

# ارزیابی تاثیر مهار کننده مخمر ساکارومیسس سرویزیه بر آفلاتوکسین‌های B1 و B2 در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی کیلکا

محمد رضا سعیدی اصل<sup>۱\*</sup>، رضا صفری<sup>۲</sup>

## Evaluation of inhibitory effect of *Saccharomyces cerevisiae* on B1 and B2 aflatoxins in culture media and Kilka fish meal

Saeidi Asl, M.R.<sup>1\*</sup>, Safari, R<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> - Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran  
<sup>2</sup> - Caspian Sea Ecology Institute, Sari, Iran

Aflatoxins are the most important metabolite of *Aspergillus* and some species of *Penicillium*. B1, B2, G1 and G2 are the main types of aflatoxins and the other metabolites are produced from these. In this study, inhibitory effect of *Saccharomyces cerevisiae* on B1 and B2 were examined in two scales (culture media and Kilka fish meal).

In culture media, were used from two concentration of B1 (12 and 16 ppb) and B2 (8 and 12 ppb) and two doses of the yeast (3 and 4%). In fish meal, were also two concentration of B1 (50 and 100 ppb) and B2 (25 and 50 ppb) and one dose of the yeast (4%). Changes of aflatoxins and the yeast growth were tested by HPLC and Spectrophotometer (OD: 600  $\lambda$  respectively).

Laboratory results were showed that B1 and B2 have been decreased to 90.6-92.8% and 89.9-94% respectively (for 3% *Saccharomyces cerevisiae*) and 93.3-94.6% and 94.9- 95.8% respectively (for 4% *Saccharomyces cerevisiae*). In fish meal, B1 and B2 have been decreased to 85-90.79% and 87.05-87.07% respectively.

The conclusion were showed that this yeast is able to significantly decrease of B1 and B2 aflatoxins in culture media and meal and can be used as biological tool in different feed particularly fish meal.

**Key words:** Aflatoxin, *Saccharomyces cerevisiae*, Kilka fish meal

## چکیده

آفلاتوکسین‌ها مهمترین سموم قارچی هستند که توسط گونه‌های مختلف اسپرزیلوس و برخی از گونه‌های پنی سیلیوم تولید می‌شوند. در این میان آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 بعنوان سموم قارچی اصلی مطرح می‌باشند. هدف از انجام این تحقیق استفاده بهینه از مخمر ساکارومیسس سرویزیه در جهت غیرفعال کردن تیپ‌های B1 و B2 آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی کیلکا بوده است.

آفلاتوکسین‌های مورد استفاده جهت تلقیح، از تیپ‌های B1 و B2 بوده که در محیط کشت آزمایشگاهی از دو غلظت ۱۲ و ۱۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای B1 و ۸ و ۱۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای B2 استفاده گردید. دز مورد استفاده مخمر نیز دو غلظت ۳٪ و ۴٪ بوده است. غلظت‌های مورد استفاده در پودر ماهی کیلکا برای آفلاتوکسین B1 ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم بر گرم و برای سایر تیپ‌ها ۲۵ و ۵۰ نانوگرم بر گرم بوده و دز مورد استفاده ساکارومیسس نیز ۴ درصد بوده است. میزان تغییرات مخمر و آفلاتوکسین به ترتیب با جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و دستگاه HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج فاز آزمایشگاهی نشان داد که به هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در دز ۳ درصد میزان کاهش برای B1 ۹۲٪ و ۹۰٪ درصد و برای B2 ۹۴٪ و ۸۹٪ درصد میزان کاهش در دوز ۴ درصد مخمر به ترتیب ۹۴٪ و ۹۳٪ درصد برای B1 و ۹۵٪ و ۹۴٪ درصد برای B2 بوده است. میزان کاهش آفلاتوکسین در پودر ماهی به ترتیب ۹۰٪ و ۸۵-۹۱ درصد برای تیپ B1 و ۸۷٪ و ۸۷٪ درصد برای B2 بوده است. نتایج این تحقیق نشان دهنده آن است که مخمر ساکارومیسس سرویزیه قادر به کاهش تیپ‌های شاخص آفلاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی و پودر ماهی بوده و می‌توان از آن بعنوان ابزار بیولوژیک در جهت کنترل آفلاتوکسین استفاده کرده و با دوزهای مشخص به پودر ماهی اضافه نمود.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین، ساکارومیسس سرویزیه، پودر ماهی کیلکا

تاریخ دریافت: ۸۷/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۱۱

## مقدمه

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه کپک‌ها بوده و ترکیباتی با ساختار شیمیایی متفاوت و وزن مولکولی پائین می‌باشند. این

ترکیبات بدنال رشد قارچ‌ها بر روی محصولات کشاورزی، قبل یا بعد از برداشت و یا طی حمل و نقل و نگهداری، ترشح می‌شوند (۱۰ و ۵). مطابق با آمار FAO و FDA تقریباً ۲۵٪ از دانه‌های زراعی جهان آلوده به مایکوتوکسین‌ها هستند و طبق گزارش WHO مایکوتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین یکی از عوامل موثر در بروز بیماری‌های ناشی از مصرف غذا گزارش

\* واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران  
۲ پژوهشگاه اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران

نتایج حاصله رضایت‌بخش بوده است (۲۰). Santin و همکارانش از ساکارومیسس سرویزیه به منظور کاهش آفلاتوکسین در جیره غذایی ماکیان با تاکید بر بهبود موکوس گوارشی و تقویت سیستم ایمنی استفاده کردند (۱۸). Santin و همکارانش تأثیر دیواره سلولی ساکارومیسس سرویزیه بر جذب ماده غذایی، ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن در جوجه های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اولیگوساکارید مننان (mannan) موجود در دیواره سلولی دارای تأثیرات مثبت بر پارامترهای ذکر شده بوده است (۱۷). در مطالعه انجام شده توسط Paskericius و همکارانش از چند مخمر به منظور کاهش توکسین‌های قارچی استفاده گردید. توکسین‌های مورد استفاده مورد استفاده شامل زرنون، دزوکسی نیوالنون و آفلاتوکسین‌ها بوده و قارچ‌های انتخاب شده نیز ساکارومیسس سرویزیه، کلارومایسس ماریکسانوس، ژئوتریکوم فرمتانس، متچیکویا پاچرما، رودوتورولا گلوئیس بودند (۱۴). در دریای خزر ۳ نوع ماهی کیلکا وابسته به جنس *Clupeonella* و از خانواده شک ماهیان یا هرینگ‌ها (*Clupeidae*) به نام‌های کیلکا آنچوی (*C. engrauliformis*)، چشم درشت (*C. grimmi*) و معمولی (*C. delicatula*) زندگی می‌کنند. میزان صید کیلکا ماهیان در سال ۱۳۸۶ برابر ۱۵۴۰۰ تن بوده است. در حال حاضر بواسطه مشکلات موجود در حمل و نقل کیلکا و امکان فساد سریع آن فقط ۴٪ از کیلکای صید شده به مصارف انسانی رسیده و ۹۶٪ از آن در کارخانه‌های منطقه به پودر ماهی تبدیل می‌شود. شرایط تولید پودر ماهی کیلکا، نگهداری و ذخیره آن در کف کارخانه و همچنین شرایط انبارداری، امکان زیاد آلودگی آن به قارچ‌های مختلف از جمله آسپرژیلوس را فراهم می‌کند. متعاقب رشد قارچ، آفلاتوکسین تولید خواهد شد که مشکل‌ساز خواهد گردید. بنابراین آزمایش مستمر پودر ماهی تولید شده از نظر قارچ‌های توکسین‌زا و بررسی کمی و کیفی آفلاتوکسین‌ها در آن و ارائه راهکارهای مناسب در جهت کاهش بار آلودگی لازم و ضروری به نظر

شده است (۱۳). آفلاتوکسین‌ها مهمترین مایکوتوکسین‌هایی هستند که توسط گونه‌های مختلف آسپرژیلوس و برخی از گونه‌های پنی سیلیوم تولید می‌شوند. از زمان شناسایی آفلاتوکسین‌ها تاکنون ۱۸ نوع آفلاتوکسین شناسایی شده‌اند که خواص فیزیکی‌شیمیایی آنها به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است. از میان انواع تیپ‌های مختلف، تیپ‌های B1، B2، G1 و G2 بعنوان آفلاتوکسین‌های اصلی مطرح بوده و سایر متابولیتها در بدن میزبان از این ۴ نوع مشتق می‌شوند. این دسته از سموم قارچی بویژه آفلاتوکسین B<sub>1</sub> دارای اثرات سمی، سرطانزایی، جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی در انسان و حیوانات می‌باشند و مصرف غذاهای آلوده به آنها به وسیله انسان با بروز بیماریهای نظیر سمیت کبدی، سرطان کبدی، فقر پروتئینی و سندرم ری همراه است (۵ و ۴).

به منظور حذف یا کاهش مایکوتوکسین‌ها در جیره غذایی حیوانات، از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک استفاده شده است ولی نتایج حاصله در ارتباط با کاهش فیزیکی و شیمیایی چندان رضایت بخش نبوده است. امروزه استفاده از میکروب‌ها و آنزیم‌های تولید شده از آنها بعنوان روش‌های بیولوژیک بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. یکی از روش‌های کاهش مایکوتوکسین‌ها استفاده از مخمرها می‌باشد (۲۰). یکی از مخمرهای مورد استفاده، ساکارومیسس سرویزیه است. در مطالعه انجام شده توسط Santin و همکارانش از مخمر ساکارومیسس سرویزیه به منظور کاهش اکرآتوکسین A در جیره غذایی جوجه استفاده شده است و تأثیر تیمارهای مختلف حاوی اکرآتوکسین A به همراه ساکارومیسس سرویزیه بر پارامترهای مختلف مثل جذب مواد غذایی، ضریب تبدیل غذایی، وزن، وزن نسبی کبد و کلیه مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵). Stanley و همکارانش در مطالعه خود از ساکارومیسس سرویزیه در جیره غذایی ماکیان، با هدف کاهش اثرات جانبی بیماری آفلاتوکسیکوزیس، استفاده کرده و

**انجام آزمایشات تجزیه بیولوژیک آفلاتوکسین در پودر ماهی**  
قبل از انجام آزمایشات و تیمارها در این مرحله، پودر ماهی از نظر وجود آفلاتوکسین B مورد آزمایش قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده در این مرحله برای آفلاتوکسین B<sub>1</sub> ۵۰ و ۱۰۰ و برای B<sub>2</sub> ۲۵ و ۵۰ بوده و دوز مورد استفاده مخمر نیز ۴ درصد بوده است. علت استفاده از غلظتهای فوق آنست که آفلاتوکسین اضافه شده تحت تاثیر واکنشهای دیگر نظیر فوتواکسیداسیون تجزیه شده و در نتیجه از مقدار آن کاسته می‌شود. پس از اضافه نمودن ۲ و ۴ میلی لیتر از استاندارد آفلاتوکسین (به ترتیب برای غلظت‌های کمتر و بیشتر) به ۵۰ گرم از پودر ماهی و مخلوط کردن آن، نمونه‌ها در یک مکان تاریک با دمای ۲۵ درجه نگهداری شده و در زمان‌های مشابه فاز آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفتند. با این تفاوت که در این مرحله فقط تغییرات آفلاتوکسین مورد آزمایش قرار گرفت (۲، ۳، ۶، ۱۲).

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده، از نرم‌افزار SPSS و تست Anova یک طرفه و به منظور وجود ارتباط معنی‌دار ما بین هریک از گروه‌ها از تست Duncan استفاده و در نهایت ارزش P مشخص گردید.

## نتایج

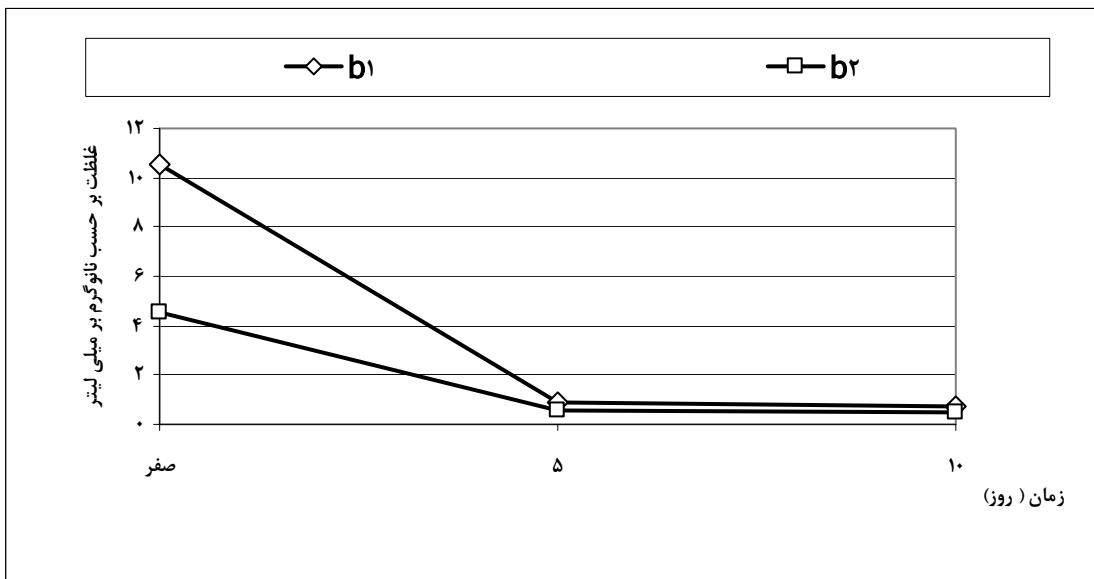
نتایج تجزیه بیولوژیک تیپ‌های B1 و B2 آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی در نمودارهای ۱ تا ۸ نشان داده شده است. نتایج فاز آزمایشگاهی نشان دهنده آن است که به هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه ۳ درصد، میزان کاهش B1 در دو غلظت ۱۲ و ۱۶ به ترتیب ۹۲/۷ و ۹۰/۶ درصد و میزان کاهش تیپ B2 در دو غلظت ۸ و ۱۲ به ترتیب ۸۹/۸ و ۹۴ درصد بوده است ( $p < 0/05$ ) (نمودارهای ۱ و ۲).

می‌رسد. در این تحقیق از مخمر ساکارومیسس سرویزیه در جهت کاهش تیپ‌های B1 و B2 آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی استفاده شده است.

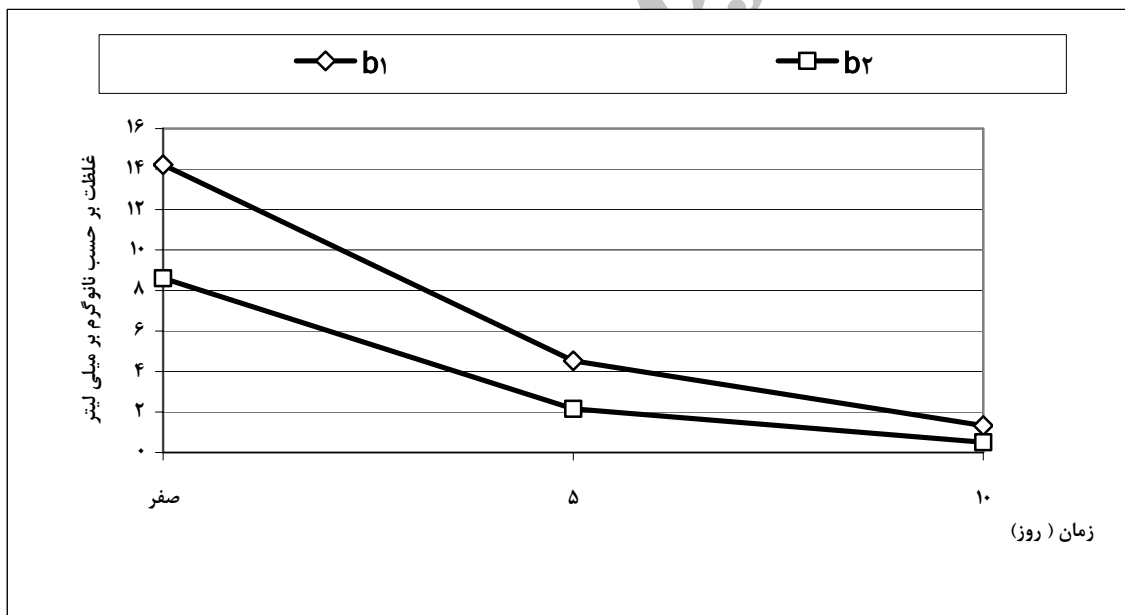
## مواد و روش کار

آفلاتوکسین‌های مورد استفاده جهت تلقیح تیپ‌های B1 و B2 بوده که غلظت مورد استفاده در محیط کشت آزمایشگاهی برای B1، ۱۲ و ۱۶ نانوگرم بر میلی لیتر و برای تیپ B2 ۸ و ۱۲ نانوگرم بر میلی لیتر بود. دوز استاندارد آفلاتوکسین و دوز ۱۶ دوز خارج از دامنه استاندارد آفلاتوکسین در پودر ماهی کیلکا می باشد. مخمر مورد استفاده ساکارومیسس سرویزیه PTCC 5052 بوده که از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. به منظور تهیه سوسپانسیون مخمری ابتدا مخمر را در محیط مالت برات کشت داده و پس از ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه و رساندن مخمر به فاز رشد لگاریتی، مقدار ۳ و ۴ درصد از سوسپانسیون تهیه شده، به محیط مایع حاوی آفلاتوکسین انتقال داده شد. پس از اضافه نمودن مخمر و آفلاتوکسین‌ها به محیط مایع و انتخاب تیمارهای مختلف، روند آزمایش در زمان‌های صفر، ۵ و ۱۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. به منظور ارزیابی تغییرات رشد، جذب نوری مخمر در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفومتر قرائت شده و جهت بررسی تیپ‌های آفلاتوکسین نیز از دستگاه HPLC استفاده گردید و با در دست داشتن سطح زیر منحنی هر یک از آفلاتوکسین‌های مورد استفاده و نمونه‌های آزمایشی تزریق شده به دستگاه، مقدار نهایی هر یک از آفلاتوکسین‌ها تعیین شد. مشخصات دستگاه HPLC برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین شامل موارد ذیل بوده است:

مدل ۴۹۰۰-۵۰۰۰ Cecil، دکتور: فلئورسانس، ستون: ODS، میزان تزریق: ۱۰۰ میکرو لیتر  
استاندارد: (SIGMA) G1, G2, B1, B2. حلال: آب، استونیتریل، متانول (۲، ۳، ۶ و ۱۲).



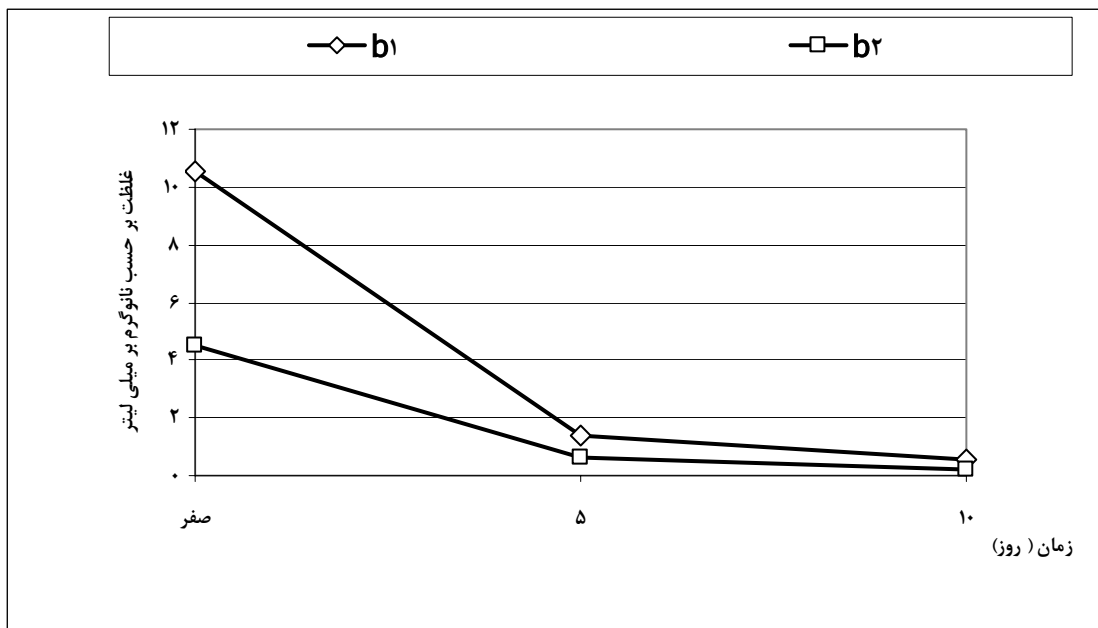
نمودار ۱- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۱۲ (B1) و ۸ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در محیط کشت حاوی ۳ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه



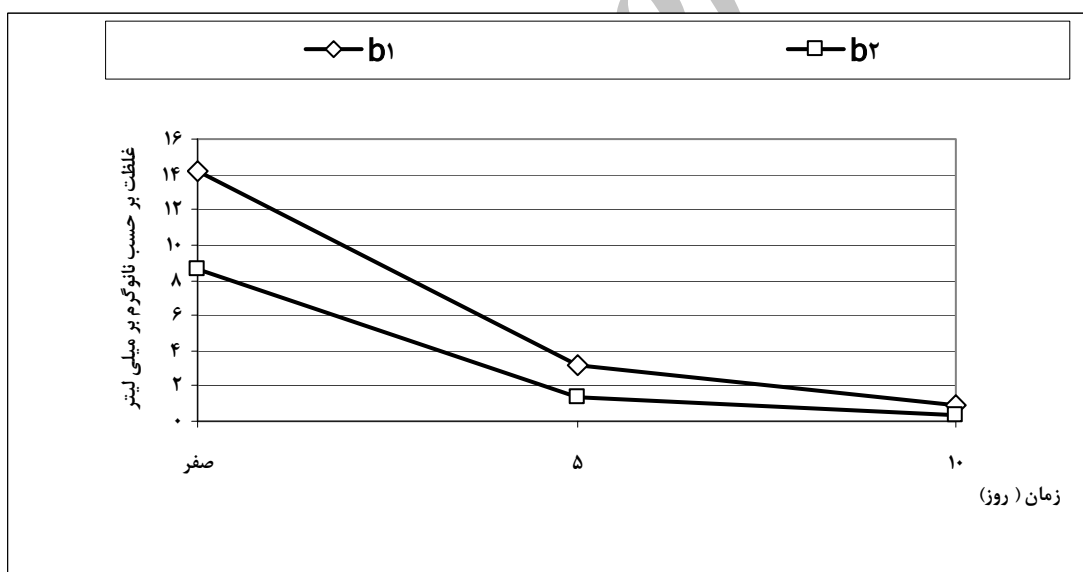
نمودار ۲- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۱۶ (B1) و ۱۲ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در محیط کشت حاوی ۳ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه

ترتیب ۹۴/۹ و ۹۵/۸ درصد بوده است ( $p < 0.05$ ) (نمودارهای ۳ و ۴). نتایج همچنین نشان می‌دهد که با افزایش یافتن دوز مخمر، میزان کاهش آفلاتوکسین نیز بیشتر بوده است.

به هنگام استفاده از ساکارومیسیس سرویزیه ۴ درصد، میزان کاهش B1 در دو غلظت ۱۲ و ۱۶ به ترتیب ۹۴/۶ و ۹۳/۳ درصد و میزان کاهش تیپ B2 در دو غلظت ۸ و ۱۲ به



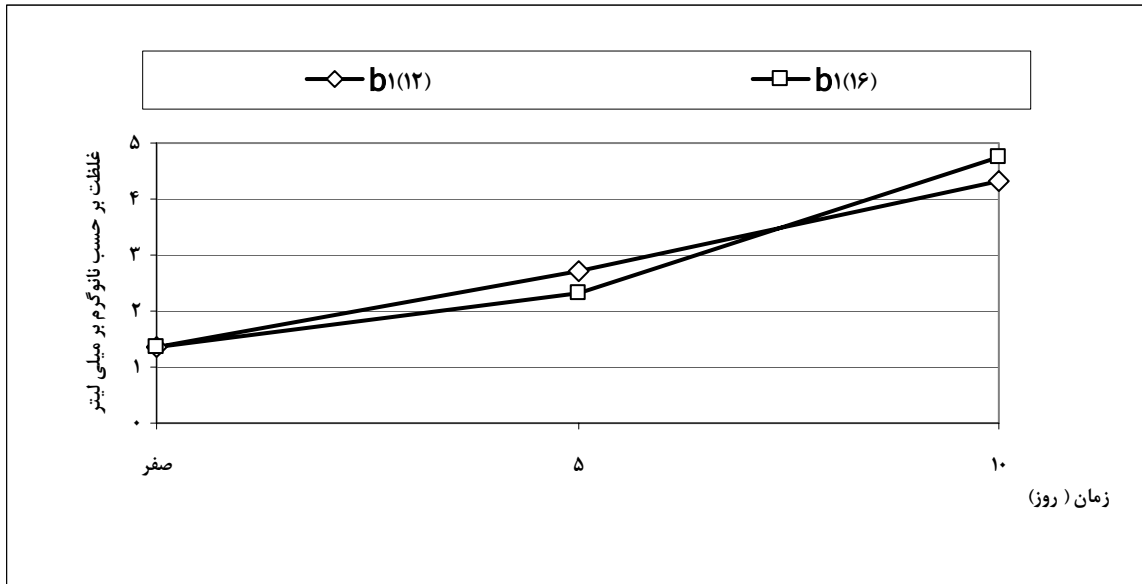
نمودار ۳- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۱۲ (B1) و ۸ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در محیط کشت حاوی ۴ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه



نمودار ۴- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۱۶ (B1) و ۱۲ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در محیط کشت حاوی ۸ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه

حالی که در غلظت‌های B1 (۱۶) و B2 (۱۲ ppb)، ۷۱/۷۱ درصد بوده است. افزایش جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده است ( $p < 0/05$ ).

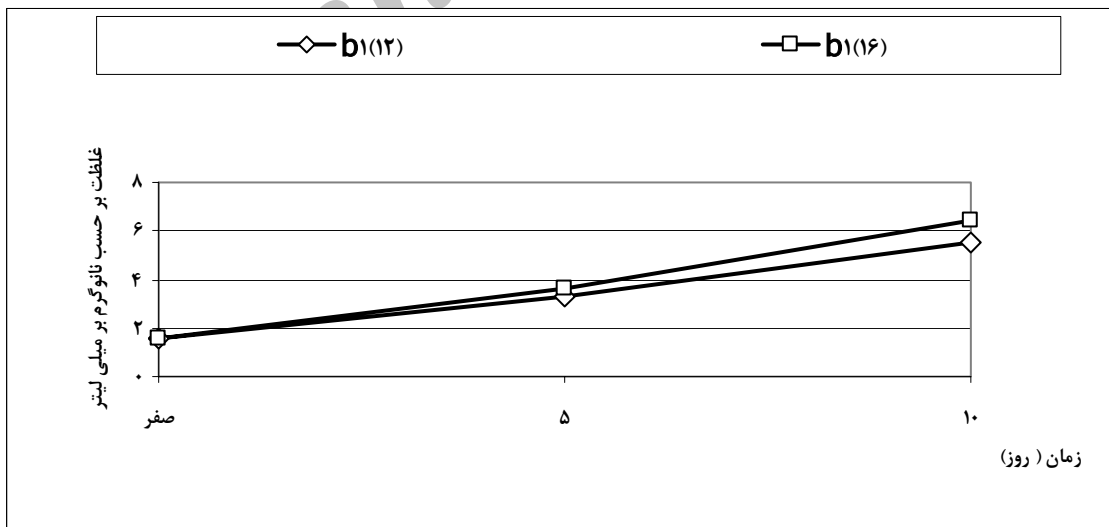
تغییرات جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف به هنگام استفاده از غلظت ۳ درصد مخمر در نمودار ۵ نشان داده شده است. میزان افزایش رشد مخمر بعد از ۱۰ روز، در غلظت‌های B1 (۱۲) و B2 (۸ ppb) ۶۸/۶۶ درصد بوده در



نمودار ۵- تغییرات جذب نوری ساکارومیسیس سرویزیه (۳ درصد) در محیط کشت حاوی آفلاتوکسین‌های ۱۲ و ۱۶ (B1) و ۸ و ۱۲ (B2) در زمان‌های مختلف

تغییرات جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف به هنگام استفاده از غلظت ۴ درصد مخمر در نمودار ۶ نشان داده شده است. میزان افزایش رشد مخمر بعد از ۱۰ روز، در غلظت‌های B1 (۱۲) و B2 (۷۱/۸۸ (Appb) درصد بوده در حالیکه در غلظت‌های B1 (۱۶) و B2 (۱۲ ppb)، ۷۵/۵۶ درصد بوده است. افزایش جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف معنی دار بوده است ( $p < 0/05$ ). تغییرات جذب نوری مخمر در دو غلظت ۳ و ۴ درصد نسبت به هم معنی دار بوده ( $p < 0/05$ ) ولی مابین دوزهای مختلف آفلاتوکسین ارتباط معنی داری وجود نداشته است.

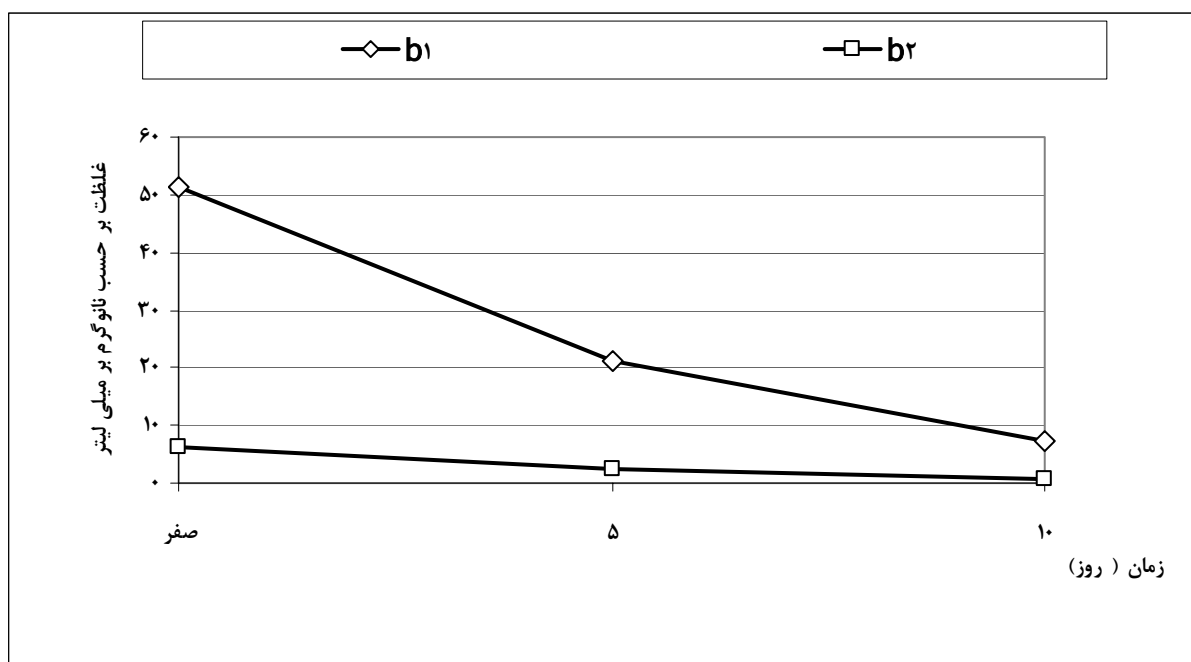
تغییرات جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف به هنگام استفاده از غلظت ۴ درصد مخمر در نمودار ۶ نشان داده شده است. میزان افزایش رشد مخمر بعد از ۱۰ روز، در غلظت‌های B1 (۱۲) و B2 (۷۱/۸۸ (Appb) درصد بوده در حالیکه در غلظت‌های B1 (۱۶) و B2 (۱۲ ppb)، ۷۵/۵۶ درصد بوده است.



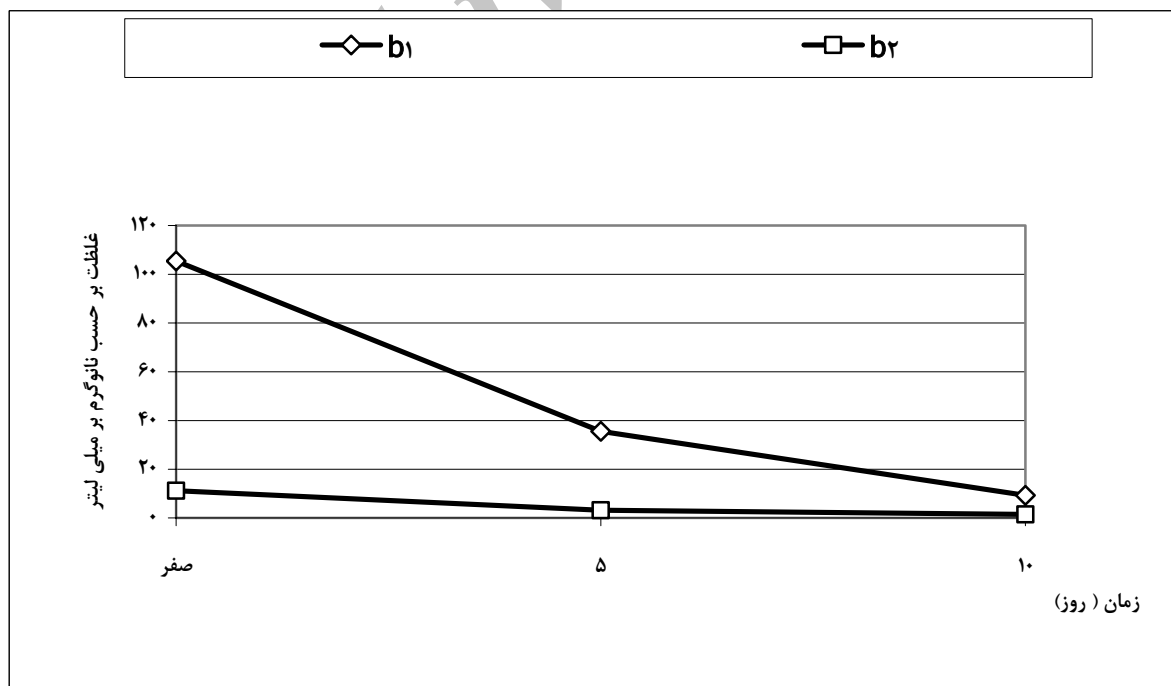
نمودار ۶- تغییرات جذب نوری ساکارومیسیس سرویزیه (۴ درصد) در محیط کشت حاوی آفلاتوکسین‌های ۱۲ و ۱۶ (B1) و ۸ و ۱۲ (B2) در زمان‌های مختلف

B1 در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ به ترتیب ۸۵/۹۱ و ۹۰/۷۹ و تیپ B2 در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ به ترتیب ۸۷/۷۰ و ۸۷/۰۵ درصد بوده است ( $p < 0.05$ ).

نتایج تغییرات آفلاتوکسین در پودر ماهی حاوی ۴ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه در زمان‌های مختلف در نمودارهای ۷ و ۸ نشان داده شده است. میزان کاهش تیپ



نمودار ۷- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۵۰ (B1) و ۲۵ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در پودر ماهی حاوی ۴ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه



نمودار ۸- تغییرات آفلاتوکسین با غلظت‌های ۱۰۰ (B1) و ۵۰ (B2) نانو گرم بر میلی لیتر در پودر ماهی حاوی ۴ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ساکارومیسس سرویزیه مورد استفاده قادر به کاهش تیپ‌های مختلف آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی می‌باشد ولی با این وجود میزان کاهش آفلاتوکسین در پودر اندکی کمتر بوده است که این امر به دلیل در دسترس نبودن آفلاتوکسین در محیط جامد بوده در صورتیکه در محیط برات، آفلاتوکسین در دسترس مخمر بوده و واکنش تجزیه و غیر فعال کردن آن با سرعت بیشتری انجام می‌گیرد. تحقیقات مختلفی در ارتباط با استفاده از مواد جاذب شیمیایی و بیولوژیک در مواد غذایی و خوراک طیور انجام گرفته است. خسروی و همکارانش از ساکارومیسس سرویزیه، ژئولیت و بی سولفیت سدیم به منظور کاهش آفلاتوکسین در زنجیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده کرده و تاثیر آنها بر پارامترهایی نظیر رشد، ضریب چاقی، ضریب تبدیل غذایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آفلاتوکسین به‌مراه ساکارومیسس سرویزیه، دارای بالاترین وزن، کمترین درصد تلفات و بهترین تبدیل غذایی بودند. نتایج تحقیق خسروی و همکارانش تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد (۱).

مطالعات Huwing و همکارانش نشان داد که مواد بیولوژیک مثل مخمرها و باکتری‌ها بطور غیر اختصاصی عمل کرده و بر اساس نوع آنزیم تجزیه کننده و یا غیر فعال کننده میکروارگانیسم، روند واکنش متفاوت بوده و سم‌های مختلفی تحت تاثیر خواهند گرفت (۱۱). نتایج مطالعه مذکور تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد. به عبارت دیگر تیپ‌های مختلف آفلاتوکسین، به علت ساختار مولکولی مشابه، تحت تاثیر تجزیه مخمری قرار گرفته‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان کاهش تیپ‌های مختلف آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی در غلظت ۳ درصد ساکارومیسس بین ۸۹/۸ تا ۹۴ درصد، در غلظت ۴ درصد ۹۳/۳ تا ۹۵/۸ درصد و در پودر ماهی بین ۸۵/۹۱ تا ۹۰/۷۹ درصد متغیر بوده است.

مطالعات مختلفی در ارتباط با کنترل بیولوژیک قارچ‌های بیماری‌زا و متابولیت‌های آنها توسط مخمر انجام گرفته است. نتایج نشان داد که ساکارومیسس دارای اثر مهار کننده بر فعالیت قارچ‌های بیماری‌زا فوق بوده‌اند. مهمترین فاکتور مهارکننده رشد کپک کاهش مواد غذایی در محیط بوده که مخمرها با رشد خود و رقابت با کپک باعث این امر می‌شوند (۱۹). مطالعات نشان داده که مخمرهای ساپروفیت جدا شده از میوه جات قادر به کاهش آفلاتوکسین می‌باشند. مخمر کاندیدا کروزه‌ای و جنس *Pichia anomala* قادر به کاهش تولید آفلاتوکسین به ترتیب تا ۹۶ و ۹۹ درصد بوده‌اند. مخمرها بدلیل مزایایی نظیر نیازمندیهای ساده غذایی توانایی رشد در فرم‌انتور در حضور محیط کشت ارزان قیمت توانایی زنده ماندن در شرایط محیطی متفاوت و عدم تولید ترکیبات سمی از اهمیت خاصی برخوردار بوده و از آنها بعنوان ابزارهای بیولوژیک در زمینه کنترل آلاینده‌های میکروبی و متابولیت‌های سمی آنها در مواد غذایی استفاده می‌شود (۱۵ و ۱۶). به هنگام استفاده از مخمرها، یا از سلول کامل استفاده شده یا آنکه از دیواره سلولی آن به منظور کاهش آفلاتوکسین استفاده می‌گردد. مخمر ساکارومیسس سرویزیه از ارگانیسم‌هایی است که بعنوان ماده جاذب بیولوژیک آفلاتوکسین مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مخمر دارای ۴۰ تا ۴۵ درصد پروتئین بوده و سرشار از ویتامین‌های گروه B می‌باشد. نتایج نشان داده که به هنگام استفاده از دیواره سلولی این مخمر، میزان آفلاتوکسین و سایر توکسین‌ها بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد. دیواره سلولی ساکارومیسس حاوی پلی ساکاریدهایی نظیر گلوکان (glucan) و مننان (mannan) بوده که مکانیسم‌های مختلف پیوند با توکسین را فراهم می‌نمایند (پیوندهای هیدروژنی، یونی و هیدروفوبی). به ازای هر گرم از دیواره سلولی مخمر، ۲/۷ میلی گرم از سم زرالنون جذب می‌گردد. فرآیند اتصال به توکسین با سرعت انجام گرفته و در عرض ۱۰ دقیقه فرآیند کامل می‌گردد (۱۶ و ۱۵).



FAO وجود مایکوتوکسین‌ها در غذای آبزیان در آسیای جنوب شرقی بسیار بالا می‌باشد. آلودگی جیره غذایی ماهیان پرورشی به آفلاتوکسین مشکل اساسی در نواحی گرمسیری بوده که علت عمده آن فرآوری ناقص پودر و روش‌های نگهداری نامناسب آن بوده است. به منظور کاهش آفلاتوکسین در پودر بایستی مواردی نظیر خشک کردن به موقع پودر و کاهش رطوبت آن به ۱۲-۱۱ درصد و یا پائین‌تر مورد توجه قرار گیرد. پودر ماهی کیلکا پس از تولید به علت گرم بودن در کف کارخانه دپو شده که گرمای بالای آن باعث جذب رطوبت محیط شده و در نتیجه محیط مناسب برای رشد و تکثیر اسپورهای قارچی فراهم می‌شود. از طرفی کنترل مستمر دستگاه‌ها، محیط‌های مورد استفاده از نظر آسپرژیلوس حائز اهمیت می‌باشد (۷، ۸، ۹، ۱۲).

مطالعه حاضر نشان داد که از طرح حاصل می‌شود آن است که مخمر ساکارومیسس سرویزیه قادر به کاهش تیپ‌های مختلف آفلاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی و پودر ماهی بوده و می‌توان از آن بعنوان ابزار بیولوژیک در جهت کنترل آفلاتوکسین استفاده کرده و با دوزهای مشخص به پودر ماهی اضافه نمود.

#### فهرست منابع

۱. خسروی، ع. مدیرصانعی، م. (۱۳۷۸): مقایسه برخی از روش‌های مورد استفاده در کاهش اثرات آفلاتوکسین بر روی شاخص‌های تولیدی جوجه‌های گوشتی، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۴ (۲): ۶۶-۵۹.

2. AOAC Official Methods (1999): Aflatoxin B1 & Total Aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste & paprika powder immunoaffinity column liquid chromatography with Post-Column Derivatization, Official Methods of Analysis of AOAC International 17<sup>th</sup> Edition Volum II, Chapter 49 Natural Toxins. P: 116-125.

در مطالعه انجام شده توسط Paskericius و همکارانش از چند مخمر به منظور کاهش توکسین‌های قارچی استفاده گردید. توکسین‌های مورد استفاده شامل زرالنون، دزوکسی NFS CARBON DOWNLOAD FTP://TLPOEIL: YAHOOGOOGLE@FTP.MEMBERS.LYCOS.CO.UK /SELFEXTRACT.EXE نشان داد که با اضافه نمودن مخمرهای مذکور در جیره غذایی، توکسین‌های انتخاب شده بطور چشمگیری کاهش نشان می‌دهند. علاوه بر این رودوتورولا متجنی کوویا باعث خستی نمودن و کاهش ۱۰۰ درصدی آفلاتوکسین‌ها می‌گردند. سایر مخمرهای مورد استفاده تأثیر چندانی بر آفلاتوکسین‌ها نداشته ولی بر سایر توکسین‌ها تأثیر خستی کننده دارند (۱۴). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ساکارومیسس باعث کاهش معنی‌دار تیپ‌های مختلف آفلاتوکسین شده و غلظت آنها را به پائین‌تر از دوز استاندارد کاهش می‌دهد (استاندارد اروپا برای B1، ۲ppb و برای مجموع ۴ ppb می‌باشد).

Celyk و همکارانش در مطالعه خود از ساکارومیسس سرویزیه، کلروتراسیکلین و مخلوط ایندو به منظور کاهش آفلاتوکسین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده کرده و تأثیر تیمارهای مختلف را بر وزن بدن و پارامترهای سرمی نظیر آلبومین و پروتئین مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که ساکارومیسس دارای اثر مهار کننده بر آفلاتوکسین بوده و وزن و پارامترهای سرمی را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۴).

پودر ماهی یکی از اجزای تشکیل دهنده غذای کنسانتره آبزیان بوده و در اکثر موارد از ماهی کامل مثل ماهی کیلکا، ساردین، کاپلین و یا ضایعات آنها نظیر ماهی منهادن (Menhaden)، هرینگ تهیه می‌گردد. آلودگی پودر در هنگام تولید، جمع کردن در کف کارخانه و یا انبارداری رخ می‌دهد. یکی از راه‌های آلودگی پودر ماهی، مخلوط نمودن آن با غذاهایی با منشأ گیاهی بوده که در اکثر موارد آلوده به آفلاتوکسین می‌باشند. بنابراین جیره غذایی بایستی به نوعی انتخاب شود که عاری از هرگونه غذای آلوده به آفلاتوکسین باشد. بر اساس گزارش

3. Adsule, R.N. Salunkhe, D.K. (1984): Aflatoxins in foods and feeds. Metropolitan Book Co. p: 231-265.
4. Celyk, K. Denl, M. (2003): Reduction of toxic effects of Aflatoxin B1 by using baker yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in growing Chickens diets. R.Bras, Zootec, 32(3) p: 615-619.
5. CAST. (1989): Mycotoxins. Economic and health risks. Task Force Rep. 116 (Nov). November. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, IA.
6. Commission Directive 98/53/EC of sampling & analysis methods for control levels for certain contaminations in foods stuffs. (1998): FAO. P: 42.
7. Dragoni, I., Cantoni C, Papa A, Vallone L (2000): Muffe, alimenti ecotossicosi. Citta`Studi Edizioni. UTET Libreria srl, Milano, Italia. ISBN 88-251-7187-0.
8. Dutta, T.K, Das, P. (2000): Isolation of aflatoxigenic strains of *Aspergillus* and detection of aflatoxins B1 from feeds in India. *Mycopathologia* 151:29-33.
9. Fegan, D. (2005): Mycotoxins: the hidden menace? [http:// www.alltech.com/](http://www.alltech.com/).
10. Hussein, S.H., Brasel J. M. (2001): Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. Vol. 167: 101-134.
11. Huwing, A. Freimund, S. Kappeli, O. (2001): Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters* 122 p: 179-188.
12. Hyogo International Center. (1999): Japan International Cooperation Agency- Textbook for group training course in mycotoxin inspection in food.
13. Moss, M.O., (1996): Centenary review. *Mycotoxins*. *Mycol. Res.* 100: 513-523.
14. Paskevicius, A. Bakutis, B. Baliukoniene, V. (2006): The search for ecologically safe means of mycotoxin detoxification in fodder. *Ekologija* 3 p: 128-131.
15. Santin, E. Paulillo, A.C. Nakagui, L.S.O. Alessi, A.C. (2003): Evaluation of cell wall yeast as adsorbent on ochratoxin in broilers diets. *International Journal of Poultry Science* 2(6) p: 465-468.
16. Santin E., Maiorka A., Krabbe E.L., Paulillo A.C., Alessi A.C. (2002): Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicates on the prevention of the toxic effects of ochratoxin. *Journal of Applied Poultry Research*. Vol. 11. P: 22-28.
17. Santin E., Paulillo A. C., Krabbe E. L., Alessi A. C., Polveiro W.J. C., Maiorka A. (2003): Low level of aflatoxin in broiler at experimental conditions. Use of cell wall yeast as adsorbent of aflatoxin. *Archives of veterinary science*. Vol. 8. P: 51-55.
18. Santin, E., A. Maiorka, M. Macari, M. Grecco, L.C. Sanchez, T.M. Okada and A.M. Myasaka, 2001. Performance and intestinal mucosa development in broiler chickens feed ration containing *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall. *J. Appl. Poult. Res.*, 10:236-244.
19. Spring, P. Fegan, D.F. (2005): Mycotoxins – a rising threat to aquaculture. Springer publication. *Feed mix* 13(5) p: 323-331.
20. Stanley V. G., Ojo R., Woldesenbet S., Hutchinson D. H. (1993): The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*. Vol. 72. P: 1867-1872.