مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۶، دوره ۷۲، شماره ۱، ۸۶-۸۱
Journal of Veterinary Research. 72,1:81-86, 2017
Original Article

بررسی تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر سمیت زدایی آفلاتوکسین B_1 در محیط شکمبه

رضا کاراژیان[1*] ایرج شاکر شیدا[2] معصومه مهربان سنگ آتش[1] فائزه تجلی[3] محسن مجتهدی[4] محمد صادق[5]

۱) گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاددانشگاهی مشهد، مشهد، ایران
۲) دانش آموخته گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، مشهد، ایران
۳) گروه پژوهشی پزشکی و مولکولی، جهاددانشگاهی مشهد، مشهد، ایران
۴) گروه علوم دامی، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، بیرجند، ایران
۵) شرکت ژرف اندیشان فاخر، مشهد، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۲۰ شهریور ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۵ دی ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه ناشی از رشد کپک‌ها در خوراک دام می‌باشند. مخمرها میکروارگانیسم‌هایی می‌باشند که توانایی جذب آفلاتوکسین‌ها را دارند. **هدف:** در این تحقیق تأثیر مخمر ساکارومایسس سرویزیه (PTCC ۵۱۷۷) بر سمیت زدایی و جذب توکسین آفلاتوکسین B_1 در شرایط in vitro (محیط شکمبه گاو) بررسی گردید. **روش کار:** به این منظور از مخمر مورد نظر تیمارهای مختلف (زنده، تیمار شده با اتوکلاو، تیمار شده با حرارت ۱۰۰°C و تیمار شده با اسید) تهیه شد و به محیط شکمبه گاو افزوده شد. سم آفلاتوکسین B_1 در مقادیر مختلف (ppb ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰) نیز به محیط شکمبه افزوده شدند و در زمان‌های یک و دو ساعت در دمای ۳۷ °C اینکوباتور گذاری شدند. سپس میزان سم باقیمانده در محیط توسط روش الایزا با استفاده از کیت یوروپروکسیما اندازه‌گیری شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که میکروارگانیسم یاد شده در حالت تیمار اتوکلاو شده بیشترین میزان حذف سم (۹۰/۵٪) را دارند ($p>0/05$). همچنین با افزایش زمان انکوباسیون میزان جذب سم به طور معنی‌داری (۷۸٪) افزایش یافته است ($p>0/05$) و با افزایش غلظت سم در محیط کشت توانایی مخمر در جذب سم افزایش می‌یابد. این نتایج بیانگر این مطلب است که میکروارگانیسم در حالت غیر زنده خود توانایی جذب بالاتری را دارد که می‌تواند به دلیل ترکیبات دیواره سلول مخمر باشد. **نتیجه گیری نهایی:** به عنوان یک راهکار در صنعت خوراک دام استفاده از دیواره سلولی مخمر و یا ترکیبات آن می‌تواند برای کاهش سم آفلاتوکسین B_1 مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B_1، محیط شکمبه، سمیت زدایی، ساکارومایسس سرویزیه

مقدمه

از آنجایی که شیر و فراورده‌های آن به عنوان یکی از سالم‌ترین و پرمصرف‌ترین فراورده‌های غذایی برای انسان خصوصاً کودکان، نوجوانان و افراد سالخورده مطرح می‌باشد حضور آفلاتوکسین M_1 در این فراورده‌ها در مقادیر بالاتر از حد استاندارد، برای مصرف کننده مخاطره آمیز است (۴). آفلاتوکسین M_1 متابولیت هیدروکسیله شده آفلاتوکسین B_1 می‌باشد که در شیر حیوانات شیرده که از خوراک آلوده به آفلاتوکسین B_1 مصرف کرده‌اند وجود دارد. از آنجا که پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و فرآوری شیر بر بقا و کاهش سمیت آفلاتوکسین M_1 تأثیر زیادی ندارد، این توکسین سرانجام به فرآورده‌های مختلف شیر انتقال می‌یابد و سلامت مصرف کنندگان به خطر می‌اندازد. برای غیرفعال کردن و یا کاهش میزان سم آفلاتوکسین روشهای زیادی مطالعه شده‌اند که مهمترین آن‌ها: جداسازی فیزیکی، غیر فعال کردن توسط حرارت، پرتونگاری، استخراج توسط حلال و تخریب شیمیایی هستند (۱). روش‌های فوق تا حدودی قادر به غیرفعال سازی و کاهش آفلاتوکسین‌ها می‌باشند اما عمدتاً بدلیل ایجاد باقیمانده‌ها (کاهش میزان ایمنی) و کاهش کیفیت مواد غذایی، روش‌هایی عملی و قابل قبول نبوده اند. در حال حاضر، برخی از اشکالات و ابهامات استفاده از جاذب‌های سیلیکاتی و کربن فعال شامل دوز بالای مصرف (۵kg تا ۱۵ در تن خوراک) و احتمال جذب برخی مواد مغذی در دستگاه گوارش شامل برخی ویتامین‌ها و عناصر معدنی باعث روی آوردن گروهی از محققان به جاذب‌های مخمری و لاکتوباسیلی گردیده است (۱).

برخی از محققان در این زمینه معتقدند که بهترین راه حل برای حذف آلودگی، از بین بردن و یا کاهش سم توسط موجودات زنده می‌باشد که امکان حذف مایکوتوکسین‌ها را تحت شرایط ملایم، بدون استفاده از مواد شیمیایی مضر و از دست دادن ارزش تغذیه‌ای خوراک دام آلودگی زدایی شده فراهم می‌سازد (۱). در این خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها نقش مهمی را ایفا می‌کنند. ثابت شده است که سمیت زدایی و جذب بیولوژیکی مایکوتوکسین‌ها توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه با عمل جذب سطحی صورت می‌گیرد. سلول‌های جدا شده مخمر متعلق به گونه‌های مختلف شامل ساکارومایس سرویزیه و کاندیدا کروزی برای اتصال با آفلاتوکسین مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. بیشتر گونه‌های مخمر بیش از ۱۵٪ (وزنی/وزنی) آفلاتوکسین B_1 را جذب کرده‌اند و میزان سم اتصال یافته بستگی زیادی به گونه مورد استفاده دارد (۸). مخمرها توانایی دارند که

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۳۲۳۶۰، نمابر: ۰۵۱-۳۸۸۴۱۳۶۵ Email: reza_karazhyan 2002@yahoo.com

به مقدار قابل توجهی آفلاتوکسین B_1 را جذب کنند. حتی سلول‌هایی که تیمار حرارتی دیده‌اند میزان جذب بالاتری را از خود نشان داده‌اند که موید این مطلب است که جذب فیزیکی و دانسیته سلولی نقش مهمی درکارایی جذب دارد. همچنین نشان داده شده است که استفاده از مخمر خشک یا دیواره مخمر در خوراک دام باعث کاهش قابل توجهی از آفلاتوکسین B_1 شده است. همچنین مشاهده شد که بیش از ۷۷٪ آفلاتوکسین B_1 توسط مواد دیواره سلولی که اغلب مانان-اولیگوساکارید می‌باشند جذب شده است. جمعیت میکروبی شکمبه از سه بخش اصلی باکتری‌ها، پروتوزوا و قارچ‌ها تشکیل شده‌اند. امروزه تعداد گونه‌های باکتری‌های شناسایی شده بیش از ۲۰۰ گونه باکتری می‌باشد. تعداد کمی از باکتری‌های شکمبه بی هوازی کامل هستند اما بیشتر جمعیت باکتری شکمبه بصورت بی هوازی اختیاری می‌باشند و قادرند که درحضوراکسیژن (بخصوص اکسیژن حاصل از ورود بزاق به شکمبه) به فعالیت خود ادامه دهند. با توجه به خصوصیات مواد خوراکی تغذیه شده، فعالیت و محصولات تولید شده توسط این باکتری‌ها متفاوت می‌باشد. تعداد باکتری‌ها درحدود10^{9} cell/ml تا 10^{10} ازمحتویات شکمبه می‌باشد. مجموعه میکروب‌های شکمبه باعث هضم مواد غیر قابل هضم توسط حیوان وتولید موادقابل جذب توسط حیوان می‌گردد. هر بخشی از مواد مغذی موجود در منابع خوراکی بصورت ویژه مورد هضم میکروبی قرار می‌گیرند. مخمرهای اضافه شده در چنین محیطی می‌توانند به فعالیت خود ادامه داده و اثر حذف و کاهش خود را بر روی آفلاتوکسین بگذارند. در نشخوارکنندگان شیری، مخمرهای خشک شده فعال عملکرد را بهبود داده و سازگارترین اثرات آن افزایش ماده خشک مصرفی و شیر تولیدی می‌باشد. در مطالعات مختلف انجام شده بر روی گاو گوشتی یا نشخوارکنندگان جوان، فرانسجه‌های رشدی (افزایش وزن روزانه، وزن پایانی، ماده خشک مصرفی، نسبت خوراک به رشد) با افزودن روزانه مخمرهای خشک شده فعال به جیره، بهبود یافته است (۸).

مواد و روش کار

تهیه و آماده‌سازی سوش‌های میکروبی: مخمر saccharomycess cerevisiae (PTCC ۵۱۷۷) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بخش کلکسیون میکروبی خریداری شد و مطابق دستورالعمل در محیط کشت استریل Yeast Mold Broth مرک فعال شد. سوسپانسیون حاصل را در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت در اینکوباتور قرار داده شد. لازم به ذکر است علاوه بر تعیین کدورت سوسپانسیون با اسپکتروفتومتر، میزان رشد مخمر و تعداد آن‌ها، با استفاده از لام نئوبار و نیز شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت Yeast Mold Agar مرک محاسبه گردید (۱۸، ۱۱، ۹، ۵). تعدادسلول‌های مخمر در این تحقیق برای افزودن به محیط شکمبه ۱۰۹ cell/g می باشد.

آماده سازی محیط شکمبه دام: محیط شکمبه مورد استفاده در این آزمایشات، قبل از خوراک دهی صبح و از شکمبه ۴ عدد گوساله نر فیستولا شده نژاد هلشتاین که تحت رژیم بر پایه مواد خشبی و علوفه‌ای می‌باشند تهیه شد. محیط شکمبه از میان چهار لایه پارچه کرباس عبور داده شد و صاف گردید. سپس در فلاسک آب با دمای ۴۰°C بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. محیط با سانتریفوژ با دور ۶۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد (۱۷) و از مایع رویی در حجم‌های مساوی به کرایوتیوب‌های استریل منتقل کرده و تیمارهای مختلف مخمر در مقدار (10^{9}cell/g) به محیط شکمبه گاو اضافه شدند و سپس غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ μg/kg) به آن اضافه شدند.

آماده سازی تیمارهای مخمر ساکارومایسس سرویزیه: مخمر ساکارومایسس سرویزیه در تیمارهای مختلف شامل: مخمر زنده و فعال، مخمر حرارت دیده (۱۰۰°C به مدت ۳۰ دقیقه) (۳)، مخمر اتوکلاو شده (۳) و مخمر تحت تیمار اسیدی (۱۲) تهیه شده و در مقدار10^{9} cell/g به محیط شکمبه اضافه می‌شوند.

اندازه گیری میزان آفلاتوکسین B_1: میزان سم باقیمانده در محیط در زمان‌های ۱ و ۲ ساعت انکوباسیون توسط روش الایزا با استفاده از کیت یوروپروکسیما (Europroxima) به شماره کاتالوگ ۵۱۲۱AFB ساخت کشور هلند اندازه‌گیری شد.

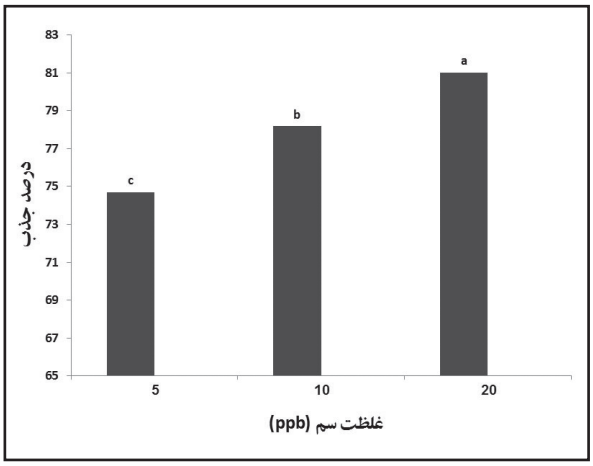
آنالیز آماری: این پژوهش در مرحله in vitro در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای لحاظ شده شامل آفلاتوکسینB_1 در ۴ سطح و ۲ زمان مختلف انکوباسیون و مخمر در ۴ سطح (شاهد، مخمر زنده، مخمر اتوکلاو شده و مخمر اسیدی) در محیط شکمبه انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTAT مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. براساس آن نمودارها بوسیله نرم افزار EXCEL رسم گردید.

نتایج

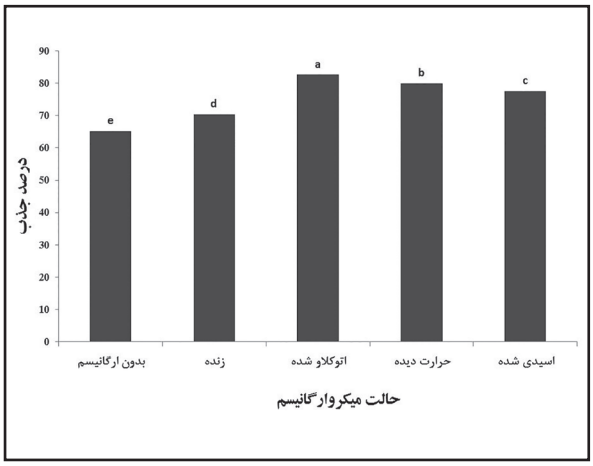
همان طور که در تصویر ۱ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت آفلاتوکسینB_1 در مایع شکمبه میزان جذب سم توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه افزایش یافته است. غلظت‌های مختلف سم اختلاف معنی‌داری در کاهش سم دارند.

همانطور که در تصویر ۲ مشاهده می‌شود مخمر درحالت اتوکلاو شده بیشترین تأثیر را در جذب آفلاتوکسین B_1 از محیط شکمبه داشته است (۸۲/۶٪) و پس از آن حالت حرارت دیده میکروارگانیسم دارای بیشترین تأثیر (۷۹/۹٪) در حذف سم می‌باشد ($p< ۰/۰۵$). سایر حالت‌های مخمر که بر روی سم مؤثر هستند به ترتیب تیمارهای اسیدی شده و تیمار مخمر زنده هستند و این اختلاف در جذب سم در حالت‌های مختلف مخمر معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

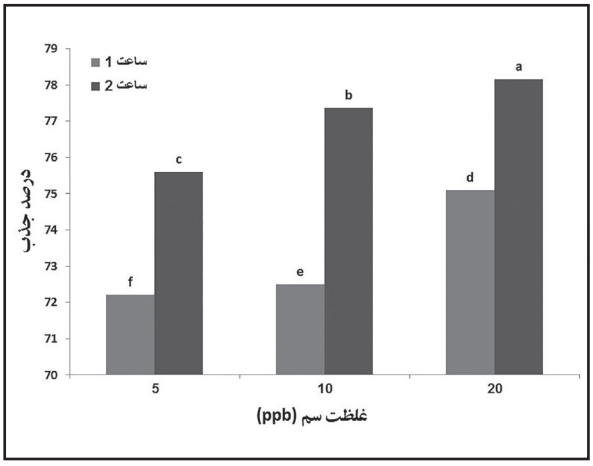
همانطور که در تصویر ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سم



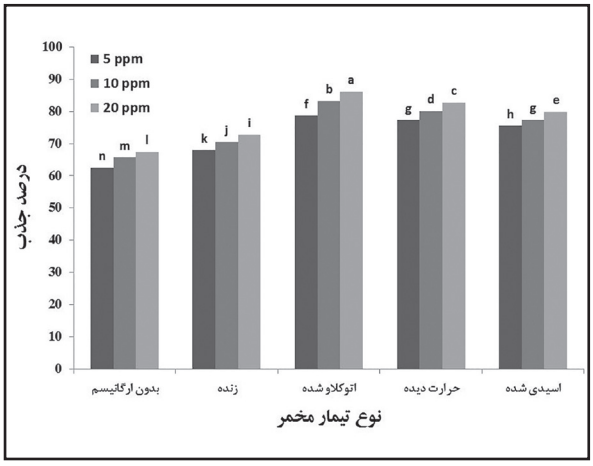
تصویر ۱. اثر غلظت سم در جذب آفلاتوکسین B_1 به وسیله ساکارومایسس سرویزیه.



تصویر ۲. اثر تیمار ساکارومایسس سرویزیه بر جذب آفلاتوکسین B_1 در روده.



تصویر ۳. اثر غلظت آفلاتوکسین B_1 و زمان اینکوباسیون در کاهش آفلاتوکسین B_1 در روده.



تصویر ۴. اثر تیمار مخمرها و غلظت سم در کاهش آفلاتوکسین.

آفلاتوکسین B_1 میزان جذب سم توسط مخمر در این تحقیق افزایش پیدا می‌کند به طوری که غلظت ۲۵۰ppb بیشترین میزان جذب را داشته است ($p<0/05$). در طول مدت انکوباسیون محیط شکمبه مشاهده می‌شود که در ساعت دوم اینکوباسیون میزان جذب سم در غلظت‌های مختلف افزایش معنی‌داری داشته است و با افزایش میزان غلظت سم مقدار سم جذب شده روند صعودی دارد.

در تصویر ۴ اثر متقابل تیمارهای مخمر و غلظت سم بر روی میزان جذب سم نشان داده شده است. همان طور که از شکل هم پیداست تیمار اتوکلاو شده مخمر دارای بیشترین تأثیر در جذب سم از محیط شکمبه می‌باشند و با افزایش غلظت سم قدرت جذب سم توسط مخمر نیز افزایش می‌یابد که در شکل‌های قبل هم اشاره شد و تیمار زنده مخمر کمترین قابلیت جذب را نشان داده اند.

بحث

غلظت‌های مختلف سم اختلاف معنی‌داری در کاهش سم دارند، همچنین براساس نتایج گزارش شده توسط El-Nezami و همکاران در سال ۱۹۹۸ مقدار سم جذب شده با افزایش میزان غلظت سم در محیط افزایش یافته است ولی این میزان جذب در مقادیر مختلف سم معنی‌دار نبوده است (۴). Line در سال ۱۹۹۵ و Ciegler و همکاران در سال ۱۹۹۶ نیز اظهار داشتند با افزایش مقدار توکسین درصد حذف آفلاتوکسین B_1 کاهش یافته است (۲،۱۱). مطالعات El-Nezami و همکاران در سال ۱۹۹۷ بر خلاف این یافته‌ها بود که بیان کردند مقدار آفلاتوکسین B_1 حذف شده با افزایش غلظت سم افزایش پیدا کرد اما درصد حذف تفاوت عمده‌ای نداشت (۴).

مخمر درحالت اتوکلاو شده بیشترین تأثیر را در جذب آفلاتوکسین B_1 از محیط شکمبه داشته است (۸۲/۶ ٪) و پس از آن حالت حرارت دیده آن دارای بیشترین تأثیر (۷۹/۹ ٪) در حذف سم می‌باشد ($p<0/05$). سایر حالت‌های مخمر که بر روی سم مؤثر هستند به ترتیب تیمارهای اسیدی شده و تیمار زنده هستند و این اختلاف در جذب سم در حالت‌های مختلف مخمر معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$). Rahaie و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که تیمار گونه‌های مخمر با اسید قدرت اتصال آن‌ها با

آفلاتوکسین B_1 را تا ۶۰٪ افزایش می‌دهد و همچنین حرارت دادن و دمای ۱۲۰°C بـه مدت ۲۰ دقیقه قدرت اتصال مخمر با آفلاتوکسـین را تا ۵۵٪ افزایش می‌دهد (۱۳).

حـرارت دادن باعث دناتوراسـیون پروتئین‌ها یا تشـکیل محصولات واکنش مایلارد در دیواره سلولی شده و یا با انحلال بعضی از مانوپروتئین‌های موجود در دیواره سلولی نفوذپذیری دیواره افزایش یافته و منجر به افزایش دسترسی مکان‌های مخفی دیواره سلولی می‌شود. همچنین شرایط اسیدی از طریق تأثیر روی پلی ساکاریدها و تبدیل مونومرها و شکسته شدن آن‌ها به آلدئیدها عمل می‌کند و احتمال می‌رود که در شرایط اسیدی مقداری از واکنش‌ها درون سلولی باشند (۴).

با افزایش زمان انکوباسیون یا ماندگاری مخمر در محیط شکمبه میزان جذب توکسین به طور معنی‌داری افزایش یافته است. Sahebghalam و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که بیشترین مقدار جذب آفلاتوکسین B_1 در زمان ۴ ساعت انکوباسیون مخمر ساکارومایسس سرویزیه در محیط کشـت اتفاق افتاده اسـت و به نظر می‌رسد که فرآیند جذب آفلاتوکسین توسـط مخمر به سرعت انجام می‌شـود به طوری که افزایش مدت زمان انکوباسـیون تا ۲۴ سـاعت اثر معنی‌داری در جذب آفلاتوکسین از محیط کشت نداشته است (۱۶). همچنین Rahaie و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز گزارش کردند که جذب آفلاتوکسـین B_1 فرآیند سریعی است و بیشترین میزان کاهش سم در طی ۳ ساعت اینکوباسیون مشاهده شده است (۱۳).

Saeidi Asl و همکاران در سـال ۲۰۱۰ اثر مخمر ساکارومایسـس سرویزیه بر کاهش آفلاتوکسین G1 و G2 در محیط کشت آزمایشگاهی و پودر ماهی کلیکا را بررسی کردند. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از ساکارومایسس سرویزیه در مقدار ۳ ٪ میزان آفلاتوکسین G1 و G2 را به ترتیب ۹۸/۸ و ۹۵ ٪ کاهش داده است. مخمرها به عنوان ابزارهای بیولوژیکـی در زمینه کنترل آلاینده‌های میکروبی و متابولیت‌های سـمی استفاده می‌شود. دیواره سلولی ساکارومایسس حاوی پلی ساکاریدهایی نظیر گلوکان و مانان بوده که مکانیسم‌های مختلف (پیوندهای یونی، هیدروژنی و هیدروفوبی) پیوند با توکسین را فراهم می‌کند (۱۵).

Saeidi Asl و همـکاران در سـال ۲۰۱۰ اثـر دوزهـای مختلـف ساکارومایسس سرویزیه را جهت حذف و کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 و B_2 در محیط کشت و پودر ماهی کلیکا مورد بررسی قرار دارند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که در دوز ۳٪ مخمر میزان حذف آفلاتوکسین B_1 و B_2 به ترتیب۹۲/۷ و ۹۴ ٪ بوده است و در دوز ۴٪ مخمر میزان حذف آفلاتوکسین B_1 و B_2 به ترتیب ۹۴/۶ و ۹۵/۸ ٪ بوده است (۱۶).

Gonçalves و همـکاران در سـال ۲۰۱۵ توانایی ساکارومایسـس سـرویزیه را در محصولات بر پایه نیشـکر تخمیر شـده بررسـی کردند. تیمارهای مختلف ساکارومایسس (خشک شده، اتولیز شده، دیواره سلولی) بود. تیمارهای مخمر خشک شده و مخمر اتولیز شده دارای بیشترین توانایی در جذب آفلاتوکسـین B_1 محیط داشـتند، ولی اثر حذف آفلاتوکسین در طول زمان معنی‌دار نبود (۷).

نتیجه‌گیـری: یافته‌های این تحقیق بیان کننده این مطلب اسـت که سـلول‌های میکروارگانیسـم‌ها به دلیل وجود ترکیبات دیواره سلولی شان توانایی جذب سـموم را دارند. سلول‌های کشته شده میکروارگانیسم‌ها در جذب سم مؤثرتر می‌باشند. مخمر ساکارومایسس سرویزیه در حالت اتوکلاو شده و نیز کشته شده با حرارت دارای بیشترین توانایی جذب سم می‌باشند و می‌توان از سلول کشته شده مخمر و یا باکتری برای جذب و حذف سموم استفاده کرد و حتی می‌توان دیواره سلولی مخمر را جداسازی کرده و از آن جهت حذف و کاهش سـم استفاده کرد و به عنوان یک راهکار در صنعت خوراک دام استفاده از گلیکومانان دیواره سلولی مخمر می‌تواند برای کاهش سم آفلاتوکسین B_1 مفید باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی سازمان جهاددانشگاهی خراسان رضوی و نیز شرکت ژرف اندیشان فاخر به خاطر حمایت در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Battacone, G., Nudda, A., Palomba M., Mazzette, A., Pulina, G. (2009) The transfer of aflatoxin M1 in milk ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. J Dairy Sci. 92: 4997.
2. Ciegler, A., Lillehoj, E.B., Peterson, R.E., Hall, H.H. (1996) Microbial detoxification of aflatoxin. Appl Mic. 14: 934-939.
3. Devegowda, G., Arvind, B.R., Morton, M.G. (1996) *Saccharomyces cerevisiae* and mannanooligosacharides to counteract aflatoxicosis inbroilers. Proc Aust Poul Sci Symp Sydney. 8: 103-106.
4. El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., Ahokas, J. (1998) Physico-chemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. Food Prot. 61: 466-468.
5. Gbassi, G.K., Vandamme, T., Yolou, F.S., Marchioni, E. (2011) In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of en-

capsulated Lactobacillus plantarum strains in a gastrointestinal tract model. Int Dairy J. 21: 97-102.

6. Gbassi, G.K., Vandamme T., Yolou, F.S., Marchioni, E. (2011) In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated Lactobacillus plantarum strains in a gastrointestinal tract model. Int Dairy J. 21: 97-102.
7. Gonçalves, B.L., Rosim, R.E., Oliveira, C.A.F., Corassin, C.H. (2015) The invitro ability of different *Saccharomyces Cerevisiae*-based products to behind aflatoxin B1. Food Control. 47: 298-300.
8. Khanafari, A., Soudi, H., Miraboulfathi, M. (2007) Biocontrol of Aspergillus Flavus and Aflatoxin B1 production in corn. Iran J Environ Health Sci Eng. 4: 163-168.
9. Kusumaningtyas, E., Widiastuti, R., Maryam, R. (2006) Reduction of aflatoxin B1 in chicken feed by using *Saccharomyces cerevisiae*, Rhizopus oligosporus and their combination. Mycopathologia. 162: 307-311.
10. Lahtinen, S.J., Haskard, C.A., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J., Ahokas, J.T. (2004) Binding of Aflatoxin B1 to cell wall components of Lactobacillus rhamnosus strain GG. Food Add Cont. 21: 158-164.
11. Line, J.E., Brackett, R.E. (1995) Factor affecting aflatoxin B1 removal by Flavobacterium Aurantiacum. J Food Prot. 58: 91-94.
12. Mirdamadi, S., Rajabi, A., Aziz Mohseni, F., Momen, B. (2007) Lactic acid production by Lactobacillus strains. Iranian J Nut Sci Food Tech. 2: 57-64.
13. Rahaie, S., Razavi, S.H., EmamJomeh, Z. (2010) The ability of *Saccharomyces cerevisiae* strain in aflatoxin reduction in pistachio nuts. JFST. 7: 81-88.
14. Rezaee, M., Rezaeian, M., Mirhadi, S.A., Moradi, M. (2008) Effects of yeast supplementation on rumen fermentation, microbial population and the performance of male fattening calves. J Vet Res. 62: 403-409.
15. Saeidi Asl, M.R., Safari, R. (2010) Inhibitory Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on G1 and G2 Aflatoxins in Culture Media and Kilka Fish Meal Food Technology & Nutrition. 7: 58-77.
16. Saeidi Asl, M.R., Safari, R. (2010) Evaluation of inhibitory effect of *Saccharomyces cerevisiae* on B1 and B2 aflatoxins in culture media and Kilka fish meal. Journal of Comparative Pathobiology. 7: 223-232.
17. Sahebghalam, H., MohamadiSani, A., Mehraban, M. (2013) Assessing the ability of *Saccharomyces cerevisiae* to bind aflatoxin B1 from contaminated medium. Nut & Food Sci. 43: 392-397.
18. Tajabadi Ebrahimi, M., Jafari, P., Bahrami, H., Hashemi, M. (2011) Evaluation of Aflatoxin B1 reduction in present of lactobacilli isolated from Tarkhineh and fermented milk of Tarkhineh by ELISA. J Microbial Bio. 3: 43-48.
19. Thyagaraja, N., Hosono, A. (1994) Binding properties of lactic acid bacteria from ‘idly’towards foodborne mutagens. Food Ch Toxicol. 32: 805-809.

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal detoxification of aflatoxin B_1

Karazhyan, R.[1*], Shaker Sheyda, I.[2], Mehraban Sangh Atash, M.[1], Tajjali, F.[3], Mojtahedi, M.[4], Sadegh, M.[5]

[1]*Department Food Quality and Safety, ACECR, Mashhad, Iran*
[2]*Graduated from Department of Poultry Science, Ferdowsi University, College of agriculture, Mashhad, Iran*
[3]*Molecular Medicine Research Department, ACECR, Mashhad, Iran*
[4]*Department of Poultry Science, Birjand University, College of agriculture, Birjand, Iran*
[5]*Zharf Andishan Fakher Co. Mashhad, Iran*
(Received 10 September 2016, Accepted 25 December 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Yeasts are microorganisms that have the ability to absorb aflatoxins. **OBJECTIVES:** The effect of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* (PTCC 5177) on aflatoxin B_1 detoxification and absorption of toxin in in vitro (the cow rumen) was investigated. **METHODS:** For this purpose, the yeast used in various treatments (live-treated, autoclave, heat-treated, treated with acid 100 °C) was prepared and added to the rumen of cattle. Aflatoxin B_1 in different doses (0, 5, 10, 20) ppb in the rumen were added and were incubated at 37°C for one and two hours. The amount of toxin residues was measured by ELISA using Europroxima kits. **RESULTS:** The results showed that microorganisms that have been treated in an autoclave have the highest amount of toxin removal (90.5%) ($p<0.05$). Also, with increases in the incubation time, the amount of toxin absorbed significantly increased (78%) ($p<0.05$) and with increasing concentrations of toxin in vitro the yeast's ability to absorb toxin increases. These results demonstrate that the major toxin is absorbed by the yeast cell wall and therefore non-living microorganisms shown an ability to absorb higher. This is because the composition of the yeast cell wall mannoprotein that are effective at absorb in toxin. **CONCLUSIONS:** As a strategy for the animal feed industry the use of glycomannan yeast cell wall can be useful for reducing aflatoxin B_1.

Keyword: aflatoxin B_1, rumen fluid, detoxification, *Saccharomycess cerevisiae*

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. The effect of the concentration of Aflatoxin B_1 toxin uptake by *Saccharomycess cerevisiae*.

Figure 2. Treatment effect of *Saccharomycess cerevisiae* on the absorption of Aflatoxin B_1 in the rumen.

Figure 3. Effect of the Aflatoxin B_1 concentration and incubation time in reducing aflatoxin B_1 from the rumen.

Figure 4. The effect of treatment microorganisms and toxins concentration on reducing of Aflatoxin B_1.

***Corresponding author's email: reza_karazhyan2002@yahoo.com, Tel: 051-38832360, Fax: 051-38841365**