جداسازی و بهینه سازی شرایط رشد مخمر های دارای خواص کاهندگی آفلاتوکسین B1 از پنیر های محلی در ایران

غزال یحیی پور [۱]، سید امیرعلی انوار [۱*]، مریم عطایی[۱]، حامد اهری[۲]، حسین عسکری[۳]

چکیده

آفلاتوکسین از مهمترین علل آلودگی در محصولات لبنی به شمار می‌رود که نسبت به حذف از طریق روشهای مختلف مقاومت نشان داده است. این مطالعه بر آن بوده است تا به شناسایی مولکولی مخمرهای جداشده از پنیرهای محلی و غربالگری آنها براساس توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 بپردازد. به منظور انجام این مطالعه ۳۲ نمونه پنیر محلی از مکانهای جغرافیایی مختلف استان تهران و سمنان در شهریار، فیروزکوه، چتن و گرمسار تهیه شد. سپس سویه های مخمر از نمونه ها جداسازی گردید. محلول استوک آفلاتوکسین آماده سازی شد و به محیط کشت حاوی سویه های مخمر جذب کننده آفلاتوکسین اضافه گردید. آفلاتوکسین جذب شده به صورت غیر مستقیم توسط آزمون الایزا اندازه گیری گردید. داده های این مطالعه نشان داد که ۳ سویه کد ٦، کد ۱۸ و کد ۸ جداسازی شده از پنیر های محلی دارای توانایی سم زدایی آفلاتوکسین B1 بوده اند. در این بین بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین B1 محیط با ٤٦/٥ درصد توسط سویه کد ٦ صورت گرفته بود. علاوه بر این مشخص گردید که دمای اپتیمم رشد این سویه ها بین ۲۸ تا ۳٦ درجه و pH بهینه آنها برابر با ٥/٥-٦/٥ بوده است. از آنجا که حذف آفلاتوکسین به شیوه بیولوژیک دارای اثرات مثبت بسیاری از جوانب مختلف حسی و بهداشتی بر محصولات لبنی است به نظر میرسد بتوان سویه های مخمر جداسازی شده در مطالعه حاضر را به عنوان میکروارگانیسم های دارای پتانسیل حذف آفلاتوکسین از محصولات لبنی به خصوص پنیر محلی، برای مطالعات بیشتر در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین، مخمر، سویه کاندیدا، پنیر

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۱/۳۰

مقدمه

امروزه با توجه به اهمیت شیر در تغذیه انسان و سلامت جامعه، آگاهی از ترکیبات آن و بهداشتی بودن این محصول، امری ضروری و اجتناب ناپذیر است. همچنین توجه به مسائل کیفی شیر بسیار مهم بوده زیرا شیر محیطی مناسب برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها از جمله قارچها به شمار می رود و رشد این میکروارگانیسم ها سبب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی می گردد (۱). میکروارگانیسم‌های آلوده کننده شیر شامل استافیلوکوکوس، کلی فرم‌ها، لیستریامونوسایتوژنز، بروسلا، سالمونلا، مایکوباکتریوم‌ها و آسپرژیلوس است. همچنین آلوده کننده های شیمیایی مثل ملامین، فلزات سنگین و بقایای آنتی بیوتیک های استفاده شده در دامپروری نیز مورد توجه بسیاری قرار گرفته اند (۲). تولید متابولیت های ثانویه ای همچون توکسین ها از مهمترین نگرانی های دانشمندان در صنایع شیر و پنیر است که سلامت مصرف کنندگان را به مخاطره می اندازد.

رشد و تکثیر قارچها و متعاقب آن تولید مایکوتوکسین ها در محصولات زراعی در مراحل قبل و پس از برداشت و یا در طول ذخیره سازی در انبارهایی تحت شرایط دمایی و رطوبت نامناسب رخ میدهد. به دلیل پایداری در انواع مواد غذایی(خام ، فرآوری یا پخته شده) غالباً این سموم از طریق مصرف خوراکی به بدن انسان و دام منتقل گشته و به عنوان یک عامل خطر مهم زیست محیطی ضمن ایجاد آسیب های بسیار جدی برای سلامت (به ویژه سرطان)، میتواند زمینه ساز ایجاد نگرانی های جدی در بهداشت مواد غذایی گردد. علاوه بر این، مایکوتوکسین ها سالانه منجر به

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
saaa4824@gmail.com
۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- گروه علوم گیاهی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

ایجاد ضرر و زیانهای بزرگ اقتصادی، ازجمله مرگ انسانها و حیوانات، افت محصولات علوفه ای و غذای دام خواهند شد. این توکسین ها علاوه بر مصرف مستقیم غذاهای با منشأ گیاهی آلوده به این سموم میتواند از طریق انتقال توکسین یا متابولیت‌های حاصل از آنها در محصولات حیوانی همچون فراورده های لبنی به صورت غیرمستقیم وارد زنجیره غذایی انسان گردد (۳-۵).

با توجه به مقاومت انواع بسیاری از مایکوتوکسین ها به طیف وسیعی از عوامل محیطی ازجمله؛ دما و فشار بالا(حتی در شرایط پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون)، PH پایین و دیگر مراحل متفاوت آماده سازی ماده غذایی، پایداری خود را در محصول نهایی تولیدی حفظ کرده و یا تخریب آن به آهستگی صورت میپذیرد. حتی ساختار شیمیایی آن نسبت به شیره معده هم مقاومت نشان داده و در صورت مصرف مواد غذایی آلوده میتواند نقش و اثرات جانبی خود را ایفا کند. تاکنون بیش از ٤٢٢ نوع مایکوتوکسین شناسایی شده که اغلب مطالعات و مباحث علمی روی انواع سرطانزا یا سمی آن متمرکز گشته است (۲-٦). در این بین آفلاتوکسینها با توجه به فراوانی بالا در مواد غذایی و اثرات تراتوژنیک، موتاژنیک و سرطانزایی، ژنوتوکسیک و سرکوب کنندگی سیستم ایمنی، در حوزه بهداشت عمومی جامعه، زمینه ساز نگرانی است.

امروزه آفلاتوکسین ها به عنوان مهمترین مایکوتوکسین ها شناخته شده اند که به طور عمده توسط آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید میگردند. در بین بیش از ۲۰ نوع آفلاتوکسین تشخیص داده شده، نقش اصلی در بیماریزایی را چهار تیپ AFG2،AFG1،AFB2،AFB1 و دو نوع AFM1و AFM2که به ترتیب متابولیتهای هیدروکسیله AFB1 و AFB2در حیوانات و فراوردههای دامی هستند، به خود اختصاص داده اند (۷). با توجه به نقش مایکوتوکسین ها در بروز بسیاری از بیماریها باید به صورت پیگیری حضور این توکسین در مواد غذایی مورد ارزیابی قرار گیرد (۸).

جهت کاهش یا حذف اثرات سوء آفلاتوکسین‌ها میتوان از استراتژیهای متفاوت پیشگیری از رشد قارچهای مایکوتوکسیک، سم زدایی مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین‌ها و یا تخریب ساختاری و مهار جذب آنها بهره جست. علیرغم اینکه در مطالعات متفاوت برای حذف و یا غیرفعال نمودن آفلاتوکسین‌های موجود در محصولات غذایی آلوده، با استفاده از روشهای فیزیکی همچون حرارت ، پرتو دهی، جذب سطحی و باند کردن و روشهای شیمیایی همچون مواد اکسیدکننده، مواد احیاکننده، اسید قوی، مواد قلیایی آمونیاک جهت مهار کلونیزاسیون زودهنگام عوامل بیماریزای گیاهی و ایجاد یک سطح حفاظتی در مراحل انبار شدن اغذیه اشاره شده است، لیکن اغلب آن روشها، با محدودیتهایی در زمینه ایمنی زیستی، افت ارزش کیفی محصولات ارگانیک و طعم ماده غذایی، محدودیت در کارایی، اثربخشی و هزینه بالا همراه هستند (۹).

در سالهای اخیر، استفاده از برخی عوامل جاذب دارای قدرت اتصال بالا به آفلاتوکسین‌های موجود در دستگاه گوارش حیوانات، منجر به کاهش قابلیت زیستی و سمیت آنها شده است. این ترکیبات کاربردهای صنعتی بالقوه‌ای داشته و کارایی متفاوتی بین انواع مختلف عوامل جذب کننده موجود، جهت حذف مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین، وجود دارد (۱۰). با توجه به درخواست و اعتراض بالای مصرف کنندگان در عدم مصرف عوامل شیمیایی کاهنده سموم و همچنین عوارض بالای آنها، مطالعات گسترده‌ای روی روشهای بیولوژیکی آلودگی زدایی که دارای حداکثر کارایی، حداقل هزینه تمام شده و سازگار با محیط زیست باشند، صورت میپذیرد. اغلب مطالعات در این خصوص توسط باکتریهای پروبیوتیک،

مخمرها و پس از آن قارچهای رشته ای انجام شده است (۱۱). یکی از روشهای موثر جایگزین در این خصوص بهره برداری از ظرفیت میکروارگانیسمهای تخریب کننده آفلاتوکسین‌ها در غذاها و مواد غذایی آلوده است که میتواند به عنوان یک اهرم کارآمد و با تامین اثرات چندجانبه مورد استفاده قرار گیرد (۱۲،۱۳). از این رو این مطالعه بر آن بوده است تا با شناسایی مولکولی مخمرهای جدا شده از پنیرهای محلی و بررسی توانایی جذب آفلاتوکسین در آنها قدمی در جهت کاهش این مواد مضر در این محصولات با استفاده از سویه های بومی ایران بردارد.

مواد و روش‌کار

نمونه گیری پنیر محلی

به منظور ارزیابی ظرفیت ژنتیک ناشی از جغرافیای کشور و به تبع آن شرایط اکولوژیک محل استقرار عشایر در ٤ منطقه شاخص اقلیمی با مشخصات شمال، شرق، غرب و جنوب کشور اقدام به تهیه پنیرهایی محلی شد. این مکانها شامل فیروزکوه ، گرمسار، شهریار و روستای چتن بود که دارای آب و هوای متفاوت از یکدیگر بودند. در حالت کلی ۳۲ نمونه پنیر محلی (۸ پنیر از هر محل) تهیه شده توسط افراد بومی منطقه جمع آوری گردید و در شرایط استریل و دمای ٤ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه منتقل گردید تا مورد بررسی های بیشتر قرار گیرد.

جداسازی مخمرها از منابع لبنی

به منظور شناسایی مخمرهای های موجود در نمونه های شیر از روشهای استاندارد بیوشیمیایی، رنگ آمیزی گرم استفاده گردید. بدین منظور ۳ گرم از هر نمونه ی پنیر با استفاده از استوماکر در۲۰ میلی لیتر محلول پپتون ۰,۱ درصد نمکی برای ۲ دقیقه در سرعت نرمال هوموژنایز می شد. سپس در یک میلی لیتر از این رقت روی محیط کشت Tryptone Glucose Yeast Extract حاوی کلرآمفینیکل (TYGC) [5.0 g/L tryptone (Difco), 100 g/L glucose, 5 g/L yeast extract (Difco), chloramphenicol (100 µg/ml), 15 g/L agar, pH 7.0] پخش می شد و برای ۵ روز در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد نگهداری می شد. سپس کشت ها برای رشد باکتریایی ارزیابی شده و کلونی های مخمر با استفاده از تکنیک streaking دوباره به محیط TGY آگار منتقل شده و برای ۵ روز مجدداً در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد گرما گذاری می شدند. سپس با تکنیک streaking دوباره تلقیح روی محیط کشت TGY حاوی از گلوکز، پپتون، عصاره مخمر، و آگار انجام می شد. چهارده سویه به دست آمده با این روش در محیط TGY در دمای ٤ درجه نگهداری شده و هر٤-۳ هفته در محیط تازه restreaking می شدند. بهینه سازی رشد سویه ها با تغییرات در محیط کشت و شرایط نگهداری بررسی میگردید (۱۳-۱٦).

غربالگری توانایی مخمر ها در جذب آفلاتوکسین B1

بدین منظور توکسین تولید شده آسپرژیلوس فلاووس (Forough Life Sciences Research Laboratory, Germany) با درجه استاندارد آنالیزی (Analytical grade) خریداری گردید و ر با استفاده از حلال استونیتریل و آب غلظت 0.1 ppm از آن توکسین آماده شد و سپس در غلظت‌های مختلف نانوگرم در میلی لیتر آن تهیه گردید. به منظور تهیه محلول استوک آفلاتوکسین، توکسین در بافر PBS 5 مولار با pH=7.2در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه حل میشد و در ٤ درجه نگهداری میگردید. از آنجا که این بافر دارای اثرات قابل توجه بر رشد مخمر است برای هر غلظت ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتری آن یک کنترل مجزا ایجاد شده و استفاده میگردید. مخمرهای شناسایی شده در دو محیط کشت مایع و جامد تحت تاثیر تیمارهای مایکوتوکسین با ۵ تکرار تلقیح شدند. در کشت جامد تیمارهای آفلاتوکسین قبل از قرار گیری پانچ مخمر در محیط اعمال میشدند. در کشت مایع پس از

٤ ساعت از اعمال مایع تلقیح مخمر با غلظت ۱۰۲×۱ به محیط افزوده شد. از زمان اعمال تیمار هر ٢٤ ساعت یکبار اقدام به تعیین CFU شد و پس از ٤٨ ساعت از اعمال تیمار نمونه ها برداشته شده و غلظت AFB1 باقی مانده مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی منحنی رشد مخمرها، از روش جذب نوری در OD=600nm استفاده شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون مخمر مذکور معادل102 CFU/ml به محیط کشت TGY براث افزوده شده و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. سپس در فواصل زمانی معین مورد بررسی اسپکتروفتومتری در OD600 نانومتر قرار میگرفتند و داده ها برای بررسی منحنی رشد ثبت میگردید. از آنجا که کنترل مورد استفاده با بافر PBS رقیق میگردید تا غلظت های مختلف به دست آید و این بافر دارای اثر منفی شدید بر رشد مخمر است برای هر رقتی از آفلاتوکسین که استفاده میگردید یک کنترل مجزا در نظر گرفته می‌شد (۱۸،۱۷).

نتایج

نمونه برداری

از ۳۲ نمونه جمع‌آوری شده پنیر، پس از کشت و بررسی های بیوشیمیایی، رنگ آمیزی گرم و تشخیص افتراقی مخمرها ١٤ سویه جداسازی گردید. جدول ۱ نشان دهنده موقعیت دقیق جغرافیایی و مشخصات آب و هوایی محل های نمونه برداری پنیر محلی بوده است.

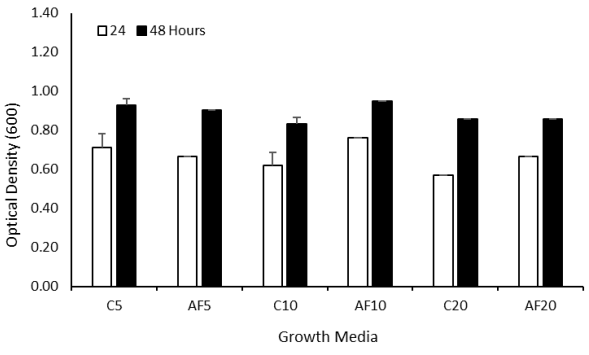
بهینه سازی رشد

داده‌های حاصل از بهینه سازی رشد سویه ها در pH های مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان رشد در سویه های جداسازی شده از نمونهای دریافت شده از ناحیه شهریار بوده است که از pH ۵/۵ تا ٦/٦ را در بر میگیرد. داده‌های حاصل از بهینه سازی رشد سویه ها نشان داد که بیشترین میزان رشد تا دمای ۲۸ درجه رخ داده است و در پی افزایش دما از ۲۸ به ۳٦ درجه سانتیگراد در برخی مواقع رشد افزایش یافته و اغلب کاهش را نشان میدهد.

جدول ۳ نشان دهنده مقادیر چربی، پروتئین، CFU و بیوماس تولید شده از مخمرهای به دست آمده از پنیرهای محلی در شرایط اپتیمم است. این داده ها نشان داد که بیشترین میزان CFU و پروتئین به ترتیب مربوط به سویه SI6 و SI4 جداسازی شده از چتن و شهریار بوده است. علاوه بر این سویه SI3، FI1 دارای بیشترین میزان بیومس و چربی بوده اند.

نتایج بررسی میزان آفلاتوکسین ها

بررسی پاسخ به رشد سویه های مخمری جداسازی شده در غلظت های مختلف آفلاتوکسین B1 در کشت ٢٤ و ٤٨ ساعته نشان داد که سطح رشد در برخی سویه ها دارای اختلاف معنی دار آماری بوده است. از آنجا که بافر PBS دارای اثرات قابل توجه بر رشد مخمر است برای هر غلظت یک کنترل متناسب با آن غلظت استفاده شده است. نتایج به دست آمده از تیمار سویه ها با بیشترین رشد در معرض آفلاتوکسین / در نمودارهای ذیل آورده شده است.



نمودار ۱: نمودار رشد سویه مخمر کد ٦ جداسازی شده، در معرض غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 در مدت زمان ٢٤ و ٤٨ ساعت پس از کشت در شرایط بهینه. میل بار نشان دهنده Standard deviation است. C: Control، AF: AflatoxinB1.

جدول ۱: مشخصات آب و هوایی و جغرافیایی محل های نمونه برداری در این مطالعه

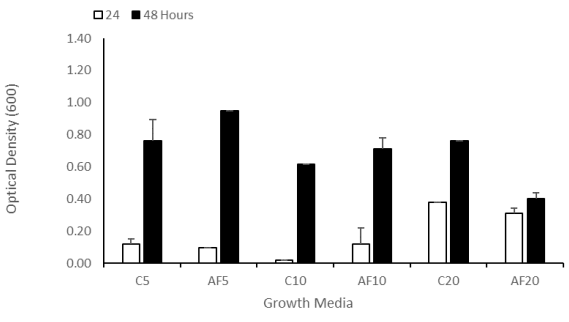
محل	ریزش باران(mm/year)	آب و هوا	ارتفاع از سطح دریا(m)	درصد رطوبت(%)
فیروزکوه	٢٤٦	بسیار سرد و نیمه مرطوب	۱۹۷۵/۵	٦٧
گرمسار	۷۱/۳۲	گرم و خشک	٨٥٦	۳۰/۱۲
چتن	٤٥٠	مرطوب و معتدل	۱۵۰۰	۷۹
شهریار	۲۷۹/۱	سرد و نیمه خشک	۱۱٤۰	۵۹/۹۱

جدول ۲: نتیجه بررسی رشد سویه های جداسازی شده در pH های مختلف محیط کشت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد

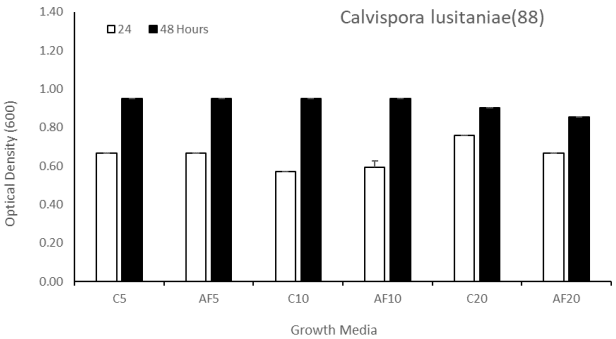
محل نمونه برداری	سویه	pH				
		۳/۵	۴/۵	۵/۵	۶	۶/۶
فیروزکوه	FI1	۰/۳۸	۰/۴۵	۰/۳۵	۰/۳۴	۰/۳۵
	FI2	۰/۱۵	۰/۶۱	۰/۳۱	۰/۴۰	۰/۲۳
چتن	CI1	۰/۵۰	۰/۴۱	۰/۴۰	۰/۵۰	۰/۷۱
	CI2	۰/۵۱	۰/۳۵	۰/۴۰	۰/۵۶	۰/۶۱
	CI3	۰/۲۹	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۴
	CI4	۰/۵۰	۰/۴۴	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۲۶
	CI5	۰/۵۰	۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۵۳	۰/۵۳
	CI6	۰/۵۷	۰/۴۶	۰/۵۲	۰/۵۷	۰/۶۳
گرمسار	GI1	۰/۲۰	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۲۷
	GI2	۰/۲۹	۰/۴۹	۰/۴۲	۰/۵۷	۰/۳۳
شهریار	SI1	۰/۵۲	۰/۶۸	۰/۶۴	۰/۷۶	۰/۷۴
	SI2	۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۶۱	۰/۷۶	۰/۷۷
	SI3	۰/۶۴	۰/۷۶	۰/۶۳	۰/۷۱	۰/۷۲
	SI4	۰/۴۴	۰/۳۷	۰/۵۱	۰/۴۲	۰/۵۰

، بیومس، پروتئین و چربی در شرایط اپتیمم CFUجدول ۳: مشخصات سویه های مخمر برای

محل نمونه برداری	مخمر	CFU (ml)	DW (g/lit) بیومس	(%) درصد چربی	(%) میزان پروتئین
فیروزکوه	FI1	۷/۸×۱۰^۷	۶۲/۳	۳۵/۱۴	۳۳/۲۱
	FI2	۳/۷×۱۰^۷	۳/۹۶	۳۰/۵۱	۲۵/۴۹
چتن	CI1	۴×۱۰^۷	۴/۴۴	۱۱/۹۴	۴۵/۴۱
	CI2	۴×۱۰^۹	۵/۴۶	۱۷/۷۷	۴۴/۴۴
	CI3	۴/۹×۱۰^۷	۳/۱۲	۳۰/۷۷	۲۹/۳۷
	CI4	۹/۴×۱۰^۸	۴/۲۲	۱۲/۱۸	۳۸/۷۱
	CI5	۵/۳×۱۰^۸	۴/۱۶	۱۴/۵۲	۳۲/۹۸
	CI6	۸/۳×۱۰^۸	۲/۶۶	۳۲/۴۸	۴۹
گرمسار	GI1	۳/۸×۱۰^۸	۳/۷	۳۲/۷۶	۳۷/۰۳
	GI2	۳/۸×۱۰^۹	۵/۳۸	۳۷/۶۶	۳۴/۴
شهریار	SI1	۳/۹×۱۰^۹	۵/۵۶	۱۱/۳۳	۲۳/۱۲
	SI2	۵/۷×۱۰^۹	۵/۵۴	۱۵/۰۷	۲۸/۹۱
	SI3	۳/۱×۱۰^۱۰	۵/۸۲	۱۴/۴۷	۳۹/۸۸
	SI4	۹/۸×۱۰^۹	۵/۶۴	۱۴/۰۴	۴۷/۱۴



نمودار ۲: نمودار رشد سویه کد ۱۸جداسازی شده، در معرض غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 در مدت زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از کشت در شرایط بهینه. میل بار نشان دهنده Standard deviation است. C: Control، AF: AflatoxinB1.



نمودار ۳: نمودار رشد مخمر *کد* ۸ جداسازی شده، در معرض غلظت های ۱۰، ۲۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر آفلاتوکسین B1 در مدت زمان ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از کشت در شرایط بهینه. میل بار نشان دهنده Standard deviation است. C: Control، AF: AflatoxinB1.

بحث

امروزه مطالعات و آمار سازمان جهانی بهداشت مشخص نموده است که بیماری‌های غذازاد یک مشکل سلامت عمومی روبه رشد در جهان است. آفلاتوکسین‌ها علاوه بر ایجاد سرطان، سیستم ایمنی را متوقف کرده و امکان افزایش سمیت ترکیبات هپاتوتوکسیک را فراهم می‌کنند. سرطانزایی و موتاژن زایی این سموم عمدتا به علت تبدیل AFB1 به ۸ و ۹ AFB1 اپوکسید است که قادر به متصل شدن به پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک‌ها هستند (۱۴-۱۶). مطالعات پیشین نشان داده که پتانسیل در معرض قرارگرفتن انسان از طریق مصرف شیر و فرآورده‌های آن وجود دارد. از این رو دانشمندان به سوی ابداع راهکارهای نوین جهت جایگزینی روشهای پر عارضه و گاها بدون تاثیر فیزیکی و شیمیایی کاهش آفلاتوکسین سوق داده شده اند. داده های این مطالعه نشان داد که برخی از مخمر های جداسازی شده از پنیر های محلی دارای توانایی سم زدایی آفلاتوکسین ها بوده اند. در این بین بیشترین میزان کاهش آفلاتوکسین B1 محیط با ٤٦/٥ درصد توسط سویه کد ٦ صورت گرفت. علاوه بر این مشخص گردید که دمای اپتیمم رشد این سویه ها بین ۲۸ تا ۳٦ درجه و pH بهینه آنها برابر با ٥/-٥ ٦/٥ بوده است.

رهایی و همکاران در مطالعه ای به بررسی توانایی گونه مخمر ساکارومایسس سرویزیه جهت کاهش آفلاتوکسین موجود در پسته پرداختند. نتایج آنها حاکی از این بود که در غلظت ۱۰ppb افلاتوکسین، مخمر در فاز لگاریتمی می تواند با حدود ٤٠٪ ازافلاتوکسین موجود اتصال برقرار کند (۱۷). علاوه بر این بهرام وند و همکاران در مطالعه ای در سال ۲۰۱۹ به بررسی اثر سه گونه مخمر ساکارومایسس سرویزیه، پیچیا فرمنتانس و رودوتورولا موسیلاژینوزا بر کاهش آفلاتوکسین B1 در محیط شبیه سازی شده معده پرداختند (۱۷). نتایج نشان داد هر سه مخمر نسبت به شاهد (بدون مخمر) در کاهش غلظت توکسین در معده توانایی داشتند اما تأثیر رودوترولا موسیلاژینوزا بیشتر از سایرین بود. نتایج به دست آمده در تحقیق آنها نشان داد هر سه گونه مخمر توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 را در محیط معده داشتند اما مخمر رودوترولا موسیلاژینوزا را می‌توان به‌عنوان موثرترین جدایه در بیوکنترل آفلاتوکسین B1 معرفی نمود (۱۹). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که مخمر های جداسازی شده از پنیر های محلی ایران دارای توانایی کاهش آفلاتوکسین B1 بودند. علاوه بر این در توافق با مطالعات ذکر شده، نشان داده شد که گذشت زمان میتواند میزان جذب این سم را توسط مخمرها افزایش دهد. Moreira و همکاران در تحقیقی از پروبیوتیکها جهت کنترل تولید آفلاتوکسین در دانه های بادام استفاده کردند. در این تحقیق از میکروارگانیسمهای پروبیوتیک شامل ساکارومایسس سرویزیه واریته بولاردی، ساکارومایسس سرویزیه و لاکتوباسیلوس دلبروکی به تنهایی و یا در ترکیب با هم استفاده شد. کاهش در تولید آفلاتوکسین تیمارهایی که به تنهایی تلقیح شدند به ترتیب ٪۷۲/۸ و ٪٦٥/۸ برای ساکارومایسس بولاردی و ساکارومایسس سرویزیه بود. هنگامی که میکروارگانسیم های فوق در ترکیب دوتایی با هم تلقیح شدند، بهترین نتیجه در کاهش آفلاتوکسین از ترکیب ساکارومایسس بولاردی و لاکتوباسیلوس دلبروکی به دست آمد (۲۰). به نظر میرسد سویه های مخمری جدا شده از پنیر محلی در این تحقیق نیز بتوانند از جنبه خواص پروبیوتیک مورد بررسی بیشتر قرار بگیرند. این مطالعات در راستای داده های به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که سویه های مخمر دارای توانایی کاهش آفلاتوکسین محیط هستند. علاوه بر این تاثیر اسیدیته محیط در هر دو مطالعه بر میزان جذب آفلاتوکسین اثبات گردیده است. مطالعات متعدی نشان داده اند که شرایط اسیدی در فرآیندی از طریق اثر بر روی پلی ساکاریدها وتبدیل به

منومرها و شکسته شدن به آلدهیدها عمل میکند. طبق پژوهشهای پیشین، احتمال میرود که در شرایط اسیدی مقداری از اتصالات، درون سلولی باشد. علاوه بر این حرارت دهی ممکن است باعث دناتوره شدن پروتئینها یا تشکیل محصولات واکنش میلارد در دیواره سلولی شده و یا با انحلال بعضی ازمانو پروتئینهای موجود در دیواره سلولی، نفوذ پذیری دیواره را افزایش داده و منجر به افزایش دسترسی مکانهای اتصال مخفی دیواره شود. درصد های مختلف در جذب میزان آفلاتوکسین میتواند به تفاوت در پتانسیل جذب در سویه های مخمر نسبت داده شود. مطالعات Shetty و همکاران نشان داده است که پدیده اتصال آفلاتوکسین یک پدیده فیزیکی بوده که در سطح مخمر یعنی در قسمت پلی ساکاریدی دیواره سلولی آن اتفاق میافتد. آنها مشاهده کردند که ٪۷۵ قدرت اتصال مخمر مربوط به مواد استخراج شده از دیواره سلولی بوده و زمانی که الیگوساکارید-مانان تغییر یافته از دیواره مخمر مشتق میشود این مقدار به ٪۹۵ میرسد (٦،٢١). در تحقیق Zhou و همکاران در سال ۲۰۱۷ مشاهده شد که اتصال، عمده ترین دلیل حذف آفلاتوکسین B1توسط زیگوساکارومایسس روکسی و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در تخمیر مایع بود. میزان آفلاتوکسین باند شده توسط این دو میکروارگانیسم بیشتر از ۵۰ درصد بود (۲۲). این بررسی نشان داد که بجای تجزیه در تخمیر مایع، سلولهای این دو مخمر فقط توانستند آفلاتوکسین را به وسیله اتصال حذف نمایند. به نظر میرسد این داده ها در راستای یافته های این مطالعه باشد چرا که سویه های مخمر جداسازی شده حتی پس از کشته شدن توانایی جذب آفلاتوکسین را حفظ کرده بودند.

داده های این تحقیق نشان داد که تمام نمونه‌های جغرافیایی پنیرهای خانگی شامل جدایه‌های مخمری مختلف با ویژگی‌های بیولوژیکی متنوع و متمایز بود. برخی از سویه‌های مخمر علی‌رغم وجود گسترده بوم‌شناختی، تغییرات رشد گسترده‌ای را در برابر آفلاتوکسین‌ها نشان دادند. به طور متوسط، اثر منفی از غلظت های مختلف آفلاتوکسین بر سویه های مخمر شناسایی شده مشاهده نشد و میزان قابل توجهی از AFB1 توسط این سویه ها با موفقیت از محیط کشت حذف شد. به نظر می رسد که سویه های مخمر با تأثیر غیر قابل انکار بر کیفیت پنیر خانگی، میکروارگانیسم های دارای پتانسیل برای حذف بالقوه آفلاتوکسین از مواد غذایی محسوب میشوند.

فهرست منابع

1. Ding M, Huang T, Bergholdt HK, Nordestgaard BG, Ellervik C, Qi L. Dairy consumption, systolic blood pressure, and risk of hypertension: Mendelian randomization study. Bmj. 2017;356:j1000.
2. Sahni S, Mangano KM, Kiel DP, Tucker KL, Hannan MT. Dairy intake is protective against bone loss in older vitamin D supplement users: the Framingham Study. The Journal of nutrition. 2017;147(4):645-52.
3. Villarreal-Barajas T, Vázquez-Durán A, Méndez-Albores A. Effectiveness of electrolyzed oxidizing water on fungi and mycotoxins in food. Food Control. 2021:108454.
4. Yang Y, Li G, Wu D, Liu J, Li X, Luo P, et al. Recent advances on toxicity and determination methods of mycotoxins in foodstuffs. Trends in food science & Technology. 2020;96:233-52.
5. Zhou Q, Tang D. Recent advances in photoelectrochemical biosensors for analysis of mycotoxins in food. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2020;124:115814.
6. Shetty PH, Jespersen L. Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating

agents. Trends in food science & technology. 2006;17(2):48-55.
7. Peng Z, Chen L, Zhu Y, Huang Y, Hu X, Wu Q, et al. Current major degradation methods for aflatoxins: A review. Trends in food science & technology. 2018;80:155-66.
8. Liu D, Li W, Zhu C, Li Y, Shen X, Li L, et al. Recent progress on electrochemical biosensing of aflatoxins: A review. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2020:115966.
9. Ismail A, Gonçalves BL, de Neeff DV, Ponzilacqua B, Coppa CF, Hintzsche H, et al. Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. Food Research International. 2018;113:74-85.
10. Pankaj S, Shi H, Keener KM. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. Trends in Food Science & Technology. 2018;71:73-83.
11. Javanmardi F, Khodaei D, Sheidaei Z, Bashiry M, Nayebzadeh K, Vasseghian Y, et al. Decontamination of aflatoxins in edible oils: A comprehensive review. Food Reviews International. 2020:1-17.
12. Khaneghah AM, Fakhri Y, Gahruie HH, Niakousari M, Sant'Ana AS. Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review. Trends in food science & technology. 2019;91:95-105.
13. Li P, Su R, Yin R, Lai D, Wang M, Liu Y, et al. Detoxification of mycotoxins through biotransformation. Toxins. 2020;12(2):121.
14. Sotoodeh L, Dini A, Rezaeian M, Esmaeili A, Asgaryan A. Evaluation of Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurized Milk in Kerman and Rafsanjan Cities in 2019: A Descriptive Study. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2021;19(11):1163-78.
15. Sarmast E, Fallah AA, Jafari T, Khaneghah AM. Impacts of unit operation of cheese manufacturing on the aflatoxin M1: A global systematic review and meta-analysis. LWT. 2021:111772.
16. Sabir S, Rehman K, Fiayyaz F, Kamal S, Akash MSH. Role of Aflatoxins as EDCs in Metabolic Disorders. Endocrine Disrupting Chemicals-induced Metabolic Disorders and Treatment Strategies: Springer; 2021. p. 381-9.
17. Rahaei. Investigating the ability of Saccharomyces cerevisiae to reduce aflatoxin in pistachios.
18. Bahram Vand S, Mohammadi S. The effect of some species of yeasts on reduction of aflatoxin B1 of Aspergillus flavus in simulated model of human stomach. Iranian Journal Food Science and Technology Research. 2019;15(4):441-52.
19. Karazhiyan H, Mehraban SM, Karazhyan R, Mehrzad A, Haghighi E. Ability of different treatments of Saccharomyces cerevisiae to surface bind aflatoxin M1 in yoghurt. 2016.
20. Silva JFMd, Peluzio JM, Prado G, Madeira JEGC, Silva MO, de Morais PB, et al. Use of probiotics to control aflatoxin production in peanut grains. The scientific world journal. 2015;2015.
21. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by Saccharomyces cerevisiae strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. International journal of food microbiology. 2007;113(1):41-6.
22. Zhou G, Chen Y, Kong Q, Ma Y, Liu Y. Detoxification of aflatoxin B1 by Zygosaccharomyces rouxii with solid state fermentation in peanut meal. Toxins. 2017;9(1):42.