

اثر منفرد و ترکیبی قارچ گوشتی دکمه‌ای و ساکارومیسز سرویزیه در حذف آفلاتوکسین B1

مهدیه محمودی^۱، سید مسعود هاشمی کروئی^۲، عیسی غلامپور عزیزی^{۳*}، عقیق لاریجانی^۱

^۱ دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۲ گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۳ گروه علوم پایه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

*نویسنده مسئول

چکیده

قارچ گوشتی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) مهمترین قارچ گوشتی خوراکی است که در صنعت پرورش داده می شود و دارای ارزش غذایی فراوانی است. ساکارومیسز سرویزیه مخمری پرکاربردی است که در صنایع غذایی، نوشیدنی و تولید سوخت زیستی بکار می رود. در این تحقیق پس از تهیه قارچ گوشتی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) و ساکارومیسز سرویزیه و جمع آوری جیره غذایی دامی کپک زده و سنجش اولیه سم آفلاتوکسین B1 آن، تیمارهای مختلف از آن با اضافه کردن قارچ گوشتی دکمه‌ای و سوسپانسیون ساکارومیسز سرویزیه (10^9 و 10^8) در دمای ۳۰ و ۳۷ درجه طی ۱۰ روز، میزان کاهش این سم سنجیده شدند. با افزایش دما از ۳۰ درجه به ۳۷ درجه کاهش درصد میزان آفلاتوکسین B1 معنی دار بود ($p \leq 0.05$). با افزایش تعداد مخمر از 10^8 به 10^9 ، کاهش درصد میزان آفلاتوکسین B1 معنی دار بود ($p \leq 0.05$). بطور کلی درصد کاهش آفلاتوکسین B1 توسط ساکارومیسز سرویزیه (۳۵/۷ درصد) و قارچ گوشتی (۳۴/۸۵ درصد) و ترکیبی (۴۷/۲۳ درصد) بود. ساکارومیسز سرویزیه و قارچ گوشتی دکمه ای خوراکی در کاهش آفلاتوکسین بطور منفرد و ترکیبی موثر بودند.

واژه های کلیدی: قارچ گوشتی دکمه ای، ساکارومیسز سرویزیه، آفلاتوکسین B1

۱-مقدمه

مایکوتوکسین‌ها (Mycotoxin) متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که در ارگانیسم‌های عالی ایجاد مسمومیت نموده و توسط بیش از ۱۰۰ گونه قارچ تولید می‌شوند (Richard, 2007). آفلاتوکسین‌ها (Aflatoxin) از مایکوتوکسین‌های شایع هستند. آفلاتوکسین‌ها سموم بسیار خطرناکی هستند که توسط انواع خاصی از کپک‌ها (Molds) مانند گونه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus flavus*) و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (*Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوند. آفلاتوکسین‌ها دارای خواص کارسینوژنیک (سرطان‌زایی) و موتاژنیک (جهش‌زایی) زیادی هستند. به دلیل مستعد بودن اکثر مواد غذایی برای رشد کپک‌ها، تولید آفلاتوکسین‌ها در آن‌ها می‌تواند مشکلات بسیار زیادی را برای سلامت مصرف‌کنندگان ایجاد نماید (Gizachew et al., 2019). در طبیعت ۴ نوع آفلاتوکسین اصلی شامل B1، B2، G1 و G2 و دو نوع محصولات متابولیکی به نام‌های M1 و M2 وجود دارند (Thanushree et al., 2019) که می‌توانند خوراک‌های دام و انسان مانند ذرت، سورگوم، گندم، سویا، کنجاله پنبه دانه، بادام زمینی، آجیل‌ها و خشکبار را آلوده کنند (Benkerroum, 2020). با انجام آزمایشات متعدد، ثابت شده است که آفلاتوکسین B1 سمی‌تر از سایر آفلاتوکسین‌ها است (Hailu et al., 2019).

قارچ گوشتی دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) غنی از مواد مغذی همچون کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها، فیبرها، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد (Muszynska et al., 2017). رایج‌ترین قارچ‌های مصرفی در سراسر جهان متعلق به گونه *A. bisporus* که شامل قارچ دکمه ای سفید است (WBM)، قارچ دکمه ای قهوه ای (BBM)، پورتوبلو و کرمینی هستند (Feeney et al., 2014). ارزش اقتصادی سرسام آور *A. bisporus* در سراسر جهان، که تا حد زیادی به افزایش مصرف به دلیل آرایه‌های اهمیت قارچ به عنوان غذا و برای اهداف دارویی و غذایی می‌باشد. *A. bisporus* با غنی‌سازی مواد مغذی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری، فیبرها و کمبود چربی باعث می‌شود که به‌طور گسترده مصرف شوند و به‌عنوان قارچ‌های معمولی برچسب‌گذاری شوند. از این رو تقویت‌کننده سلامتی بوده و به دلیل فوایدی که دارند اثرات افزودنی و هم‌افزایی ترکیبات زیست فعال موجود در قارچ در تهیه ظروف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Agboola et al., 2023).

ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) منبع اصلی مخمر خوراکی می‌باشد و مهم‌ترین میکروارگانیسمی است که در تخمیر مواد غذایی در سراسر جهان از آن استفاده می‌شود. اثر این مخمر در حذف آفلاتوکسین B1 توسط محققان بسیاری، ارزیابی شده و مورد تایید قرار گرفته است. مکمل آنتی اکسیدان‌ها یک تکنیک مفید و قابل انجام برای پیشگیری یا اصلاح آسیب ناشی از AFB1 است. (Hussain et al., 2022). تاکنون روش‌های فیزیکی و شیمیایی زیادی برای از بین بردن آفلاتوکسین‌ها از جمله درمان با اشعه گاما، اشعه ماوراء بنفش (UV)، گرما، هیدروکسید کلسیم، پراکسید هیدروژن، گاز کلر و ... و غیره معرفی شدند (Chulze et al., 2016). با این حال، اکثر روش‌های فیزیکی و شیمیایی دارای محدودیت‌هایی مانند از دست دادن ارزش غذایی و هزینه بالا هستند (Di Stefano et al., 2014). بنابراین، کنترل‌های بیولوژیکی واجد شرایط، جذاب و روش ایمن برای حذف آفلاتوکسین در غذاها محسوب می‌شوند (Fan et al., 2013). در این تحقیق اثرات منفرد و ترکیبی دو ارگانیسم شامل قارچ گوشتی دکمه‌ای و مخمر ساکارومایسس سرویزیه بر حذف آفلاتوکسین B1 بررسی می‌شود.

۲-روش کار

تهیه مخمر و قارچ گوشتی: ساکارومایسس سرویزیه با کشت مخمر نانویی تهیه شد و نیز قارچ گوشتی دکمه‌ای از شرکت‌های تولید کننده تهیه گردید.

تهیه سوسپانسیون مخمر: برای تهیه سوسپانسیون مخمر از لام نئوبار استفاده شد که هر سی سی آن تعداد 1×10^8 و 1×10^9 سلول مخمر (10^8 و 10^9 ml/cfu) شمارش شدند (Khoshzaban et al., 2019).

جمع آوری نمونه جیره غذایی: نمونه جیره غذایی خام دامی کپکی و مشکوک، به تعداد ۲۰ عدد از دامداری های شهرستان، بطور تصادفی در پلاستیک های استریل جمع آوری شده و تا زمان کشت در یخچال نگهداری شدند (Ghaemmaghani et al., 2024).

تهیه تیمار های مختلف از جیره دامی: ابتدا مواد غذایی آسیاب شده و سپس تیمار بندی صورت گرفت:

۱- تیمار صفر شامل نمونه های جیره دامی حاوی آب مقطر دیونیزه است که در زمان صفر آفلاتوکسین B₁ آنها سنجیده شد. ۲- تیمار اول شامل نمونه های جیره دامی آلوده شده به قارچ گوشتی دکمه ای و ساکارومیسز سرویزیه (بطور منفرد و ترکیبی) است که بعد از ۱۰ روز، آفلاتوکسین B₁ آنها سنجیده شد (Li et al., 2023). تمام تیمارها در دو دمای ۳۰ درجه و ۳۳۷۰ درجه هم آزمایش شدند (Li et al., 2023; Zhou et al., 2017). جهت تهیه تیمار ابتدا ۱۰ گرم جیره غذایی سمی و ۱۰ میلی لیتر آب مقطر دیونیزه (۱:۱) در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده شد و pH با NaOH روی ۱۰ تنظیم شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس، pH جیره غذایی با محلول HCL روی ۷ تنظیم شد (در این مرحله به عنوان تیمار صفر سنجش سم صورت گرفت) و برای تهیه تیمار های بعدی (دوم و سوم) ۳۰۰ لاندا یا میکرولیتر محلول سلول های پیش کشت (تقریباً 10^8 و 10^9 CFU/ml) به ارلن اضافه شد. در نهایت جیره غذایی به مدت ۱۰ روز در دماهای ۳۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد تخمیر شدند. قارچ گوشتی به میزان ۱۵ گرم به تیمار اضافه شد (Reddey et al., 2010; Lou et al., 2023; Fan et al., 2023; Zhou et al., 2017).

روش کار الایزا: جهت انجام آزمایش الایزا با استفاده از کیت سنجش آفلاتوکسین B₁ بنام Bio-Shield، ۲۰ گرم پودر نمونه را در ظرف تمیز قرار داده و ۱۰۰ میلی لیتر متانول ۷۰٪ به آن اضافه کرده و ۳ دقیقه بطور پیوسته تکان داده سپس بعد رسوب مایع رویی با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شدند. سپس مواد صاف شده به نسبت ۱:۵ دوباره با متانول ۷۰٪ مخلوط شد (۱ سی سی از مواد با ۴ سی سی با متانول ۷۰٪). عصاره گرفته شده به نسبت ۱:۵ با متانول ۷۰٪ رقیق شد. بدین ترتیب نسبت آنها به ۱:۲۵ می رسد. محلول استخراج شده بایستی pH ۶/۲-۷/۵ داشته باشد در غیر اینصورت باید با NaOH از حالت اسیدی خارج شود. ۵۰ میکرولیتر یا لاندا از نمونه ها و استاندارد ها (۱-۵) را با ۲۰۰ لاندا از Matrix Dilution در میکروویل یا چاهک های Dilution مخلوط شدند. سپس ۱۰۰ لاندا از آن ها را چاهک های Dilution حاوی آنتی بادی منتقل شدند. ۱۰ دقیقه به این مخلوط زمان داده شد. سپس ۴ بار شستشو انجام شد. سپس ۱۰۰ لاندا از Dilution solution به چاهک ها اضافه شد و ۵ دقیقه در اتاق تاریک انکوبه شد. سپس ۴ بار شستشو داده شد. ۱۰۰ لاندا سوبسترا TMB اضافه شد و ۵ دقیقه در اتاق تاریک انکوبه شد. ۱۰۰ لاندا از Stop solution اضافه شد و در نهایت حداکثر طی ۶۰ دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر در الایزا ریدر خوانده شد.

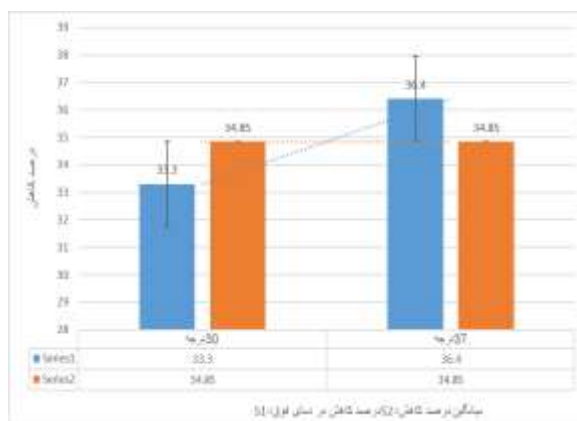
۳- یافته های تحقیق

بعد سنجش اولیه سم آفلاتوکسین B₁ در جیره غذایی و تیماربندی آنها با ساکارومیسز سرویزیه و قارچ گوشتی در دما مختلف انکوباسیون، تعداد مخمر، سنجش اولیه این سم با الایزا صورت گرفت (جدول ۱-۳ و نمودار ۱-۳): با افزایش دما از ۳۰ درجه به ۳۷

درجه کاهش درصد میزان آفلاتوکسین B1 معنی دار بود ($p \leq 0.05$). با افزایش تعداد مخمر از 10^8 به 10^9 ، کاهش درصد میزان آفلاتوکسین B1 معنی دار بود ($p \leq 0.05$). بطور کلی درصد کاهش آفلاتوکسین B1 توسط ساکارومیسز سرویزیه (۳۵/۷ درصد) و قارچ گوشتی (۳۴/۸۵ درصد) و ترکیبی (۴۷/۲۳ درصد) بود.

جدول ۱: نتایج درصد کاهش آفلاتوکسین B1 توسط قارچ گوشتی دکمه‌ای در جیره غذایی سمی

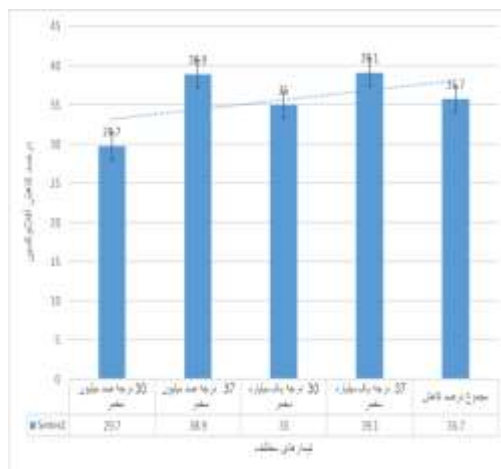
دما (درجه)	غلظت اولیه	میانگین غلظت بعد تیمار	درصد کاهش
۳۰	8.39	5.60	33.3
۳۷	8.39	5.34	36.4
مجموع میانگین درصد کاهش			34.85



نمودار ۱: درصد کاهش آفلاتوکسین B1 جیره غذایی سمی توسط قارچ گوشتی دکمه‌ای

جدول ۲: نتایج درصد کاهش آفلاتوکسین B1 توسط ساکارومیسز سرویزیه در جیره غذایی سمی

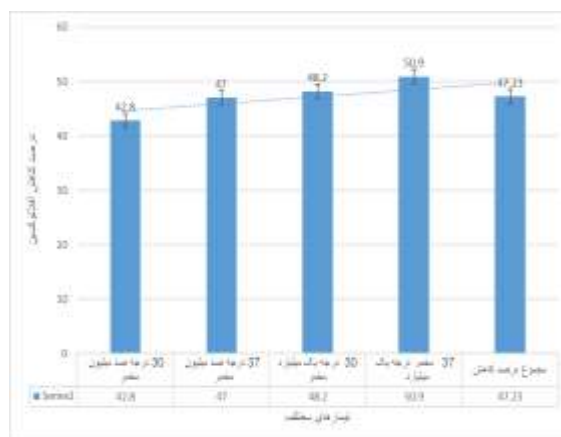
دما (درجه)	تعداد مخمر	غلظت اولیه	میانگین غلظت بعد تیمار	درصد کاهش	میانگین درصد کاهش
۳۰	10^8	8.39	5.90	29.7	34.3
۳۷	10^8	8.39	5.13	38.9	
۳۰	10^9	8.39	5.45	35	37.05
۳۷	10^9	8.39	5.11	39.1	
مجموع میانگین درصد کاهش					35.7



نمودار ۲: درصد کاهش افلاتوکسین B₁ جیره غذایی سمی توسط ساکارومیسز سرویزیه

جدول ۳: نتایج درصد کاهش افلاتوکسین B₁ توسط قارچ گوشتی دکمه‌ای و ساکارومیسز سرویزیه (بطور ترکیبی) در جیره غذایی سمی

دما (درجه)	تعداد مخمر	غلظت اولیه	میانگین غلظت بعد تیمار	درصد کاهش	میانگین درصد کاهش
۳۰	۱۰ ^۸	8.39	4.80	42.8	44.9
۳۷	۱۰ ^۸	8.39	4.45	47	
۳۰	۱۰ ^۹	8.39	4.35	48.2	49.55
۳۷	۱۰ ^۹	8.39	4.12	50.9	
مجموع میانگین درصد کاهش					47.23



نمودار ۳: درصد کاهش آفاتوکسین B₁ جیره غذایی سمی توسط قارچ گوشتی دکمه‌ای و ساکارومیسز سرویزیه (بطور ترکیبی)

۳- بحث و نتیجه گیری

در میان میکروب‌ها، مخمر به طور گسترده‌ای برای مدیریت بیماری‌های پس از برداشت مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا دارای مکانیسم‌های آنتاگونیستی گسترده‌ای است، مانند رقابت برای فضا و مواد مغذی، انگلی مستقیم، تشکیل بیوفیلم، تولید سیدروفورها و متابولیت‌های ضد قارچی، از جمله سموم کشنده و آنزیم‌های هیدرولیتیک (Natarajan et al., 2023). Tryfinopoulou و همکاران تعامل بین ۶۷ جدایه مخمر مختلف و ۳ جدایه وحشی *Aspergillus carbonarius* منشا گرفته از تاستان‌های یونانی و دارای پتانسیل اکراتوکسیژنی بالا را بررسی نمودند. رقابتی‌ترین سویه‌ها متعلق به جنس‌های *Saccharomyces*، *Pichia*، *Metschnikowia*، *Dekkera* و *Rhodotorula* بودند. به طور خاص، ساکارومایسس سرویزیه Y33 به ترتیب پس از ۳ و ۴ روز از کشت همزمان، منجر به کاهش سطح کلنی قارچی بیش از ۹۰ درصد و ۹۳ درصد شد. نتایج مشابهی برای OTA به دست آمد، جایی که غلظت سم بالاترین تولیدکننده (*A. carbonarius* F3) از ۱۴۹۸۳ و ۳۱۵۶۵ نانوگرم در میلی لیتر در ۸ و ۱۵ روز به ترتیب به ۵ نانوگرم در میلی لیتر و کمتر از حد تشخیص (۱ نانوگرم در میلی لیتر) کاهش یافت (Tryfinopoulou et al., 2020). در مطالعه ما با افزایش دما از ۳۰ درجه به ۳۷ درجه کاهش درصد میزان آفاتوکسین B₁ معنی دار بود ($p \leq 0.05$). با افزایش تعداد مخمر از 10^8 به 10^9 ، کاهش درصد میزان آفاتوکسین B₁ معنی دار بود ($p \leq 0.05$). بطور کلی درصد کاهش آفاتوکسین B₁ توسط ساکارومیسز سرویزیه (۳۵/۷ درصد) و قارچ گوشتی (۳۴/۸۵ درصد) و ترکیبی (۴۷/۲۳ درصد) بود. Shahadha و همکاران در سال ۲۰۲۳ بر روی اثرات قارچ گوشتی دکمه‌ای در حذف آفاتوکسین B₁ مطالعه نمودند. در این تحقیق قارچ گوشتی را در تیمارهای مختلفی که حاوی آفاتوکسین B₁ بود پرورش داده و مشاهده نمودند در تیمارهای حاوی قارچ گوشتی، میزان آفاتوکسین به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. لذا اثرات آن را موثر ارزیابی کردند (Shahadha et al., 2023). عبدالکریم و همکاران در سال ۲۰۲۰ اثرات گونه‌های آگاریکوس را بر جلوگیری از رشد و حذف آفاتوکسین‌ها را بررسی نموده و اثر آن را مثبت ارزیابی کردند. آن‌ها در این پژوهش، گونه‌های مختلف قارچ دکمه‌ای را بر روی محیط‌های مختلف حاوی آفاتوکسین کشت داده و نتایج آن را گزارش نمودند. گزارش‌ها حاکی از کاهش چشمگیر میزان آفاتوکسین B₁ در نمونه‌ها بود (Abdul-Karim & Hussein, 2022).

رجب زاده و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی توانایی قارچ دکمه‌ای (*A. bisporus*) در جذب آفاتوکسین B₁ را بررسی نمودند و آن را موثر ارزیابی نمودند. آن‌ها بتا D گلوکان را از باقی‌مانده‌های قارچ گوشتی دکمه‌ای استخراج نموده و آن را به عصاره اسپیرژیلوس فلاووس آغشته نمودند که حاوی آفاتوکسین B بود. نتایج آن‌ها نشان از کاهش میزان آفاتوکسین‌ها در تیمارهای حاوی قارچ گوشتی دکمه‌ای می‌باشد (Rajabzadeh Shandiz et al., 2020). عظیمی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی کاهش زیستی آفاتوکسین B₁ موجود در آرد گندم توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه کار کردند. در این تحقیق اثر مهارکنندگی ساکارومایسس سرویزیه و کاهش دادن آفاتوکسین B₁ در آرد گندم، ثابت شد. بنابراین می‌توان امیدوار بود از این مخمر به عنوان عامل خنثی کننده این سم در آرد گندم استفاده نمود (عظیمی و همکاران، ۲۰۱۵). Brana و همکاران در سال ۲۰۲۰ اثرات عصاره آنزیمی قارچ گوشتی دکمه‌ای بر تجزیه آفاتوکسین B₁ را بررسی و اثر آن را مثبت ارزیابی نمودند. عصاره قارچ گوشتی دکمه‌ای حاوی بتا D گلوکان بوده که توانایی جذب آفاتوکسین B₁ را دارد. در این تحقیق روش‌های مختلفی جهت عصاره گیری این قارچ معرفی شده است (Brana et al., 2020). Shetty و همکاران اثر حذف و تغییر آفاتوکسین B₁ توسط سویه‌های ساکارومایسس سرویزیه را بررسی نمودند و اثر مثبت آن را تایید کردند. در این تحقیق توانایی سویه‌های مختلف این مخمر در اتصال به آفاتوکسین B مورد بررسی قرار گرفت. اکثر سویه‌ها دارای توانایی خوبی در جذب این سم بودند. توانایی برخی

از سویه‌ها در جذب آفلاتوکسین B بسیار قابل توجه بود. لذا این محققان روی استفاده از این سویه‌ها جهت کاهش آفلاتوکسین، تاکید نمودند (Shetty et al., 2007). Bueno و همکاران بر روی جذب فیزیکی آفلاتوکسین‌ها توسط ساکارومایسس سرویزیه کار کردند. آن‌ها توانایی این مخمر در کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی را بسیار مثبت ارزیابی نموده و استفاده از آن در صنایع مختلف را توصیه نمودند (Bueno et al., 2007).

به منظور کاهش آلودگی میکوتوکسین در مواد غذایی، روش‌های مختلفی از جمله فیزیکی، شیمیایی یا درمان‌های بیولوژیکی پیشنهاد شده است. از جمله درمان‌های بیولوژیکی به ویژه با استفاده از مخمرها با توجه به شواهد *in vitro* و *in vivo* که حاکی از کاربرد بالقوه محصولات مبتنی بر مخمر برای اتصال به آفلاتوکسین‌ها است، توجه قابل توجهی را به خود جلب کرد. بر اساس یافته‌ها، دما، pH، گونه‌های مخمر، نوع ماتریکس غذایی و نوع آفلاتوکسین از متغیرهای مؤثر اثر مخمرها بر آفلاتوکسین در محصولات غذایی هستند و تفاوت معنی داری در اثر حذف آفلاتوکسین در زمان‌های مختلف تماس مشاهده شد (Campagnollo et al., 2020). در مطالعه ما ساکارومیسز سرویزیه و قارچ گوشتی دکمه ای خوراکی در کاهش آفلاتوکسین بطور منفرد و ترکیبی مؤثر بودند.

منابع

1. Richard JL. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *International journal of food microbiology*. 2007 Oct 20;119(1-2):3-10.
2. Gizachew D, Chang CH, Szonyi B, De La Torre S, Ting WT. Aflatoxin B1 (AFB1) production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* on ground Nyjer seeds: The effect of water activity and temperature. *International journal of food microbiology*. 2019 May 2;296:8-13.
3. Thanushree MP, Sailendri D, Yoha KS, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Mycotoxin contamination in food: An exposition on spices. *Trends in Food Science & Technology*. 2019 Nov 1;93:69-80.
4. Benkerroum N. Chronic and acute toxicities of aflatoxins: Mechanisms of action. *International journal of environmental research and public health*. 2020 Jan;17(2):423.
5. Hailu M, Narayanaswamy R, Abrehame S, Manoj VR. In silico analysis of glycogen synthase kinase 3-Beta (GSK-3 β) as aflatoxin binder. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2019 Sep 25;12(3):1449-56.
6. Muszyńska B, Krakowska A, Sułkowska-Ziaja K, Opoka W, Reczyński W, Baś B. In vitro cultures and fruiting bodies of culinary-medicinal *Agaricus bisporus* (white button mushroom) as a source of selected biologically-active elements. *Journal of Food Science and Technology*. 2015 Nov;52(11):7337-44.
7. Feeney MJ, Miller AM, Roupas P. Mushrooms—Biologically distinct and nutritionally unique: Exploring a “third food kingdom”. *Nutrition today*. 2014 Nov 1;49(6):301-7.
8. Agboola OO, Sithole SC, Mugivhisa LL, Amoo SO, Olowoyo JO. Growth, nutritional and antioxidant properties of *Agaricus bisporus* (crimini and white) mushrooms harvested from soils collected around mining areas in South Africa. *Measurement: Food*. 2023 Feb 1;9:100078.
9. Hussain Y, Khan H, Efferth T, Alam W. Regulation of endoplasmic reticulum stress by hesperetin: focus on antitumor and cytoprotective effects. *Phytomedicine*. 2022 Jun 1;100:153985.

10. Chulze, S.N. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: A review. *Food Addit. Contam.* 2010; 27, 651–657.
11. Di Stefano V, Pitonzo R, Bartolotta A, D'Oca MC, Fuochi P. Effects of γ -irradiation on the α -tocopherol and fatty acids content of raw unpeeled almond kernels (*Prunus dulcis*). *LWT-Food Science and Technology*. 2014 Nov 1;59(1):572-6.
12. Fan Y, Zhao L, Ma Q, Li X, Shi H, Zhou T, Zhang J, Ji C. Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth performance, meat quality and aflatoxin residues in broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. *Food and Chemical Toxicology*. 2013 Sep 1;59:748-53.
13. Khoshzaban F, Asl AD, Mirzaian H, Jameie F. Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Myrtus Communis* Leaves on Trophozoites and Cysts of *Acanthamoeba*: An In Vitro Study.
14. Ghaemmaghami SS, Rouhanipour H, Sharifi SD. Aflatoxin levels in poultry feed: A comparison of mash and pellet forms. *Poultry Science*. 2024 Jan 1;103(1):103254.
15. Li W, Li W, Zhang C, Xu N, Fu C, Wang C, Li D, Wu Q. Study on the mechanism of aflatoxin B1 degradation by *Tetragenococcus halophilus*. *Lwt*. 2023 Apr 15;180:114662.
16. 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 Jan 20;9(1):42.
17. Fan L, Lin L, Cheng L, Huang Z, Zhao L, He W, Chen H, Chen Y, Lin Y, Liu B. Yeast suppresses *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxins synthesis: Finding a new fungal antagonistic strain based on stored marinade. *LWT*. 2023 Sep 15;187:115358.
18. Lou H, Yang C, Gong Y, Li Y, Li Y, Tian S, Zhao Y, Zhao R. Edible fungi efficiently degrade aflatoxin B1 in cereals and improve their nutritional composition by solid-state fermentation. *Journal of hazardous materials*. 2023 Jun 5;451:131139.
19. Reddy KR, Raghavender CR, Reddy BN, Salleh B. Biological control of *Aspergillus flavus* growth and subsequent aflatoxin B1 production in sorghum grains. *African journal of biotechnology*. 2010;9(27):4247-50.
20. Natarajan S, Balachandar D, Paranidharan V. Inhibitory effects of epiphytic *Kluyveromyces marxianus* from Indian senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Microbiology*. 2023 Dec 2;406:110368.
21. Tryfinopoulou P, Chourdaki A, Nychas GJ, Panagou EZ. Competitive yeast action against *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production. *International Journal of Food Microbiology*. 2020 Mar 16;317:108460.
22. Shahadha AF, Merzah NR, Al-Aubadi I. Characterization Chitosan Nanoparticles Prepared from the Stalks of *Agaricus bisporus* Brown and its Effect on Inhibition of *Aspergillus flavus* and Reducing Aflatoxin B1 Production. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2023 Dec 1 (Vol. 1262, No. 6, p. 062015). IOP Publishing.
23. Abdul-Karim EK, Hussein HZ. The biosynthesis of nanoparticles by fungi and the role of nanoparticles in resisting of pathogenic fungi to plants: a review. *Basrah Journal of Agricultural Sciences*. 2022 Apr 22;35(1):243-56.

24.Rajabzadeh SS, Ziaratnia SM, Pahlevanloo A, Sarabi JM. Extraction efficiency of β -D-glucan from waste part of bottom mushroom (*agaricus bisporus*) and its ability to adsorb aflatoxin B1.

۲۵. عظیمی، غلامپورعزیزی، روحی و زابلی. کاهش زیستی آفلاتوکسین B₁ در آرد گندم با استفاده از مخمر ساکارومایسس سرویزیه. مجله طب جنوب. ۲۰۱۵: ۱۸(۴)، ۷۰۱-۷۱۰.

26.Branà MT, Sergio L, Haidukowski M, Logrieco AF, Altomare C. Degradation of aflatoxin B1 by a sustainable enzymatic extract from spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii*. *Toxins*. 2020 Jan 14;12(1):49.

27.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 Jan 1;113(1):41-6.

28.Bueno DJ, Casale CH, Pizzolitto RP, Salvano MA, Oliver G. Physical adsorption of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: a theoretical model. *Journal of food protection*. 2007 Sep 1;70(9):2148-54.

29.Campagnollo FB, Khaneghah AM, Borges LL, Bonato MA, Fakhri Y, Barbalho CB, Barbalho RL, Corassin CH, Oliveira CA. In vitro and in vivo capacity of yeast-based products to bind to aflatoxins B1 and M1 in media and foodstuffs: a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*. 2020 Nov 1;137:109505.

Single and Mixed effect of *Agaricus bisporus* and *Saccharomyces cerevisiae* in Degradation of Aflatoxin B1

Mahdieh Mahmodi¹, Mashood Hashemi Karoii², Issa Gholampour Azizi^{3*}, Aqhiqh Larijani¹

¹Graduated student, Faculty of Veterinary, Bab. C., Islamic Azad University, Babol, Iran

²Department of Veterinary Science, Bab. C., Islamic Azad University, Babol, Iran

^{3*}Department of Veterinary Sciences, Bab. C., Islamic Azad University, Babol, Iran

Abstract

Button mushroom (*Agaricus bisporus*) is the most important edible mushroom cultivated in industry and has a high nutritional value. *Saccharomyces cerevisiae* is a widely used yeast used in the food, beverage and biofuel industries. In this study, after preparing button mushroom (*Agaricus bisporus*) and *Saccharomyces cerevisiae*, collecting moldy livestock feed and initially measuring its aflatoxin B1 toxin, different treatments were added to it by adding *Agaricus bisporus* and *Saccharomyces cerevisiae* suspension (10^8 and 10^9) at 30 and 37 degrees for ۱۰ days, and the reduction of this toxin was measured. With increasing temperature from 30 degrees to 37 degrees, the percentage decrease in aflatoxin B1 was significant ($p \leq 0.05$). With increasing yeast number from 10^8 to 10^9 , the percentage decrease in aflatoxin B1 was significant ($p \leq 0.05$). In general, the percentage of aflatoxin B1 reduction by *Saccharomyces cerevisiae* (35.7%) and button mushroom (34.85%) and combined (47.23%) was effective in reducing aflatoxin individually and in combination. *Saccharomyces cerevisiae* and button mushroom were effective in reducing aflatoxin individually and in combination.

Keywords: *Agaricus bisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, aflatoxin B1
