Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

مقاله پژوهشی
غلامپور عزیزی و همکاران

تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر میزان کاهش سم قارچی سیترینین در آردگندم

عیسی غلامپور عزیزی[۱]، مولود گرجی[۲]، بیژن نوری[۳]، سمانه روحی[۴،۵*]

۱. استادیار قارچ شناسی، گروه قارچ شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
۳. استادیار گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴. دانشجوی دوره دکترای اپیدمیولوژی مولکولی باکتری ها، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۵. دانشجوی دوره دکترای اپیدمیولوژی مولکولی باکتری ها، مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی و گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

دریافت: ۹۳/۵/۳ | انجام اصلاحات: ۹۳/۹/۱۷ | پذیرش: ۹۳/۴/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: سیترینین مایکوتوکسین تولید شده توسط قارچ های رشته ای توکسین زا می باشد. مخمر ساکارومایسس سرویزیه دارای توانایی متصل کردن مایکوتوکسین ها به دیواره سلولی خود و در نتیجه کاهش سمیت آن است. هدف از این مطالعه تعیین میزان سم قارچی سیترینین و کاهش این سم قارچی در آرد گندم به وسیله ساکارومایسس سرویزیه می باشد.

روش بررسی: در این تحقیق ۱۵ نمونه آرد گندم به صورت تصادفی ساده از نانوایی های شهرستان بابل جمع آوری شدند. میزان آلودگی به سیترینین در نمونه ها توسط روش الایزای مستقیم رقابتی اندازه گیری و ساکارومایسس سرویزیه به آرد گندم افزوده شد. میزان آلودگی سیترینین در نمونه ها برای بار دوم نیز اندازه گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۸، آزمون کلموگرف-اسمیرنوف و تی زوجی استفاده شد. سطح معنی داری برای کلیه آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها: بیشترین و کمترین غلظت این سم در نمونه های مورد بررسی به ترتیب ۳۵/۵ ppb و ۱/۱ و بعد از تاثیر ساکارومایسس سرویزیه به آرد گندم به ترتیب ۳۰ ppb و ۰/۸ بودند. نتایج آماری نشان داد که افزودن ساکارومایسس سرویزیه باعث کاهش غلظت سیترینین در نمونه های آرد شد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه گیری: جهت کاهش مواد مختلف آلوده کننده نان مانند مایکوتوکسین ها، می توان از روش های بیولوژیکی که کم هزینه تر و بی خطر می باشند استفاده نمود.

کلمات کلیدی: مخمر، ساکارومایسس سرویزیه، سیترینین، آرد گندم

نویسنده مسئول: سمانه روحی
آدرس: ایران، کردستان، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کمیته تحقیقات دانشجویی
ایمیل: roohi.samaneh@yahoo.com

مقدمه

مایکوتوکسین ها متابولیت های ثانویه حاصل از سویه های توکسین زای قارچ های رشته ای مختلف می باشند که موجب از بین رفتن ارزش غذایی شده و با اثرهای بیولوژیک فراوان و ایجاد بیماری های حاد و مزمن در انسان و حیوان ایجاد خطر می کنند. حدود ۲۵ درصد از محصولات کشاورزی تولید شده در دنیا از اولین مراحل کشت تا قبل از انبار شدن، هنگام ذخیره سازی در سیلوها و انبار ها و یا در طول نگهداری در انبارها و تا زمان مصرف در معرض آلوده شدن با قارچ های توکسین زا قرار دارند. شرایط معین مانند دما، خشکی، میزان رطوبت، بارندگی، فصل رشد و درو محصول و همچنین روش های کشاورزی بر تولید مایکوتوکسین اثر می گذارند (۱و ۲). از جمله مهمترین مایکوتوکسین ها می توان به آفلاتوکسین،

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

تریکوتسن، زیرالنون، اکراتوکسین و فومونیزین اشاره نمود، موارد نام برده قادر به آلوده کردن انواع مواد غذایی بخصوص غلاتی مانند ذرت، گندم، برنج، خشکبار حاصل از غلات (از جمله آرد گندم، آرد ذرت و آرد برنج) و حتی محصولات تهیه شده از آن ها مانند نان می باشند (۳). سیترینین نیز نوعی مایکوتوکسین تولید شده توسط قارچ های جنس پنی سیلیوم (Penicillium) و آسپرژیلوس (Aspergillus) می باشد و در انواع غلات مانند ذرت، گندم، چاودار، جو و برنج ایجاد آلودگی می کند (۲). شرایط مناسب جهت رشد و تولید این سم توسط قارچ های تولید کننده آن در مواد غذایی pH ۲/۵، رطوبت ۱۹/۵-۱۶/۵ درصد و دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد می باشد، در شرایط مساعد در طی ۴۰ الی ۴۵ روز تولید سیترینین به بیشترین میزان خود می رسد. این مایکوتوکسین در حیوانات خاصیت سمیت برای کبد و بخصوص کلیه (نفروتوکسیک Nephrotoxic) داشته و علت بزرگ شدن غیر عادی کلیه، ظهور استحاله هیدروپیک (پیدایش واکوئل‌ها در سیتوپلاسم) Hydropic degeneration و از بین رفتن پرزها در بافت کلیه، ایجاد سلول های پیکنوتیک Pyknoti(تراکم غیر قابل برگشت از کروماتین در هسته سلول) در سلول های کلیه و اختلال در عملکرد میتوکندری ها می باشد و همچنین عامل مهم در بیماری نفروپاتی بالکان به شمار می آید. همچنین این سم جهش زا Teratogenic بوده و علت آسیب به DNA و مرگ برنامه ریزی شده سلول یا آپوپتوزیس Apoptosis در سلول های انسان می باشد (۹-۲). بیشینه رواداری سیترینین در مواد غذایی مورد مصرف انسان طبق استاندارد اروپا برای کشورهای اروپایی، آسیایی، آمریکایی، آمریکای لاتین، نیوزلند، آفریقا، کانادا و کشورهای خاورمیانه ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم µg/ kg = ppb) است (۴). جهت کنترل و کاهش اثرات سموم قارچی در مواد غذایی روش های متنوعی وجود دارد، از انواع این روش ها غیرفعال کردن سموم به وسیله میکروب یا دما، جداسازی فیزیکی مواد خوراکی آلوده، اشعه دادن، آمونیاکی کردن و تجزیه با اوزون می باشد (۱۰). سیترینین حساس به حرارت می باشد و طی روند گرمادهی به دو شکل سیترینین H۱ و H۲ تبدیل می شود که به ترتیب دارای سمیت بیشتر و کمتر نسبت به نوع اولیه سیترینین (قبل از گرمادهی) می باشند (۱۱). اما از میان موارد ذکر شده غیرفعال کردن سموم با میکروب یا کنترل بیولوژیک با استفاده ازمیکروارگانیسم های آنتاگونیست به عنوان یک روش موثر بیان شده است (۱۲). از انواع میکروب های مورد استفاده در روش های بیولوژیکی می توان گونه های باکتری های لاکتیک اسید، انواع قارچ ها و مخمر را نام برد (۱۳). مخمرها دسته ای از یوکاریوت های تک سلولی و جز پروبیوتیک ها می باشند. پروبیوتیک ها ارگانیسم هایی زنده هستند که باعث ایجاد تعادل در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش می شوند، معروف ترین آن ها ساکارومایسس سرویزیه Saccharomyces cerevisiae نام دارد که به مخمر نان نیز معروف است (۱۸-۱۴). این مخمر دارای توانایی متصل کردن مایکوتوکسین ها به دیواره سلولی خود می باشد و به این ترتیب این سم از لوله گوارش حذف شده و میزان آن در بدن کاهش می یابد (۱۳). از آنجایی که گندم پر مصرف ترین غله را در سراسر جهان و ایران تشکیل می دهد و با توجه به این که نان تهیه شده از آرد گندم به عنوان اصلی ترین منبع تغذیه انسان به شمار می رود، ارتقاء شاخص های بهداشت محیطی در واحدهای تولید نان بسیار مورد توجه می باشد و آلودگی آرد گندم به عنوان پر مصرف ترین غله می بایست مورد توجه جدی قرار گیرد. هدف از این مطالعه تعیین میزان آلودگی آرد گندم در نانوایی های شهرستان بابل به سم قارچی سیترینین و کاهش بیولوژیکی این سم به وسیله مخمر ساکارومایسس سرویزیه در نمونه ها می باشد.

روش بررسی

نمونه گیری:

نمونه ها از آرد گندم در نانوایی ها تهیه گردید. با در نظر گرفتن خطای نوع اول برابر ۹۵ درصد ($P < ۰/۰۵$) و همچنین با احتساب خطای $d=۰/۱$ برای برآورد مورد نظر، حجم نمونه محاسبه شد که برابر ۱۵ نمونه می باشد (۱۹ و ۱۸). نانوایی هایی که نمونه آرد از آن تهیه می شد به صورت تصادفی ساده انتخاب شدند. نمونه گیری در فصل بهار (سال ۱۳۹۱) انجام شد. ۱۵ نمونه از آرد گندم خام یا حرارت داده نشده از میان ۱۵ نانوایی (از هر نانوایی یک نوع نمونه آرد به اندازه تقریبی ۲۰۰ گرم) در شهرستان بابل جمع آوری شدند. نمونه ها در پاکت کاغذی استریل ریخته و سپس در کیسه نایلونی قرار داده شدند. این نمونه ها بلافاصله بعد از نمونه گیری به آزمایشگاه قارچ شناسی، گروه

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل منتقل و در یخچال (۴ درجه سانتیگراد) تا زمان عصاره گیری (این زمان برای نمونه های جمع آوری شده در فروردین دو ماه و در اردیبهشت یک ماه بود، در خرداد ماه همه نمونه های جمع آوری شده طی این سه ماه عصاره گیری شد) نگهداری دارای شدند (۱). بنابراین در هر یک از ماه های فروردین، اردیبهشت و خرداد به ترتیب ۵ نمونه از آرد گندم خام جمع آوری شدند که از نظر وجود سم قارچی سیترینین و تاثیر ساکارومایسس سرویزیه بر کاهش آن مورد آزمایش قرار گرفتند.

عصاره گیری

عصاره گیری تمامی نمونه ها همزمان انجام شد. به این ترتیب ۵ گرم از هر نمونه آرد گندم با ترازوی دیجیتالی اندازه گیری و داخل ۱۵ ارلن بطور جداگانه ریخته شد. در مرحله بعد ۱۲/۵ سی سی متانول ۷۰ درصد به ارلن های حاوی آرد اضافه و به مدت ۳ دقیقه یا بیشتر بوسیله شیکر Shaker تکان داده تا به خوبی مخلوط شد. محلول بدست آمده با کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف و عصاره جدا شد (۲۰).

اصول تست الایزا

در مطالعه ما با استفاده از کیت تشخیصی الایزای مستقیم رقابتی(Ridascreen Fast, R-Biopharm, Darmstadt, Germany)، دارای حد تشخیص ppb Limit of detection (LOD)) ۱۵ همراه با حساسیت و اختصاصیت بالا (در مورد سم سیترینین اختصاصیت ۱۰۰ درصد نبوده و ممکن است ذرات مشابه تولید شده از مسیر مسیر پلی‌کتاید توسط گونه موناسکوس Monascus spp. واکنش متقاطع ایجاد کنند) و درصد حصول یا استرداد Percentage of recovery ۸۰ درصد میزان سیترینین در نمونه ها مورد سنجش قرار گرفت (۲۰ و ۶). در ابتدا به تعداد نمونه و استاندارد (ppb ۰: استاندارد صفر، ppb ۱۵ ، ppb۴۵، ppb ۱۳۵، ppb۴۰۵) چاهک ها از قاب اصلی کیت برداشته و در مکان خود قرار داده شدند. µl ۵۰ از هر محلول استاندارد و نمونه به طور جداگانه به چاهک هایی که با سیترینین پوشانیده شده بودند اضافه و سپس µl ۵۰ محلول آنتی بادی ضد سیترینین به هر کدام از چاهک ها اضافه شدند. سپس چاهک ها به آرامی به مدت چند ثانیه به وسیله دست تکان داده و با ورقه آلومینیومی پوشانده و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد) انکوبه شدند. سیترینین در نمونه، استاندارد های کنترل و چاهک ها جهت اتصال به آنتی بادی ضد سیترینین رقابت کردند (الایزای رقابتی). بعد از این مرحله تمام محتویات چاهک ها خالی و سپس سه بار با آن روی دستمال کاغذی آرام ضربه زده شد تا تمام مایعات آن خالی شدند. سپس به هر چاهک µl ۲۵۰ آب مقطر استریل اضافه و به همان ترتیب قبلی عمل شستشو دو بار تکرار شد. در مرحله بعد µl ۱۰۰ کونژوگه آنزیمی (آنتی بادی ثانویه ضد سیترینین نشان دار شده با پراکسیداز) به هر چاهک اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. بعد از این مرحله نیز تمام محتویات چاهک ها خالی و سه مرتبه روی دستمال کاغذی آرام ضربه زده تا محتویات آن خالی شدند. به هر چاهک µl ۲۵۰ آب مقطر استریل اضافه و به ترتیب قبل خالی و عمل شستشو دو بار دیگر تکرار شد. بعد از مرحله شستشو، µl ۱۰۰ سوبسترای رنگزا به هر چاهک اضافه و به آرامی توسط دست تکان داده و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد (مرحله اتصال سوبسترا به کونژوگه آنزیمی). در این مرحله بر اثر واکنش سوبسترای رنگزا و کونژوگه آنزیمی رنگ آبی تولید شد. سپس µl۱۰۰ از محلول متوقف کننده (اسید سولفوریک ۱ نرمال) به آن اضافه و رنگ آبی به زرد تبدیل شد. بعد از ده دقیقه جذب چاهک ها در طول موج اولیه ۴۵۰ نانومتر و ثانویه ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه خوانشگر الایزا خوانده شد. غلظت نمونه ها در مقایسه با غلظت استانداردها و جذب خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد (مطابق با دستورالعمل کیت).

آماده سازی محیط کشت وکشت مخمر

محیط کشت سابارو دکستروزآگار را با توجه به دستور العمل شرکت مربوطه (Merck, Germany) تهیه شد و در اتوکلاو برای مدت ۱۵دقیقه در دمای ۱۲۱درجه سانتی گراد قرار داده شد. ساکارومایسس سرویزیه تهیه شده از کلکسیون بصورت آمپول لیوفیلیزه می باشد. آمپول روی تنظیف قرار داده و در محلی که پنبه درون آمپول قرار گرفته بود الکل ریخته شد. روی آن 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 خلاء می شود. با فشار دست آمپول را از محل خراش شکسته و با استفاده از پنس استریل پنبه درون آمپول خارج شد. با پیپت پاستور استریل ml ۰/۳ تا ۰/۴ از محلول استریل به ماده خشک درون آمپول اضافه و مخلوط شد تا به شکل سوسپانسیون یکنواختی درآمد، سپس چند قطره از سوسپانسیون روی پلیت حاوی محیط کشت، کشت خطی داده و به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد (۱۳).

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

تثبیت مخمر بر آرد گندم

تعداد ۱۵ ارلن تهیه و در هر کدام ۹۷ سی سی آب مقطر جوش آمده و ۳ گرم آلژینات سدیم ریخته و هم زده شد. مقداری از مخمر رشد یافته در لوله حاوی آب مقطر هم زده و به ارلن (حاوی آلژینات و آب مقطر) اضافه شد. کربنات کلسیم ۲ /۰ مولار (به ازای ۱ لیتر ۱۰سی سی) اضافه شد که حالت رشته های ژله ای سفت شود. در مرحله بعد ۵۰ سی سی محلول بدست آمده به هر عصاره آرد افزوده و سر آنها با پارافیلم بسته و تکان داده شد. بعد از ۴۸ ساعت به نمونه ها متانول اضافه و از صافی عبور داده شد. طبق روش کار الایزا که در بالا ذکر شد عصاره، استاندارها و محلول ها را به کیت ها اضافه و برای بار دوم مقدار سم سیترینین توسط دستگاه خوانشگر الایزا سنجیده شد (۱۳).

به منظور بررسی فرض نرمال بودن متغیرها از آزمون آماری کلموگرف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) استفاده شد. همچنین پس از برآورد شاخص های توصیفی مطالعه برای آزمون فرضیه ها آزمون t زوجی به کار برده شد. داده های این مطالعه با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۱۸ قبل و بعد از افزودن مخمر به آرد گندم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی داری برای کلیه آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتیجه حاصل از مطالعه حاضر شان داد که همه ۱۵ نمونه آرد گندم مورد بررسی آلوده به سم قارچی سیترینین بودند. بیشترین و کمترین غلظت این سم در نمونه های مورد بررسی به ترتیب ppb ۳۵/۵ و ۱/۱ (۱۰/۵۰±۹/۹۸) بود. بعد از تاثیر ساکارومایسس سرویزیه روی آرد گندم، بیشترین و کمترین میزان غلظت سم به ترتیب ppb۳۰ و ۰/۸ (۸/۸۱±۸/۵۶) بدست آمد. بیشترین و کمترین درصد کاهش سیترینین نیز به ترتیب ۲۸/۶ درصد و ۱۱/۵۴درصد بود. (جدول شماره ۱).

آزمون آماری کلموگروف-اسمیرنوف نشان داد که فرض نرمال بودن غلظت آلودگی قبل و بعد از افزودن مخمر برقرار است (P>۰/۰۱). با توجه به نرمال بودن متغیرها برای بررسی تاثیر کاهنده ساکارومایسس سرویزیه از آزمون آماری t زوجی استفاده گردید که نتیجه آن نشان داد افزودن این مخمر باعث کاهش غلظت سم سیترینین می شود (P=۰/۰۰۱) (جدول شماره۲).

جدول شماره ۱: غلظت سم سیترینین (ppb) و درصد کاهش آن در آرد گندم خام قبل و بعد از افزودن ساکارومایسس سرویزیه

شماره نمونه	غلظت سیترینین در نمونه آرد گندم خام قبل از افزودن ساکارومایسس سرویزیه (ppb)	غلظت سیترینین در نمونه آرد گندم خام بعد از افزودن ساکارومایسس سرویزیه (ppb)	کاهش سیترینین در نمونه آرد گندم خام بعد از افزودن ساکارومایسس سرویزیه (درصد)
۱	۸/۷	۷/۱	۱۸/۳۹
۲	۱۴	۱۲	۱۴/۳
۳	۱/۱	۰/۸	۲۷/۳
۴	۱۸/۷	۱۶	۱۴/۴۴
۵	۲۵	۲۱	۱۶
۶	۱۳	۱۱/۵	۱۱/۵۴
۷	۷	۵/۵	۲۱/۴۳
۸	۳	۲/۲	۲۶/۷
۹	۲/۵	۲	۲۰
۱۰	۳/۲	۲/۷	۱۵/۶۲
۱۱	۱۶	۱۴	۱۲/۵
۱۲	۶	۴/۵	۲۵
۱۳	۳۵/۵	۳۰	۱۵/۵
۱۴	۲/۱	۱/۵	۲۸/۶
۱۵	۱/۷	۱/۴	۱۷/۶۵

جدول شماره ۲: مقایسه سیترینین در نمونه های آرد گندم خام و حاوی سیترینین

مقایسه سیترینین در نمونه های آرد گندم	تعداد نمونه	انحراف معیار ± میانگین	خطای استاندارد میانگین (SE)	P
قبل از افزودن ساکارومایسس سرویزیه	۱۵	۱۰/۵۱±۹/۹۸	۲/۵۷	۰/۰۰۱
بعد از افزودن ساکارومایسس سرویزیه	۱۵	۸/۸۱±۸/۵۶	۲/۲۱	

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

بحث و نتیجه گیری

مطالعات مختلف حضور سم سیترینین را در مواد غذایی گزارش داده اند، Arevalo و همکارانش در سال ۲۰۱۰ در آرژانتین نشان دادند که نمونه های برنج مورد مطالعه آلوده به سیترینین بودند و میزان آن ۵۰-۰/۵ نانوگرم بر میلی لیتر بود (۲۱). در مطالعه دیگر Vrabcheva و همکارانش در سال ۲۰۰۰ در بلغارستان گزارش دادند که میزان سیترینین در نمونه های گندم و ذرت ۴۲۰ نانوگرم بر گرم بود (۲۲). مهم ترین راه ورود سموم قارچی به مواد غذایی قارچ های توکسین زای موجود در مواد غذایی می باشد (۲۲). تحقیقات نشان داده است که اثر مهارکنندگی رطوبت در مواد غذایی بر روی فعالیت میکروبی در حد ۱۳ درصد یا کمتر از آن می باشد اما در رطوبت های بالاتر کپک ها فعالیت خود را آغاز می کنند و دارای رشد سریع هستند، بنابراین پس از مدت کوتاهی از نگهداری مواد غذایی در انبار آثار فساد در مواد غذایی آشکار می شود. در درجه حرارت بالای ۱۰ درجه سانتی گراد، مواد غذایی با ۱۸ درصد رطوبت و در ۲۰ درجه سانتی گراد بعد از ۱۰ روز شدیداً مورد حمله میکروبی قرار می گیرند. بهینه نگه داری گندم پس از برداشت ۶۵-۵۵ روز در سیلوها می باشد (عمر ستون های سیلو می بایست بیشتر از عمر نگه داری گندم باشد) و پس از طی این زمان می بایست هرچه سریعتر جهت تولید نان با کیفیت مصرف شود. بنابراین زمان و شرایط محیطی نمونه گیری تاثیر بسزا در میزان مایکوتوکسین در مطالعات مختلف دارد (۲۴ و ۲۳ و ۴). با توجه به اثرات مضر مایکوتوکسین ها که ذکر گردید، سم زدایی مواد غذایی عملی مفید جهت کاهش این سموم می باشد. بهترین و مطمئن ترین روش سم زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین، استفاده از گونه های موثر باکتریایی و قارچی است (۱۳). Prado و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در برزیل با استفاده از ساکارومایسس سرویزیه در نمونه های بادام زمینی نشان دادند که میزان کاهش سم آفلاتوکسین بعد از استفاده از این مخمر در طی ۷ روز ۷۴/۴ درصد بود (۲۵). همچنین Gholamnejad و همکاران در سال ۲۰۰۹ در ایران گزارش دادند که ایزوله های ساکارومایسس سرویزیه علیه کپک آبی سیب موثر بودند و می توانند به عنوان بیوکنترل علیه این کپک به کار برده شوند (۱۲).Tajabadi Ebrahimi و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در ایران گزارش دادند که باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از ترخینه دامنه وسیعی از کاهش آفلاتوکسین را در این ماده نشان دادند (۱۸). مطالعات مختلف نشان داده است که در میان گونه های جنس ساکارومایسس، گونه سرویزیه و سویه های سرویزیه RC۰۱۲ و RC۰۱۶ ، RC۰۰۹ دارای دیواره سلولی ضخیم تر و توانایی رشد و فعالیت ضد قارچی بهتری بوده و جهت کاهش مایکوتوکسین ها مطلوب تر می باشد. مخمر ساکارومایسس سرویزیه توانایی اتصال به مایکوتوکسین ها را دارد و تیمارهای اسیدی و حرارتی، این توانایی را به ترتیب به حدود ۶۰ و ۵۵ درصد افزایش می دهد. در نتیجه استفاده از سویه های مناسب تر از این مخمر و شرایط محیطی نیز در روند و میزان اتصال موثر بوده و می توانند علت تفاوت نتایج در مطالعات مختلف باشند (۲۶ و ۱۳). در نتیجه این گونه های خاص از میکروب ها بر اساس پدیده اتصال به دیواره سلولی، تولید آنزیم های تجزیه کننده و بوسیله عمل بیوترانسفورماسیون قادر به تبدیل مایکوتوکسین ها به مواد کمتر سمی می باشند. از دیگر میکروارگانیسم ها که دارای این توانایی می باشند می توان به باسیلوس سوبتیلیس Bacillus subtilis ، لاکتوکوکوس لاکتیس Lactococcus lactis، لاکتوکوکوس سانفرانسیسکو Lactobacillus sanfrancisco ، لوکونوستوک مزانتروئیدس Lactococcus mesenteroides اشاره کرد (۲۷ و ۲۸). هیچ کدام از نمونه ها در مطالعه حاضر آلودگی بالای حد مجاز سیترینین را نشان ندادند (۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) و مشخص شد که مخمر ساکارومایسس سرویزیه نقش موثری را در کاهش میزان این سم در آرد گندم داشت. با توجه به کار سایر محققین مشخص گردیده که میکروارگانیسم های پروبیوتیک نقش بسزایی در کاهش مایکوتوکسین ها دارند که با نتایج به دست آمده در این تحقیق نیز مطابقت دارد. لازم به ذکر است در مواردی که مقدار سیترینین در نمونه ها کمتر بود می توان ناشی از شرایط مناسب و نگه داری نمونه های آرد نیز به حساب آورد. با وجود مطالعات انجام شده اطلاعات بیشتری جهت روشن شدن اثر سایر گونه های پروبیوتیکی و نیز مکانیسم های اثر آنها مورد نیاز می باشد. از آنجایی که نان جزء مهمترین و ضروری ترین مواد غذایی در بین خانواده ها بوده و مصرف آن برای سنین مختلف ضروری است، جهت کاهش مواد مختلف آلوده کننده مانند مایکوتوکسین ها می بایست برنامه ریزی کرده و سعی و تلاش بیشتر نمود. با توجه به بررسی حاضر پیشنهاد هایی به شرح زیر جهت کاهش آلودگی مواد غذایی بخصوص آرد توسط مایکوتوکسین ها ارائه می شود: چگونگی پراکنش گونه های قارچی مولد سم و مکانیسم های کنترل و حذف مایکوتوکسین ها مورد توجه و شناسایی قرار گیرد تا راهکارهای لازم به کار برده شود، همچنین مطالعات بیشتر بر روی این روش ها انجام شود تا مناسب ترین و به صرفه ترین

روش به کاربرده شود. گندم وارداتی و تولید شده در داخل، قبل از ورود به انبار از نظر آلودگی احتمالی به انواع مایکوتوکسین ها غربالگری شوند. با توجه به اقلیم مرطوب استان مازندران مراکز مورد نظر حد الامکان آرد را در محل های خشک نگهداری نموده و همواره اصول بهداشتی را در محیط های مورد نظر رعایت نمایند. سازمان ها و مراکز بهداشتی مسئول نیز توجه کافی را بر کارخانجات و مراکز فروش آرد، محل ها و مراکزی که جهت تهیه و فروش محصولات تهیه شده از آرد می باشد مبذول داشته باشند و در آزمایشگاه ها از روش هایی مناسب با دقت و حساسیت بالا جهت شناسایی مایکوتوکسین ها استفاده کنند. تشکیل مایکوتوکسین پایدار بوده و به مدت طولانی در غذا باقی می ماند، بنابراین رعایت اصول بهداشتی در نگهداری آن ها اهمیت بسزایی دارد و لازم است تلاش و کوشش بیشتری هنگام برداشت اقلام تشکیل دهنده مواد غذایی از مزرعه تا مصرف و ذخیره سازی صحیح به عمل آید تا میزان آلودگی به حداقل برسد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مسئولین دانشگاه و کارشناسان محترم آزمایشگاه که ما را در انجام این طرح مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل یاری نمودند تشکر میگردد (کد طرح: ۵۱۵۶۱۹۲۰۷۷۲۰۰۱).

References:

1. Hedayati MT. A Survey on Wheat Samples for Mycotoxin Zearalenone from Mazandaran Province 2002. J Mazandaran Univ Med Sci 2005, 15(49): 89-94. (Persian)

2 .Flajs D, Peraica M. Toxicological Properties of Citrinin. Arh Hig Rada Toksikol. 2009; 60 (4):457-464.

3. Gholampour Azizi I, Ghadi H, Rouhi S. Ochratoxin A Analysis in Rice Samples of Different Cities of Mazandaran (A Province in Northern Iran). Nut Food Sci. 2014; 44(3):223-229.

4. Nejati P, Chaychi Nosrati A, Bayat M, Lakzaie Azar O. An Investigation on Measurement Means of Citrinin Toxin Quantity by Toxigenic Aspergillus Species in Biomass, Using ELISA. Int J Adv Biol Biom Res. 2014; 2 (8): 2466-2471.

5. Edalation MR, Fazlara A. Evaluation of Microbial Characteristics of Stamaran Cultivar Dates During Storage in 1384. J Food Sci Technol. 2008; 5(3): 45-52. (persian)

6. Samsudin NIP, Abdullah N. A Preliminary Survey on the Occurrence of Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins Contaminating Red Rice at Consumer Level in Selangor, Malaysia. Mycotoxin Res. 2013;29(2):89-96.

7. Whitlow LW, Hagler WM. Mycotoxins in Feeds. Feedstuffs 2002; 74(28): 2-10.

8. Xu BJ, Jia XQ, Gu LJ, Sung CK. Review on the Qualitative and Quantitative Analysis Of The Mycotoxin Citrinin. Food Control. 2006; 17(2006): 271-285.

9. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. Evaluation of the FoodEx, the Food Classification System Applied to the Development of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database. European Food Safety Authority J (EFSA). 2011; 9 (3): 1970.

10. Ramos AJ, Fink- Gremmels J, Hernandez E. Prevention of Toxic Effects of Mycotoxins by Means of Nonnutritive Adsorbent Compounds. J Food Protect. 1996; 59(6):631-641.

11. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. Scientific Opinion on the Risks for Public and Animal Health Related to the Presence of Citrinin in Food and Feed1 EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). European Food Safety Authority J (EFSA). 2012; 10(3): 2605.

12. Gholamnejad J, Etebarian HR, Sheikh Beig Goharrizi MA, Nemati A, Naseri Nasab F. Biological Control of Apples Blue Mold by Two Isolates of Saccharomyces cerevisiae in Order to Reduce the Environmental Pollution. J Army University Med Sci. 2009; 7 (3): 182-189. (Persian)

13. Rahaie S, Razavi S H, Emam Jomeh Z. The Ability of Saccharomyces Cerevisiae Strain in Aflatoxin Reduction in Pistachio Nuts. J Food Sci Technol. 2010; 7 (1): 81-88. (Persian)

14. Golabi M, Tavassoli M, Nahvi I, Mobini Dehkordi M. 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 (30): 35-44. (Persian)

15. 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, Iran. 4-6 September 2012.

16. Sarfaraz A, Azizi MH, Hamidi Esfahani Z, Karimi Torshizi MA, Zafari A. Interaction Between Lactic Acid Bacteria and Baker's Yeast in Liquid Sourdough Fermentation. Iran J Nut Sci Food Technol. 2008; 3 (2): 73-80. (Persian)

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

17. Cabanas R, Bragulat MR, Abarca ML, Castella G, Cabañes FJ. Occurrence of Penicillium verrucosum in Retail Wheat Flours from the Spanish Market. Food Microbiol. 2008; 25(5): 642-647.

18. Tajabadi Ebrahimi M, Jafari P, Bahrami H, Hashemi M. Evaluation of Aflatoxin B1 Reduction in Present of Lactobacilli Isolated from Tarkhineh and Fermented Milk of Tarkhineh by ELISA. J Microbial Biotechnol. 2011; 3(8); 43-48. (Persian)

19. Ahady MT, Salehzadeh F, Gosili R, Barak B, Sharghi A, Shokrabadi M, et al. Relationship between Helicobacter pylori Infection and Iron Deficiency Anemia among 2 to 12 year-old Children in Ardabil, Iran. Govaresh 2013;18 (3):151-157.

20. 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(8): 1815-1818.

21. Arevalo FJ, Granero AM, Fernandez H, Raba J, Zon MA. Citrinin (CIT) Determination in Rice Samples Using a Micro Fluidic Electrochemical Immunosensor. Talanta. 2011; 83 (3): 966-973.

22. Vrabcheva T , Usleber E, Dietrich R, Martlbauer E. Co-occurrence of Ochratoxin A and Citrinin in Cereals from Bulgarian Villages with a History of Balkan Endemic Nephropathy. J Agric Food Chem. 2000; 48 (6):2483-2488.

23. Hashemi M, Gholampour Azizi I, Rezai Z, Rouhi S. Mycological Survey and Total Aflatoxin Analyze in Silage from Qaemshahr City (Northern Iran). J Chem Health Risks. 2012; 2(2): 51-56.

24. Baniasadi A, Azizi MH, Sahari MA. Determinatin of Suitable Storage Time for Some Kind of Wheat for Improving Baking Quality. J Food Sci Technol. 2005; 2 (3): 9-19. (Persian)

25. Prado G, Madeira JE, Morais VA, Oliveira MS, Souza RA, Peluzio JM, et al. Reduction of Aflatoxin B1 in Stored Peanuts (Arachis hypogaea L.) Using Saccharomyces cerevisiae. J Food Protect. 2011; 74 (2011):1003-1006.

26. Armando MR, Pizzolitto PP , Dogi CA, Cristofolini A, Merkis C, Poloni V, et al. Adsorption of Ochratoxin A and Zearalenone by Potential Probiotic Saccharomyces cerevisiae Strains and Its Relation With Cell Wall Thickness. J Appl Microbiol. 2012; 113 (2): 256–264.

27. Upadhaya SD, Park MA, Ha JK. Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review. Asian - Australasian J Animal Sci. 2010; 23 (9): 1250 –1260.

28. Benedetti R, Nazzi F, Locci R, Firrao G. Degradation of Fumonisin B1 by a Bacterial Strain Isolated from Soil. Biodegradation. 2005; 17 (1): 31-38.

Original Article
Gholampour Azizi & Colligues...

Effect of Saccharomyces cerevisiae yeast in reducing of the amount of Citrinin fungal toxin in wheat flour

Issa Gholampour Azizi[1], Molood Gorji[2], Bijhan Nouri[3], Samaneh Rouhi[4,5]*

1. Assistant Professor of Mycology, Department of Mycology, Islamic Azad University, Babol, Iran
2. MSc student in Microbiology, Department of Laboratory Medicine, Islamic Azad University, Babol, Iran
3. Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
4. PhD Student of Molecular Epidemiology of Bacteria, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
5. PhD Student of Molecular Epidemiology of Bacteria, Cellular & Molecular Research Center and Microbiology Department, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Received:2014.7.25 Revised:2014.11.8 Accepted: 2015.7.5

Abstract

Background & Objective: Citrinin mycotoxin is produced by filamentous toxin producing fungi. Saccharomyces cerevisiae yeast has the ability to bind mycotoxins to its cell wall and thus reduce its toxicity. The aim of this study was to determine the amount of Citrinin mycotoxin and its reduction in wheat flour by Saccharomyces cerevisiae.

Method: In this study, 15 samples of wheat flour were randomly collected from the bakeries in the city of Babol. The amount of Citrinin contamination in samples was assessed by direct competitive ELISA measurement and then Saccharomyces cerevisiae was added to wheat flour. The amount of Citrinin contamination in the samples was measured by direct competetive ELISA for a second time. SPSS software (version 18), Kolmogrov-Smirnov test and paired t-test was used for statistical analysis of data. The significance level for all tests was considered less than 0.05.

Results: The highest and lowest concentration of this toxin in the studied samples were 35.5 and 1.1 ppb respectively, and after the effect of Saccharomyces cerevisiae on wheat flour, 0.8 and 30 ppb respectively. The statistical results showed that the addition of Saccharomyces cerevisiae decreased the amount of Citrinin in flour samples ($P<0.05$).

Conclusion: Bread is among the most important and necessary food. To reduce its contaminating materials such as mycotoxins, less expensive and safe biological methods can be used.

Keywords: Yeast, Saccharomyces Cerevisiae, Citrinin, Wheat Flour

Corresponding Author: Samaneh Rouhi
Address: Iran, Kurdistan, Kurdistan University of Medical Sciences, Student Research Committee
Email: roohi.samaneh@yahoo.com

Please cite this paper as: Gholampour Azizi I, Gorji M, Nouri B, Rouhi S.Evaluation of the amount of Citrinin fungal toxin and effect of Saccharomyces cerevisiae yeast in reducing it in wheat flour. Hakim Jorjani J. 2015; 2(2): 25-32.

Downloaded from jorjanijournal.goums.ac.ir at 0:47 +0330 on Wednesday November 22nd 2017