

## بررسی توانایی گونه مخمر ساکارومایسس سرویزیه جهت کاهش آفلاتوکسین موجود در پسته

سمیه رهایی<sup>1\*</sup>، سید هادی رضوی<sup>2</sup>، زهرا امام جمعه<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی صنایع غذایی، دانشگاه تهران

2- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: 87/8/14 تاریخ پذیرش: 87/10/15)

### چکیده

در این تحقیق، توانایی اتصال آفلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سرویزیه به منظور کاهش سمیت آفلاتوکسین بر روی نمونه های پسته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از این است که در غلظت 10 ppb آفلاتوکسین، مخمر در فاز لگاریتمی می تواند با حدود 40% از آفلاتوکسین موجود اتصال برقرار کند. تیمارهای اسیدی و حرارتی، این توانایی را به ترتیب به حدود 60% و 55% افزایش می دهند. به نظر می رسد اتصال آفلاتوکسین به مخمر یک پدیده فیزیکی باشد که در مدت 2-3 ساعت ابتدای فرایند به حد اشباع خود می رسد. همچنین نتایج نشان داد که تثبیت مخمر بر روی پسته آلوده به آفلاتوکسین در جهت کاهش سم، تاثیری بر فاکتور رنگ ندارد. فاکتورهای هانتز لب ( $b^*$ ,  $a^*$ ,  $L^*$ ) تغییرات قابل توجهی نشان نمی دهند. نتایج نشانگر آن است که سلول های مخمر، زنده یا غیر زنده، متصل کننده موثر آفلاتوکسین می باشند و این ویژگی به خصوص در غذاهایی که میزان بالای آفلاتوکسین در آنها یک عامل مخاطره آمیز محسوب می شود، قابل توجه است.

کلید واژگان: پسته، مخمر، آفلاتوکسین، اتصال سطحی

### 1- مقدمه

آسپرژیلوس فلاوس و دیگر زیر گونه های آسپرژیلوس آلوده هستند. این کپک ها توانایی تولید آفلاتوکسین دارند [1 و 2]. آفلاتوکسین ها به ندرت در مغزهای پسته با پوسته سالم دیده می شود اما اگر پوسته شکسته شود سریعاً به آلودگی قارچی مبتلا می شود. تولید این مایکوتوکسین در ارتباط با شرایط رشد مطلوب از جمله رطوبت، دما، سوپسترا و رقابت با دیگر ریزسازواره های هوازی و شرایط ژنتیکی موجود می باشد [2]. آفلاتوکسین ها متابولیت ثانویه بسیار سمی و پایدار به حرارت هستند که به سختی به مواد غیر سمی تبدیل می شوند. آفلاتوکسین ها یک سری ترکیبات شناخته شده چند حلقه ای سولفوروری می باشند که تحت اشعه فرابنفش فلورسنس می شوند. از میان آنها نوع آفلاتوکسین B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) یک مایکوتوکسین

پسته دومین محصول صادراتی غیر نفتی است که نقش مهمی در توسعه و ارزش اقتصادی ملی و صنعت غذایی - کشاورزی ایران دارد. طبق آمار FAO، ایران در حدود 275000 میلیون تن پسته در سال 2003 تولید کرده است که تقریباً 54/7% کل تولید جهان است و از این مقدار 184946 میلیون تن صادر نموده است، پس با توجه به این موضوع و ارزش غذایی بالای پسته نیاز به مطالعات گسترده دارد. میوه پسته جز گیاهان فندقه و خشک بوده و مغز آن دارای حدود 18-22% پروتئین، 15-16% قند، 50-60% چربی، 2/2% سلولز، 3% خاکستر و 5-6% رطوبت می باشد. علاوه بر آن دارای اکثر ماکرو و میکرو عنصرهای ضروری و ویتامین های مختلف A، تیامین و نیاسین می باشد. دیده شده است که پسته ایران به کپک های

\* مسئول مکاتبات: s\_rahaiee@yahoo.com

افلاتوکسین را بوسیله فعالیت آنزیمی تخریب نمایند. اما برخی گونه های دیگر مانند باکتری های لاکتوباسیلوس و مخمر از جمله مخمر بکار رفته در این پژوهش، افلاتوکسین موجود در محیط را براساس پدیده اتصال به دیواره سلولی کاهش می دهند. سازوکار خروج افلاتوکسین بوسیله روشهای میکروبی هنوز کاملا واضح و روشن نیست. غلظت های باکتریایی بالاتر از  $10^6 \text{ cell/ml}$  جهت کاهش موثر  $\text{AFB}_1$  لازم است. تعداد کل مولکول هایی که می توانند به یک باکتری زنده متصل شوند  $>10^7$  تخمین زده شده است [8-10].

تثبیت سلولی در واقع یک روش جذاب بوده و به دلیل فواید اقتصادی و فن آوری در مقایسه با سلولهای آزاد جای وسیعی جهت تحقیق دارد. به هر حال برای استفاده در صنعت غذا، پوشش ها باید خالص بوده و دارای درجه غذایی باشند، همچنین مقرون به صرفه و در دسترس باشند و بر خصوصیات کیفی محصولات نهایی تاثیری نداشته باشند. آلزینیک اسید، کوپلی ساکارید بدست آمده از جلبک قهوه ای می باشد که از واحد های مانورونیک اسید و گلورونیک اسید تشکیل شده است. آلزینات سدیم یک نمک محلول در آب آلزینیک اسید و یک پلی ساکارید غیر سمی محسوب می شود در طی مطالعاتی مشخص گردید که بهترین غلظت آلزینات جهت تثبیت ریزسازواره ها با غلظت 3% می باشد. غلظت آلزینات بر زنده ماندن و فعالیت سلول های تثبیت شده موثر است [11-15].

امروزه، تثبیت سلول مخمر در چندین زمینه بیوتکنولوژی و علوم زیستی به کار می رود. مخمر ساکارومایسس سروزیه که تحت نام مخمر نانوائی شناخته شده است، یک مخمر ارزان قیمت و کم هزینه می باشد. تحقیقات نشان می دهد که این مخمر توانایی اتصال  $>40\%$  افلاتوکسین موجود در محیط به دیواره سلولی خود دارند [5].

محدوده مقررات جهانی برای  $\text{AFB}_1$  از  $20 \text{ ng/g}$  - 1 و جهت افلاتوکسین کل  $0-35 \text{ ng/g}$  گزارش شده است. اتحادیه اروپا، سطح افلاتوکسین کل و نوع  $\text{B}_1$  در نمونه های غذای انسانی با حداکثر سطوح باقی مانده در نظر می گیرند که به ترتیب نمی تواند بیش از  $4 \text{ } \mu\text{g/kg}$  و  $2 \text{ } \mu\text{g/kg}$  باشد. طبق تحقیقات می توان مقدار  $\text{AFB}_1$  را در پسته 100-38% کاهش داد که وابسته به سطح اولیه  $\text{AFB}_1$  می باشد [3].

قوی، بی نهایت سمی، جهش زا، سرطان زا، ایجادکننده نقص های کروموزومی و هپاتوتوکسیک برای انسانها و دام محسوب می شود که در واقع همراه با ویروس هپاتیت B می تواند باعث ایجاد سرطان کبد در انسان شود. افلاتوکسین  $\text{B}_1$  ( $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) یا 6- متوکسی دی فورو کومارین با وزن مولکولی 312 گرم بر مول در مقابل نور ماوراء بنفش، فلورسنت آبی شدیدی از خود نشان می دهد و به شکل بلورهای کریستالی بیرنگی است که در حرارت 268 الی 269 درجه سلسیوس که نقطه ذوب آن است، تجزیه می شود [3 و 4].

اپیدمی بیماریهای ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به افلاتوکسین، در بعضی از مناطق از جمله افریقا دیده می شود. منابع حاوی  $\text{AFB}_1$  شامل مغزهای خشکبار از جمله بادام زمینی، پسته، همچنین کره بادام زمینی، پنبه دانه، سورگوم، ذرت، روغن ذرت و... می باشد [5].

می توان با استفاده از روشهای شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی سم افلاتوکسین را کاهش داد. روشهای فیزیکی مانند گرما، اشعه فرابنفش، تابش یونیزه کننده می باشد که خیلی موثر نیستند. روشهای شیمیایی با افزودن مواد کلرینه کننده، اکسید کننده، هیدرولیتیک صورت می گیرد که نیازمند تجهیزات گران بوده و ممکن است کیفیت محصول کاهش داده و اثرات نامطلوبی بر سلامتی ایجاد کنند. همچنین محدودیت هایی مانند زمان طولانی تخریب ( $> 72 \text{ hr}$ )، تخریب ناقص از دیگر معایب روشهای فیزیکی و شیمیایی است. بیشتر محققین معتقدند که بهترین روش سم زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین، استفاده از گونه های موثر میکروبی است که دارای خصوصیت کاهش افلاتوکسین تحت شرایط آسان و راحت بوده بدون اینکه نیازی به استفاده از مواد شیمیایی مضر باشد [3، 6، 7]. در این راستا، تحقیقاتی بر گونه های لاکتیک اسید باکتریا، گونه های پروبیوتیک، قارچ های موثر، گونه مخمر ساکارومایسس سروزیه انجام شده است. از گونه های باکتریایی می توان به *Rhodococcus erythropolis*، *Mycobacterium*، *Nocardia corynebacteriod rhamnosus* GG، *fluoratheniovorans*، *Lactobacillus rhamnosus*، *Lactobacillus LC705* و بیفیدوباکتریوم ها اشاره کرد. برخی از باکتری ها از جمله ردوکوکوس، نوکاردیا و مایکوباکتریوم ها قادرند

برای 20 دقیقه اتوکلاو شد. بعد از شستشو با محلول بافر فسفات و سانتریفیوژ کردن، 2 میلی لیتر محلول آب نمک 0/9% به آن اضافه شد [5].

### 3-2- تثبیت مخمر بر پسته

محلول آژینات سدیم 3% با حل نمودن آژینات سدیم در 100 میلی لیتر آب جوش و اتوکلاو نمودن در 121 درجه سانتی گراد برای 15 دقیقه آماده گردید. میزان  $10^{10}$  cells/ml x 2 سلول های هر تیمار (مخمر زنده در مرحله لگاریتمی، تیمار شده با حرارت و تیمار شده با اسید) پس از جمع آوری و حل شدن در محلول آب نمک طبق روش بالا، به 100 میلی لیتر محلول آژینات سدیم 3% اضافه شد [11]. پسته ها پس از جداسازی پوسته و تهیه مغز، با غلظت 10ppb سم افلاتوکسین آلوده شدند. سپس پسته های آلوده در محلول آژینات سدیم 3% که مخمر بر روی آن تثبیت شده، برای مدت زمان اندکی غوطه ور شده و جهت پوشش دادن مناسب آژینات بر سطح پسته، از کلرید کلسیم 0/2 مولار استفاده شد، بدین صورت که پسته ها بلافاصله بعد از خروج از محلول آژینات در محلول کلرید کلسیم قرار گرفتند و پوشش های نازکی اطراف پسته بوجود آمد. آنگاه پسته ها برای مدت زمان معین و مشخص شده 1/5، 3، 8 و 12 ساعت، در دمای 25 درجه سانتی گراد قرار گرفتند. نمونه گیری در طی زمانهای مشخص شده انجام گرفت.

### 4-2- اندازه گیری میزان افلاتوکسین

جهت استخراج افلاتوکسین از نمونه های پسته، میزان 50 گرم پسته با 5 گرم نمک و 100 میلی لیتر هگزان و 200 میلی لیتر متانول آسیاب شد. پس از سانتریفیوژ شدن، 20 میلی لیتر از محلول رویی صاف شده آن با 130 میلی لیتر آب مخلوط شده و برای 5 دقیقه هموژن شد. محلول توسط کاغذ صافی با الیاف شیشه ای (GF) صاف شده و 70 میلی لیتر آن از ستون Aflatest عبور داده شد. ستون با 15 میلی لیتر محلول بافر فسفات و 15 میلی لیتر آب مقطر شستشو شد. در نهایت، با عبور 1/5 میلی لیتر متانول از ستون، افلاتوکسین جمع آوری و 1/5 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. برای اندازه گیری میزان افلاتوکسین، از دستگاه کروماتوگرافی ستونی (HPLC) مدل Waters 2475، با ستون C18 مدل Novapak و آشکارساز مدل Multi and fluorescence detector استفاده شد [1].

این پژوهش با هدف بررسی افلاتوکسین زدایی توسط مخمر ساکارومایسس سروریه تثبیت شده بر پسته انجام گردید. جهت مقایسه توانایی سلولهای زنده و غیر زنده در کاهش افلاتوکسین، از سلولهای زنده مخمر و دو تیمار اسیدی و حرارتی بر سلولهای مخمر استفاده شد.

## 2- مواد و روشها

### 1-2- مواد اولیه و مخمر

محلول استاندارد افلاتوکسین از Sigm Co. (MO, USA) و محلول بافر فسفات از شرکت Merck (Stuttgart, Germany)، آژینات سدیم از شرکت BDH (Dubai, UAE) و کلرید کلسیم از شرکت Scharlau (Germany) خریداری شد. مخمر ساکارومایسس سروریه (PTCC5052) از مرکز کلکسیون فارچها و باکتری ایران تهیه شد. پسته رقم اکبری جهت انجام پژوهش انتخاب گردید.

### 2-2- آماده سازی کشت

گونه مخمر در محیط کشت Yeast mold broth در دمای 25 درجه سانتی گراد کشت داده شد، آنگاه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 600 نانومتر و اندازه گیری دانسیته نوری، غلظت  $2 \times 10^{10}$  cells/ml مخمر تعیین شد. سپس 1 میلی لیتر از محیط کشت دارای مخمر در 7300 دور بر دقیقه برای مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ کرده و آنگاه با محلول بافر فسفات (pH= 6.8) شستشو داده و دوباره سانتریفیوژ شد. سپس جهت رقیق سازی توده سلولی مخمر و افزودن به محلول آژینات سدیم، 2 میلی لیتر محلول آب نمک (saline) 0/9% به آن افزوده و هموژن شد [11]. جهت بررسی توانایی سلولهای غیر زنده در کاهش افلاتوکسین پسته، دو تیمار اسیدی و حرارتی استفاده شد. جهت انجام تیمار اسیدی، پس از برداشت سلول در مرحله لگاریتمی و عمل سانتریفیوژ کردن، 10 میلی لیتر اسید کلریدریک دو مولار افزوده و برای 1/5 ساعت در دور 150 rpm قرار گرفت تا کاملاً اسید موثر واقع شود. بعد از شستشو با محلول بافر فسفات و سانتریفیوژ شدن، 2 میلی لیتر محلول آب نمک 0/9% به آن افزوده و هموژن شد. جهت انجام تیمار حرارتی، پس از برداشت سلول در مرحله لگاریتمی و عمل سانتریفیوژ کردن، 10 میلی لیتر محلول بافر فسفات افزوده و در دمای 121 درجه سانتی گراد

دنا توره پروتئین ها یا تشکیل محصولات واکنش میلارد در دیواره سلولی شده و یا با انحلال بعضی از مانوپروتئین های موجود در دیواره سلولی، نفوذپذیری دیواره را افزایش می دهد که منجر به افزایش دسترسی مکان های اتصال مخفی دیواره می شود.

همچنین در شکل 1 مشاهده می کنیم که تیمار سلولهای گونه مخمر با اسید کلریدریک دو مولار برای 90 دقیقه در دمای اتاق، قدرت اتصال افلاتوکسین را به حدود 60% می رساند. شرایط اسیدی در فرآیندی مشابه از طریق اثر روی پلی ساکارید ها و تبدیل به منومرها و شکسته شدن به آلدئید ها عمل می کند. توانایی اتصال به خصوص زمانی که مخمر تحت تیمار اسیدی قرار گرفته باشد به حداکثر مقدار خود می رسد. طبق پژوهشهای پیشین احتمال می رود که در شرایط اسیدی، مقداری از اتصالات درون سلولی باشد.

دیواره سلولی مخمر شبکه ای از بتا 1 و 3 گلوکان با زنجیره های جانبی بتا 1 و 6 گلوکان است که مانو پروتئین ها به وسیله پیوند کوالانسی به لایه داخلی گلوکان متصل شده اند و دارای مقدار اندکی کیتین می باشند. پروتئین ها و گلوکان ها محل های اتصال قابل دسترس یا سازوکارهای مختلف پیوند شدن مانند پیوند هیدروژنی، یونی، هیدروفوبیک می باشند که عمدتاً واکنش های هیدروفوبیک نقش دارند. در واقع حتی در گونه های خشک شده ساکارومایسس چنین توانایی دیده شده است [5].

بر اساس مطالعات Shetty و همکاران (2006)، پدیده اتصال افلاتوکسین یک پدیده فیزیکی بوده که در سطح مخمر یعنی در دیواره سلولی آن اتفاق می افتد. آنها مشاهده کردند که 75% قدرت اتصال مخمر مربوط به مواد استخراج شده از دیواره سلولی بوده و زمانی که الیگوساکارید- مانان تغییر یافته از دیواره مخمر مشتق می شود این مقدار به 95% می رسد. آنها اظهار کردند که مطالعات اخیر بیانگر این است که قسمت پلی ساکاریدی دیواره سلولی در اتصال سطحی افلاتوکسین در گونه مخمر موثر واقع می شود [7]. طبق نظریه Cooney (1980)، مخمر ساکارومایسس سروزیه شدت افلاتوکسیکوزیس را از طریق کلاته کردن یعنی اتصال به مولکول های افلاتوکسین، کاهش می دهد و از لوله گوارشی حذف می کند [16]. Mahesh و Devegowda (1996) در طی مطالعه در شرایط *in vitro* مشاهده کردند که افزودن 0/05% مانوالیگوساکارید استخراج شده از دیواره سلولی مخمر ساکارومایسس سروزیه

درصد پیوند شدن افلاتوکسین = { (میزان افلاتوکسین در نمونه / میزان افلاتوکسین در محلول) - 1 } × 100

## 5-2- ارزیابی ریز ساختار

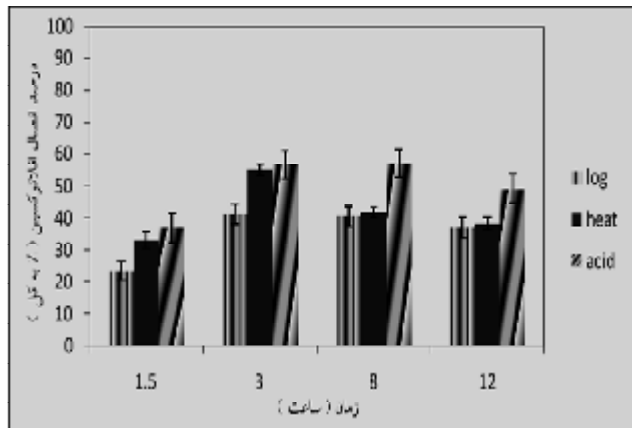
جهت انجام مطالعات ریخت شناسی سلول های تثبیت شده مخمر ساکارومایسس در شبکه آلژینات، از میکروسکوپ الکترونی (SEM) استفاده گردید. میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده در تحقیق حاضر از نوع SEM و مدل XL30 ساخت شرکت فیلیپس از کشور هلند بود.

## 6-2- اندازه گیری رنگ پسته

رنگ نمونه های پسته توسط دستگاه هانتر لب مدل Konica Minolta ساخت کشور ژاپن بر اساس فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$  اندازه گیری شد.

## 3- نتایج و بحث

بر اساس اندازه گیری افلاتوکسین نمونه های پسته در زمانهای 1/5، 3، 8 و 12 ساعت پس از تثبیت سلولهای مخمر بر آن، مشاهده شد که متصل شدن افلاتوکسین به دیواره سلولی مخمر فرآیند نسبتاً سریع است که در زمان اندکی (حدود 3 ساعت بعد از تثبیت مخمر بر پسته آلوده) به حداکثر مقدار خود می رسد (شکل 1).



شکل 1 مقایسه درصد اتصال افلاتوکسین توسط گونه مخمر ساکارومایسس سروزیه (PTCC 5052) در سه شرایط مختلف لگاریتمی، تیمار اسیدی و حرارتی بر روی پسته آلوده به افلاتوکسین با غلظت اولیه 10ppb

حرارت دادن حتی در دمای 120 درجه سانتی گراد برای مدت زمان 20 دقیقه قدرت اتصال به مخمر را افزایش می دهد که به حدود 55% می رسد. حرارت دهی ممکن است باعث

لاکتوباسیلوس رامنوسوس، وقتی به  $AFB_1$  متصل شود، چسبندگی آن به لوله گوارش کاهش می یابد [3,5,6,7,10] اما لازم به ذکر است که طرز عمل اتصال، تعیین اتصالات، پایداری کمپلکس مخمر- $AFB_1$  هنوز نیاز به مطالعات اصولی بیشتری دارد. بنابراین بکار بردن فن آوریهای بیولوژی مولکولی، گونه های میکروبی با خصوصیات چند عملکردی از جمله توانایی آلودگی زدایی غذاهای آلوده به افلاتوکسین در جهت بهبود کیفیت، ایمنی و قابلیت پذیرش غذاهای سنتی، آشامیدنی ها، غلات، خشکبار را امکان پذیر می سازد.

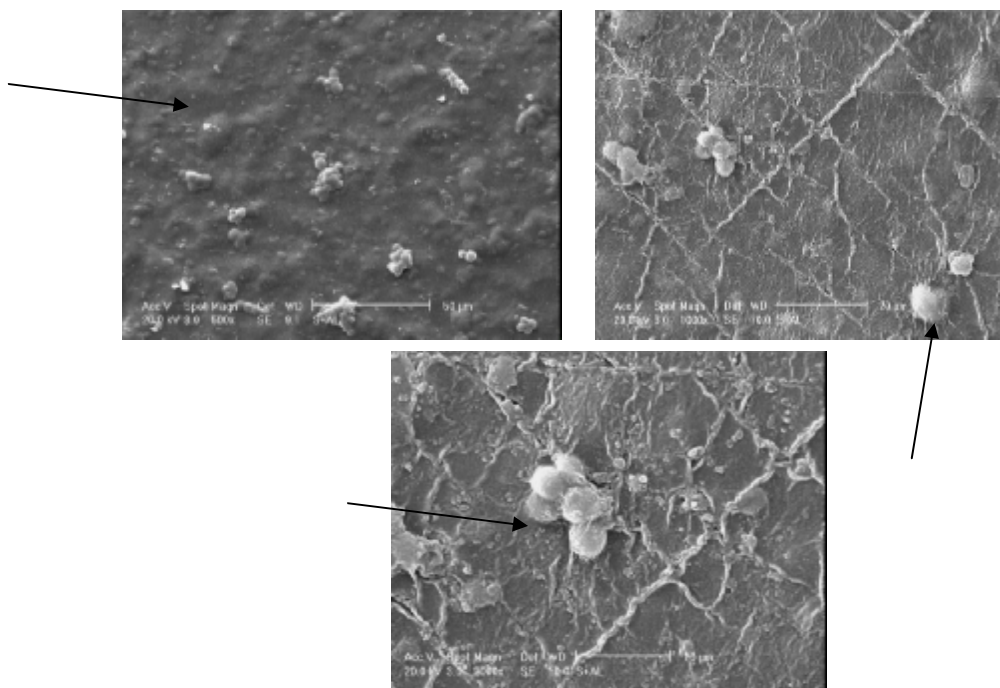
#### - ارزیابی ریز ساختار

در این پژوهش برای حصول اطمینان از تثبیت مخمر در محیط آلژینات سدیم که به صورت پوشش در اطراف پسته قرار گرفت، تصاویر الکترونی در سه بزرگنمایی 500، 1000 و 2000 برابر تهیه شد. پیکانهای مشخص شده بر تصاویر نشان می دهند که مخمر ها به خوبی در پوشش آلژیناتی تثبیت شده اند و این می تواند دلیلی بر حضور و توانایی مخمر در اتصال سم افلاتوکسین موجود بر پسته باشد (شکل 2).

به خوراک آلوده با 200 میکروگرم بر کیلوگرم افلاتوکسین، 79% سم موجود را به خود متصل می کند [17]. بر طبق آزمایشات Madrigal-Santillan و همکارانش (2006)، جذب افلاتوکسین توسط گونه مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث هیچ گونه تغییر ساختاری در ریزسازواره نمی شود. این موضوع با توجه به مقایسه دانسیته گرامهای به دست آمده با توجه به دوسطح غلظت  $AFB_1$  استاندارد و میزان سم متصل به بیومس مخمر ساکارومایسس، به اثبات رسید [18].

از داده های موجود می توان نتیجه گرفت که در کاربرد سه تیمار مختلف بر مخمر، بالاترین توانایی اتصال افلاتوکسین به مخمر، در شرایط اسیدی دیده می شود و بر اساس نمونه برداری در زمانهای مختلف مشاهده شد که فرایند اتصال افلاتوکسین به مخمر نسبتاً سریع است، همچنین نتایج مشابه بین سلول زنده و غیر زنده (سلولهای تیمار حرارتی و اسیدی) به دست آمد که نشان می دهد در ایجاد اتصالات، زنده مانی ریزسازواره (مخمر) چندان موثر نیست.

اگر چه در مطالعه ای، ملاحظه شد که ترکیب مخمر/افلاتوکسین می تواند به طور موثری از روده مرغ عبور کند بدون اینکه شکسته شود و یا در ارتباط با گونه باکتری

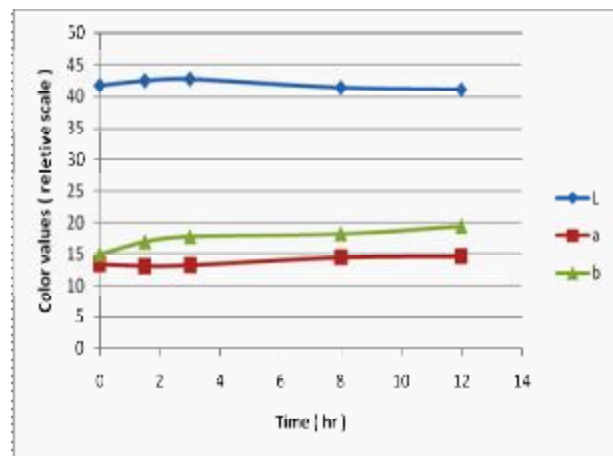


شکل 2 تثبیت سلول مخمر ساکارومایسس سرویزیه (PTCC 5052) تیمار شده با اسید در محیط آلژینات سدیم الف: بزرگنمایی 500 برابر، ب: بزرگنمایی 1000 برابر، ج: بزرگنمایی 2000 برابر.

- [4] Mortazavi, A. & Tabatabaie, F. 1996. Fungal Toxins. Mashhad University.
- [5] Shetty, P.H., Hald, B. & Jespersen, L. 2006. Surface binding of aflatoxin B1 by *saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. International Journal of Food Microbiology. 113(1): 41-46.
- [6] Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S. & Ahokas, J. 1998. Ability of strains of *lactic acid bacteria* to bind a common food carcinogenic, aflatoxin B1. Food and Chemical Toxicology. 38: 321-326.
- [7] Shetty, P.H. & Jespersen, L. 2006. *Saccharomyces cerevisiae* and *lactic acid bacteria* as potential mycotoxin decontaminating agents. Trends in Food Science and Technology. 17: 48-55.
- [8] Alberts, J. F., Engelbrecht, Y., Steyn, P. S. & Holzapfel, W. H. 2006. Biological degradation of aflatoxin B1 by *Rhodococcus erythropolis* cultures. International Journal of Food Microbiology. 109: 121-129.
- [9] Teniola, O. D., Addo, P.A., Brost, I. M. & Farber, P. 2005. Degradation of aflatoxin B1 by cell extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. Nov. DSM 44556. International Journal of Food Microbiology. 105: 111-117.
- [10] El-nezami, H., Mykkanen, H. & Haskard, C. 2004. *Lactic acid bacteria* as a tool for enhancing food safety by removal of dietary toxins. *Lactic Acid Bacteria*. Microbiological and Functional Aspects. 139: 397-406.
- [11] Beshay, B. 2003. Production of alkaline protease by *Teredinobacter turnirae* cells immobilized in Ca-alginate beads. African Journal of Biotechnology. 2(3): 60-65.
- [12] Adinarayana, K., Jyothi, B. & Ellaiah, P. 2005. Production of alkaline protease with immobilized cells of *Bacillus subtilis* PE-11 in various matrices by entrapment technique. AAPS PharmSCITech. 6 (3): 391-395.
- [13] Olivas, G.I., Mattinson, D.S. & Barbosa-Canovas, G.V. 2007. Alginate coating for preservation of minimally processed "Gala apples". Postharvest Biology and Technology. 45: 89-96.
- [14] Sallam, L. A. R., El-Refai, A. M. H., Hamdi, A.H. A. El-Minofi, H. A. & Abd-El salam, I. 2005. Studies on the application of immobilization technique for the production of cyclosporine A by a local

### - بررسی فاکتور کیفی رنگ

ظاهر ماده غذایی، مخصوصاً رنگ، یکی از فاکتورهای مهم و قابل توجه در جهت قابلیت پذیرش ماده غذایی توسط مشتری محسوب می شود. پارامترهای  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  واحد های اندازه گیری سفیدی، قرمزی و زردی نمونه، به ترتیب 41/81، 13/38 و 14/98 برای نمونه های شاهد می باشند. میزان رنگ نمونه های پسته پوشش شده نشان می دهد که پارامترهای رنگ هانتر لب ( $a^*$ ,  $b^*$ ) به میزان اندکی افزایش یافته و فاکتور  $L^*$  به میزان ناچیزی کاهش می یابد. اما به طور کلی تغییرات چشمگیری مشاهده نمی شود و نشان می دهد که پسته ها قابلیت پذیرش دارند شکل (3).



شکل 3 تاثیر تثبیت مخمر بر فاکتور کیفی رنگ در پسته ( $L^*$ : فاکتور سفیدی،  $a^*$ : فاکتور قرمزی،  $b^*$ : فاکتور زردی)

### 4- منابع

- [1] Cheraghali, A. M., Yazdanpanah, H., Doraki, N., Abouhossain, G., Hassibi, M. & Ali-Abadi, S. 2006. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. Food and Chemical Toxicology. 45: 812-816.
- [2] Mahoney, N. E. & Rodriguez, S. B. 1996. Aflatoxin variability in pistachios. Applied and Environmental Microbiology. 62(4): 1197-1202.
- [3] Beta, A. & Lasztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganism. Trends in Food Science and Technology. 10: 223-228.

- contaminated poultry feeds and liquid media in vitro. In poster presented at the 12<sup>th</sup> Annual Symposium on Biotechnology in the feed industry, Lexington, Virginia.
- [18] Madrigal-Santillan, E., Madrigal-Bujaidar, E., Marquez-Marquez, R. & Reyes, A. 2006. Antigenotoxic effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the damage produced in mice fed with aflatoxin B1 contaminated corn. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 2058-2063.
- strain of *Aspergillus terreus*. *Journal of Gen Applied Microbial*. 51:143-149.
- [15] Peinado, R. A., Moreno, J. J., Villalba, J. M., Gonzalez-Reyes, J. A., Ortega, J. M. & Mauricio, J. C. 2006. Yeast biocapsules: A new immobilization method and their applications. *Enzyme and Microbial Technology*. 40: 79-84.
- [16] Cooney, D. O. 1980. *Activated Charcoal: Antidotal and other medical uses*, New York: Marecel dekker. ISBN 0824769139.
- [17] Mahesh, B. K. & Devegowda, G. 1996. Ability of aflatoxin binders to bind aflatoxin

## The ability of *Saccharomyces Cerevisiae* strain in Aflatoxin reduction in Pistachio nuts

Rahaie, S. <sup>1\*</sup>, Razavi, S. H. <sup>2</sup>, Emam jomeh, z. <sup>3</sup>

1. M.Sc. Student of Food Science Biotechnology, University of Tehran
2. Associate Prof. of Food Science and Technology, University of Tehran

In this study, binding ability of *Saccharomyces cerevisiae* to aflatoxin of pistachio was investigated. Results indicate that the yeast has aflatoxin surface binding ability of 40% (with initial concentration of 10 ppb aflatoxin) in exponential phase. Acid and heat treatment increase this ability 60% and 55%, respectively. Binding appears to be a physical phenomenon that reaches to saturation point within first 2-3 hours of process. Also, results showed that yeast immobilization on aflatoxin contaminated pistachio in order to toxin reduction, have no effect on color factor. In this condition, Hunter Lab factors ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) indicate no significant changes. Yeast cells, viable or nonviable, are effective in aflatoxin binding and this property, especially for foods having high risk of aflatoxin contamination is considered as a good solution.

**Keywords:** Pistachio, Yeast, Aflatoxin, Surface binding

---

\* Corresponding Author E-mail address: [s\\_rahaie@yahoo.com](mailto:s_rahaie@yahoo.com)