

## بررسی اثر مخمر ساکارومیسس سرویزیه بر کاهش آفلاتوکسین‌های $G_1$ و $G_2$ در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی کیلکا

محمد رضا سعیدی اصل<sup>a\*</sup>، رضا صفری<sup>b</sup>

<sup>a</sup> استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار

<sup>b</sup> عضو هیات علمی و کارشناس ارشد بخش بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی آبزیان دریای خزر

### چکیده

**مقدمه:** آمار FAO نشان می‌دهد که ۲۵ درصد از محصولات کشاورزی در دنیا آلوده به مایکوتوکسین بوده که در این بین آفلاتوکسین‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های گروه اسپرژیلوس بوده و به چهار گروه  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$  و  $G_2$  تقسیم‌بندی شده و برخی از متابولیت‌ها نظیر  $M_1$  و  $M_2$  از آن‌ها مشتق می‌شوند. در این مطالعه، اثر کاهش‌دهنده مخمر ساکارومیسس سرویزیه بر دو تیپ آفلاتوکسین  $G_1$  و  $G_2$  در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی کیلکا مورد بررسی قرار گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** دو غلظت مورد استفاده در محیط کشت برای آفلاتوکسین‌های مورد بررسی ۸ و ۱۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر و برای ساکارومیسس نیز دو غلظت ۳٪ و ۴٪ بوده و در پودر ماهی کیلکا برای آفلاتوکسین‌ها ۲۵ و ۵۰ نانوگرم بر گرم و برای مخمر نیز ۴ درصد بوده است. میزان تغییرات مخمر و آفلاتوکسین در محیط کشت به ترتیب با جذب نوری (Optical Density) در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و دستگاه HPLC و مقایسه با استاندارد آفلاتوکسین (به منظور ارزیابی تغییرات آفلاتوکسین) مورد ارزیابی قرار گرفته و در پودر ماهی نیز فقط تغییرات غلظت آفلاتوکسین با استفاده از دستگاه HPLC مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج فاز آزمایشگاهی نشان داد که به هنگام استفاده از ساکارومیسس سرویزیه در دوز ۳ درصد، میزان کاهش برای  $G_1$  ۹۸/۸ و ۹۷/۳ درصد و برای  $G_2$  ۹۴/۸ و ۹۵ درصد، میزان کاهش در دوز ۴ درصد مخمر به ترتیب ۹۲/۱ و ۹۶/۸ درصد برای  $G_1$  و ۹۷/۳ و ۹۷ درصد برای  $G_2$  بوده است. میزان کاهش آفلاتوکسین در پودر ماهی به ترتیب ۹۱/۸۵ و ۹۰/۶۶ درصد برای تیپ  $G_1$  و ۸۹/۶۶ و ۹۱/۴۷ درصد برای  $G_2$  بوده است.

**نتیجه‌گیری:** نتیجه این مطالعه و مقایسه آن با مطالعات انجام گرفته در ارتباط با سایر تیپ‌های آفلاتوکسین نشان می‌دهد که ساکارومیسس سرویزیه قادر به کاهش تیپ‌های آفلاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی و پودر ماهی بوده و می‌توان از آن به‌عنوان ماده بیولوژیک در غذای طیور و آبزیان که حاوی درصد خاصی از پودر ماهی می‌باشد استفاده نمود.

### واژه‌های کلیدی

آفلاتوکسین‌های  $G_1$  و  $G_2$ ، پودر ماهی کیلکا، ساکارومیسس سرویزیه

مطابق با آمار FAO و FDA تقریباً ۲۵ درصد از محصولات کشاورزی در دنیا آلوده به مایکوتوکسین‌ها بوده و طبق گزارش اتحادیه اروپا، ۳۰ درصد از محصولات غذایی و کشاورزی آلوده به مایکوتوکسین بوده که از این میزان، ۹۰ درصد مربوط به آفاتوکسین می‌باشد (CAST, 1998; Moss, 1996).

از زمان شناسایی آفاتوکسین تاکنون ۱۸ نوع آفاتوکسین شناسایی شده‌اند که خواص فیزیوشیمیایی آن‌ها به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است. از میان انواع تیپ‌های مختلف، تیپ‌های  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$  و  $G_2$  به عنوان آفاتوکسین‌های اصلی مطرح بوده و متابولیت‌های  $M_1$  و  $M_2$  به ترتیب از  $B_1$  و  $B_2$  مشتق می‌گردند. این دسته از سموم قارچی به‌ویژه آفاتوکسین  $B_1$  دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی، جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی در انسان و حیوانات می‌باشند و مصرف غذاهای آلوده به آن‌ها به وسیله انسان با بروز بیماری‌هایی نظیر سمیت کبدی، سرطان کبدی، فقر پروتئینی و سندرم ری همراه است (Celyk & Denl, 2003; CAST, 1989; Sweeney & Dobson, 1998).

به منظور حذف یا کاهش مایکوتوکسین‌ها در جیره غذایی حیوانات، از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک استفاده شده ولی نتایج حاصله در ارتباط با کاهش فیزیکی و شیمیایی چندان رضایت‌بخش نبوده است. امروزه استفاده از میکروب‌ها و آنزیم‌های تولید شده از آن‌ها به‌عنوان روش‌های بیولوژیک بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. یکی از روش‌های کاهش مایکوتوکسین‌ها استفاده از مخمرها خصوصاً ساکارومیسیس سرویزیه می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط Santin و همکاران از مخمر ساکارومیسیس سرویزیه به منظور کاهش اخراتوکسین A در جیره غذایی جوجه استفاده شده است و تاثیر تیمارهای مختلف حاوی اخراتوکسین A به همراه ساکارومیسیس سرویزیه بر پارامترهای مختلف مثل جذب مواد غذایی، ضریب تبدیل غذایی، وزن، وزن نسبی کبد و کلیه مورد ارزیابی قرار گرفت (Santin et al., 2003).

Stanley و همکاران در مطالعه خود از ساکارومیسیس سرویزیه در جیره غذایی ماکیان، با هدف کاهش اثرات جانبی بیماری آفاتوکسیکلوزیس، استفاده کرده و نتایج حاصله رضایت‌بخش بوده است (Stanley et al., 1993). Santin و همکاران از ساکارومیسیس سرویزیه به منظور کاهش آفاتوکسین در جیره غذایی ماکیان با تاکید بر بهبود موکوس گوارشی و تقویت سیستم ایمنی استفاده کردند (Santin et al., 2001a). Santin و همکاران تاثیر دیواره سلولی ساکارومیسیس سرویزیه بر جذب ماده غذایی، ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن در جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اولیگوساکارید مننان موجود در دیواره سلولی دارای تاثیرات مثبت بر پارامترهای ذکر شده بوده است (Santin et al., 2003).

میزان صید کیلکا ماهیان در سال ۱۳۸۶، ۱۵۴۰۰ تن بوده است (سازمان شیلات ایران، ۱۳۸۷). در حال حاضر به واسطه مشکلات موجود در حمل و نقل کیلکا و سریع‌الفساد بودن آن فقط ۴ درصد از کیلکا صید شده به مصارف انسانی رسیده و ۹۶ درصد از آن در کارخانه‌های منطقه به پودر ماهی تبدیل می‌شود (سلمانی و همکاران، ۱۳۷۶). شرایط تولید پودر ماهی کیلکا، دپو نمودن آن در کف کارخانه و همچنین شرایط انبارداری، پتانسیل آلودگی آن به قارچ‌های مختلف از جمله آسپرژیلوس را فراهم می‌کند. بنابراین آنالیز مستمر پودر ماهی تولید شده از نظر قارچ‌های توکسین‌زا و بررسی کمی و کیفی آفاتوکسین‌ها در آن و ارائه راهکارهای مختلف در جهت کاهش بار آلودگی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق از مخمر ساکارومیسیس سرویزیه در جهت کاهش تیپ‌های  $G_1$  و  $G_2$  آفاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی استفاده شده است.

## مواد و روش‌ها

– انجام آزمایشات تجزیه بیولوژیک آفاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی  
آفاتوکسین‌های مورد استفاده جهت تلقیح، تیپ‌های  $G_1$  و  $G_2$  بوده که غلظت مورد استفاده

مراحل آزمایشگاهی) بوده است. علت استفاده از غلظت‌های فوق آن است 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 (AOAC, 1999; Adsule & Salunkhe, 1984; Commission Directive 98/53/EC, 1998; Hyogo International Center, 1999). منظور تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از نرم افزار SPSS و تست ANOVA یک طرفه و به منظور وجود ارتباط معنی‌دار ما بین هر یک از گروه‌ها از تست Duncan استفاده شد و در نهایت ارزش P مشخص گردید.

#### یافته‌ها

نتایج تجزیه بیولوژیک تیپ‌های G1 و G2 آفلاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی در جدول‌های ۱ تا ۵ نشان داده شده است. نتایج فاز آزمایشگاهی نشان می‌دهد که به هنگام استفاده از ساکارومایسس سرویزیه در دوز ۳ درصد و برای G1 و G2، ۹۴/۸ و ۹۵ درصد بوده است ( $p < 0.05$ ).

نتایج فاز آزمایشگاهی نشان می‌دهد که به هنگام استفاده از ساکارومایسس سرویزیه در دوز ۴ درصد میزان کاهش به ترتیب ۹۲/۱ و ۹۶/۸ درصد برای G1 و ۹۷/۳ و ۹۷ درصد برای G2 بوده است ( $p < 0.05$ ).

در جدول ۳ تغییرات جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف هنگام استفاده از غلظت ۳ درصد مخمر نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان افزایش رشد مخمر بعد از ۱۰ روز، در غلظت ۸ppb و G1 و G2، ۶۸/۶۶ درصد بوده در حالی که در غلظت ۱۲ppb، ۷۱/۷۱ درصد بوده است. افزایش جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ).

آن‌ها در محیط مالت برات ۸ و ۱۲ نانوگرم بر میلی لیتر (ppb) بوده است. دوز ۱۲، دوز استاندارد آفلاتوکسین و دوز ۱۶، دوز خارج از دامنه استاندارد آفلاتوکسین در پودر ماهی کیلکا می‌باشد. مخمر مورد استفاده ساکارومایسس سرویزیه PTCC 5052 بوده که از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. به منظور تهیه سوسپانسیون مخمري، ابتدا مخمر را در محیط مالت برات کشت داده و پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و رساندن مخمر به فاز رشد لگاریتمی، مقدار ۳ و ۴ درصد از سوسپانسیون تهیه شده، به محیط کشت 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 اسپکتروفوتومتر قرائت شده و جهت بررسی تیپ‌های آفلاتوکسین نیز از دستگاه (High HPLC Performance Liquid Chromatography) استفاده شده و مقدار نهایی هر یک از آفلاتوکسین‌ها تعیین شد (AOAC 1999; Adsule & Salunkhe 1984; Commission Directive 98/53/EC 1998; Hyogo International Center 1999). مشخصات دستگاه HPLC برای اندازه گیری آفلاتوکسین شامل موارد ذیل بوده است:

مدل ۴۹۰۰-۴۵۰۰ Cecil، دکتور: فلوتورسانس، ستون: ODS، میزان تزریق: ۱۰۰ میکرولیتر، استاندارد: G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> و (SIGMA) B<sub>2</sub>، حلال: آب، استونیتریل، متانول (AOAC, 1999; Adsule & Salunkhe, 1984; Commission Directive 98/53/EC, 1998; Hyogo International Center, 1999).

#### انجام آزمایشات تجزیه بیولوژیک آفلاتوکسین در پودر ماهی

قبل از انجام آزمایشات تیمارها در این مرحله، پودر ماهی از نظر وجود آفلاتوکسین G مورد آزمایش قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده در این مرحله ۲۵ و ۵۰ نانوگرم بر میلی لیتر بوده و دوز مورد استفاده مخمر نیز ۴ درصد (با توجه به نتایج

جدول ۱- تغییرات آفاتوکسین های  $G_1$  و  $G_2$  ( ۸ و ۱۲ ppb ) در محیط کشت حاوی ساکارومیسیس سرویزیه ( ۳ درصد ) در زمان های مختلف

آفاتوکسین	$G_2$		$G_1$	
	۱۲	۸	۱۲	۸
زمان (روز)				
۰	۱۰/۲۴	۴/۸۵	۹/۲۶	۵/۲۱
۵	۱/۷۵	۲/۳۱	۱/۲۵	۱/۱۹
۱۰	۰/۵۱	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۶
درصد کاهش	۹۵	۹۴/۸	۹۷/۳	۹۸/۸

جدول ۲- تغییرات آفاتوکسین های  $G_1$  و  $G_2$  ( ۸ و ۱۲ ppb ) در محیط کشت حاوی ساکارومیسیس سرویزیه ( ۴ درصد ) در زمان های مختلف

آفاتوکسین	$G_2$		$G_1$	
	۱۲	۸	۱۲	۸
زمان (روز)				
۰	۱۰/۲۴	۴/۸۵	۹/۲۶	۵/۲۱
۵	۰/۴۷	۱/۲۷	۰/۵۶	۰/۶۹
۱۰	۰/۳۰	۰/۱۳	۰/۲۹	۰/۴۱
درصد کاهش	۹۷	۹۷/۳	۹۶/۸	۹۲/۱

جدول ۳- تغییرات جذب نوری ساکارومیسیس سرویزیه ( ۳ درصد ) در محیط کشت حاوی آفاتوکسین های  $G_1$  و  $G_2$  در زمان های مختلف

آفاتوکسین	$G_2, G_1$ (ppb ۱۲)	$G_2, G_1$ (ppb ۸)
زمان (روز)		
۰	۱/۳۴۵	۱/۳۵۱
۵	۲/۳۱۴	۲/۷۲۵
۱۰	۴/۷۵۶	۴/۳۱۱
درصد افزایش	۷۱/۷۱	۶۸/۶۶

## بحث

مخمرها به دلیل مزایایی نظیر نیازمندی‌های ساده غذایی، توانایی رشد در فرماتور 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 به عنوان ابزارهای بیولوژیک در زمینه کنترل آلاینده‌های میکروبی و متابولیت‌های سمی آن‌ها در مواد غذایی استفاده می‌شود. مخمر ساکارومیسیس سرویزیه از ارگانیس‌هایی است که به عنوان 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 به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. دیواره سلولی ساکارومیسیس حاوی پلی ساکاریدهایی نظیر گلوکان

در جدول ۴ تغییرات جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف به هنگام استفاده از غلظت ۴ درصد مخمر نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان افزایش رشد مخمر بعد از ۱۰ روز در غلظت‌های ۸ و ۱۲ نانوگرم G1 و G2، ۷۱/۸۸ درصد بوده است. افزایش جذب نوری مخمر در زمان‌های مختلف معنی دار بوده است ( $p < 0.05$ ) ولی بین دوزهای مختلف ارتباط معنی‌داری وجود نداشته است.

نتایج تغییرات آفلاتوکسین در پودر ماهی حاوی ۴ درصد مخمر ساکارومیسیس سرویزیه در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که میزان کاهش G1 و G2 در دو غلظت ۲۵ به ترتیب ۸۹/۶۶ و ۹۱/۴۷ و در غلظت ۵۰ به ترتیب ۹۱/۸۵ و ۹۰/۶۶ درصد بوده است ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴ - تغییرات جذب نوری ساکارومیسیس سرویزیه (۴ درصد) در محیط کشت حاوی آفلاتوکسین‌های G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> در زمان‌های مختلف

آفلاتوکسین زمان (روز)	G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> (۱۲ ppb)	G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> (۸ ppb)
۰	۱ / ۵۷۰	۱ / ۵۶۴
۵	۳ / ۶۵۷	۳ / ۳۲۵
۱۰	۶ / ۴۲۵	۵ / ۵۶۲
درصد افزایش	۷۵ / ۵۶	۷۱ / ۸۸

جدول ۵ - تغییرات آفلاتوکسین‌های G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ در پودر ماهی حاوی ساکارومیسیس سرویزیه (۴ درصد) در زمان‌های مختلف

آفلاتوکسین زمان (روز)	G <sub>2</sub>		G <sub>1</sub>	
	۵۰	۲۵	۵۰	۲۵
۰	۱۱ / ۸۹	۶ / ۷۵	۱۲ / ۲	۵ / ۴۲
۵	۳ / ۴۲	۲ / ۸۹	۳ / ۵۶	۲ / ۱۱
۱۰	۱ / ۱۱	۰ / ۵۵	۱ / ۰۴	۰ / ۵۶
درصد کاهش	۹۰ / ۶۶	۹۱ / ۸۵	۹۱ / ۴۷	۸۹ / ۶۶

ساکارومیسیس بین ۹۴/۸ تا ۹۸/۸ درصد، در غلظت ۴ درصد ۹۲/۱ تا ۹۷/۳ درصد و در پودر ماهی بین ۸۹/۶۶ تا ۹۱/۸۵ درصد متغیر بوده است.

محمدی و همکاران در ارتباط با تجزیه تیپ‌های مختلف آفاتوکسین توسط مخمر کاندیدا کروزه ای مطالعه کرده و نتایج نشان داد که مخمر مورد استفاده باعث کاهش معنی‌دار تیپ‌های مختلف آفاتوکسین در محیط کشت و پودر ماهی کیلکا می‌گردد (محمدی و صفری، ۱۳۷۸).

در مطالعه انجام شده توسط Paskericius و همکاران از چند مخمر به منظور کاهش توکسین‌های قارچی استفاده گردید. مخمرهای مورد استفاده شامل ساکارومیسیس سرویزیه، کلارومایسیس ماریکسانوس، ژئوتریکوم فرمتانس، متشینیکووا پالچریم، رودتورولا (گلوئینیس و مالمسیلاگینوزا) بودند. نتایج نشان داد که با اضافه نمودن مخمرهای مذکور در جیره غذایی، توکسین‌های انتخاب شده به‌طور چشمگیری کاهش نشان می‌دهند. علاوه بر این، رودتورولا و متشینیکووا باعث خنثی نمودن و کاهش ۱۰۰ درصدی آفاتوکسین‌ها می‌گردند (Paskericius et al., 2006). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ساکارومیسیس باعث کاهش معنی‌دار تیپ‌های مختلف آفاتوکسین شده و غلظت آن‌ها به پائین‌تر از دوز استاندارد کاهش می‌دهد (استاندارد اروپا برای  $B_1$ ، ۲ ppb و برای مجموع ۴ ppb می‌باشد).

Celyk و همکاران در مطالعه خود از ساکارومیسیس سرویزیه، کلروتتراسیکلین و مخلوط این دو به منظور کاهش آفاتوکسین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده کرده و تاثیر تیمارهای مختلف را بر وزن بدن و پارامترهای سرمی نظیر آلبومین و پروتئین مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که ساکارومیسیس دارای اثر مهار کننده بر آفاتوکسین بوده و وزن و پارامترهای سرمی را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Celyk and Denl, 2003).

مطالعات سلمانی و همکاران در ارتباط با بررسی کمی و کیفی ماشین آلات تولیدکننده پودر، ابزارآلات و وسایل، پرسنل، کف کارخانه و پودر ماهی کیلکا نشان داد که قارچ‌های گروه اسپرژیلوس

و منان بوده که مکانیسم‌های مختلف پیوند با توکسین را فراهم می‌نمایند (پیوندهای هیدروژنی، یونی و هیدروفوبی) (Santin et al., 2003a; Santin et al., 2002; Yiannikouris & Jouany, 2002).

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ساکارومیسیس سرویزیه مورد استفاده قادر به کاهش تیپ‌های مختلف آفاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی می‌باشد ولی با این وجود میزان کاهش آفاتوکسین در پودر اندکی کم‌تر بوده است که این امر به دلیل در دسترس نبودن آفاتوکسین در محیط جامد بوده در صورتی که در محیط برات، آفاتوکسین 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 همکاران از ساکارومیسیس سرویزیه، ژئولیت و بی‌سولفیت سدیم به منظور کاهش آفاتوکسین در زنجیره غذایی جوجه‌های گوشتی استفاده کرده و تاثیر آن‌ها بر پارامترهای نظیر رشد، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی آفاتوکسین به‌مراه ساکارومیسیس سرویزیه، دارای بالاترین وزن، کم‌ترین درصد تلفات و بهترین تبدیل غذایی بودند. نتایج تحقیق خسروی و همکاران تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد (خسروی و مدیرصانعی، ۱۳۷۸).

مطالعات Huwing و همکاران نشان داد که مواد بیولوژیک مثل مخمرها و باکتری‌ها به‌طور غیراختصاصی عمل کرده و بر اساس نوع آنزیم تجزیه‌کننده و یا غیرفعال‌کننده میکروارگانیسم، روند واکنش متفاوت بوده و سم‌های مختلفی تحت تاثیر قرار خواهند گرفت (Huwing et al., 2001). نتایج مطالعه آنان تایید کننده مطالعه حاضر می‌باشد. به عبارت دیگر تیپ‌های مختلف آفاتوکسین، به علت ساختار مولکولی مشابه، تحت تاثیر تجزیه مخمیری قرار گرفته‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که میزان کاهش تیپ‌های مختلف آفاتوکسین در محیط کشت آزمایشگاهی در غلظت ۳ درصد

گوشتی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۲، صفحات ۶۶-۵۹. سازمان شیلات ایران. (۱۳۸۷). سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۸۶-۱۳۷۹، صفحه ۲۰. سلمانی، ع.، صفری، ر. و غلامی پور، س. (۱۳۷۶). بهینه سازی تولید پودر ماهی کیلکا. گزارش نهایی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر. محمدی، م. و صفری، ر. (۱۳۷۸). استفاده از کاندیدا کروزه ای به منظور کاهش آفاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی و پودر ماهی. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس.

AOAC Official Methods. (1999). Association of Official Analytical Chemists, Volume II, Chapter 49, Natural Toxins.

Adsule, R. N. & Salunkhe, D. K. (1984). Aflatoxins in foods and feeds. Metropolitan Book Co, pp. 215-256.

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), 615-619.

CAST. (1989). Mycotoxins. Economic and health risks. Task Force Rep., No. 116., Council for Agricultural Science and Technology, Ames, IA.

Commission Directive 98/53/EC of sampling & analysis methods for control levels for certain contaminations in foods stuffs. (1998).

Dragoni, I., Cantoni, C., Papa, A. & Vallone, L. (2000). Muffe, alimenti ecotossicosi. Citta`StudiEdizioni. UTET Libreria srl, Milano, Italia. ISBN 88-251-7187-0.

Dutta, T. K. & Das, P. (2000). Isolation of aflatoxigenic strains of *Aspergillus* and detection of aflatoxins B1 from feeds in India. Mycopathologia, 15, 129-33.

Fegan, D. (2005). Mycotoxins: the hidden menace? <http://www.alltech.com/>.

Hussein, S. H. & Brasel, J. M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 16, 101-134.

Huwing, A., Freimund, S. & Kappeli, O. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicology Letters, 122, 179-188.

Hyogo International Center. (1999). Japan International Cooperation Agency-Text book for group training course in mycotoxin inspection in food. pp. 112-117.

Moss, M. O. (1996). Centenary review. Mycotoxins. Mycol. Res, 100, 513-523.

دارای تراکم بالایی بوده و از پودر دیو شده در کف کارخانه و برخی از ابزارآلات جدا شده اند (سلمانی و همکاران، ۱۳۷۶). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که پودر ماهی کیلکای شاهد دارای مقادیر متفاوتی از آفاتوکسین‌های  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$  و  $G_2$  با مقادیر ۱، ۲/۸۳، ۰/۳۸ و ۰/۷۹ میکروگرم بر کیلوگرم بوده است. این امر نشان دهنده وجود اسپرژیلوس در پودر بوده و شرایط آن برای تولید آفاتوکسین فراهم شده و تولید توکسین کرده است.

بر اساس گزارش FAO وجود میکوتوکسین‌ها در غذای آبزیان (خصوصاً پودر ماهی) در آسیای جنوب شرقی بسیار بالا می‌باشد. آلودگی جیره غذایی ماهیان پرورشی به آفاتوکسین مشکل اساسی در نواحی گرمسیری بوده که علت عمده آن فرآوری ناقص پودر و روش‌های نگهداری نامناسب آن بوده است. به منظور کاهش آفاتوکسین در پودر بایستی مواردی نظیر خشک کردن به موقع پودر و کاهش رطوبت آن به ۱۲-۱۱ درصد و یا پائین تر مورد توجه قرار گیرد. پودر ماهی کیلکا پس از تولید بعلت گرم بودن در کف کارخانه دیو شده که گرمای بالای آن باعث جذب رطوبت محیط شده و در نتیجه محیط مناسب برای رشد و تکثیر اسپوره‌های قارچی فراهم می‌شود. از طرفی کنترل مستمر دستگاه‌ها، محیط‌های مورد استفاده از نظر اسپرژیلوس حائز اهمیت می‌باشد (Dragoni *et al.*, 2000; Dutta & Das, 2000; Fegan, 2005; Spring, 2005; Yiannikouris & Jouany, 2002).

### نتیجه گیری

نتیجه گیری کلی که از طرح حاصل می‌شود آن است که مخمر ساکارومیسس سرویزیه قادر به کاهش تیپ‌های مختلف آفاتوکسین در شرایط آزمایشگاهی و پودر ماهی بوده و می‌توان از آن به عنوان ابزار بیولوژیک در جهت کنترل آفاتوکسین استفاده کرده و با دوزهای مشخص به پودر ماهی اضافه نمود.

### منابع

خسروی، ع. و مدیرصانعی، م. (۱۳۷۸). مقایسه برخی از روش‌های مورد استفاده در کاهش اثرات آفاتوکسین بر روی شاخص‌های تولیدی جوجه‌های

Paskevicius, A., Bakutis, B. & Baliukoniene, V. (2006). The search for ecologically safe means of mycotoxin detoxification in fodder. *Ekologija* 3 pp. 128-131.

Santin, E., Paulillo, A. C., Nakagui, L. S. O. & Alessi, A. C. (2003a). Evaluation of cell wall yeast as adsorbent on Ochratoxin in Broilers diets. *International Journal of Poultry Science*, 2 (6), 465-468.

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*, 11, 22-28.

Santin, E., Paulillo, A. C., Krabbe, E. L., Alessi, A. C., Polveiro, W. J. C. & Maiorka, A. (2003b). Low Level of aflatoxin in broiler at experimental Conditions. Use of Cell Wall Yeast as adsorbent of aflatoxin. *Archives of veterinary science*, 8, 51-55.

Santin, E. A., Maiorka, M., Macari, M., Grecco, L. C., Sanchez, T. M., & Myasaka, A. M. (2001). Performance and Intestinal Mucosa Development in Broiler Chickens Fed Ration Containing *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall. *J. Appl. Poult. Res*, 10, 236-244.

Spring, P. (2005). Mycotoxins – a rising threat to aquaculture. *Feedmix* 13, pp. 421-460.

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*, 72, 1867-1872.

Sweeney, M. J. & Dobson, A. D. W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species: a review. *Int. J. Food Microbiol*, 43, 141-158.

Yiannikouris, A. & Jouany, J. (2002). Mycotoxins in feed and their fate in animals: a review. *Animal Research*, 51, 81-99.



## Inhibitory Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> Aflatoxins in Culture Media and Kilka Fish Meal

M. R. Saeidi Asl<sup>a\*</sup>, R. Safari<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Assistant Professor of the Department of Food Hygiene, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Iran.

<sup>b</sup> Academic Member of Biotechnology Department, Caspian Sea Ecology Research Center, Sari, Iran.

∞

Σ

### Abstract

**Introduction:** A report of FAO shows that 25% of agriculture products are contaminated by mycotoxins and aflatoxins might be considered the most important as compared to others. Aflatoxins are secondary metabolites of *Aspergillus* and are divided into B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> types and other classes namely M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub> are derived from these. In this study, inhibitory effect of *Saccharomyces cerevisiae* on G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> were examined in two substrates (culture media and Kilka fish meal).

**Material & Methods:** In culture media, two concentrations of aflatoxin (8 and 12 ppb) and two doses of the yeast (3 and 4%) were applied. Changes of aflatoxins and the yeast growth were evaluated by HPLC and Spectrophotometer (OD: 600 λ) respectively.

**Results:** The results from both culture media and fish meal indicated that G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> concentrations have been decreased considerably.

**Conclusion:** It is shown that *Saccharomyces cerevisiae* might be employed as biological tool to lower aflatoxin concentration.

**Keywords:** G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> Aflatoxins, Kilka Fish Meal, *Saccharomyces cerevisiae*.

\*Corresponding Author: mrezasaeidi@yahoo.com