است (۱ و ۲۹).

در مطالعه‌ای که توسط تاج‌آبادی ابراهیمی و همکاران در ایران در سال ۲۰۱۱ انجام شد، میزان آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌های دوغ و ترخینه به روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا تعیین و مشخص شد که بعد از افزودن سویه‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک به نمونه‌ها میزان آفلاتوکسین B_1 کاهش یافت (۳۰).

در مطالعه دیگر سلیزوسکا و اسمولیکووسکا (Śliżewska & Smulikowska) در سال ۲۰۱۱ در هلند گزارش دادند که افزودن *لاکتوباسیل پاراکاسی*، *لاکتوباسیل برویس*، *لاکتوباسیل پلانتاروم* و *ساکارومایسس سرویزیه* به نمونه‌های غلات و گندم میزان آفلاتوکسین B_1 را در غلظت‌های بالای این سم که به روش الایزا تعیین شده بود به میزان ۳۹ درصد کاهش داد (۳۱). بیشترین درصد کاهش میزان این سم در مطالعه ما ۵۸/۳۳ درصد ارزیابی شد که در مقایسه با مطالعه سلیزوسکا و اسموولیکوسکا بیشتر بود. در نتیجه اهمیت به مسئله نیز مهم است که می‌توان اثر سایر میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده آفلاتوکسین را بررسی و با هم مقایسه نمود تا بهترین و مؤثرترین نوع شناسایی گردد. با توجه به مطالب گفته شده میزان غلظت و کاهش آفلاتوکسین B_1 در مطالعات مختلف با توجه به عوامل مختلف فیزیکی، شیمیایی، محیط منطقه مورد بررسی و نوع گونه و سویه میکروبی به‌کار گرفته شده جهت کاهش سم می‌تواند متغیر باشد.

همچنین در این تحقیق روش الایزا نسبت به دیگر روش‌های ذکر شده به علت حساسیت، تکرارپذیری، کم هزینه بودن و سرعت بالا جهت تعیین میزان آفلاتوکسین B۱ استفاده شد. در مقایسه با روش الایزا سایر روش‌ها مانند کروماتوگرافی مایع با فشار بالا و کروماتوگرافی لایه نازک از تکرارپذیری و صحت بشتری برخوردار می‌باشند اما در عمل مقایسه بین دو روش نشان می‌دهد که هر دو روش از نظر اتوماتیک بودن و کاربرد در بررسی تعداد زیاد نمونه، مطالعات اپیدمیولوژیک و کنترل کیفی مشابه هم می‌باشند (۳۲).

در نتیجه اختلاف روش‌ها در سنجش میزان مایکوتوکسین نیز می‌تواند یکی دیگر از علت‌های تفاوت در نتایج مختلف باشد. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نقش بسزایی در کاهش مایکوتوکسین‌ها دارند که با نتایج به دست آمده در تحقیق ما نیز مطابقت دارد، با این وجود اطلاعات بیشتری جهت روشن شدن اثر سایر گونه‌های پروبیوتیکی، مکانیسم‌های اثر آن‌ها و روش‌های کاهش مایکوتوکسین‌ها مورد نیاز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر مهارکنندگی *ساکارومایسس سرویزیه* بر روی آفلاتوکسین B۱ در ۲۲ نمونه آرد گندم مورد

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

ارزیابی قرار گرفت. بیشترین و کمترین میزان آلودگی در نمونه خام اولیه به‌ترتیب ۱۰/۶ و ۱/۱ نانوگرم بر گرم به‌دست آمد و بعد از تأثیر مخمر این مقدار به ۹/۱ و ۰/۵ نانوگرم بر گرم کاهش یافت. نتایج این تحقیق بیانگر این مطلب است که میزان آلودگی آرد گندم به قارچ‌های آلوده کننده و سموم آن‌ها نگران کننده است، به‌خصوص اینکه بعضی از این سموم مقاوم به حرارت بوده و در طی مراحل تهیه نان از بین نرفته و در نهایت از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شده و در دراز مدت ایجاد عوارض گوناگون می‌کنند. از آنجایی که نان جزء مهم‌ترین و ضروری‌ترین مواد غذایی در بین خانواده‌هاست و مصرف آن برای سنین مختلف ضروری است، جهت کاهش مواد مختلف آلوده کننده آن می‌بایست برنامه‌ریزی کرده و سعی و تلاش بیشتر نمود.

References:

1.Prandini A, Tansini G, Sigolo S, et al. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. Food Chem Toxicol 2009; 47: 984-91.
2.Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 497-516.
3.Sreenivasa MY, Dass RS, Raj AC, et al. Molecular detection of fumonisin producing fusarium species of freshly harvested maize kernels using polymerase chain reaction (PCR). Taiwania-Taipei 2006; 51: 251-7.
4.Hadizadeh Moalem SH, Gholampour Azizi I, Azarmi M. Prevalence of aflatoxin B1 in feedstuffs in northern Iran. Global Vet 2010; 4: 144-8.
5.Sherif SO, Salama EE, Abdel-Wahhab MA. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. Int J Hyg Environ Health 2009; 212: 347-68.
6.Zinedine A, Manes J. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. Food Control 2009; 20: 334–44.
7.Moreno EC, Garcia GT, Ono MA, et al. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Parana State, Brazil. Food Chem 2009; 116: 220–6.
8.Institute of Standards & Industrial Research of Iran [ISIRI]. Food and feed- mycotoxins: maximum tolerated level, 1st ed. Tehran, Iran. Institute of standards and industrial research of Iran (ISIRI); 2002. (Persian)
9.Yazdanpanah H, Zarghi A, Shafaati AR, et al. Analysis of aflatoxin b1 in iranian foods using HPLC and a monolithic column and estimation of its dietary intake. Iran J Pharm Res 2013; 12: 83-9.
10.Rahaie S, Razavi SH, Emam jomeh Z. The ability of Saccharomyces cerevisiae strain in aflatoxin reduction in pistachio nuts. J Food Sci Technol 2010; 7: 81-8. (Persian)
11.Sarfaraz A, Azizi MH, Hamidi Esfahani Z. Evaluation of lactic acid bacteria and baker's yeast interactions in liquid sourdough fermentation. 18th National Congress on Food Technology, Mashhad, Khorasan Research Institute for Food Science and Technology 2005.
12.Khoi A, Beygi M, Asadollahi M. Extracting biclusters from multiple time-series of gene expression profiles. The 17th National & 5th International Iranian Biology Confrence, Martyr of Shahid Bahonar Kerman University, Iranian Society of Biology 2012.
13.Golabi M, Tavassoli M, Nahvi I, et al. The study of CO2 production and growth rate in suitable industrial strains of Saccharomyces cerevisiae for production of bakers yeast. J Food Sci Technol 2011; 8: 35-44. (Persian)
14.Sahebghalam H, Mohammadi Sani A, Mehraban M. Bio-detoxification of AFB1in animal feeds using Saccharomyces cerevisiae. J Innovation Food Sci Technol 2013; 5; 99-104. (Persian)
15.Sanjarian F, Mousavi A, Alizadeh A, et al. Evaluation of the yeast acetyltransferase (AYT1) in detoxification of the F. graninearum toxin deoxynivalenol in transgenic plants. Iran J Biol 2006; 19; 222-32. (Persian)
16.Karimi dastjerd A, Tajabadi Ebrahimi M, Sharifan A, et al. Binding ability of some Iranian Native Lactobacillus spp. to Aflatoxin M1. Ournal Microbial Biotech 2012; 4; 7-12. (Persian)
17.Saeidi AM, Safari R. Evaluation of inhibitory effect of Saccharomyces cerevisiae on B1 and B2 aflatoxins in culture media and Kilka fish meal. Iran comparis Biophatol 2010; 7: 223-32. (Persian)
18.Hamidi A , Didehdar M, Jafari P, et al. The Survey of Potential of B1 Aflatoxin Isolation

by Lactic Acid Bacteria. J Microbial Biotech 2011; 3: 13-8. (Persian).
19.Gholamour Azizi I, Rouhi S. The comparison of total fumonisin and total aflatoxin levels in biscuit and cookie samples in Babol City, Northern Iran. Iran J Publ Health 2013; 42: 422-7.
20.Gholampour Azizi I, Khoushnevis SH, Hashemi SJ. Aflatoxin M1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran Univ Med J 2007; 65: 20-4. (Persian)
21.Hedayati MT, Mohammad Pour A. Contamination rate of Aspergillus flavus and aflatoxin f wheat samples in Mazandaran province Store (2002). J Kermansha University Med Sci 2005; 9: 52-62. (Persian)
22.Roohi S, Gholampour Azizi I, Hashemi M. Fumonisin contamination based on flour quality used in bakeries and confectioneries in Qaemshahr (city of the Northern Iran). Afr J Microbiol Res 2012; 6: 1815-18.
23.Taheri N, Semnani S, Roshandel G, et al. Aflatoxin contamination in wheat flour samples from Golestan Province, Northeast of Iran. Iran J Publ Health 2012; 41: 42-7.
24.Hashemi M, Gholampour Azizi I, Rezai Z, et al. Mycological survey and total aflatoxin analyze in silage from Qaemshahr City (Northern Iran). J Chem Health Risks 2012; 2: 51-6.
25.Benedetti R, Nazzi F, Locci R, et al. Degradation of fumonisin B1 by a bacterial strain isolated from soil. Biodegradation 2005; 17: 31-8.
26.Upadhaya SD, Park MA, Ha JK. Mycotoxins and their biotransformation in the rumen: a review. Asian-Aust J Anim Sci 2010; 23: 1250–60.
27.Prado G, Madeira JE, Morais VA, et al. Reduction of aflatoxin B1 in stored peanuts (Arachis hypogaea L.) using Saccharomyces cerevisiae. J Food Protect 2011; 74:1003-6.
28.Armando MR, Dogi CA, Rosa CAR, et al. Saccharomyces cerevisiae strains and the reduction of Aspergillus parasiticus growth and aflatoxin B1 production at different interacting environmental conditions, in vitro. Food Add Contamin: Part A 2012; 29: 1443-9.
29.Khorasanchi N, Peighambardoust SH, Golshan Tafti A, et al. Evaluating the ability of liquid sourdough containing L. plantarum and L. reuteri starters in inhibition of bread mold spoilage. J Food Res 2012; 21: 391-400.
30.Tajabadi Ebrahimi M, Jafari P, Bahrami H, et al. Evaluation of aflatoxin B1 reduction in present of lactobacilli isolated from Tarkhineh and fermented milk of Tarkhineh by ELISA. Q J Biol Sci 2011; 8: 43-8. (Persian)
31.Śliżewska K, Smulikowska S. Detoxification of aflatoxin B1 and change in microflora pattern by probiotic in vitro fermentation of broiler feed. J Anim Feed Sci 2011; 20: 300–9
32.Allameh A, Razzaghi-Abyaneh M. Mycotoxins: mycological, chemical and environmental aspects. 1th ed. Emam Hossein University, Tehran, Iran, 2001, 698. (Persian)

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021

ISMJ 2015; 18(4): 701-710

Original Article

Biological reduction of aflatoxin B_1 in wheat flour using yeast *Saccharomyces cerevisiae*

M. Azimi [1], I. Gholampour Azizi [2], S. Rouhi [3,4], F. Zaboli [5]*

[1] *Department of Microbiology, Faculty of Food Industry, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran*

[2] *Department of Mycology, Faculty of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran*

[3] *Student Research Committee, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran*

[4] *Cellular & Molecular Research Center and Microbiology Department, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran*

[5] *Department of Biology, Faculty of Food Industry, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran*

(Received 10 May, 2014 Accepted 12 Aug, 2014)

Abstract

Background: The safest way to reduce mycotoxins in contaminated foods with it; it is using certain strains of various microbes. Aim of this study is biological reduction of aflatoxin B_1 by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) in wheat flour samples that were collected in Chaloos city (Mazandaran province, North Iran).

Material and Methods: Aflatoxin B_1 contamination was measured by ELISA method in 22 samples of wheat flour. Then *S. cerevisiae* was added to primary wheat flour. After 48 h aflatoxin B_1 contamination in samples were measured by ELISA, again. For statistical analysis, the statistical software SPSS18 and t-test was used.

Results: all 22 samples of wheat flour were contaminated with aflatoxin B_1. The minimum and maximum levels of aflatoxin B_1 in primary wheat flour were 1.1 and 10.6 ppb, respectively. *S. cerevisiae* reduced the amount of aflatoxin B_1 in wheat flour samples. Minimum and maximum amount of aflatoxin contamination after adding *S. cerevisiae* was 0.5 and 9.1 ppb, respectively.

Conclusion: Inhibitory effect of *S. cerevisiae* and aflatoxin B_1 reduction in wheat flour was proved in this study. Therefore we can be hoped that yeast *S. cerevisiae* as neutralizing agents can be used in flour for this toxin. Consumption of products that contaminated with aflatoxin B_1 endangers consumers' health, thus reducing of this toxin in the food should be considered.

Key words: Aflatoxin B_1, *Saccharomyces cerevisiae*, Wheat Flour, ELISA

******Address for correspondence*: Fatemeh Zaboli, Department of Biology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran; E-mail: microbiol_sci@yahoo.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 6:28 +0330 on Tuesday October 19th 2021