مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۴، شماره ۱، ۱۳۹۲ (۱۱۲-۱۰۵)

مقایسه‌ی جاذب‌های معدنی زئولیت و بنتونیت با جاذب آلی مایکوزورب و جاذب آلی- معدنی بیوتکس از لحاظ توانایی جذب آفلاتوکسین B_1

مجید سواری[1]، مهدی دهقان بنادکی[2*]، کامران رضایزدی[2] و محمد جوان‌نیکخواه[2]
۱، ۲ ، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۷ - تاریخ تصویب: ۹۱/۱۲/۱۲)

چکیده

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ی تولید شده توسط قارچ‌ها، متعاقب آلوده شدن محصولات خوراکی هستند. یکی از مؤثرترین روش‌ها برای مقابله با مسمومیت آفلاتوکسینی استفاده از جاذب‌های سموم قارچی است. هدف این مطالعه مقایسه‌ی جاذب‌های مختلف شامل بنتونیت، زئولیت، جاذب تجاری آلی (مایکوزورب) و جاذب تجاری معدنی-آلی (بیوتکس) بر اساس توانایی آن‌ها برای جذب آفلاتوکسین B_1 می‌باشد. برای این منظور برنج آلوده شده به AFB_1 پس از تلقیح با سویه‌ی قارچی آسپرژیلوس پارازیتیکوس PTTC 5286 تولید و مقادیر آفلاتوکسین تولید شده توسط روش HPLC تعیین شد. آفلاتوکسین B_1 با استفاده از کلروفرم از برنج استخراج شد. جاذب‌ها به صورت جداگانه در سه نسبت مختلف سم به جاذب (۱:۱۰۰۰، ۱:۵۰۰۰ و ۱:۱۵۰۰۰ وزنی/وزنی) با AFB_1 مخلوط شده، نمونه‌ها سانترفیوژ شدند و مایع شفاف رویی برای تعیین غلظت آفلاتوکسین B_1 توسط کیت الایزا آنالیز شد. طرح مورد استفاده، طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۴ بود. نتایج نشان داد، در نسبت سم به جاذب ۱:۱۵۰۰۰، زئولیت، مایکوزورب و بیوتکس به ترتیب حدود ۰/۸، ۰/۸۱ و ۰/۸۳ AFB_1 را جذب کردند و بازده‌ی جذب سم با کاهش مقادیر جاذب‌ها کاهش یافت. بنتونیت بازده‌ی جذب کمتری نشان داد (با مقدار حداکثر ۰/۳۸ در نسبت ۱:۱۵۰۰۰). تفاوت معنی‌داری بین سه نسبت مورد ارزیابی ونیز بین درصد جذب حاصله توسط بیوتکس و سایر جاذب‌ها مشاهده شد ($P<0/001$).

واژه های کلیدی: آفلاتوکسینB_1، جاذب آلی، جاذب معدنی، نسبت سم به جاذب

مقدمه

آلودگی خوراک دام توسط قارچها یک مسئله‌ی مهم در سراسر جهان می‌باشد. مایکوتوکسین‌ها که متابولیت‌های ثانویه‌ی تولید شده توسط قارچها بر روی اقلام خوراکی هستند، برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ میلادی با تلف شدن ۱۰۰ هزار بوقلمون در انگلستان در اثر نکروز شدید کبدی، که از خوراک بادام زمینی وارداتی از برزیل تغذیه شده بودند، مشخص گردید (Allcroft & Carnaghan, 1963). در میان سموم قارچی، آفلاتوکسین‌ها جزو سمی‌ترین مایکوتوکسین‌ها بوده که توسط گونه‌های قارچی جنس *آسپرژیلوس (فلاووس و پارازیتیکوس)* تولید شده و شامل انواع مهمی مثل AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2 می‌باشند (Kutz et al., 2009). زمانی که دام شیرده با جیره‌ی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شود، AFM_1 که مشتق هیدروکسیله‌ای از AFB_1 می‌باشد در شیر بوجود خواهد

* نویسنده مسئول: مهدی دهقان بنادکی تلفن: ۰۹۱۲۲۶۰۸۰۳۱ E-mail: dehghanb@can.ut.ac.ir

آمد که سمی و سرطان‌زا است. حداکثر میزان AFM_1 مجاز در شیر ۰/۵ میکروگرم در لیتر بوده و طبـق توصیه‌ی FDA (سازمان خوراک و داروی آمریکا) محصولات دانه‌ای برای مصرف دام باید عموماً حاوی کمتر از ۲۰ میکروگرم آفلاتوکسین در کیلوگرم باشد (Jaynes et al., 2007). در بین روش‌های مورد استفاده به منظور محافظت حیوانات در برابر اثرات سمی آفلاتوکسین‌ها شامل آزمایشات انجام شده روی محصولات دانه‌ای (Stoloff & Scott, 1984) ، استفاده از ممانعت کننده‌ها (Hamilton, 1985)، غیرفعال سازی میکروبی (Ciegler et al., 1966) ، جداسازی فیزیکی (Huff, 1980)، غیرفعال سازی دمایی (Conway et al., 1978)، استفاده از انواع جاذب‌های سموم قارچی یکی از کاربردی‌ترین روش‌هاست (Kutz et al., 2009).

یکی از انواع جاذب‌های سموم قارچی، جاذب‌های رسی بوده که از دسته‌ی آلومینیوم سیلیکات‌ها می‌باشند و به دلیل باردار بودن ساختاری که دارند، در جهت خنثی نمودن بار ساختار خود با سموم قطبی از جمله آفلاتوکسین متصل می شوند. از میان این جاذب‌ها، زئولیت و بنتونیت به دلیل ویژگی جذبی بالا مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که این رسها توانایی جذب آفلاتوکسین در مطالعات آزمایشگاهی (Lemke et al., 2001; Phillips et al., 1988; Ramos & Hernandez, 1996; Tomasevic-Canovic et al., 2003) و کاهش اثرات سوء آفلاتوکسین‌ها در مطالعات مزرعه‌ای (Bonna et al., 1991; Harvey et al., 1989b; Schell et al., 1993; Shi et al., 2006) را دارند.

بنتونیت با فرمول عمومی $(Na, Ca)\ (Al, Mg)\ (Si_4O_{10})_3(OH)_6nH_2O$ در دسته‌ی رس‌ها قرار دارد و کانی غالب آن مونتموریلونیت بوده و دارای ظرفیت تبادل کاتیونی بالایی است (Aghashahi et al., 2005).

زئولیت، کریستال هیدراته سیلیکات آلومینیوم با فرمول ساختمانی $(Na_4K_4)\ (Al_8SiO_{40}O_{96})24H_2O$ و دارای ساختمان سه بعدی می‌باشد (Rowghani et al., 2006). Sarr et al. (1991) گزارش کردند جذب AF توسط جاذب‌های معدنی به دلیل ایجاد اتصال بین بخش ß-کربونیل AF ویون‌های فلزی موجود در جاذب‌های معدنی می‌باشد. جاذب‌های آلی نیز می‌توانند سموم غیر قطبی را جذب کنند، مایکوزورب به عنوان یک جاذب آلی که گلوکومانان مشتق شده از دیواره‌ی سلولی مخمر می‌باشد، در مطالعات مختلف کاهش اثرات سمی مربوط به مایکوتوکسین‌ها را نشان داد (Dawson et al., 2001). اتصال سم و جاذب از طریق پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی بین مارپیچ D-ß گلوکان‌ها در دیواره‌ی سلولی مخمر و گروههای لاکتون AFB_1 نیز می‌تواند رخ دهد (Moschini et al., 2008).

لذا مطالعه‌ی امکان استفاده از انواع جاذب‌ها در تغذیه‌ی گاوهای شیری کشور امری مهم و قابل توجه خواهد بود. از آنجا که مطالعات *In vitro* اغلب اولین قدم در سنجش ظرفیت جذب سموم قارچی توسط جاذب‌ها می‌باشد، در این مطالعه ۴ نوع جاذب اعم از آلی و معدنی، طبیعی و فرآوری شده در نسبت‌های مختلف تحت شرایط آزمایشگاهی مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

تولید و استخراج آفلاتوکسین

به منظور تولید سم آفلاتوکسین B_1 که اولین مرحله از انجام این تحقیق محسوب می‌شود، سویه قارچی *Aspergillus parasiticus PTTC 5286* به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های ایران متعلق به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) خریداری و مطابق دستورالعمل پیشنهادی، محیط کشت اولیه تهیه و کشت قارچ صورت گرفت. در مرحله‌ی بعد به منظور تکثیر قارچ مقداری محیط کشت در شرایط استریل آماده شد و از قارچ های رشد یافته به این محیط‌های کشت جامد انتقال داده شد و برای مدت ۳ هفته در ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از این مدت، پرگنه رشد یافته سبز رنگی بر روی تمام پلیت‌ها قابل مشاهده بوده که از آن‌ها برای تولید آفلاتوکسین استفاده شد.

برای این منظور ۳ میلی لیتر *Triton X-100* با غلظت ۰/۰۰۵٪ به هر پلیت اضافه شده، اسپورها کنده شده و سوسپانسیون همگنی تهیه شد واز هر ۰/۵ میلی لیتر این سوسپانسیون برای تلقیح ۵۰ گرم برنج استفاده شد. به این صورت که به هر ارلن با حجم ۳۰۰ میلی لیتر میزان ۵۰ گرم برنج و به دنبال آن ۲۵ میلی لیتر

آب اضافه شده و به مدت ۲ ساعت به صورت متناوب تکان داده شد. سپس ارلن‌ها استریل شده و بعد از سرد شدن با سوسپانسیون گفته شده تلقیح شده و به مدت ۶ روز در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار داده شد. ۲۴ و ۴۵ ساعت پس از شروع انکوباسیون به هر ارلن ۲ میلی لیتر آب استریل اضافه شد. مراحل به نحوی بود که دانه‌های برنج به همدیگر نچسبیده و در پایان روز ششم رنگ دانه‌ها گندمی شد (Shotwell et al., 1966).

استخراج آفلاتوکسین از برنج آلوده به‌وسیله‌ی کلروفرم انجام شد، به این ترتیب که پس از روز ششم برنج‌های آلوده را به مدت یک شب در کلروفرم غوطه‌ور کرده و این عمل ۳ بار تکرار شد، پس از هر بار عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه روتاری تبخیری کلروفرم جدا شده و تغلیظ نمونه‌ی سم صورت گرفت (Shotwell et al., 1966).

تعیین غلظت سم آفلاتوکسین

جهت انجام آنالیز، نمونه‌ی برنج و محلول حاوی سم آفلاتوکسین به آزمایشگاه مرجعان خاتم تهران ارسال شد. با استفاده از دستگاه HPLC (کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی) با ستون C_{18}، دتکتور فلئورسانس و حلال متانول، آب و استونیتریل تعیین غلظت سم آفلاتوکسین انجام گرفت.

نحوه‌ی انجام آزمایش

به منظور مقایسه‌ی جاذب‌های سموم قارچی ۴ نوع جاذب شامل بنتونیت ((Na, Ca) (Al, Mg) (Si4O10)3(OH)6nH2O) (به عنوان جاذب معدنی طبیعی)، زئولیت ((Na_4K_4) $(Al_8SiO_{40}O_{96})24H_2O$) فرآوری شده (به عنوان جاذب معدنی فرآوری شده) که در اینجا منظور از فرآوری زئولیت، آسیاب کردن و اعمال حرارت به این جاذب می‌باشد، مایکوزورب و بیوتکس استفاده شد. در این آزمایش جاذب‌ها به صورت جداگانه در سه سطح یا نسبت مختلف (۱:۱۰۰۰، ۱:۵۰۰۰ و ۱:۱۵۰۰۰ وزنی/وزنی) با AFB_1 در ۱۰ میلی‌لیتر بافر مکدوگال در pH=۶/۸ مخلوط شده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۹ درجه‌ی سلسیوس تکان داده شدند.

نسبت‌های سم به جاذب استفاده شده در این آزمایش بر اساس پژوهش‌های انجام شده‌ی قبلی انتخاب شد. با توجه به نسبت‌های استفاده شده در اغلب مطالعات *in vitro*، که سطح ۱:۵۰۰۰ می‌باشد(Moschini et al., 2008) ، در این آزمایش نسبت ۱:۵۰۰۰ و نیز دو نسبت کمتر و بیشتر استفاده شد. غلظت AFB_1 به کار برده شده در آزمایش حاضر ۲۳۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود که برابر با حدود ۱۲ میلی‌گرم آفلاتوکسین در شکمبه‌ای به حجم ۵۰ تا ۶۰ لیتر خواهد بود که این مقدار شدیداً بالاست و نزدیک به مقداری است (۲۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) که در آزمایش انجام شده توسط Spotti et al., (2005) استفاده شد. از سوی دیگر برای حصول حداکثر ظرفیت جذب، در این آزمایش از غلظت‌های ۰/۰۲۵٪، ۰/۱۲۵٪ و ۰/۳۵٪ وزنی به حجمی برای هر جاذب استفاده شد، چرا که نسبت جاذب به سم بر روی حداکثر جذب AFB_1 اثر خواهد گذاشت و در بسیاری از مطالعات اغلب برای شناسایی جاذب‌های با ظرفیت جذب بالا از غلظت‌های نسبتاً پایین جاذب، حدود ۰/۰۲٪ (w/v) و سطوح بالای سم استفاده شده است (Vekiru et al., 2007; Shi et al., 2006; Grant & Phillips, 1998).

دما و pH استفاده شده در این آزمایش نیز با توجه به بررسی منابع موجود در این زمینه انتخاب شد (Grant & Phillips, 1998; Spotti et al., 2005; Diaz et al., 2003; Vekiru et al., 2007; Phillips et al., 1988; Thieu & Pettersson, 2008).

برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد، در ضمن ۳ تکرار برای تست آلودگی نمونه‌ی شاهد (محلول حاوی آفلاتوکسین بدون جاذب)، بافر بدون سم و جاذب و نیز محلول بافر حاوی جاذب به منظور تعیین باند شدن غیراختصاصی منظور شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در g ×۳۵۰۰ سانترفیوژ شدند (Moschini et al., 2008) و مایع شفاف رویی برای تعیین غلظت آفلاتوکسین B_1، توسط کیت الایزای خریداری شده (شرکت *EuroClone* ایتالیا) آنالیز شد.

سنجش میزان آفلاتوکسین B_1 نمونه‌ها با روش الایزا

برای تعیین میزان آلودگی نمونه‌ها به آفلاتوکسین B_1 از کیت الایزای مربوطه، استفاده شد. پلیت موجود در کیت دارای ۹۶ خانه یا چاهک بوده(۸×۱۲) که مطابق دستورالعمل شرکت سازنده‌ی کیت میزان آفلاتوکسین B_1 نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که آب مقطر، استانداردها (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۶ نانوگرم در

میلی‌لیتر AFB_1)، نمونه‌های مورد آزمون و محلول‌های موجود در کیت به چاهک‌های مربوطه اضافه شده و پس از سپری شدن زمان انکوبه‌گذاری پلیت در دمای محیط و افزودن محلول متوقف کننده به چاهک‌ها، میزان جذب استاندارد و نمونه‌ها با قرائت کننده‌ی الایزا (مدل *BECKMAN COULTER AD 340* آمریکا) در طول موج ۴۵۰ نانومتر مشخص شد. برای محاسبه‌ی درصد جذب ابتدا میزان جذب مربوط به چاهک بلانک از جذب سایر چاهک‌ها کسر شده و سپس با تقسیم میزان جذب نمونه‌ها و استانداردها بر میزان جذب استاندارد صفر، ضرب در ۱۰۰، این مقدار بدست آمد. با استفاده از منحنی کالیبراسیون و انطباق درصد جذب هر نمونه بر روی منحنی، میزان آلودگی آفلاتوکسین B_1 محاسبه شد. نهایتاً با استفاده از میزان آلودگی نمونه‌ها، درصد جذب آفلاتوکسین B_1 توسط جاذب‌های مختلف محاسبه شد.

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رویه‌ی GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۳×۴ آنالیز شدند.

نتایج و بحث

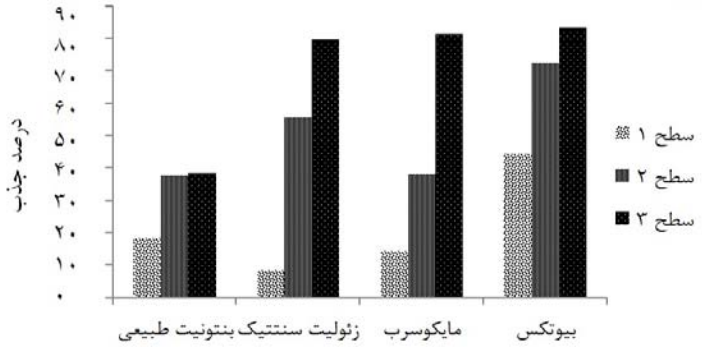
نتایج پژوهش حاضر نشان داد مزیت انتخاب این سویه‌ی خاص قارچی، تولید میزان بالای آفلاتوکسین نوع B_1 در مقایسه با سایر انواع آفلاتوکسین‌ها می‌باشد (جدول۱) که با نتایج سایر تحقیقات همخوانی داشت (Shotwell et al., 1966; Edrington et al., 1996).

جدول ۱- غلظت انواع آفلاتوکسین در برنج آلوده شده توسط *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*

آزمون آفلاتوکسین، مطابق با استاندارد ۶۸۷۲	مقدار (µg/g)
B_1	۱۳/۵
B_2	۰/۵
G_1	------
G_2	------
Total	۱۴

در مطالعات دامی بیشترین توجه بر روی غلظت آفلاتوکسین B_1، به دلیل تبدیل شدن آن به متابولیتی به نام آفلاتوکسین M_1 بوسیله‌ی اعمال آنزیم‌های میکروزومال کبدی و دفع از طریق شیر، می‌باشد. نتایج آزمون HPLC حاصل از آنالیز برنج آلوده شده در جدول ۱ آمده است. نتایج حاصله نشان داد که در مقادیر بالاتر استفاده از جاذب‌ها درصد جذب سم در محلول توسط جاذب بیشتر شده و بازده‌ی جذب سم با کاهش مقادیر جاذب‌ها کاهش یافت (شکل۱) که این نتیجه مطابق با نتایج آزمایش انجام شده توسط Moschini et al. (2008) بود، که نسبت‌های ۱:۵۰۰۰، ۱:۵۰۰۰۰ و ۱:۵۰۰۰۰۰ سم به جاذب را تست کرده و بیشترین میزان جذب سم (۰/۹۸) را در نسبت ۱:۵۰۰۰۰۰ مشاهده کردند. در جدول ۳، درصد جذب سم توسط جاذب‌ها در سطوح مختلف آمده است. نتایج حاضر همچنین نشان دادند که ظرفیت جذب زئولیت در مقایسه با بنتونیت بالاتر بود (جدول ۲). قدرت جذب بیشتر زئولیت فرآوری شده نسبت به بنتونیت به دلیل اعمال انجام شده روی این نوع جاذب(حرارت دهی و الک کردن طی پروسه‌ی فرآیند محصول) قابل توجیه می‌باشد. با این حال این تفاوت احتمالاً می‌تواند با بهبود فرآیند و خالص سازی بنتونیت به منظور بهبود ناحیه‌ی سطحی جبران شود. ارزیابی توانایی کلینوپتیلولیت (زئولیت طبیعی) برای جذب AFB_1، توسط Lemke et al. (2001) نشان داد که این نوع جاذب توانایی جذب تنها ۴۰٪ از AFB_1 را دارا می‌باشد که با نتیجه‌ی به‌دست آمده توسط Spotti et al. (2005) که این مقدار را حدود ۸۰٪ گزارش کردند متفاوت بود. این تفاوت غالباً به علت تفاوت در نوع کلینوپتیلولیت استفاده شده می‌باشد. تفاوت بین ظرفیت جذب سم توسط جاذب‌ها در مطالعات مختلف را می‌توان به دلیل تفاوت در فرآیند و خالص سازی این مواد قبل از عرضه دانست. از طرف

دیگر ماده‌ی جاذب تهیه شده از هر معدن ممکن است ترکیب شیمیایی متفاوتی داشته باشد، حتی مواد استخراج شده از یک معدن نیز ممکن است بر اساس مکان تهیه ویژگی‌های متفاوتی داشته باشند (Thieu & Pettersson, 2008).



شکل ۱- میانگین درصد جذب آفلاتوکسین B_1 (۰/۲۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) توسط انواع جاذب‌ها در سطوح مختلف (سطح ۱: ۰/۰۲۵٪، سطح ۲: ۰/۱۲۵٪، سطح ۳: ۰/۳۵٪ وزنی به حجمی) در بافر مکدوگال در pH= ۶/۸.

جدول ۲- میانگین درصد جذب آفلاتوکسین B_1 توسط جاذب‌های مختلف (میانگین مربوط به ۳ نسبت سم به جاذب می باشد).

نوع جاذب	بنتونیت طبیعی	زئولیت فرآوری شده	مایکوزورب	بیوتکس	SEM	P-Value
میانگین درصد جذب	۳۱/۵۳[c]	۴۷/۸۹[b]	۴۴/۷۱[b]	۶۶/۷۴[a]	۲/۶۴۲	<۰/۰۰۱

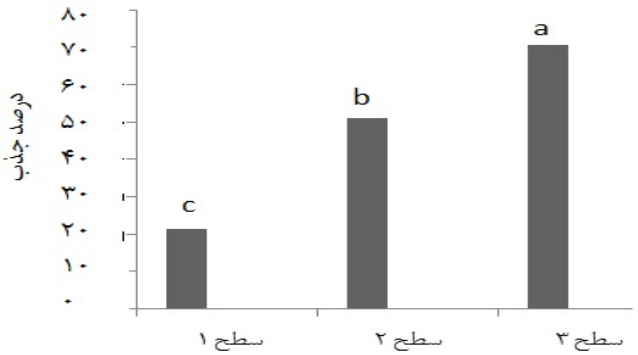
میانگین ها در یک ردیف با حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار دارند ($p<0.05$)

در این مطالعه بیوتکس درصد جذب بالاتری در مقایسه با مایکوزورب نشان داد اگرچه تفاوت‌ها نزدیک بودند (جدول ۳). نتایج تحقیق حاضر با نتایج آزمایشات قبلی که گزارش کردند بازده‌ی جذب سم توسط مایکوزورب در غلظت‌های پایین مایکوتوکسین‌ها و نیز ظرفیت جذب سم توسط آن در غلظت‌های بالای مایکوتوکسینی در مقایسه با جاذب‌های رسی بیشتر است، همخوانی دارد (Dawson et al., 2001).

طبق گزارش Dawson et al. (2001) بازده‌ی نسبی جذب آفلاتوکسین‌ها توسط مایکوزورب در شرایط آزمایشگاهی ۸۵/۲۳٪ بود. با این حال بازده‌ی جذب AFB_1 گزارش شده توسط Moschini et al. (2008) در مورد مایکوزورب حتی از مقدار به‌دست آمده برای جاذب‌های رسی (اتوکس و نواسیل پلاس) در آزمایش مذکور کمتر بود، که این موضوع می‌تواند به دلیل استفاده از غلظت پایین AF بوده باشد. Devegowda et al. (1994) گزارش کردند که بیش از ۹۰ درصد جذب آفلاتوکسین‌ها توسط سلول‌های مخمر در شرایط آزمایشگاهی وابسته به سطح استفاده می‌باشد. نتایج آزمایش حاضر ظرفیت جذب بالایی برای مایکوزورب و بیوتکس در نسبت سم به جاذب ۱:۱۵۰۰۰ نشان داد که بیش از ۸۰ درصد از AFB_1 توسط این جاذب‌ها از محلول جدا شد (جدول ۳). با کاهش مقادیر جاذب‌های استفاده شده بازده جذب نیز کاهش یافت به طوری که درصد جذب سم در سطوح سه، دو و یک به ترتیب برابر ۷۰/۶۸، ۵۱/۰۵ و ۲۱/۴۲ درصد بود که این مقادیر نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوتی معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) بین سطوح مورد آزمون بود (شکل ۲)، درضمن این کاهش مقادیر جذب به دست آمده برای زئولیت در مقایسه با بنتونیت بیشتر بود (جدول ۳).

در مقایسه‌ی بیوتکس و مایکوزورب، در سطوح مشابه بین دو جاذب در دوز بالاتر تفاوت اندکی مشاهده

شد در حالی که بازده‌ی جذب بیوتکس در مقایسه با مایکوزورب در سطوح متوسط و پایین، بیشتر بود. بنتونیت طبیعی ظرفیت جذب AFB_1 پایین‌تری در مقایسه با بقیه نشان داد (جدول ۲). ماکزیمم ظرفیت جذب آن (۳۸٪) در دوز بالاتر(۱:۱۵۰۰۰) مشاهده شد. (جدول۳).



شکل ۲- میانگین حداقل مربعات درصد جذب سم آفلاتوکسین B_1 توسط جاذب‌ها در سطوح مختلف
(سطح۱: نسبت ۱:۱۰۰۰ سم به جاذب، سطح ۲- نسبت ۱:۵۰۰۰ سم به جاذب و سطح ۳- نسبت ۱:۱۵۰۰۰ سم به جاذب)

جدول ۳- میانگین درصد جذب آفلاتوکسین B_1 در ۳ نسبت سم به جاذب

نسبت AF:SA	نوع جاذب				SEM	P-Value)اثرات اصلی (		P-Value)اثرمتقابل (
	بیوتکس	مایکوزورب	زئولیت فرآوری شده	بنتونیت		نسبت	جاذب	سطح×جاذب
۱:۱۰۰۰	۴۴/۴ a	۱۴/۵ bc	۸/۴ c	۱۸/۳ b				
۱:۵۰۰۰	۷۲/۵ a	۳۸/۳ c	۵۵/۶ b	۳۷/۸ c	۴/۵۷	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
۱:۱۵۰۰۰	۸۳/۳ a	۸۱/۳ a	۷۹/۶ a	۳۸/۵ b				

میانگین ها در یک ردیف با حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار دارند ($p<0.05$)

تفاوت در درصد جذب آفلاتوکسین B1 بین جاذب های تست شده به واسطه ی ترکیبات و مکانیسم عمل اجزاء فعال آن ها می باشد. بنتونیت و زئولیت فرآوری شده از منابع HSCAS (هیدرات سدیم کلسیم آلومینیوم سیلیکات) هستند در حالی که مایکوزورب حاوی یک بافت سلولی مخمر تغییر یافته بوده و بیوتکس ترکیبی از جاذب های آلی و معدنی می باشد که شامل کلسیم سیلیکات، سدیم آلومینیم سیلیکات، اسید سیلیسیلیک پوشش دار و دیواره سلولی مخمر خشک شده می باشد. برای اولین بار فیلیپس و همکاران (۱۹۹۰) باند شدن آفلاتوکسین توسط HSCAS را بواسطه ی سیستم ß- کربونیل آفلاتوکسین و یون های موجود در ساختار HSCAS بیان کردند. در مقابل برای محصول مخمری تغییر یافته مکانیسم واضحی توصیف نشده. یانیکوریس و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند دو سطح تعامل بین بخش گلوکانی دیواره سلولی مخمر و مولکول مایکوتوکسین وجود دارد. با این حال آن ها جذب آفلاتوکسین را از این طریق ارزیابی نکردند اما در عوض جذب زرالنون توسط دیواره سلولی مخمر را تحت شرایط آزمایشگاهی ارزیابی کردند. بازده ی جذب آفلاتوکسین توسط جاذب ها در شرایط آزمایشگاهی با نسبت سم به جاذب در ارتباط بود. در این پژوهش بیشترین میزان جذب سم توسط جاذب ها در نسبت سم به جاذب ۱:۱۵۰۰۰ حاصل شد که در این سطح استفاده از جاذب ها، بالاترین درصد جذب مربوط به بیوتکس با ۸۳ درصد و پس از آن مایکوزورب، زئولیت فرآوری شده و بنتونیت به ترتیب ۸۱، ۸۰ و ۳۸ درصد جذب را نشان دادند. در این بخش همانطور که طبق مطالعات انتظار می‌رفت درصد جذب سم توسط مایکوزورب در غلظت پایین سم، نسبت به جاذب های معدنی بیشتر بود. با توجه به نتایج به دست آمده در مورد درصد جذب سم و از طرفی مقایسه ی قیمت انواع جاذب ها در بازار مشخص شده که با وجود قیمت بسیار پایین تر زئولیت در مقایسه با بیوتکس و مایکـــوزورب

درصـــد جذب آفلاتوکسین توسط این جاذب ها در سطح بالای استفاده، بسیـــار نزدیک بـوده، پس می توان چنین نتیجه گرفت که تحت شرایط آزمایشگاهی اجرا شده در این پژوهش استفاده از زئولیت فرآوری شده از نظر اقتصادی نیز بهتر باشد.

نتیجه‌گیری کلی

تفاوت معنی‌داری بین سه نسبت مورد آزمون و نیز بین درصد جذب بیوتکس و سایر جاذب‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). براساس نتایج این آزمایش بیوتکس توانایی جذب AFB_1 بهتری را تحت شرایط آزمـایشگاهـــی ذکر شده از خود نشان داد، در نتیجه این جـــاذب می‌توانـــد کاندیدایی برای ادامه‌ی ارزیابی‌ها در مطالعات مزرعه‌ای باشد. در آزمایشات مزرعه‌ای بسیاری از فاکتورها و شرایط مطالعه می‌توانند بر روی نتایج اثرگذار باشند، لذا نیاز خواهد بود که جاذب‌ها را در نسبت‌های مختلف با سموم مختلف و در گونه‌های متفاوت دامی با سن و جنس مختلف و نیز تحت شرایط محیطی متنوع ارزیابی کرد.

سپاسگزاری

از پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران بدلیل حمایت از اجرای این پژوهش قدردانی می شود.

REFERENCES

1. Aghashahi, A., Nikkhah, A., Mirhadi, S.A., Zahedifar, M. & Mansouri, H. (2005). Effects of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite at different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (In-vitro). *Pajouhesh and Sazandegi* No: 70 pp: 80-90. (In Farsi)
2. Allcroft, R. & Carnaghan, R. B. A. (1963). Toxic product in groundnuts. Biological effects. *Chem. Ind. (London)*, p. 50-53.
3. Bonna, R. J., Aulerich, R. J., Bursian, S.J., Poppenga, R. H., Braselton, W. E. & Watson, G. L. (1991). Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate and activated charcoal in reducing the toxicity of dietary aflatoxin to milk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21, 441-447.
4. Ciegler, A., Lillehoj, E. B., Peterson, R. E. & Hall, H. H. (1966). Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol*. 14, 934– 939.
5. Conway, H. F., Anderson, R. A. & Bagley, E. B. (1978). Detoxification of aflatoxin contaminated corn by roasting. *Cereal Chem*. 55, 115– 117.
6. Dawson, K.A., Evans, J. & Kudupoje, M. (2001). Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin binding. In: Lyons, T.P., Jacques, K.A. (Eds.), Science and Technology in the Feed Industry. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 169–181.
7. Devegowda, G., Aravind, B.I.R., Rajendra, K., Morton, M.G., Baburathna, A. & Sudarshan, C. (1994). A biological approach to counteract aflatoxicosis in broiler chickens and ducklings by use of Saccharomyces cerevisiae culture added to feed. In: Lyons, T.P., Jacques, K.A. (Eds.), Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham University Press, Loughborough, Leics, UK, pp. 235–245.
8. Diaz, D., Hagler, W., Hopkins, B. & Whitlow, L. (2003) Aflatoxin Binders I: In vitro binding assay for aflatoxin B1 by several potential sequestering agents. *Mycopathologia*, 156, 223-226.
9. Edrington, T. S., Sarr, A. B. Kubena, L. F. Harvey, R.B. & Phillips, T. D. (1996). Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS), acidic HSCAS, and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M, in turkey poults. Lack of effect by activated charcoal on aflatoxicosis. *Toxicology Letters*, 89, 115-122.
10. Grant, PG. & Phillips, TD. (1998) Isothermal adsorption of Aflatoxin B1 on HSCAS Clay. *J Agric Food Chem*, 46: 599-605.
11. Hamilton, P. B. (1985). Factors influencing activity of fungi and anti- fungal agents in poultry feed. J. Lacey, ed. John Wiley and Sons Ltd., New York, NY. Pages 207–218 in Tricothecenes and Other Mycotoxins.
12. Harvey, R. B., Kubena, L. F., Phillips, T. D., Corrier, D. E. & Huff, W. E. (1989b). Prevention of clinical sign of aflatoxicosis with hydrated sodium calcium aluminosilicate added to diets. Proceeding of the 20th Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners, Des Moines, Iowa, 99-102.
13. Huff, W. E. (1980). A physical method for the segregation of aflatoxin contaminated corn. *Cereal Chem.* 57, 236–238.
14. Jaynes, W. F., Zartman, R. E. & Hudnall, W. H. (2007). Aflatoxin B_1 adsorption by clays from water and corn meal. *Applied Clay Science* 36, 197–205.

15. Kutz, R. E., Sampson, J. D., Pompeu, L. B., Ledoux, D. R., Spain, J. N., Vázquez-Añón, M. & Rottinghaus, G. E. (2009). Efficacy of Solis, NovasilPlus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M_1 levels in milk of early to mid-lactation dairy cows fed aflatoxin B_1. *J. Dairy Sci*. 92, 3959–3963.
16. Lemke, S. L., Ottinger, S. E., Mayura, K., Ake, C. L., Pimpukdee, K., Wang, N. & Phillips, T.D. (2001). Development of a multi-tiered approach to the in vitro prescreening of clay-based enterosorbent. *Animal Feed Science and Technologies*, 93, 17-29.
17. Moschini, M., Gallo, A., Piva, G. & Masoero, F. (2008). The effects of rumen fluid on the in vitro aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and in vivo release of the sequestered toxin. *Animal Feed Science and Technology* 147, 292–309.
18. Phillips, TD., Kubena, LF., Harvey, RB., Taylor, DR. & Heidelbaugh, ND. (1988). Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate: A high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Sci*; 67, 243–247.
19. Ramos, AJ. & Hernandez, E. (1996) In vitro aflatoxin adsorption by means of a montmorillonite silicate. A study of adsorption isotherms. *Anim Feed Sci Technol* 62, 263-269.
20. Rowghani, E., Arab, M., Zamiri, M. J. & Khalifeh, A. (2006). Effect of zeolite on feedlot performance and carcass characteristics of calves fed with urea-treated corn silage. *Pajouhesh and Sazandegi*: No 76 pp: 43-50. (In Farsi)
21. Sarr, AB., Clement, BA. & Phillips, TD. (1991). Molecular mechanism of aflatoxin B1 chemisorption by hydrated sodium calcium aluminosilicate (abstract). *Toxicologist* 1991; 7, 97.
22. Schell, T. C., Lindermann, M. D., Kornegay, E. T., Blodgett, D. J. & Doerr, J. A. (1993). Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of aflatoxin-contaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 71, 1226-1231.
23. Shi, YH., Xu, ZR., Feng, JL. & Wang, CZ. (2006). Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Anim Feed Sci Technol* 129: 138-148.
24. Shotwell, Odetite L., Hesseltine, C. W., Stubblefield, R. D. & Sorenson, W. G. (1966). Production of Aflatoxin on Rice. *Applied microbiology*. Vol. 14, No. 3.
25. Spotti, M., Fracchiolla, M. L., Arioli, F., Caloni, F. & Pompa, G. (2005). Aflatoxin B1 Binding to Sorbents in Bovine Ruminal Fluid. *Veterinary Research Communications*, 29, 507-515.
26. Stoloff, L. & Scott, P. M. (1984). In official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 14th ed. S. Williams, ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA. Natural poisons. Pages 477–500.
27. Thieu, N. Q. & Pettersson, H. (2008). In vitro evaluation of the capacity of zeolite and bentonite to adsorb aflatoxin B1 in simulated gastrointestinal fluids. *Mycotoxin Research* Vol. 24, No. 3, 124-129.
28. Tomasevic-Canovic, M., Dakovic, A., Rottinghaus, G., Matijasevic, S. & Duricic, M. (2003). Surfactant modified zeolites-new efficient adsorbents for mycotoxins. *Micropor Mesopor Mater* 61, 173-180.
29. Vekiru, E., Fruhauf, S., Sahin, M., Ottner, F., Schatzmayr, G. & Krska, R. (2007) Investigation of various adsorpbents for their ability to bind aflatoxin B1. *Mycotoxin Research* 23, 27-33.