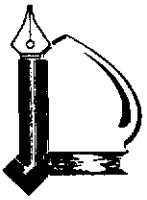
Www.Negashteh.Com



انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، شمارهٔ ۲۲۷

توکسینهای قارچی

تألیف

علی مـــرتضوی

فریده طباطبائی

۱۳۷۶

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مرتضوی ، علی ، ۱۳۱۶ ـ

توکسینهای قارچی/تالیف علی مرتضوی، فریده طباطبائی. ـ مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد ، ۱۳۷۶ .

ج، ۲۰۶ص. : مصور، جدول، نمودار. ـ (انتشارات دانشگاه فردوسی؛ ۲۲۷)

بهاء : ۷۰۰۰ ریال

ISBN : 964 - 6335 - 18 - 7

فهرستنویسی براساس اطلاعات فیپا (فهرستنویسی پیش‌از انتشار)

Mycotoxins by Mortazavi. Ali. ص. ع. به‌انگلیسی :

Tabatabai. Faredeh .

کتابنامه درپایان هرفصل .

۱. مسمومیت قارچی. ۲. قارچهای بیماریزا. ۳. موادغذایی ـ فساد.

الف. طباطبائی، فریده . ب. دانشگاه فردوسی‌مشهد. ج. عنوان .

RA ۱۲۴۲ / ۲ ق ۶۱۵/۹۵۴

شناسنامه کتاب :

نام : توکسینهای قارچی

تألیف : علی مرتضوی ـ فریده طباطبایی

ناشر : انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ انتشار : زمستان ۱۳۷۶

تعداد : ۲۰۰۰ نسخه ـ چاپ اول

امور فنی وچاپ : مؤسسه چاپ وانتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

قیمت : ۷۰۰۰ ریال

شابك : ۷ـ۱۸ـ۶۳۳۵ـ۹۶۴ ISBN : 964 - 6335 - 18 - 7

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فهرست مطالب

پیشگفتار ۱

فصل اول ـ مایکوتوکسین‌ها

۱- تاریخچه ۵

۲- طبقه‌بندی ۷

۲-۱- مایکوزیس ۷

۲-۲- آلرژی ۸

۲-۳- مایکوتوکسیکوز ۹

منابع ۱۶

فصل دوم ـ ساختمان شیمیایی مایکوتوکسینها

۱- مایکوتوکسینهای پپتیدی ۱۷

۱-۱- مایکوتوکسینهای پپتیدی با هسته دی‌کتوپیپرازین ۱۷

۱-۲- مایکوتوکسینهای پپتیدی با حلقه سیکلوپنین ۱۹

۲- مایکوتوکسینهای کینونی ۲۱

۲-۱- مایکوتوکسینهای بنزوکینونی ۲۱

۲-۲- مایکوتوکسینهای آنتراکینونی ۲۲

۳- مایکوتوکسینهایی که هسته پیرون «pyrone» دارند و پیش‌سازهای آنها ۲۳

۳-۱- gentisaldehyde و متابولیت‌های آن ۲۳

۳-۲- اسید کوجیک و متابولیتهای آن ۲۴

۳-۳- گزانتونها ۲۵

۳-۴- ترکیبات کومارین‌دار ۲۶

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳-۵- ترکیبات ترپنی و سسکوئی‌ترپنی ۲۶
۴- مایکوتوکسینهای نونادریدی ۲۸
منابع ۳۰

فصل سوم ـ عوامل مؤثردر رشد قارچها و تولید مایکوتوکسین در مواد غذایی

عوامل مؤثر در رشد قارچها و تولید مایکوتوکسین در مواد غذایی ۳۱
۱- ترکیبات مواد غذایی ۳۲
۲- درجه حرارت ۳۳
۳- رطوبت ۳۵
۴- فشار اسمزی ۳۹
۵- pH ۳۹
۶- ترکیب گازی اتمسفر ۴۰
۶-۱- غلظت اکسیژن ۴۰
۶-۲- غلظت دی‌اکسیدکربن ۴۱
منابع ۴۲

فصل چهارم ـ آفلاتوکسین

۱- تاریخچه ۴۳
۲- انواع آفلاتوکسین ۴۶
۲-۱- آفلاتوکسین B_1 ۴۶
۲-۲- آفلاتوکسین G_1 ۴۷
۲-۳- آفلاتوکسین P_1 ۴۷
۲-۴- آفلاتوکسین B_2 و G_2 ۴۷
۲-۵- آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 و GM_1 ۴۸
۲-۶- آفلاتوکسینهای B_2a و G_2a ۵۱
۲-۷- آفلاتوکسین B_3 ۵۲
۲-۸- آفلاتوکسین Ro یا آفلاتوکسین L یا آفلاتوکسیکول ۵۳
۲-۹- آفلاتوکسین LH_1 ۵۳

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲-۱۰- آفلاتوکسین LM_1 ..... ۵۳
۲-۱۱- آفلاتوکسین Q_1 ..... ۵۴
۲-۱۲- آفلاتوکسین RB_1 و RB_2 ..... ۵۴
۲-۱۳- آفلاتوکسین B_1 - 2 , 3 - oxide ۵۵
۲-۱۴- آفلاتوکسین o-alkyl ۵۵
۳- روشهای حذف و غیرفعال کردن آفلاتوکسینها ۵۶
۳-۱- روش فیزیکی ۵۶
۳-۱-۱- درجه حرارت ۵۶
۳-۱-۲- استفاده از صافیها ۶۱
۳-۱-۳- جداسازی مکانیکی ۶۱
۳-۲- روش اشعه‌دهی ۶۲
۳-۳- روش عمل‌آوری یا فرآیند کردن ۶۵
۳-۴- روش شیمیایی ۶۵
۳-۴-۱- عوامل کلرینه کننده ۶۵
۳-۴-۲- عوامل اکسید کننده ۶۶
۳-۴-۳- عوامل هیدرولیتیک ۶۷
۳-۴-۴- سایر مواد شیمیایی ۷۲
۳-۴-۵- تصفیه یا استخراج آفلاتوکسین به کمک حلالها ۷۲
۳-۴-۶- ویتامینها ۷۲
الف - ویتامین A ۷۲
ب - ویتامین D ۷۴
پ - ویتامینهای گروه B ۷۴
ت - ویتامین E ۷۴
ث - ویتامین C ۷۵
۳-۴-۷- ترکیبات فنلی ۷۵
۳-۵- روشهای بیولوژیکی و میکروبی ۷۸
۴- آفلاتوکسیکوز ۸۰

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴-۱- آفلاتوکسیکوز در انسان ۸۰
۴-۲- آفلاتوکسیکوز در حیوانات ۸۲
۵- سمیت آفلاتوکسینها ۸۴
۶- معالجه آفلاتوکسیکوز ۸۸
۷- خواص بیولوژیکی آفلاتوکسینها ۸۹
۷-۱- سرطانزایی آفلاتوکسین ۸۹
۷-۲- اثرات ایجاد ناهنجاری جنینی ۹۲
۷-۳- اثرات جهش‌زایی ۹۲
۷-۴- اثرات بیوشیمیایی ۹۴
۷-۵- اثر متقابل با DNA ۹۵
۷-۶- جلوگیری از سنتز DNA ۹۵
۷-۷- کاهش سنتز RNA ۹۶
۷-۸- تغییرات مورفولوژی هستک ۹۶
۷-۹- کاهش در بیوسنتز پروتئین ۹۷
۷-۱۰- ممانعت از سنتز چربیها ۹۸
۷-۱۱- ذخیره آفلاتوکسین در بافتها ۹۹
۸- روشهای تشخیص، تخلیص، و شناسایی آفلاتوکسینها ۹۹
۸-۱- جداسازی و تشخیص آفلاتوکسینها به روش T.L.C ۱۰۰
۸-۲- تشخیص و شناسایی آفلاتوکسین به‌روش گازکروماتوگرافی - اسپکترومتری جرم ۱۰۱
۸-۳- تشخیص و شناسایی آفلاتوکسینها با روش کروماتوگرافی مایع باکارکرد بالا ۱۰۱
۹- اوکراتوکسین ۱۰۲
۹-۱- استخراج و شناسایی اوکراتوکسین ۱۰۵
۹-۱-۱- شناسایی اوکراتوکسینها به روش Bioassay ۱۰۵
۱۰- استریگماتوسیستین ۱۰۶
۱۰-۱- استخراج و شناسایی استریگماتوسیستین ۱۰۸

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۱- ترین یا اسید تریک ۱۰۸
۱۲- گزانتوسیلین ۱۰۹
۱۳- فوما گیلین ۱۰۹
۱۴- اسید هلولیک ۱۱۰
منابع ۱۱۲

فصل پنجم ـ پتولین

پتولین ۱۱۵
۱- تاریخچه ۱۱۵
۲- تولید پتولین ۱۱۵
۳- خصوصیات فیزیکوشیمیایی پتولین ۱۱۷
۳- خواص بیولوژیکی پتولین ۱۱۸
۴-۱- اثر پتولین بر روی سنتز پروتئینها ۱۲۲
۴-۲- اثر پتولین بر روی انتقال مواد در سلول ۱۲۲
۴-۳- اثر پتولین بر روی تنفس سلولی ۱۲۳
۴-۴- اثر پتولین بر روی فعالیت آنزیمها ۱۲۳
۵- متابولیسم و انتشار پتولین ۱۲۴
۶- مکانیسم ایجاد سمیت پتولین ۱۲۴
۷- پتولین و سیستم ایمنی ۱۲۷
۸- پتولین و متابولیسم کربوهیدراتها ۱۲۷
۹- آلودگی مواد غذایی به سم پتولین ۱۲۸
۱۰- تأثیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی بر حذف یا غیرفعال کردن مایکوتوکسین پتولین ۱۳۳
۱۰-۱- حرارت ۱۳۳
۱۰-۲- pH ۱۳۵
۱۰-۳- فرآیند تخمیر ۱۳۷
۱۰-۴- افزودنیهای شیمیایی ۱۳۷

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۰-۴-۱- اسیدآسکوربیک: ۱۳۷
۱۰-۴-۲- سوربات، بنزوات و SO_2 ۱۳۷
۱۰-۴-۳- ترکیبات سولفیددار ۱۴۴
۱۰-۵- پتولین وشرایط اتمسفری محیط ۱۴۴
۱۰-۶- تشعشع ۱۴۷
۱۰-۷- زغال چوب ۱۴۷
۱۱- نفوذپذیری و انتقال پتولین ۱۴۷
۱۲- استخراج پتولین ۱۴۹
۱۳- اندازه گیری پتولین ۱۵۰
۱۳-۱- روش TLC: ۱۵۰
۱۳-۲- روش GC: ۱۵۰
۱۳-۲-۱- روش مشتق‌سازی ۱۵۱
۱۳-۳- روش HPLC ۱۵۱
۱۳-۴- تستهای بیولوژیکی (Bioassay) ۱۵۳
۱۴- سیترینین ۱۵۳
۱۵-اسید پنی‌سیلیک ۱۵۴
۱۶- اسید پابرولیک ۱۵۵
منابع ۱۵۶

فصل ششم ـ تریکوتسن‌ها

۱- تاریخچه ۱۵۹
۲- مشخصات فیزیکوشیمیایی تریکوتسنها ۱۶۰
۳- T-2 Toxin ۱۶۳
۳-۱- واکنشهای شیمیایی T-2 Toxin ۱۶۳
۳-۱-۱- هیدرولیز ۱۶۳
۳-۱-۲- هیدروژناسیون ۱۶۴
۳-۱-۳-اکسیداسیون ۱۶۴

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳-۱-۴- استیلاسیون ۱۶۵
۳-۱-۵- واکنشهای گروه اپوکسید ۱۶۵
۴- خواص بیولوژیکی تریکوتسنها ۱۶۶
۴-۱- سمیت تریکوتسنها ۱۶۸
۴-۲- اثر تریکوتسنها بر روی اندامهای خون‌ساز ۱۷۰
۴-۳- تریکوتسنها و دستگاه گوارش ۱۷۱
۴-۴- تأثیر تریکوتسنها بر روی آنزیمها ۱۷۱
۴-۵- تریکوتسنها و سمیت پوستی ۱۷۲
۴-۶- تریکوتسنها و خاصیت سرطانزایی آنها ۱۷۲
۴-۷- تریکوتسنها و خاصیت جهش‌زائی آنها ۱۷۳
۴-۸- تأثیر تریکوتسنها بر سایر اندامها ۱۷۳
۵- متابولیسم و توزیع تریکوتسنها ۱۷۳
۶- جداسازی، خالص‌سازی و تشخیص تریکوتسنها ۱۷۴
۶-۱- جداسازی ۱۷۴
۶-۲- خالص‌سازی ۱۷۵
۶-۲-۱- استخراج مایع - مایع ۱۷۵
۶-۲-۲- استخراج جامد - مایع ۱۷۵
۶-۳- مرحله تشخیص تریکوتسنها ۱۷۶
۶-۳-۱- روشهای تشخیص بیولوژیکی ۱۷۶
۶-۳-۲- روشهای تشخیص شیمیایی تریکوتسنها ۱۷۷

فصل هفتم ـ اسپوری دسمین

۱- اسپوری دسمین ۱۸۳
منابع ۱۸۷

فصل هشتم ـ توکسین کپک استاکی بوتریس آترا

۱- توکسین کپک استاکی بوتریس آترا ۱۸۹

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع ۱۹۲

فصل نهم ـ توکسین سایر کپکها

۱-کپک Absidia ۱۹۳
۲-کپک Rhizopus ۱۹۳
۳-کپک Byssochlamys ۱۹۴
۴-کپک Paecilomyces ۱۹۵
۵-کپک Chaetomium ۱۹۶
۶-کپک Geloeotinia temalenta ۱۹۷
۷-کپک Cladosporium ۱۹۷
۸-کپک Alternaria ۱۹۸
۹-کپک Epicoccum ۱۹۸
۱۰-کپک Cephalosporium ۱۹۹
۱۱-کپک Trichothecium ۱۹۹
۱۲-کپک Rhizocotonia ۲۰۲
منابع ۲۰۳

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مقدمه مؤلفین

با افزایش فرهنگ بهداشتی مردم جهان و بخصوص کشورهای صنعتی و پیشرفت علوم و تکنولوژی، میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی و از طرف دیگر تأسیس مراکز کنترل و بهداشت و استانداردهای موادغذائی، عفونتها و مسمومیتهای غذائی توسط باکتریها و توکسینهای آنها رو به کاهش گذاشته است. در حالیکه آلودگی‌های قارچی مواد خوراکی دامی و انسان و اثرات سوء ناشی از مصرف چنین مواد غذائی گسترش بیشتری یافته است. البته جدی نگرفتن آلودگی‌های قارچی مواد خوراکی بیشتر به دلائل اعتقادات سنتی و نگرش‌های غیرمنطقی علمی می‌باشد که به برخی از آنها در ذیل اشاره می‌شود.

الف - از زمانی که الکساندر فلمینگ از کپک پنی‌سیلیوم آنتی بیوتیک پنی‌سیلین را بدست آورد، مردم عادی این نظریه راتأیید شده یافتند که نانهای خشک کپک زده شفابخش هستند.

ب - عوارض مسمومیتهای مایکوتوکسیکوز در دراز مدت ظاهر می‌شود.

ج - با توجه به ناچیز بودن مقاومت حرارتی قارچها و اسپورهای آنها اکثر تکنولوژیستهای غذائی آلودگی قارچی ماده اولیه را با تصور به نابودی آنها در فرآیند حرارتی نادیده می‌گیرند. در حالیکه اکثر توکسینهای قارچی در شرایط معمولی فرآیندها حرارتی بطور کامل از بین نمی‌روند.

د - در کارخانجات غذائی و حتی در منازل باجداسازی توده کپک زده از غذا، باقیمانده را به مصرف می‌رسانند.

هـ - استفاده روزافزون از قارچها در صنایع غذائی و بیوتکنولوژی

استوارت در گزارشات علمی خود مایکوتوکسیکوز را یک خطر جدی برای بهداشت عمومی جامعه بشری می‌داند.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فرایزنیت و همکاران در بررسیهای خود در افریقا دریافتند که در بعضی از مناطق که غذای اصلی مردم راگردو تشکیل می‌دهد بیش از ۵۰ درصد جمعیت آنجا به سرطان کبد مبتلا بودند. ارگوتیسم احتمالاً از اولین بیماریهای مایکوتوکسیکوزی است که مورد مطالعه قرار گرفته است. این بیماری قارچی بوسیله کپک کلاویسپس پورپورا ایجاد می‌شود، قارچی که برروی چاودار و غلات دیگر رشد و نمو می‌کند. مسمومیت غذائی ارگوت در سالهای قرون وسطی باعث مرگ و میرهای زیادی گردیده است. در فرانسه در سال ۹۳۴ بعد از میلاد مسیح بیشتر از ۴۰ هزار نفر در اثر ارگوتیسم جان باختند. اما در آن زمان علت اصلی بیماری که یک توکسین قارچی است، شناخته نشده بود. عامل اصلی ایجاد این بیماری نان‌هایی است که از دانه‌های غلات آلوده به اسکلروتیوم کپک کلاویسپس پورپورا تهیه و بمصرف می‌رسد. در سال ۱۹۵۰ در کشورهای بالکان بیماری ناشناخته‌ای بین مردم شایع شد که نزدیک به ۲۰ هزار نفر تلفات داشت. تئوریهای مختلفی در رابطه با عامل بروز بیماری منتشر گردید، تا اینکه در سال ۱۹۷۵ پژوهشگران دریافتند که عامل شیوع بیماری ذرت‌های انبار شده و آلوده به نوعی کپک پنی‌سیلیوم بوده است. در اواخر دهه ۶۰ در کشور انگلستان بیماری نامشخصی با علائم خاصی مانند بی‌اشتهایی، انحنای استخوان گردن، ضعف و بیحالی همراه با نکروز کبد، ورم کلیه و دژنره شدن سلولهای کبدی در نزد حیوانات بخصوص بوقلمون شیوع پیدا کرد که در بوقلمون بیماری بنام turkey X لقب گرفت. در سال ۱۹۶۰ در انگلستان رابطه‌ای بین مرگ بیش از صد هزار بوقلمون و غذاهای کپک زده مورد تأیید قرار گرفت. بدیهی است که نتایج این مطالعات سبب شد که توجه کلیه مؤسسات و مراکز تحقیقاتی جهان به مایکوتوکسینها معطوف گشته و درباره آنها در زمینه‌های مختلف به تحقیق بپردازند.

مایکوتوکسیکوز مواد خوراکی یک مشکل بزرگ بهداشتی است که احتیاج به زمان و تحقیقات پی‌گیر و مستمر دارد. برای شناسائی آنها می‌بایستی که از روشهای سریع و مطمئن شیمیائی، ایمنولوژیکی و حتی بیولوژیکی استفاده نمود و اثرات پاتولوژیکی و کلینکی آنها را مشخص کرد.

نظر به اهمیت بالای مایکوتوکسینها در بهداشت عمومی همه ساله تحقیقات وسیع و دامنه‌داری در مراکز پژوهشی جهان صورت می‌گیرد که ماحصل آن برگزاری سمینارها، گردهمائی‌های علمی، انتشار مقالات و کتب متعدد می‌باشد. در کشور ما آنطور که شاید و باید

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مسئله مایکوتوکسینها مورد بررسی و پژوهش قرار نگرفته و منابع علمی زیادی در اختیار نمی‌باشد. لذا باتفاق همکار محترم و خوبم تصمیم به تألیف کتاب مایکوتوکسینها راگرفتیم. در تدوین این کتاب سعی شده با بهره گیری از تجارب پژوهشی صاحبنظران و محققین دیگر و نتایج ۲۰ سال کار پژوهشی شخصی در قالب بیش از ۱۵ پایان‌نامه دکتری داروسازی و کارشناسی ارشد و مطالعه صدها مقاله و کتاب استفاده شود. در پایان باید اضافه نمود که مطالب این کتاب به یک رشته تحصیلی خاص مربوط نمی‌شود، بلکه دانشجویان رشته علوم و صنایع غذائی، تغذیه و بهداشت، زیست‌شناسی، میکروبیولوژی، پزشکی و داروسازی، مدیران و کارشناسان علم غذا وکلیه علاقه‌مندان به بهداشت عمومی و فردی می‌توانند از این اثر استفاده نمایند.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل اول

مایکوتوکسینها

۱- تاریخچه

واژه مایکوتوکسین[1]، ازلغت یونانی myke به معنی قارچ و لغت toxicum به‌معنای سم گرفته شده است (۸ و ۲).

مایکوتوکسینها، گروهی از ترکیبات سمی طبیعی هستند که توسط گونه‌های متعددی از قارچها تولید می‌گردند. علم مایکوتوکسیکولوژی با کشف آفلاتوکسینها در سال ۱۹۶۰ در انگلستان توسعه شگرفی پیدا کرد و در آن زمان توجه و تحقیق روی مایکوتوکسینها و بخصوص آفلاتوکسینها بطور عموم گسترش یافت. لیکن قبل از آن و حتی از قرون وسطی مشکلات و پدیده‌های مربوط به حضور این ترکیبات سمی گریبانگیر بشر بوده است.

گرچه مایکوتوکسینها بطور تقریباً روشن و واضحی تعریف شده‌اند، لیکن از نظر تنوع و ساختمان شیمیایی گروه پیچیده‌ای هستند و بوسیله طیف وسیعی از قارچها تولید می‌گردند.

در بحث کلی راجع به مایکوتوکسینها، نگاهی گذرا به جنبه اقتصادی قضیه، امری ضروری به نظر می‌رسد. گرچه هدف ما از ارائه گزارش درباره مایکوتوکسینها صرفاً این قسمت از بحث نیست، لیکن به جهت مروری اجمالی به تمام زوایای امر، این قسمت از موضوع نیز قابل توجه است.

سالیانه مقادیر قابل توجهی از محصولات کشاورزی به ارزش میلیاردها دلار، دستخوش حمله قارچها قرار گرفته و نابود می‌شود. محصولات حاوی توکسین، کیفیت مرغوبی نداشته و به‌قیمت ارزانتری ارائه می‌گردند واز آنها به عنوان کود یا سوخت باید استفاده نمود. حیوانات

1. Mycotoxin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

در صورت مسمومیت بوسیله مایکوتوکسینها، یا از بین خواهند رفت و یا از نظر اقتصادی، دیگر بازده خوبی نخواهند داشت. برای کاهش آلودگی مواد خوراکی به مایکوتوکسینها، تولیدکنندگان مجبور به صرف هزینه‌های اضافی جهت بازرسی، بازدید، خرید تجهیزات آزمایشگاهی و ماشین‌آلات و تجهیز انبارهای خود، استفاده از سموم قارچ‌کش و احتمالاً توکسین‌زدایی می‌باشند.

قدیمی‌ترین مسمومیت قارچی شناخته شده ارگوتیسم[۱] است که سابقه وجود این بیماری به ۶۰۰ سال قبل از میلاد مسیح می‌رسد. اپیدمیهای مربوط به ارگوتیسم، غالباً به‌دنبال یک قحطی بوده است (۴ و ۲).

مردمی که غلّه آلوده به ارگوت ناشی از نژادهای سمی کپک‌های Claviceps paspali و Claviceps purpurea را مصرف کرده بودند، مبتلا به این بیماری شدند.

این سم موجب انقباض سرخرگها و سیاهرگها شده و حالت سوزش و داغ شدن به‌انسان دست می‌دهد. استفاده از واژه آتش گرفتن برای توصیف این بیماری نیز به‌همین خاطر بوده است. آلکالوئیدهای ارگوت امروزه به عنوان اکسی‌توکسیکهای[۲] قدرتمند به‌شمار می‌روند(۴ و ۲).

پیدایش دانش مایکوتوکسیکولوژی، به سال ۱۹۶۰ همزمان با ارائه گزارشی مبنی برشیوع یک بیماری مرموز بین بوقلمونهای جنوب‌شرقی انگلستان مربوط می‌شود. این بیماری ناشناخته را بوقلمون x نامیده، که منجر به مرگ حدود صدهزار بوقلمون جوان و دهها هزار جوجه اردک و قرقاول گردید. همزمان گزارشات متعددی از مسمومیت مشابه در اوگاندا، امریکا وانگلستان، در انواع دیگر حیوانات مثل ماهی و جوجه اردک گزارش شد.

دربین مایکوتوکسینها، آفلاتوکسینها جزو مهمترین سموم‌قارچی‌بوده، که‌سرطانزایی آنها برای جوامع علمی به اثبات رسیده و در این رابطه گزارشهای فراوانی منتشر گردیده است.

به عنوان آخرین شاهد که در جهت ارتباط بین سموم قارچی و بیمارهای انسانی وجود دارد، Alimentary toxin Aleukia می‌باشد که به اختصار A.T.A ذکر می‌گردد. این مسمومیت را به‌نامهای septic Agina و یا Endemic panmyelo toxicusis می‌نامند. علائم و نشانه‌های این بیماری درایالات متحده امریکا چندین‌بار گزارش شده است (۴ و ۲ و ۱).

1. Ergotism. 2. Oxitocics

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲- طبقه‌بندی

از نقطه‌نظر علم پزشکی و دامپزشکی، بیماری‌هایی که بوسیله قارچها ایجاد می‌شوند، به‌سه دسته تقسیم می‌شوند (۶ و ۳).

۱- مایکوزیس یا عفونت‌های قارچی که عبارت است از حمله قارچ به بافت زنده و نفوذ مستقیم به درون آن، که تحت عنوان عفونت اولیه، یا پیشرفته‌تر از یک صدمه مقدماتی، تحت عنوان عفونت ثانویه معروف است.

۲- آلرژی‌ها یا حساسیتهای قارچی که عبارت است از واکنشهای ویژه‌ای که به‌صورت اختصاصی بعد از تنفس اسپور قارچها (آلرژی تنفسی) و یا هر تماسی با قارچها ایجاد می‌شود.

۳- توکسیکوز یا مسمومیت قارچی که عبارت است از مسمومیتهایی که از خوردن غذاهای آلوده به سموم قارچی ایجاد می‌شوند.

۲-۱- مایکوزیس[۱]

مایکوزیس یا عفونتهای قارچی، بیماری‌های واگیری می‌باشند که بوسیله قارچهای در حال رشد و تکثیر ایجاد می‌شوند، و ممکن است به صورت یک التهاب ساده در یک عضو خاص ظاهر شوند، مانند عفونت گوش[۲] و یا عفونت دریچه قلب[۳] که در هریک از موارد فوق‌الذکر قارچ مخصوصی عامل ایجاد عفونت و التهاب است. بعد از آزمایشات انجام شده مشخص گردیده است که قارچهای مشخصی عامل ایجاد عفونتها هستند و اکثر آنها اثر کشنده دارند (۱۲، ۶ و ۳). تعدادی از این قارچها عبارتند از:

Histoplasma capsulatum, coccidioides immitis
Aspergillus fumigatus , Cryptococcus neoformans
Rhizopus oryzae , Absidia corymbifera
Candida albicans, nocardia asteroides
Blastomyces brasiliensis, Blastomyces dermatitidis
Cladosporium trichoides , Sporothrix schenckii

1. Mycoses 2. Otitis. 3. Endocarditis

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲-۲- آلرژی[۱]

آلرژیهایی که بوسیله قارچها ایجاد می‌شوند به اشکال مختلفی ظهور می‌کنند؛ مانند التهاب و عفونت‌بینی[۲]، التهاب ملتحمه چشم[۳]، التهاب پوست[۴]، تنگی‌نفس[۵] و ... (۱۴، ۷ و ۳).

اسپور قارچهایی نظیر Cladosporium و Alternaria با باد پراکنده شده و به مقدار زیاد در هوا وجود دارند و قادرند بطور شدیدی تنگی نفس ایجاد کنند. مشخص گردیده که اختلالات تنفسی افرادی که با برش دادن چوب سروکار دارند، ناشی از تنفس اسپور قارچ Cryptostroma cortical می‌باشد.

همچنین اختلالات تنفسی کشاورزان ناشی از تنفس اسپور کپکها و حضور اکتینومیستهای[۶] موجود در علوفه‌های خشک می‌باشد. حتی در بعضی موارد وجود اسپورها در مجاری تنفسی و ششها تولید خلط و چرک نیز در این ناحیه می‌کنند. ثابت شده که در هر گرم علوفه خشک، زمانی که رطوبت آن حدود ۱۵٪ باشد، تعداد اسپورها به حدود ۵×۱۰^۵ عدد می‌رسد و این تعداد ایجاد آلرژی نمی‌کنند، اما در علوفه‌های خشکی که رطوبت موجود در آن ۲۵٪ باشد، تعداد اسپورها $۵-۱۰ \times ۱۰^۵$ عدد در هر گرم می‌رسد که بخصوص اگر حاوی اسپور گروه Aspergillus glaucus باشد، ایجاد آلرژی می‌کنند.

بررسیهای انجام شده نشان می‌دهد که علوفه‌های خشکی که رطوبت آنها بیش از ۳۵٪ می‌باشد، حتی بعد از طی فرآیند حرارتی بالاتر از ۶۵°C نیز، حاوی اکتینومایسزهای ترموفیلیکی[۷] می‌باشد. نظیر؛ micromonospora vulgaris و Thermopolyspora polyspora (۳). همچنین صدمات پوستی که در کارگران مزرعه، هنگام جمع‌آوری محصولاتی نظیر کرفس مشاهده می‌شود ناشی از آلرژی است، زیرا قارچ Sclerotinia rot که سبب فساد ریشه کرفس می‌شود، التهاب پوستی نیز ایجاد می‌کند (۱۲ و ۴).

---

1. Allergy
2. Rhinitis
3. Conjunctivitis
4. Dermatitis
5. Bronchialasthma
6. Actinomycetes
7. Thermoactinomyces vulgaris

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲-۳- مایکوتوکسیکوز[۱]

مایکوتوکسیکوز یا مسمومیت ناشی از توکسینهای قارچی برخلاف مایکوزیسها واگیر نمی‌باشد. برای ابتلا به مایکوتوکسیکوز و مایکوزیس لازم است که قارچ عامل تولید سم در محیط وجود داشته باشد و یا اینکه ماده خوراکی آلوده به سموم قارچی باشد. قارچها زمانی برای میزبانشان مضر هستند، که بتوانند ایجاد سم کنند و این سموم بتوانند در بافتهای میزبان نفوذ کنند. قارچهای مشخصی نظیر Aspergillus fumigatus و Aspergillus flavus و Aspergillus versicolor و Aspergillus sydowii و Aspergillus terreus مسئول ایجاد و بروز بیماریهای مختلف هستند و همچنین کپک penicillium rubrum توکسین‌زا است و علاوه‌براین‌سبب‌ایجاد آلرژی و تنگی نفس در افراد حساس می‌شود. در اغلب اوقات کپکها هم روی مواد غذایی رشد و تکثیر می‌کنند و هم توکسین حاصل از آنها در داخل موادغذایی نفوذ می‌کنند، که بعد از مصرف مواد غذایی آلوده به سم در مصرف کننده عوارض مختلفی ایجاد می‌شود. دربین قارچهای تولیدکننده سم، گونه‌های مقاوم به حرارت و مقاوم به اسید معده نیز وجود دارند که شرایط محیط معده و دستگاه گوارش را بخوبی تحمل کرده و ایجاد سم می‌کنند و مقادیر جزئی سم نیز ایجاد بیماریهای خطرناک را می‌کنند. این احتمال وجود دارد که کپکها حتی شرایط بی‌هوازی دستگاه گوارش را تحمل کرده و در این محیط رشد نمایند و در مواردی که غذا به مدت طولانی در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش (معده نشخوارکنندگان) می‌ماند احتمال تولید سم بوسیله قارچها در این نواحی افزایش می‌یابد (۷).

خیلی از قارچها نیز ضمن عبور از دستگاه گوارش از بین می‌روند، اما بسیاری از آنها مقاوم هستند. (مانند آسکوسپورها[۲] و کلامیدوسپورها[۳] که دیواره ضخیم دارند) و بعد از طی شرایط نامطلوب مجدداً رویش می‌کنند.

سمومی‌که به‌وسیله قارچها ایجادمی‌شوند جزوگروه سمومی هستند که منشاء بیولوژیکی دارند. وزن ملکولی آنها معمولاً بالا است‌ودارای‌خاصیت سمی و خاصیت آنتی‌ژنی هستند. آن گروه از سموم قارچی که‌در حیوانات ایجاد مسمومیت می‌کنندتحت‌عنوان زوتوکسیک[۴]

---

1. Mycotoxicoses
2. Ascospores
3. Chlamydospores
4. zootoxic

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

معروف هستند و سمومی که برای گیاهان ایجاد مسمومیت می‌کنند فیتوتوکسیک[۱] نامیده می‌شوند.

سموم قارچی ممکن است بصورت خارج سلولی «اگزوتوکسین»[۲] یا به صورت داخل سلولی یا «اندوتوکسین»[۳] تولید شوند و معمولاً در این شرایط بوسیله ماکرو قارچهای سمی و یا چندین میکرو قارچ که بصورت پارازیت بر روی گیاهان رشد می‌کنند، تولید می‌شوند.

مایکوتوکسیکوز برحسب گونه قارچ متفاوت است. ممکن است یک نوع سم توسط چندین گونه قارچ تولید شود و یا اینکه چندین نوع سم توسط یک نوع قارچ تولید گردد.

برای مثال Aspergillus fumigatus قادر به تولید سم Fumigatin، Spinulosion، Helovolic Acid، Fumugillin و Gliotoxin می‌باشد. همچنین مشخص شده که در بین گونه‌های مختلف یک جنس فقط گونه‌های مشخصی تولید سم می‌کنند و تولید سم در این گونه‌ها نیز مستلزم حضور سوبستراهای ویژه‌ایی است.

از آنجاکه مایکوتوکسینها توسط گروه بزرگی از قارچهای ساپروفیت تولید می‌شوند، بررسی خصوصیات این سموم همواره مورد توجه محققین رشته‌های مختلف بوده و در واقع این توجه که خود ناشی از اهمیت قضیه درابعاد مختلف می‌باشد، باعث ظهور و پدیده‌ایی جدید در سطح جهانی گردیده است.

برای حیوانات اهلی یا انسانهایی که رژیم غذایی آنها حاوی مقادیر زیادی از محصولات گیاهی است، مایکوتوکسینها ممکن است مستقیماً از طریق رشد کپکها بر روی مواد خوراکی گیاهی یا دامی تولید شوند. بیماری حاصل از خوردن چنین فرآورده‌ای را مایکوتوکسیکوز اولیه می‌گویند. مایکوتوکسینها ممکن است از طریق زنجیره غذایی به‌فرآورده‌های حیوانی نظیر شیر، گوشت یا اجزای داخلی حیوانات منتقل شده و در آنها تجمع یابد که در این حالت در واقع خود فرآورده آلوده به کپک عامل تولید سم نبوده بلکه سم بطور مستقیم از طریق مصرف غذای آلوده بصورت متابولیزه شده و یا غیر متابولیزه در بافتهای مختلف حیوانات و یا ترشحات آنها ذخیره می‌گردد، لذا چنین عارضه‌ای را مایکوتوکسیکوز ثانویه گویند (۱۲، ۱۰، ۷ و ۶).

---

1. phytotoxic 2. Exotoxins 3. Endotoxins

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۱-۱. کپکهای ایجادکننده مسمومیت و توکسینهای تولید شده بوسیله آنها

Absidic lichrneimii (LUcet and Cost.) Lendn = *A. corymblfera* (Cohen) Saco. apid Trott.
Absidia ramosa (Lindt) Lendn.
Alternaria humicola Oud. (*)
A. longipes (Ell and Ev.) Tisdate and Wadkins.
A. tenuis Neés (*)
Aspergillus alliaceus Thom and Church ... ochratoxins.
A. amstelodami (Mangin) Thom and Church ... anthraquinones?
A. avenaceus G. Smith (*) ... avenaciolide.
A. candidus Link ... candidulin, kojic acid.
A. carneus (v. Tiegh) Blochw. (*) ... flavipin?
A. chevalieri (Mangin) Thom and Church ... anthraquinones? gliotoxin, xanthocillin X.
A. clavato-flavus Raper and Fennell.
A. clavatus Desm ... patulin, ascladiol, cytochalasin E, tryptoquivaline.
A. flavipes (Bain. and Sart.) Thom and Church ... flavipin.
A. flavus Link ... aflatoxins.
A. foetidus (Naka) Thom and Raper (*)
A. fumigatus Fres ... gliotoxin, helvolic acid, fumagillin, fumitremorgin.
A. giganteus Wehm ... patulin.
A. janus Raper and Thom.
A. luchuensis Lnui ... oxalic acid?
A. melleus Yukawa ... ochratoxins.
A. nidulans (Eidam) Wint ... nidulin, nornidulin, kojic acid, asperthecin, nidulotoxin.
A. niger v. Tiegh ... oxalic acid, malformin C.
A. niveus Blochw ... citrinin.
A. ochraceus With ... ochratoxins.
A. oryzae (Ahlb.) Cohn. ... kojic acid, oryzacidin.
A. oryzae (Ahlb.) Cohn var. *effusus* (Tir.) Ohara ... kojic aeid.
A. oryzae (Ahlb.) Cohn var. *microsporus* Sakaguchi ... maltoryzine.
A. ostianus Wehmer ... aflatoxins, ochratoxins.
A. parasiticus Spear ... aflatoxins.
A. petrakii Vorös (*) ... ochratoxins.
A. phoenicis (Cda) Thom (*)
A. restrictus G. Smith (?)
A. ruber (Spieck and Brem.) Thom and Church ... aflatoxins, anthraquinones?
A. sclerotiorum Huber ... ochratoxins.
A. sulphureus (Fres.) Thom and Church ... ochratoxins.
A. sydowii (Bain. and Sart.) Thom and Church ... sterigmatocystin.
A. tamarii Kita ... kojic acid.
A. terreus Thom ... terrein, patulin, citrinin.
A. terricola Marchal .. kojic acid.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ادامهٔ جدول ۱-۱. کپکهای ایجادکننده مسمومیت و توکسینهای تولید شده بوسیله آنها

A. thomii Smith ... kojic acid.
A. umbrosus Bain. and Sart. (*)
A. ustus (Bain.) Thom and Church ... austocystins, austamide, austdiol.
A. versicolor (Vuil.) Tir. ... sterigmatocystin, aversin, cyclopiazonic acid.
A. viride nutans ... viriditoxin.
A. wentii Wehmer ... kojic acid, aflatoxin.
Byssochlamys fulva Olliver and Smith ... byssochlamic acid.
B. nivea Westl. byssochlamic acid, patulin.
Cephalosporium acremonium Cda. ... cephalosporin P_1
Chaetomium cochliodes Palliser (*)
C. globosum Kunze ... oosporein, chaetomin, chaetocin.
Cladosporinum exoasci Link (*)
C. fagi Oud. (*) ... fagicladosporic acid.
C. fuligineum Bon. (*)
C. gracile Cda. (*)
C. herbarum (Pers.) Link ... epicladosporic acid.
C. molle Cke. (*)
C. penicillioides Preuss (*)
C. sphaerospermum Penz. (*)
Curvularia sp.
Dendrodochium toxicum Pidoplichko and Bilai ... dendrodochin.
Diplodia zeae (Schw.) lev.
Epicoccum nigrum Link ... flavipin.
Fusarium avenaceum (Fr.) Sacc.
F. culmorum (W. G. Sm.) Sacc. (= *F. roseum* (Link) Sn. and H.).
F. diversisporum Sherb. (*) ... diacetoxyscirpenol.
F. equiseti (Cda.) Sacc. ... diacetoxyscirpenol.
F. graminearum Schw. (= *Gibberella zeae* (Sehw.) Petch).
F. graminearum Cda (*)
F. lateritium Neés (*)
F. moniliforme Sheld. (= *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr.).
F. nivale (Fr.) Ces. ... nivalenol, fusarenone.
F. oxysporum Schl. (*)
F. poae (Peck.) Wr. (= *F. tricinetum* (Cda.) Sn. and H. f. *poae*).
F. redolens Wr. (*)
F. roseum (Link) Sn. ad H. ... diacetoxyscirpenol.
F. sambucinum Fuck. (= *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc.).
F. Scirpi Lamb. and Fautr. (*)
F. semitectum Berk. and Rev. (*) (= *F. roseum* (Link) Sn. and H.).
F. gr. sporotrichiella Wr. and Reink. (= *F. tricmctum* (Cda.) Sn. and H.).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ادامهٔ جدول ۱-۱. کپکهای ایجادکننده مسمومیت و توکسینهای تولید شده بوسیله آنها

F. sporotrichioides Sherb. (= *F. tricinctum* (Cda.) Sn. and H.)
F. tricinctum (Cda.) Sn. and H. ... sporofusarin, T_2 toxin.
F. tricinctum (Cda.) Sn. and H. f. *poae* ... poaefusarin, poin.
Gibberella fujikuroi (Saw.) Wr.
G. pulcaris (Fr.) Sacc.
G. zeae (Schw.) Petch. ... zearalenone.
Gliocladium virens Miller, Giddens, and Foster ... gliotoxin, viridin.
G. roseum Bain. ... paraquinones.
Gloeotinia temulenta (Prill. and Del.) Wilson, Noble and Gray.
Hemispora stellata Vuil. (= *Wallemia ichtyophaga* Johan - Olsen).
Mucor albo -ater Naum.
M. circinelloides v. Tiegh (*)
M. corticolus Hag.(*)
M. fumosus Naum. (*)
M. globosus Naum. (*)
M. hiemalis Wehm.
M. humicola Raillo (*)
M. pusillus lindth.
M. racemosus Fres (*)
Myroshecium verrucaria (Alb. and Schw.) Ditmar ... vermucarci verrucarin, maconomycin.
Neurospora sitophila Shear and Dodge.
Oospora colorans v. Beyma ... oosporein.
Paecilomyces varioti Bain. ?
Penicillium atrovenetum G. Smith ... β-nitropropionic acid.
P. aurantio-violaceum Biourge ... citrinin.
P. brefeldianum Dodge ... decumbin.
P. brevicompactum Dierekx ... mycophenolic acid.
P. brunneum Udagawa ... rugulosin, emodin, skyrin.
P. charlesii Smith ... carolic acid.
P. chermesinum Biourge ... costaclavin.
P. chrzaszszi Zaleski ... citrinin.
P. citreo-viride Biourge ... citreoviridin, citrinin.
P. citrinum Thom ... citrinin, aflatoxin.
P. claviforme Bain. ... patulin.
P. commune Thom.
P. concavorugulosum Abe.
P. corylophilum Dierckx ... eitrinin, gliotoxin.
P. crustosum Thom (*)
P. cyaneum (B. and S.) Biourge ... decumbin.
P. cyclopium Westl. ... penieillic acid, emodie acid, cyelopiazonic acid.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ادامهٔ جدول ۱-۱. کپکهای ایجادکننده مسمومیت و توکسینهای تولید شده بوسیله آنها

P. decumbens Thom ... decumbin.
P. divergens Bain. and Sart. ... patulin.
P. duclauxii Delacr.
P. expansum Link. ... patulin.
P. fellutanum Biourge ... earolic acid.
P. fenelliae Stolk ... penicillic acid.
P. frequentans Westl. ... frequentic acid, aflatoxin.
P. gilmanii Thom.
P. griseofulvum Dierckx ... patulin.
P. herquei Bain. and Sart.
P. implicatum Biourge ... citrinin.
P. islandicum Sopp. ... luteoskyrin, islanditoxin, cyclochlorotin.
P. italicum Wehmer (*)
P. janthinellum Biourge.
P. jenseni Zal. (*)
P. lanosum Westl. (*)
P. lilacinum Thom (*)
P. lividum Westl. ... citrinin.
P. martensii Biourge ... puberulic acid, penicillic acid.
P. melinii Thom ... patulin.
P. nigricans Bain (*)
P. notatum Westl. (*) ... notatin, xanthocillin X.
P. novae zelandicae v. Beyma ... patulin.
P. obscurum Biourge (= *P. corylophilum* Dierckx).
P. ochrosalmoneum Udagawa ... citreoviridin.
P. olivino-viride Biourge ... penicillic acid.
P. oxalicum Currie and Thom (*) ... secalonic acid D.
P. palitans Westl. ... palitantin, penicillic acid.
P. patulum Bain. (= *P. urticae* Bain).
P. phoeniceum v. Beyma ... phoenicin.
P. piceum Reper and Fernek ... helenin.
P. puberulum Bain ... penicillic acid. aflatoxin paber... acid.
P. pulvillorum Turfitt... citreoviridin.
P. purpurogenum Stoll ... glaucanic acid, glauconic acid, rubratoxins.
P. roqueforti Thom.
P. roseo-purpureum Dierckx ... frequentic acid.
P. rubrum Stoll ... phoenicin, rubratoxins.
P. rugulosum Thom ... rugulosin.
P. sartoryi Thom ... citrinin.
P. spinulosum Thom ... spinulosin.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ادامهٔ جدول ۱-۱. کپکهای ایجادکننده مسمومیت و توکسینهای تولید شده بوسیله آنها

P. steckii Zal. ... citrinin.
P. stoloniferum Thom ... mycophenolic acid.
P. tardum Thom ... rugulosin.
P. terlikowskii Zal. ... gliotoxin.
P. terrestre Jensen ... patulin, terrestric acid.
P. toxicarium Miyake (= *P. citreoviride* Biourge).
P. umbonatum Sopp. (*)
P. urticae Bain. ... patulin.
P. variabile Sopp. ... aflatoxin.
P. verruculosum ... verrueulogen.
P. viridicatum Westl ... virideicatin, ochratoxins, eitrinin, oxalic acid, viridicatic acid.
P. waksmani Zal. (*)
P. westlingi Zal. (= *P. waksmani* Zal.).
P. wortmanni Klocker ... rugulosin.
Periconia minutissima Cda.
Piptocephalis freseniana de Bary (*)
Pithomyces chartarum (Berk. and Curt.) M. B. Ellis ... sporidesmins.
Rhizoctonia leguminicola Gough and Elliot ... slaframine.
Rhizopus nigricans Ehr.(*)
Sclerotium rolfsii Sacc.
Scopulariopsis brevicaulis (Sacc.) Bain.
S. candida (Gueéguen) Vuil.
Sporidesmium bakeri Syd. (= *Pithomyces chartarum* (Berk. and Curt.) M.B. Ellis).
Stachybortrys alternans Bon (= *STachybortrys atra* Cda.)
S. atra Cda.
Stemphylium sarcinaeforme (Cav.) Wiltshire ... stemphone.
Thamnidium elegans Link (*)
Trichoderma lignorum (Tode) Harz.
T. viride (Pers.) Fr. ... trichodermin.
Trichothecium roseum Link. ... trichothecolone, trichothecin.
Verticillium psalliotae Treschow. ... oosporein.
Wallemia ichtyophaga Johan-Olsen.

(*) سمیت در آزمایشات تجربی اثبات شده اما هنوز در توکسیکوزهای طبیعی مشخص نگردیده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Ainsworth G.C. et Austwick P.K. C. 1959. Fungal diseases of animals. Commonwealtl Bureau of Animal Health Review Series n°6, 148 p.

2- Andersen, A. 1984. Cereal and cereal products traee elements, food additives, nutrients, and ergot, publication, stotens levnedsmiddl institut, No 93, pp 68.

3- Austwick P.L.C. 1968. Mycotoxins - Introductory survey. Ist Int. Congr. Pl. Pathol-Londres, juil. Abstr., p. 7.

4- Bauch R., Seidlein H.J., Valentin J. 1960. Metabolic products of higher fungi in conneetion with ergot and corn smut investigations. I. Pharmazie, t. XIV, p. 582-596, 1959. II. Pharmazie, t. XV, p. 719-721.

5- Bonilla-Soto O., Rose N.R. et Aabesman C.E. 1961. Allergenic molds; antigenic and allergenic properties of Alternaria tenuis, J. 8Allerg., t. XXXII, p. 246-270.

6- Campbell, G. D, 1996, Mycotoxicosis, human, Kind's greatest afflication, natural and health, 10(4) 323-329.

7- Forgacs J. Carllw.T. 1966. Mycotoxicoses: Toxic fungi in tobaccos. Science, t. CLII, p. 1634-1635.

8- Golinski, P. Wiewivowska, M. 1987. Mycotoxin in cereal grain. Bilographi citution, Nahrung, 31(1), 81-84.

9– Joffe A.Z. 1960. The mycoflora of overwintered cereals and its toxicity. Bull. Res. Counc. of Israel, t. 9 D, p. 101-126.

10- Micco, C. Miragla, M. Onori, R. Ioppolo, A. Mantovani, A. 1987. Longterm administration of low doses of mycotoxins in poultry. Poultry science, 66(1) 47-50.

11- Nikol's'ka O.O.1962. The second All-Union conference on mycotoxicoses of man and agricultural animals. J. Microbiol. Kiev, t. XXiX, p. 64-66.

12- Purchase I.F.H., 1970. Mycotoxins in human helth. J. South Afr. Veter. Med. p. 185-193.

13- Rabie C.J.1968. New toxic fungi and physiology of toxin production. Ist Int. Congr. Pl., Pathol., Londres, Abstr. p. 158.

14- Steyn D. G. 1933. Fungi in relation to health in man and animal. Onderstepoort J. Vet. Sci., t. I, p. 183.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل دوم

ساختمان شیمیایی مایکوتوکسینها

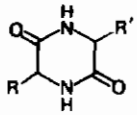
از نظر ساختمان شیمیایی، مایکوتوکسینها در ۴گروه تقسیم می‌شوند:

۱- مایکوتوکسینهای پپتیدی

مایکوتوکسینهایی هستند که ساختمان شیمیایی آنها پپتیدی است. این مایکوتوکسینها و مخصوصاً توکسینهای پلی‌پپتیدی اغلب بوسیله قارچهای ماکروسکوپی تولید می‌شوند. البته توکسین چند نوع (قارچ میکروسکوپی) پارازیت گیاهی و کپکهای ساپروفیت نیز ساختمان پپتیدی دارند.

۱-۱- مایکوتوکسینهای پپتیدی با هسته دی‌کتوپیپرازین

بعضی از مایکوتوکسینهای پپتیدی دارای هسته دی‌کتوپیپرازین و اسیدهای آمینه مختلف هستند. فرمول عمومی دی‌کتوپیپرازین نشان دهنده نحوه قرارگرفتن این اسیدهای آمینه در داخل ملکول توکسین است.



شکل ۲-۱. ساختمان عمومی دی کتوپیپرازین

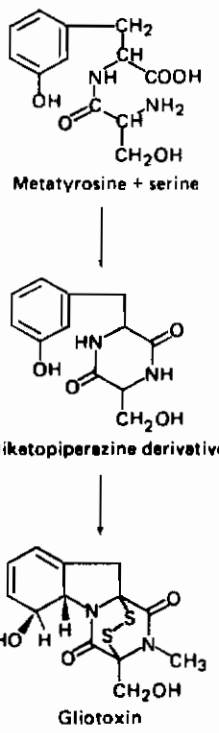
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

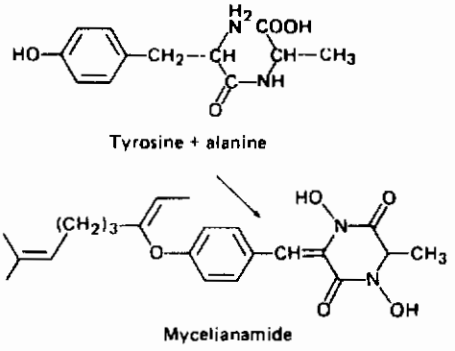
گلیوتوکسین (gliotoxin)، مایکوتوکسینی است که از دهیدراسیون دی‌پپتید، متاتیروزین و سرین ایجاد می‌شود و در واقع نتیجه دهیدروژناسیون دی‌کتوپیپرازین و متیلاسیون یکی از اتمهای نیتروژن و ایجاد یک پل عرضی دی‌سولفیدی در حلقه پیپرازین است.

اتصال دی‌سولفیدی در سایر مایکوتوکسینهای پپتیدی نظیر sporidesmin که بوسیله کپک pithomyces chartarum تولید می‌شود، نیز انجام می‌شود. در آزمایشگاه نیز مسیر سنتز gliotoxin را با کمک پیش‌سازی، نظیر تیروزین و سرین و کربن ۱۴ به اثبات رسانیده‌اند.

همچنین مسیر بیوسنتز مایکوتوکسین mycelianamid از اسیدآمینه تیروزین و آلانین بوسیله کپک penicillium griseofolvum در شکل ۲-۳ مشخص شده است.



شکل ۲-۲. مسیر بیوسنتز گلیوتوکسین

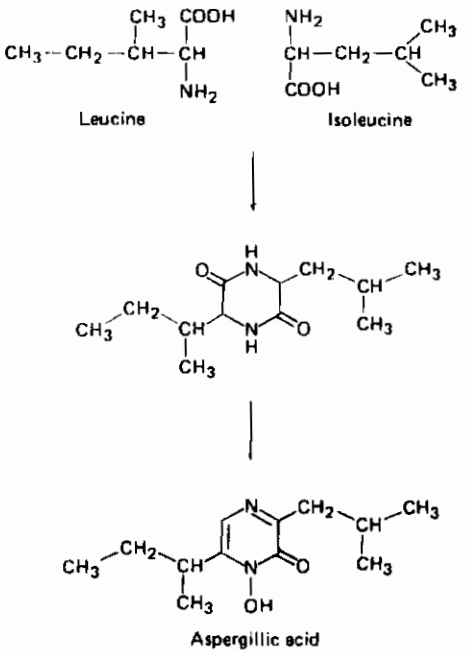


شکل ۲-۳. مسیر بیوسنتز mycelianamide

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

اسید آسپرژیلیک[1] نیز بوسیله Aspergillus flavus از پیش‌سازهایی نظیر لوسین و ایزولوسین سنتز می‌شود. مسیر بیوسنتز اسید آسپرژیلیک در شکل ۲-۴ مشخص شده است.



شکل ۲-۴. مسیر بیوسنتز اسیدآسپرژیلیک

۱-۲- مایکوتوکسینهای پپتیدی با حلقه سیکلوپنین

سیکلوپنینها توکسین‌هایی هستند که بوسیله penicillium cyclopium تولید می‌شوند و از نظر ساختمانی، از یک حلقه آروماتیک فنیل آلانین یا متاتیروزین تشکیل شده‌اند.

شکل ۲-۵. اسکلت شیمیایی سیکلوپنینها

1. Aspergillic Acid

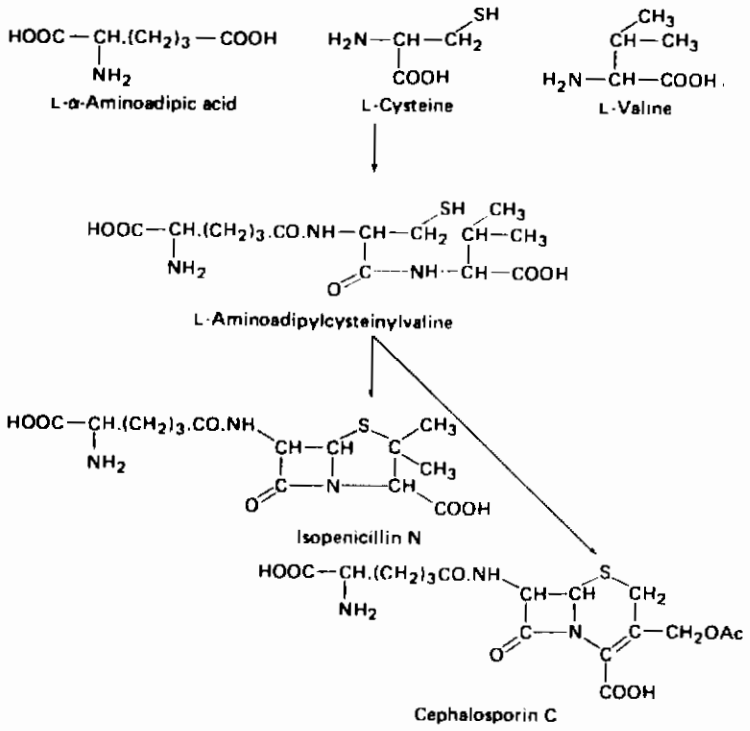
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

همانطور که در شکل مشخص شده است، اسکلت اصلی سیکلوپنینها از یک هسته ۱ و ۴ دی‌آزپین[۱] تشکیل شده که یک حلقه هفت ضلعی می‌باشد.

در اثر حلقوی شدن تری‌پپتید آلفاآمینوآدی‌پیل سیستئنیل والین[۲] سفالومپورین N[۳] بوجود می‌آید. این ماده در واقع یک پنی‌سیلین است با خصوصیات حلقه بتالاکتام[۴] که دارای ۵ حلقه تیازولیدن[۵] است و در کل به آن پنی‌سیلین N می‌گویند.

سفالومپورین C نیز در واقع حلقه بتالاکتامی است که دارای ۶ حلقه دی هیدروتیازین[۶] می‌باشد. شکل ۲-۶ ارتباط بین این ترکیبات را نشان می‌دهد (۱۴، ۱۱ و ۴).



شکل ۲-۶. مسیر بیوسنتز پنی‌سیلینها و سفالوسپورینها

1. 1,4 diazepin
2. α- aminoadiply cysteinylvaline
3. Cephalosporin N
4. β-lactam
5. Thiazolidene
6. Dihydrothiazin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

این ترکیبات مثالهای خوبی هستند از متابولیت‌های ایجاد شده توسط قارچها که سمیت کمی دارند اما فعالیت آنتی‌بیوتیکی آنها بالا است. علاوه بر مایکوتوکسینهای فوق‌الذکر، توکسینهای پلی‌پپتیدی دیگری نظیر sporidesmins و sporidesmolide II بوسیله قارچ pithomyces chartarum تولید می‌شود. همچنین توکسینهایی تحت عنوان echinalins بوسیله Aspergillus echinulatus تولیدمی‌شوندوپیش‌نیازسنتزاین ترکیبات‌ترپپتوفان‌وایزوپرن است.

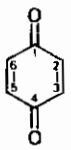
Islanditoxin ، توکسین دیگری است که در ساختمان خود کلر[1] دارد و بوسیله کپک penicillium islandicum سنتزمی‌شود. در ساختمان این توکسین ترکیباتی نظیر آلفاآمینوبوتیریک‌اسید،بتافنیل‌یابتاآمینوپروپیونیک‌اسید،سرین‌ودی‌کلروپرولین‌بکاررفته‌است.

۲- مایکوتوکسینهای کینونی[2]

۲-۱- مایکوتوکسینهای بنزوکینونی[3]

توکسینهای بنزوکینونی متابولیت‌هایی هستندکه دارای هسته بنزوکینون می‌باشند. ساختمان این توکسینها در شکل ۲-۷ مشخص شده است.

مایکوتوکسینهایی نظیر fomigatin و spinulosin که بوسیله Aspergillus fumigatus تولید می‌شود، دارای هسته بنزوکینون هستند. همچنین پیگمان‌های ایجاد شده بوسیله penicillium robrum و p.phoeniceum که تحت عنوان phoenicin نامیده می‌شوند دارای ساختمان بنزوکینون هستند. پیگمان osporein یا Chaetomidin که بوسیله کپکهای Oospora verticillium و Chaetomium acremonium متابولیت اینها به ترتیب قابل تبدیل به fumigatin و spinolosin می‌باشند.



شکل ۲-۷. هسته بنزوکینون

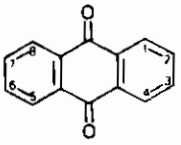
1. Chlorine 2. Quinone mycotoxins 3. Benzo quinons

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲-۲- مایکوتوکسینهای آنتراکینونی

توکسینهای آنتراکینون دارای ساختمان شیمیایی زیر هستند.



شکل ۲-۸. هسته آنتراکینون

اغلب این ترکیبات رنگی می‌باشند و احتمالاً نقش مهمی در فعالیت تنفسی دارند.

طیف جذبی و فعالیت بیولوژیکی این ترکیبات تابعی از موقعیت گروههای جانبی آنها است. برای ۲گروه قابلیت تبدیل و جایگزینی در موقعیت‌ها وجود دارد. گروههای حالت ۱ و ۴ و ۵ و ۸ به صورت α در حالیکه گروههای حالت ۲ و ۳ و ۶ و ۷ به صورت β قابل تبدیل به یکدیگر هستند.

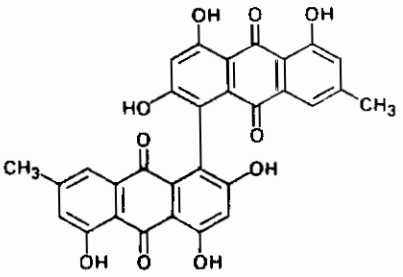
آنتروکینونهایی که ساختمان ساده دارند و توسط کپکهای مختلفی تولید می‌شوند، در زیر مشخص شده‌اند:

Chrysophanol	1,8−OH; 3−CH_3	*Penicillium*
Islandicin	1, 4,8−OH; 3−CH_3	*P. islandicum*
Helminthosporin	1,5,8−OH; 3−CH_3	*Helminthosporium*
Emodin	1,6,8−OH; 3−CH_3	*Cladosporium, Penicillium*
Methylemodin	1,6−OH; 3-CH_3; 8−OCH_3	*P. frequentans*
Emodic acid	1,6,8−OH; 3−COOH	*P. cyclopium*
Physcion	1,8−OH; 3−CH_3 ; 6−OCH_3	*Penicillium, Aspergillus*
Endocrocin	1,6,8−OH;−COOH; 3−CH_3 2	*Penicillium, Aspergillus*
Cyanodontin	1,4,5,8−OH; 3−CH_3	*Helminthosporium*
Catenarin	1,4,6,8−OH ; 3−CH_3	*Helminthosporium*
Tritisporin	1,4,6,8−OH; 3−CH_2OH	*Helminthosporium, Penicillium*
Erythroglaucin	1,4,8−OH; 3−CH_3 ; 6−OCH_3	*Aspergillus glaucus group*
Asperthecin	1,2,5,6,8,−OH ; 3−CH_2 OH	*A. nidulans*

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

تعدادی از متابولیت‌های کپکی که از نقطه‌نظر سم‌شناسی اهمیت دارند از اتصال دو مولکول آنتراکینون در موقعیت ۵، با و یا بدون زنجیرهٔ دیگر تشکیل می‌شوند. مثلاً اتصال بین توکسین حاصل از Penicillium rugulosum و p.islandicum یعنی مایکوتوکسین skyrin و iridoskyrin و luteoskyrin است و نتیجه اتصال توکسینهای حاصل از کپک Fusarium مایکوتوکسین Fosaroskyrin است که شکل ۲-۹ نحوه اتصال را نشان می‌دهد (۱۵ و ۹).



شکل ۲-۹. نحوه اتصال آنتراکینون

۳- مایکوتوکسینهایی که هسته پیرون «pyrone» دارند و پیش‌سازهای آنها

۳-۱- gentisaldehyde و متابولیت‌های آن

مشخص شده است که دی‌فنل جنتالدهید ابتدا شکافته می‌شود و اینکار باعث جذب بیشتر هسته‌های پیران به حلقه (گاما - لاکتون)[1] می‌شود.

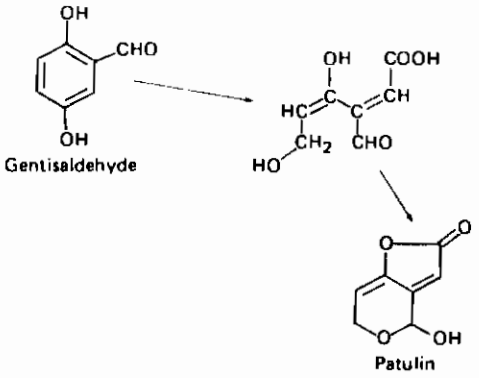
همین مسیر در بیوسنتز پتولین بوسیله کپک Aspergillus clavatus و چندین گونه کپک پنی‌سیلیوم نیز احتمالاً وجود دارد. شکل ۲-۱۰ مسیر بیوسنتز پتولین و شکافته شدن gentisaldehyde را نشان می‌دهد.

Maltoryzine فرآورده‌ای است که بوسیله Aspergillus oryzae تولید می‌شود و از نظر شیمیایی یک تری‌فنل است که با یک گروه pentenone اتصال عرضی برقرار کرده است و شباهت زیادی با gentisaldehyde دارد. همچنین پیگمانهای Flavoglauein و auroglaucin

1. γ-lactone

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



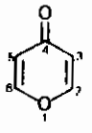
شکل ۲-۱۰. بیوسنتز پتولین

که بوسیله Aspergillus glaucus تولید می‌شوند دارای هسته gentisaldehyde می‌باشند. این در حالی است که رنگدانه سمی citreoviridin تولید شده بوسیله penicillium citreo-viride بجای هسته gentisaldehyde دارای یک هسته hydrofuran و یک هسته α-pyrone می‌باشد، که بوسیله پیوند غیر اشباع به یکدیگر اتصال یافته‌اند (۱۹ و ۱۲).

۳-۲- اسید کوجیک[1] و متابولیتهای آن

هسته γ-pyrone اسید کوجیک مستقیماً از طریق اکسیداسیون یا دهیدراسیون گلوکز بدون شکسته شدن رشته کربنی بیوسنتز می‌شود.

توکسینهای دارای ساختمان شیمیایی اسیدکوجیک سمیت کمی دارند و توسط کپکهای مشخصی تولید می‌شوند. اساس شیمیایی ساختمان آنها در شکل ۲-۱۱ مشخص شده است (۱۱ و ۲).



شکل ۲-۱۱. هسته γ-pyrone

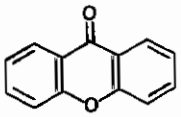
1. Kojic Acid

Www.Negashteh.Com

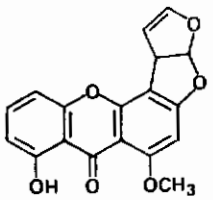
Www.Negashteh.Com

۳-۳-گزانتونها[1]

فرآورده‌های قارچی که دارای هسته گزانتونی هستند، نسبتاً کمیاب می‌باشند. برای مثال استریگماتوسیستین[2] و مشتقات مونومتوکسی آن که بوسیله Aspergillus versicolor سنتز می‌شود، دارای هسته گزانتون می‌باشند.



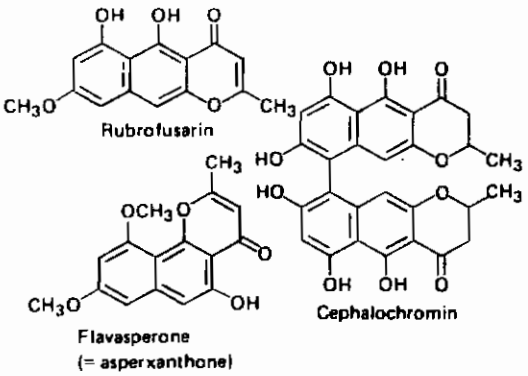
شکل ۲-۱۲. ساختمان شیمیایی هسته گزانتون



شکل ۲-۱۳. استریگماتوسیستین

استریگماتوسیستین مشابه پیگمانهای آنتراکینونی A. versicolor و آفلاتوکسین ناشی از A. flavus دارای سیستم حلقوی دی‌فوران است.

همچنین از نظر ساختمانی مایکوتوکسینهای گزانتونی سمومی هستند مشابه سم روبروفوزورین[3] که کپک Fusarium culmorum تولید می‌کند و یا flavasperone که کپک A. niger و frequentic acid یا citromycetin که کپک P.frequentans تولید می‌کند، می‌باشد (۱۱، ۳ و ۲).



شکل ۲-۱۴. ساختمان شیمیایی روبروفوزارین و فلاواس پرون

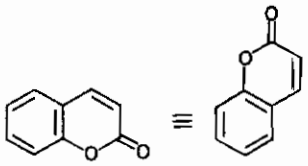
1. Xanthones
2. Sterigmatocystin
3. Rubrofusorin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳-۴- ترکیبات کومارین‌دار[1]

توکسینهای کومارینی به تنهایی در حیوانات اثر سمی ندارند و متابولیتهایی که دارای هسته کومارین می‌باشند و اثر سمی دارند اکثراً ساختمان ملکولی کوچکی دارند. برای مثال اوکراتوکسین که بوسیله A.ochraceus یا melitotoxin و آفلاتوکسین که بوسیله A.fumigatus تولید می‌شوند را می‌توان عنوان نمود.



شکل ۲-۱۵. هسته کومارین

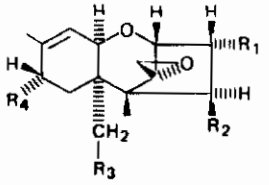
۳-۵- ترکیبات ترپنی و سسکوئی‌ترپنی[2]

فرم بیولوژیکی فعال ترپنها معمولاً بصورت دی‌استات مشاهده می‌شود. مهمترین این ترکیبات عبارتند از:

۱- helvic acid موجود در fumigacine که بوسیله A.fumigatus تولید می‌شود.

۲- cephalosporin که بوسیله p.cephalosporium تولید می‌شود.

گروهی از کپکها تحت عنوان phialidic یا کپکهای دارویی تولید توکسینهایی مانند توکسینهای تریکوتسن، با ساختمان سسکوئی‌ترپن می‌کنند (۱۶ و ۱۰).



	R_1	R_2	R_3	R_4	present in:
Trichodermol (= roridin C)	H	OH	H	H	*Trichoderma*
Trichodermin	H	$OCO.CH_3$	H	H	*Trichoderma*
Diacetoxyscirpenol	OH	$OCO.CH_3$	$OCO.CH_3$	H	*Fusarium scirpi* / *Fusarium tricinctum*
T_2-toxin	OH	$OCO.CH_3$	$OCO.CH_3$	X	*Fusarium nivale* / *Fusarium tricinctum*
Verrucarol	H	OH	OH	H	*Myrothecium verrucaria*

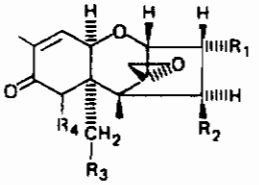
X = $OCO.CH_2.CH.(CH_3)_2$

شکل ۲-۱۶. ۱۲ و ۱۳- اپوکسی تریکوتسن

1. Coumarins
2. Trepene & sesquiterpenes

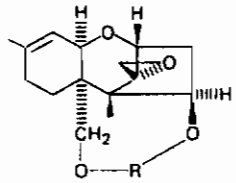
Www.Negashteh.Com

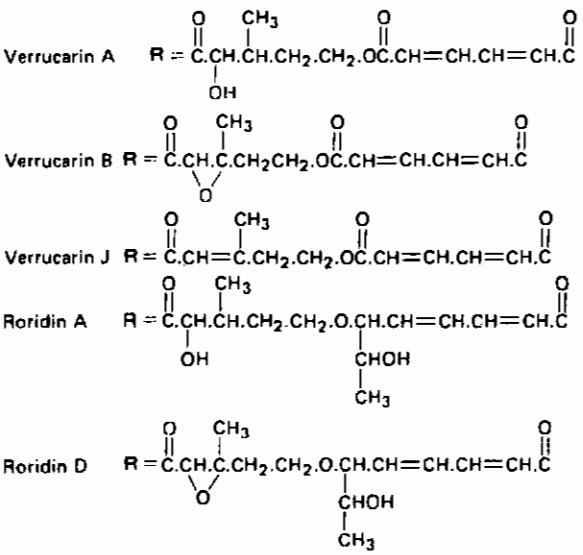
Www.Negashteh.Com



	R_1	R_2	R_3	R_4	present in:
Trichothecin	H	OCO . CH=CH . CH_3	H	H	*Trichothecium roseum*
Trichothecolone	H	OH	H	H	*Trichothecium roseum*
Toxic diacetate	OH	OCO . CH_3	OCO . CH_3	OH	*Fusarium equiseti*, *Fusarium scirpi*
Nivalenol	OH	OH	OH	OH	*Fusarium nivale*
Fusarenone	OH	OCO . CH_3	OH	OH	*Fusarium nivale*

شکل ۲-۱۷. ۸-اُکسو - ۱۲ و ۱۳ - اپوکسی تریکوتسن



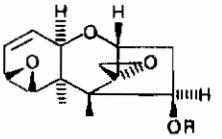


شکل ۲-۱۸. متابولیتهای سمی میروتسیم روریدم[1] و موکورورکوریا[2]

1. Myrothecium roridum
2. Mucor. verrucoria

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



Crotocin R = CO.CH=CH.CH_3
Crotocol R = H

شکل ۲-۱۹. تریکوتسن‌های سمی حاصل از سفالوسپوریُم

۴- مایکوتوکسینهای نونادریدی[1]

توکسین‌هایی هستند با فرمول شیمیایی پیچیده که در ساختمان آنها گروههای آنهیدرید[2] به حلقه کربوکسیلیک ۹ اتصالی چسبیده‌اند..

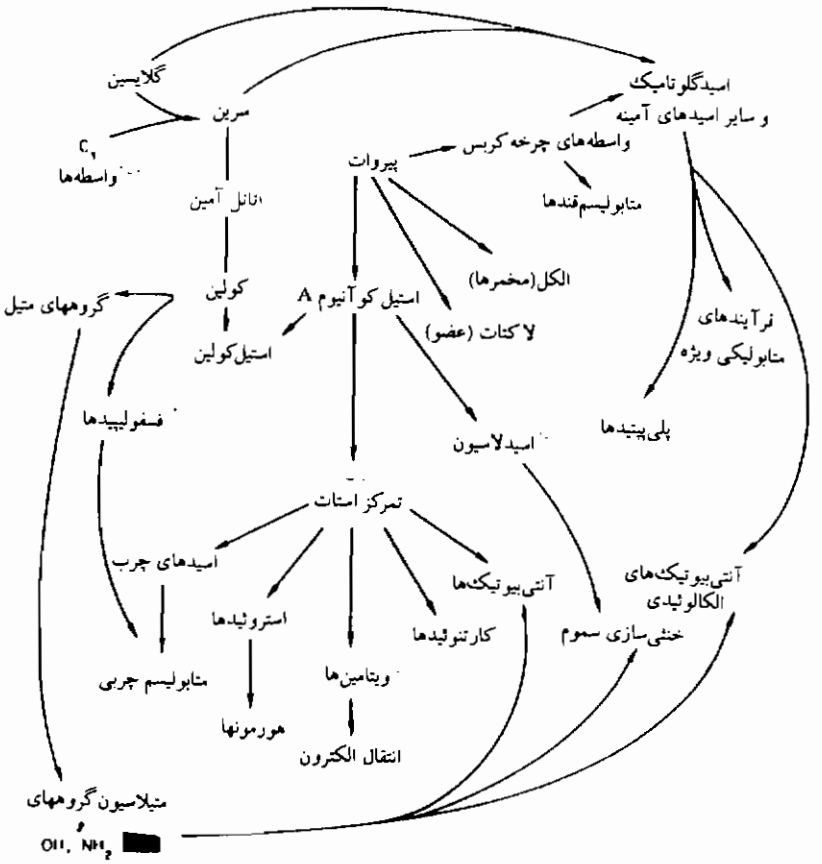
و شامل اسیدگلوکانیک و گلوکونیک تولید شده بوسیله P.purpurogenum و اسیدبایزوکلامیک تولید شده از Byssochlamys fulva و روبراتوکسین تولید شده از P.rubrum می‌شوند.

نمودار ۲-۱ تمام راههای اصلی متابولیسم و تولید مواد سازنده مایکوتوکسینها را نشان می‌دهد، واینطورکه به‌نظر می‌رسد تمام مایکوتوکسینها از گروههای شیمیایی نظیر پلی‌پپتیدها، آلکالوئیدها، بنزوکینونها، آنترا کینونها، گزانتونها، کومارینها و ترپنها تشکیل شده‌اند (۷).

1. Nonadride mycotonins
2. Anhydride

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



نمودار ۲-۱. مسیر بیوسنتز و راههای اصلی تولید مواد سازنده مایکوتوکسینها

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Abraham. E.P. et Newton G.G.F. 1961.-Structure of Cephalosporin C. Biochem. J.,t.LXXXIX,p.377-393.

2- Arnstein., H. R. V. et Bentley R. 1953.-Biosynthesis of Kojic acid. Biochem. J., t. LIV, p. 493-522.

3- Billet., D. 1966.- Progres Recent Dans le Chimie Des Xanthones Naturelles: Actualites de Phytochimie Fondamentale, 2 Serie, p. 35-43.

4- Birch., A. J. 1958.-Ciba Foundation Synposium on amino-acids and Peptids with antimetobolic Aetivity, 247 p. Londres.

5- Braun., A. C. et Pringle R. B. 1959.-Pathogen Factors in the Physiology of Disease. Toxins and Other Metabolities. Plant Pathology. Prohlems and Progress 1098-1958, p. 88-99.

6- Broadbent., D. 1966.-Antibiotics Produced by fungi. The Bot. Rev., t. XXXII, p. 219-242.

7- Clark, D. S., Thatcher, F. S. 1987. Microorganism in food. University of Toronto Press.

8- Deverall., J. 1963 -Substances Produced by Patogenic Organisms That Induce Symptoms of Disease in Higher Plants in Smith H. et Taylor J. Microbial Behaviour <<in vivo>> and <<in vitro>>, p. 165-186, Cambridge University Press.

9- Fleck, R. A, Hollaender, A. 1982. Genetic Toxicology Plenum Press New York.

10- Joachim Borneff, 1982. Hygiene Georg thieme verlag stuttgart New York.

11- Katritzky, A. R. Bouiton, A. J. 1974. Heteracyclic chemistry volume 17. Academic Press.

12- Mc Donald., J. C. 1961.-Biosynthesis of Aspergillic acid. J. Chem., t. CCXXXVI, p. 512-514.

13- Mcginnis, M.R, Borgers, M. 1989. Current ropicsin medical mycology volum 3. Springer verlage New York.

14- Morton., R. A. et Earlam W. T. 1941.-Absorption Spectra in Relation to quinones-1, 4-Naphthoquinone, Anthraquinone and their Derivatives. J. Chem. Soc., p. 159.

15- Nishimura., S. 1957.- Observations on the Fusaric acid Production of the Genus Fusarium.Ann.Phytopath. Soc. Japan, t. XXII, p. 274-275.

16- Roberts, T.A., Skinner, F.A. 1983. Food Microbiology advonces and prospects prospects Academic Press Inc. New York.

17- Winstead., J. A. et Suhadolnik R. I. 1960.-Biosynthesis of Gliotoxin. II. Further Studies on the Incorporation of Carbon-14 and Tritium-Labeled Precursors. J. Am. Chem. So. t. LXXXII, p. 1644-1646.

18- Woodward., R.B. et Singh G. 1949-The Structure of Patulin. J. Amer. Chem. So. t. LXXI, p. 758-759.

19- Yokotsuka., T., Asao Y., Sasaki M. et Oshita K. 1970.-Pyrazine Compounds Produced by Molds. in Herzberg M., Toxic Microorganisms, .241-331 .p

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل سوم

عوامل مؤثردر رشد قارچها و تولید مایکوتوکسین در مواد غذایی

عوامل مؤثر در رشد قارچها و تولید مایکوتوکسین در مواد غذایی

نگهداری مواد غذایی که دارای رطوبت زیاد می‌باشند و یا نگهداری محصولات در انبارها، مخازن و سیلوها در شرایط گرم و مرطوب، بویژه در مخازنی که بدنه آنها از چوب ساخته شده، در مدت طولانی نه تنها موجب افت کمّی و کیفی مواد متشکله آنها و از بین رفتن عناصر حیاتی ارزنده موجود در آنها می‌گردد، بلکه در چنین شرایطی قارچهای ذره‌بینی و شاید بسیاری از اجرام زنده مضر در آنها، رشد می‌کنند و تغییراتی بوجود می‌آورند که بصورت مستقیم یا غیرمستقیم سلامت انسان وحیوان را به مخاطره می‌اندازند.

رشد و فعالیت قارچها روی مواد خام اولیه مورد استفاده غذای انسان و دام، بخصوص دانه‌ها، کیفیت غذایی آنها را شدیداً تنزل می‌دهد. متأسفانه این تنزل کیفیت در آزمایشهای شیمی و بیولوژی به آسانی روشن نمی‌شود و انسان و دام یا طیور با استفاده از این مواد به‌سادگی دچار عوارض سوء تغذیه می‌شوند.

شرایط برداشت محصولات کشاورزی و نحوی نگهداری و انبارداری آنها، تأثیر مهمی در رشد کپکها و تولید توکسین در آنها دارد که در اینجا به مهمترین فاکتورهای مؤثر اشاره می‌شود.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱- ترکیبات مواد غذایی

کلیه‌موادغذایی که به مصرف انسان و یا حیوان می‌رسد، محیط مناسبی برای رشد قارچها می‌باشند. (به استثنای پروتئین خالص (ژلاتین)، چربی خالص و قند خالص به همراه آب).

ساکارز، گلوکز، ریبوز، گزیلوز، گلیسیرین، فروکتوز، نشاسته، سوربیت، گلسیرین آلدئید منابع خوب انرژی‌زا هستند. امّا لاکتوز توسط کلیه گونه‌ها و واریته‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرد.

قارچها می‌توانند به عنوان منبع ازت از نمکهای آمونیوم، نیترات و نیتریت‌اسیدهای آمینه، زیتون و عصاره مخمر به خوبی استفاده کنند. در اینجا نکته بسیار جالب اثر باز دارندگی نیترات در تولید توکسین می‌باشد، هر چند که قارچها از این ماده شیمیایی به عنوان منبع ازت به خوبی استفاده می‌کنند. روی، آهن، منیزیم سبب تسریع و تشدید تولید آفلاتوکسین می‌شوند. در حالی که مس، بر و مولیبدن بر روی تولید توکسین اثر بازدارندگی دارند (۸، ۷ و ۳).

بطورکلی می‌توان چنین عنوان کرد که فرآورده‌های دام و طیور، غلات و فرآورده‌های آن، دانه‌های روغنی و پودربستنی محیط مناسبی برای رشد و نمو قارچها و تولید توکسین می‌باشند.

قارچهای توکسین‌زای قوی از نظر مقدار تولید توکسین تابع محیط کشت هستند. آزمایشهای انجام شده نشان می‌دهد که بعضی از قارچهای توکسین‌زا قادرند برروی گندم ۲۰۰۰μg/g، برنج ۱۲۰۰μg/g و بادام‌زمینی ۹۰۰μg/g، توکسین تولید نمایند. در حالی که همین قارچها بر روی مواد دیگری از جمله نشاسته، میوه‌جات خشک، مواد غنی از پروتئین مقدار کمی توکسین ایجاد می‌نمایند. گوشت و فرآورده‌های گوشتی، ماهی، پودر شیرخشک و تخم‌مرغ محیط نسبتاً خوبی برای رشد و نمو قارچها هستند. اما تولید توکسین در روی آنها به صورت معتدل صورت می‌گیرد.

ادویه‌جات محیط خوبی برای رشد و نمو قارچها هستند، اما برای تولید توکسین محیط مناسبی نیستند. همچنین، چای، قهوه، کاکائو، رازیانه محیط نامناسبی برای تولید توکسین گزارش شده‌اند. چوب، چوب‌پنبه و کاغذ مورد حمله قارچها قرار می‌گیرند، اما تولید توکسین در آنها بسیار ناچیز می‌باشد.

بطورکلی می‌توان اثرات سوبسترا را بر روی رشد و نمو قارچ و تولید توکسین به صورت زیر خلاصه نمود:

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

الف - رشد و نمو قارچ و تولید توکسین ثابت نیست، بلکه تابع نوع قارچ و نوع سوبسترا می‌باشد.

ب - رشد و نمو انبوه قارچ، دلیل سمیت زیاد قارچ نمی‌باشد، زیرا توده کم قارچی هم ممکن است دارای خاصیت توکسین‌زایی بالایی باشد.

ج - بسیاری از سوبستراها وجود دارند که قارچ بر روی آنها به خوبی رشد و نمو می‌کند، اما توکسین تولید نمی‌شود. (مثل چای، قهوه و ژلاتین و غیره).

د - قارچهایی که می‌توانند دو نوع توکسین مختلف ایجاد نمایند، بر روی بسیاری از سوبستراها قادرند فقط یک نوع توکسین ایجاد کنند.

هـ- قارچها بر روی فرآورده‌های دامی مقدار توکسین کمتری تولید می‌کنند. در حالی که بر روی فرآورده‌های گیاهی، مثل غلات و حبوبات به میزان قابل توجهی توکسین ایجاد می‌کنند.

۲- درجه حرارت

درجه حرارت نقش مهمی در رشد میسلیوم قارچها، تشکیل جوانه و رشد و تشکیل اسپورها دارد. اکثر کپک‌ها در درجه حرارت بین ۳۰°C-۱۵ رشد می‌کنند و اپتیمم درجه‌حرارت رشد آنها ۲۵°C-۲۰ است. چندین گونه از کپک پنی‌سیلیوم نیز از انبارهای سرد، که برای نگهداری ماهی تا ۲۰°C- بکار می‌روند، ایزوله شده‌اند.

بعضی از این کپکها قادر به رشد در این شرایط نیستند، اما اسپور آنها می‌تواند فعال باقی بماند. بنابراین قابلیت رشد کپکها در چنین شرایطی یکی از مهمترین عوامل آلوده کننده فرآورده‌های کشاورزی و محصولات غذایی می‌باشد.

اسپورهای Rhizopus nigricans و Mucor mucedo و Aspergillus niger بعد از ۷۷ ساعت در هیدروژن مایع ۲۳۵°C- یا ۴۹۲۷ ساعت در هوای مایع ۱۹۰°C- زنده باقی می‌مانند.

قابلیت رشد و بقای قارچها، در دمای پایین، باعث شده است که بسیاری از قارچها را بوسیله روش خشک کردن انجمادی[1] در آزمایشگاههای قارچ‌شناسی نگهداری نمایند. برعکس این

1. Freeze drying

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

شرایط بعضی از قارچها قادرند، در درجه حرارت‌های بسیار بالا رشد کنند. مثلاً A.flavus می‌تواند در درجه حرارت ۳۵°C تونل‌های خشک‌کن زنده باقی بماند و A.fumigatus درجه حرارت ۵۰°C را تحمل می‌کند و Humicola lanuginosa قابلیت رشد در حرارت ۶۰°C را دارد. در درجه حرارتهای بالاتر قارچها زنده باقی می‌مانند ولی رشد نمی‌کنند.

آسکوسپورهای کپک Byssochlamys fulva در درجه حرارت ۷۰°C بمدت ۲ ساعت و در درجه حرارت ۸۵°C بمدت ۱۰ دقیقه زنده باقی می‌مانند. در هوای خشک آسکوسپورهای Neurospora درجه حرارت ۱۳۰°C را بمدت ۲۰ - ۱۵ دقیقه تحمل می‌کنند و این موضوع حضور قارچها را در گرم خانه‌های کیک‌پزی، توضیح می‌دهد.

بعضی از قارچها طیف وسیعی ازدرجه حرارت را تحمل می‌کنند. برای مثال کپک Botrytis cinerea، یک کپک مضر برای بسیاری از محصولات غذایی است که خارج از یخچال نگهداری می‌شوند، ولی بخوبی قابلیت ایجاد فساد در میوه‌های یخچالی را نیز دارد و رشد مناسبی هم در ۲۰°C و هم در ۵°C دارد.

قارچهای ترموفیلیک، معمولاً رشد خوبی در ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد دارند اما در زیر حرارت ۲۰°C قادر به رشد نیستند. در این گروه تعدادی بصورت میکروترموفیلیک هستند. یعنی اپتیمم درجه حرارت رشد آنها بین ۳۰°C-۲۵ و ماکزیمم درجه حرارت رشد آنها ۴۸°C-۴۰ می‌باشد.

Byssochlamys nivea و سایر قارچهای این گونه، ترموفیلهای حقیقی هستند که اپتیمم درجه حرارت رشد آنها بین ۴۵°C-۴۰ می‌باشد. ماکزیمم حرارت رشد برای قارچهای این گونه ممکن است تا حدود ۶۰°C نیز برسد، ولی حداقل درجه حرارت لازم برای رشد آنها ۲۰°C می‌باشد.

Mucor pusillus و Thermomyces lonuginosus از قارچهای مقاوم به حرارت هستند که ماکزیمم درجه حرارت رشد آنها ۵۰°C می‌باشد، اما می‌توانند زیر حرارت ۲۰°C هم رشد کنند.

قارچهای مزوفیلیک یا معتدل، قارچهایی هستند که در دامنه حرارتی ۴۰°C-۱۰ رشد می‌کنند، و اپتیمم درجه حرارت رشد آنها ۲۵°C است. A.versicolor و P.chrysogenum جزو این قارچها می‌باشند.

قارچهای سایکروفیل یا سرما دوست، قارچهایی هستند که اپتیمم درجه حرارت رشد آنها

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بین ۱۰°C-۵ است. در بین اینها، قارچهایی تحت عنوان Cryophilic fungi نامیده می‌شوند که بطور ویژه‌ای قادر به رشد در درجات حرارتی خیلی پائین هستند (۶ و ۵). نکته قابل توجه در بین این قارچها شباهت درجه حرارت اصلی رشد آنهاست. در حالی که درجه حرارت لازم برای تشکیل اسپور در آنها ممکن است متفاوت باشد و معمولاً اپتیمم درجه حرارت برای تشکیل اسپور در همه آنها کمتر از درجه حرارت رشد می‌باشد. برای مثال کپک F.congutinans و A.versicolor و P.cyclopium چنین عمل می‌کنند.

درجه حرارت تأثیر عمده‌ای در شکل ظاهری کیسه‌های حاوی اسپور دارد. مثلاً A.giganteus در ۲۰°C تولید کنیدیوفورهای دراز و باریکی را می‌کند که ممکن است ارتفاع آنها تا ۱۰cm هم برسد، در حالی که در ۳۰°C کنیدیوفورها کوتاهتر از ۱cm است.

فاکتور حرارت علاوه بر تأثیر عمده‌ای که در مرفولوژی و ظاهر کپک دارد، تأثیر زیادی نیز در کمیت و کیفیت متابولیسم فرآورده‌های قارچی دارد. در واقع اپتیمم درجه‌حرارت رشد، بهترین درجه حرارت برای تولید متابولیتها نیز خواهد بود.

اپتیمم درجه حرارت رشد کپک Pithomyces chartarum ، ۲۴°C تعیین شده است و مایکوتوکسین خود را نیز در ۲۰°C تولید می‌کند.

p.chrysogenum به موازات افزایش میزان تولید پنی‌سیلین در ۳۰°C به مدت ۴۲ ساعت رشد آن نیز افزایش پیدا می‌کند.

ماکزیمم و می‌نیمم درجه حرارت رشد بعضی از قارچها در نمودار ۳-۱ مشخص گردیده است (۹).

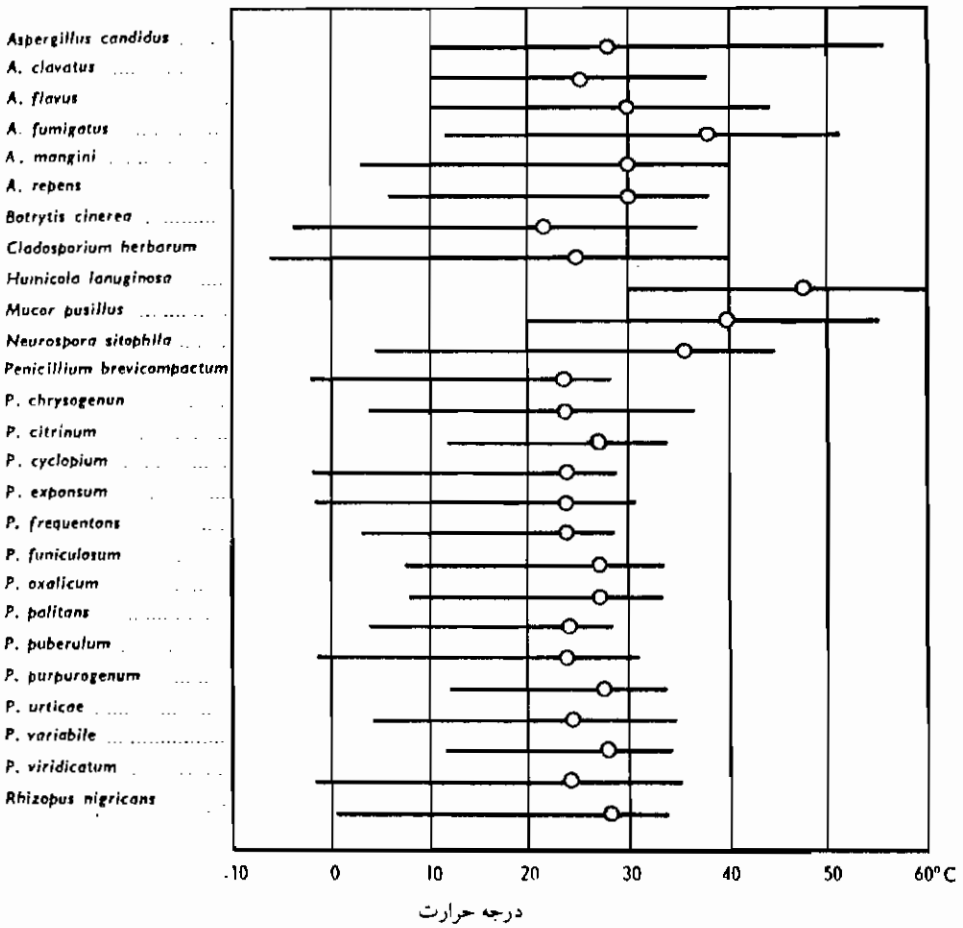
۳ـ رطوبت

مهمترین فاکتور مؤثر در رشد قارچها، رطوبت است. رطوبت نه تنها در میزان رشد میسلیوم قارچ و تولید اسپور مؤثر است، بلکه در میزان جوانه‌زنی اسپورها نیز نقش عمده‌ای دارد (۱۹، ۱۰، ۹ و ۸).

نقش رطوبت در رشد و تکثیر قارچها مخصوصاً زمانی مشهود است که مواد غذایی بخصوص غلات در انبار و در زمان نگهداری دچار صدمه می‌شوند. جدول ۳-۱ مینیمم و ماکزیمم رطوبت مورد نیاز چند نوع قارچ را نشان می‌دهد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



نمودار ۳-۱. محدودهٔ حرارتی مناسب رشد تعدادی از قارچهای آلوده‌کنندهٔ مواد غذایی، خطوط بسته نشان‌دهندهٔ ماکزیمم و مینیمم درجهٔ حرارت رشد و دایرهٔ توخالی نشان دهندهٔ اپتیمم درجه حرارت رشد قارچ می‌باشد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۳-۱. مینیمم رطوبت نسبی جوانه زدن، رشد و تشکیل اسپورکپک‌ها

جنس و گونه کپک	درصد رطوبت نسبی		
	جوانه‌زدن	رشد	تشکیل اسپور
Aspergillus echinulatus	۷۱	۶۲	-
A. chevalieri	۶۵-۷۳	۶۵	-
A. candidus	۷۲-۷۵	۷۲-۷۵	۸۰
A. versicolor	۷۶-۷۸	۷۵	-
A. repens	۷۱-۸۰	-	-
A. flavus	۸۰	۸۰	۸۵
Penicillium expansum	۸۲-۸۶	۸۲	۸۵
Aspergillus niger	۸۰	۸۸-۸۹	۹۲-۹۵
Mucor racemosus	۸۸	۹۲	۹۵
Rhizopus nigricans	۹۰-۹۲	۹۲-۹۴	۹۶
Alternaria tenuis	۹۴	-	-
Cladosporium herbarum	۹۴	-	-

قارچها را بر مبنای نیاز رطوبتی به شرح زیر تقسیم‌بندی می‌کنند: (۱۱ و ۳)

- قارچهای خشکی دوست (xerophilic) : اسپور این قارچها می‌توانند با شرایط رطوبت کمتر از ۸۰٪ جوانه بزنند و اپتیمم درجه رطوبت رشد این قارچها حدود ۹۵٪ است. A.repens و A.restrictus و A.versicolor و Hemispora stellata جزو این گروه قارچها هستند.

- قارچهای معتدل (mesophilic-): اسپور این قارچها در شرایط رطوبت نسبی ۹۰-۸۰٪ قادر به جوانه زدن هستند و اپتیمم رشد این قارچها در رطوبت نسبی ۱۰۰-۹۵٪ مشاهده می‌شود. کپکهای Alternaria tenuissima ، Cladosporium ، Cladosporioides و P.cyclopium جزو این دسته از قارچها محسوب می‌شوند.

- قارچهای هیدروفلیک (hydrophilic) : اسپور این قارچها فقط در رطوبت نسبی بالاتر از ۹۰٪ جوانه می‌زنند و اپتیمم رشد نزدیک به رطوبت نسبی ۱۰۰٪ است. کپک Epicocum nigrum و Mucor cireinelloides و Trichothecium roseum جزو این گروه قارچها هستند. رطوبت نسبی نباید با مقدار آب موجود در سوبسترا اشتباه شود. با توجه به درجه‌حرارت، برای هر غلظت آب موجود در سوبسترا یک مقدار معین از رطوبت

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

نسبی مورد نظر است که سوبسترا قادر است این آب را به اتمسفر بدهد.

در رطوبت نسبی پایین (۳۰-۲۵٪) آب به وسیله انرژی پیوندی مخصوصی به سوبسترا باند می‌شود، اما با افزایش رطوبت نسبی، آب در دسترس افزایش یافته و میزان اتصال آب ضعیف و ضعیف‌تر می‌شود.

این مسأله نشان‌دهندهٔ درجه تحرک آب است که باعث می‌شود کپک‌ها امکان رشد روی مواد جامد را پیدا کنند.

حتی ممکن است سوبسترا دارای مقدار زیادی آب باشد، ولی روی آن فقط قارچهای خشکی دوست قادر به رشد باشند.

با توجه به نوع سوبسترا در یک درجه حرارت مخصوص و معین، می‌توان منحنی رسم کرد که نشان‌دهندهٔ ارتباط یا نسبت تعادلی بین رطوبت نسبی اتمسفر و آب موجود در سوبسترا است و به این نسبت، ایزوترم جذب آب می‌گویند[1]

در جدول زیر میزان رطوبت بحرانی از نظر رشد قارچ در دمای ۲۲°C در تعدادی از دانه‌های غذایی مهم و مورد استفاده دام و طیور بطور نمونه ارائه شده و نشان دهنده این است که رطوبت اولین و مهمترین عامل مساعد جهت رشد قارچها می‌باشد.

جدول ۳-۲. آستانه شروع میزان رطوبت بحرانی از نظر رشد قارچ در دانه‌های غذایی (در ۲۲ درجه سانتی‌گراد)

نام ماده غذایی	میزان رطوبت برحسب درصد
جو کوبیده	۱۴/۲
ذرت درسته	۱۴/۸
ذرت آسیاب شده	۱۳/۰
ذرت کوبیده	۱۲/۰
یونجه	۱۵/۰
یولاف درسته	۱۴/۵
یولاف چروکیده	۱۳/۱
پودر سویا با ۴۴ درصد پروتئین	۱۳/۱
پودر سویا با ۴۸ درصد پروتئین	۱۵/۰

1. Water sorption isotherm

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴ـ فشار اسمزی

قارچها در محیط کشت با فشار اسمزی بالا (کلرورسدیم یا قند) رفتار متفاوتی دارند. برای مثال کپک A.glaucus در محیط کشت با فشار اسمزی بالا رشد نمی‌کند، مگر اینکه محیط دارای ۴۰-۲۰٪ ساکارز یا معادل مولی آن کلرورسدیم داشته باشد.

کپک A.halophilicus برای اینکه رشد مناسبی داشته باشد، لازم است در غلظتهای بالایی از فشار اسمزی کشت داده شود (مثلاً غلظت ۷۰٪ ساکارز یا ۲۰٪ کلرورسدیم با رطوبت نسبی ۷۳٪ و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد).

با توجه به غلظت قند موجود در محیط کشت، خصوصیات مورفولوژیکی قارچها متفاوت است و لازم است با توجه به محیط کشت، میکروفلورهای اسموفیلیک[1] ارزیابی و انتخاب شوند. در واقع فشار اسمزی قابل تحمل، برای رشد و نمو قارچهای توکسین زا برابر با ۵۰ درصد غلظت ساکارز همراه با فشار اسمزی مؤثر ترکیبات محیط کشت می‌باشد. بنابراین مرباجات و ترکیبات غذاهایی که غلظت مواد قندی آنها حدود ۶۰ درصد به بالا است، از نظر توکسین‌زایی مواد غذایی مطمئن می‌باشند.

نمک طعام در غلظتهای کم (بین ۱ تا ۱/۵ درصد) بر روی رشد و نمو قارچ و تولید توکسین اثر تشدیدکننده دارد. از طرف دیگر اثر غلظت نمک طعام بر روی رشد و نمو قارچ و تولید توکسین، تابع درجه حرارت و رطوبت محیط می‌باشد. آزمایشات تجربی نشان می‌دهد که در ۲۸°C اثر بازدارندگی نمک در غلظت ۱۴ درصد است. واتراکتیویته[2] (aw) نیز در رابطه با اثر غلظت نمک بر روی رشد و نمو قارچ و تولید توکسین بسیار مؤثر است. در شرایطی که رطوبت محیط در حداقل واتراکتیویته (۸۲٪) قرار داشته باشد، غلظت ۱/۵ درصد نمک طعام هم اثر بازدارندگی نشان می‌دهد (۱۴، ۱۳ و ۲).

۵ـ pH

اغلب قارچها در دامنه pH: ۸-۴ قادر به رشد هستند، اما بعضی از آنها بر روی محیطهای خیلی اسیدی و یا خیلی قلیایی نیز رشد می‌کنند (۱۴، ۱۳ و ۲).

---

1. Osmophilic Microflora
2. Water Activity

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

دامنه تحمل pH، در بعضی از قارچها خیلی محدود و در بعضی دیگر بسیار وسیع است. اثر pH در تولید مایکوتوکسینها در انواع قارچها بستگی به شرایط محیط کشت، ترکیبات غذایی محیط کشت، وگونه قارچ تولیدکننده توکسین دارد. برای مثال قارچ آسپرژیلوس فلاووس در محیط کشت‌هایی که pH اولیه آنها کمتر از ۴ است رشد نمی‌کند. بررسی رشد و توانایی تولید آفلاتوکسین طی فرآیند تخمیر در قارچ آسپرژیلوس فلاووس مشخص کرده که در ابتدای تخمیر که روند درجه pH رو به کاهش است آفلاتوکسین تولید نمی‌شود، ولی بعد از اینکه درجه pH محیط افزایش می‌یابد تولید آفلاتوکسین نیز شروع می‌شود، به صورتی که در روز سوم تخمیر (pH = ۴/۷) ما کزیمم مقدار آفلاتوکسین تولید می‌شود (۲۳).

امروزه مشخص شده است که کاهش روند تولید آفلاتوکسین در انواع قارچها و درجه‌های متفاوت pH ناشی از تأثیر غلظت یونهای هیدروژن بر متابولیسم تولید مواد مختلف در کپکها است. البته شرایط تنفس (هوازی بودن یا بی‌هوازی بودن) درجه اسیدیته محیط، نیز روی رشد و تولید انواع مایکوتوکسین در قارچها مؤثر است.

٦- ترکیب گازی اتمسفر

٦-١- غلظت اکسیژن

اکسیژن امکان تنفس را برای قارچها فراهم می‌آورد و مهمترین فاکتور رشد است، زیرا اکثر کپکها هوازی‌اند.

کپک Mucor و Thrichoderma برای رشد نیاز به غلظت بالای اکسیژن دارند، بنابراین در سطح سوبسترا یا ماده غذایی رشد می‌کنند. در حالی که کپک Stachybotrys و periconia به غلظت پائین‌تری از اکسیژن نیاز دارند و بنابراین در بخش‌های عمیق‌تر سوبسترا رشد می‌کنند.

رشد و اسپوزایی با توجه به ترکیبات هوا یا اتمسفر، در جنسهای آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم متفاوت است. بعضی از آنها در فلاسکهایی که متحرک‌اند و محیط کشت را تکان می‌دهند از بین می‌روند و در اتمسفری رشد می‌کنند که نیتروژن دارد (محیط فاقد اکسیژن) (۲۳، ۱۷ و ۵).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۶-۲- غلظت دی‌اکسیدکربن

دی‌اکسیدکربن اتمسفر فاکتور دیگری است که تأثیر ویژه‌ای بر روی رشد و شکل ظاهری قارچها دارد. A.niger در غلظت پائین CO_2، اسپورهایش جوانه می‌زنند و A.flavus در غلظت بالای CO_2 رشدش متوقف می‌شود.

البته قابل ذکر است که پارامترهای مختلف فیزیکوشیمیایی یکدیگر را تحت تأثیر قرار می‌دهند و درنتیجه ممکن است چندین گونه کپک به طور همزمان، در یک سوبسترا حضور یابند. بعضی اوقات تأثیر پارامترهای مختلف در محیط شرایطی ایجاد می‌کند، که می‌توان محصول و متابولیت معینی را به دست آورد و یا اینکه شرایطی در محیط کشت ایجاد شود که قارچها قادر به رشد نباشند، (برای مثال ایجاد الکل یا اسید). در بسیاری از مواقع نیز خیلی از گونه‌های کپکها خود را با شرایط محیط سازگار کرده و می‌توانند در انواع شرایط محیطی، زندگی کنند.

وجود اکسیژن برای رشد قارچ و ایجاد اسپور ضرورت کامل دارد، ولی دی‌اکسیدکربن از تولید توکسین جلوگیری می‌کند.

قارچها می‌توانند مقادیر زیاد CO_2 را تحمل نمایند، بطوری که اگر غلظت CO_2 از ۳٪ به ۲۰٪ افزایش یابد، کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد قارچ و تولید اسپور ایجاد نمی‌شود. ولی در غلظت ۷۵٪ CO2، از تولید مایکوتوکسین کاسته می‌شود. در تراکم ۱۰۰٪ CO_2، هم رشد قارچ و هم تولید مایکوتوکسین متوقف می‌شود (۵).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Apinis., A. E. 1963. -- Thermophilous fungi of coastal grasslands. Soil Organisms. Proc. Colloquium on soil fauna, soil microflora and their relationships, p. 427-438, North Holland Publishing Co.
2- Boutrif, E. 1995. FAO programmes for preventions regulation, and control of mycotoxins in food. Natural toxins, 3(4), 322-326.
3- Brooks., F. T. et Hansford C. G. 1923. -- Mould growth upon cold store meat. Trans. Brit. Mycol. Soc., t. VII, p. 113-114.
4- Chelkowski, J. 1980. Formation of mycotoxins and detoxification in cereal grains. Roczniki, Academii Rolniczej wpoznaiv, Rozprawynavkowe Nukoo pp 47.
5- Cochrane., V. W. 1958. -- Physiology of fungi. 524 p., John Willy and Sons, New York.
6- Cooney., D. G. et Emerson R. 1964. -- Thermophilic fungi. 188p., Freeman and Co, San Francisco.
7- Davison., S. et Marbrook J. 1965. -- The effect of temperature on the toxicity of spores of Pithomyces chartarum (Berk, et Curt.) M.B. Ellis. New Zealand J. Agric. Res., t. VIII, p. 126-130.
8- Dowell, F., Smith, J. 1995. Anore on high moisture content foreign material effects on aflatoxin in peonuts during storoge. Peanut science, 22(2), 166-168.
9- Draughhon, F. A, Mobley, DC, 1989. Effects of temperature moisture content and inoculum on concurrent production of aflatoxin and ochratoxin during fungal competition. Bilographic citation. pp 351-354.
10- Golinsk, P. Wiewivowska, M. 1987. Mycotoxins in cerel grain. Bilographic citation, Nahrung, 31(1) 81-84.
11- Guo, B. Z. Russin, J. S, Brown, R. L., Cleve and, T. E., Widstrom, N. W. 1996. Resistance to aflatoxin contamination in corn as influenced by relative humidity and kernelgermination. Journal of food protection, 59(3) 276-281.
12- Hagen., P.O. 1971. -- The effect of low temperatures on microorganisms: conditions under which cold becomes lethal. in Hugo W. B., Inhibition and destruction of the microbial cell, p. 39-76, Academic press.
13- Hawker., L. E. 1950. -- Physiology of fungi. 360 p. Univ. London Press.
14- Lilly., V. G. et Barnett H. L. 1951. -- Physiology of the fungi. 464 p.,Mc Graw Hill, New York.
15- Majerus, P. Woller, R. Leeviva, T.P, Klintrimas, T. 1985. Spices mould contamination and content of aflatoxins and sterigmatocystin. Bilographic citution fleischwirtschaft, 65(9) 1155-1158.
16- Nowotny, P. Bultes, W. Kraenert, W. Weber, R. 1983. Study of commerical cheese sumples for the mycotoxins. Lebensmittlchemie und - Gerichtliche, chemie, 37(3), 71-72.
17- Salunkhe, D. K., Adsule, R.N. Pandule, DN. 1987. Aflatoxins in food and feeds. Metropolitan New dehle India.
18- Scott., W. J. 1957. -- Water relations of food spoilage microorganisms. Adv. Food Res., t. VII, p. 83-127.
19- Snow., D. 1949.-- The germination of mould spores at controlled humidities. Ann. Apl. Biol., t. XXXVI, p. 1-13.
20- Snow., D. 1945. -- Mould deterioration of feeding stuffs in relation to humidity of storage. Part. III. The isolation of mould species from feeding stuffs stored at different hunidities. Ann. Appl. Biol., t. XXXII, p. 40-44.
21- Somson, R. A. Hoekstra, E.S. Frisvad, J.C. 1995. Introduction to food-borne fungi filtenborg O, Ed, 4, ii * 322 pp.
22- Sorger., Domenigg H., Cuendet L.S., Chistensen C.M. et Geddes W.F. 1955.--Grain storage studies XVII. Effect of mold growth during temporary exposure of wheat to high moisture contents upon the development of germ damage and other indices of deterioration during subsequent storage. Cer. Chem., t. XXXII, p. 270-284.
23- Tabak., H. H. et Cook W. B. 1968. -- Growth and metabolism of fungi in an atmospher of nitrogen. Mycologia, t. LX, p. 115-140.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل چهارم

آفلاتوکسین

۱- تاریخچه

زمان دقیق شناسایی آفلاتوکسینها مشخص نشده است، اما بطور یقین، زمان آن به قبل از سال ۱۹۶۰ مربوط می‌شود. به‌دنبال مسمومیت اتفاقی در بسیاری از گونه‌های حیوانی و در نتیجه مطالعات در این زمینه، بشر برای اولین‌بار به وجود آنها پی برد. در واقع با پی‌بردن به‌ارزش غذایی دانه‌های روغنی، برای تغذیه دام و انتقال این مواد از مناطق معتدله و اضافه کردن آنها به‌جیره غذایی حیوان، این مسمومیتها بوقوع پیوست.

در سال ۱۹۶۰ در فاصله چند ماه متجاوز از ۱۰۰/۰۰۰ بوقلمون در مزارع ماکیان جنوب و شرق انگلستان در اثر ابتلا به عارضه‌ای نامعلوم از بین رفتند. مطالعات بعدی نشان داد که این مشکل تنها به بوقلمون‌ها محدود نمی‌شود، بلکه جوجه اردکها و جوجه قرقاولها هم تحت تأثیر این بیماری قرار گرفتند و حساسیت بسیار نشان دادند. مقارن همین زمان بود که گزارشهایی از کنیا و اوگاندا رسید که حکایت از مشکلی مشابه، برای جوجه اردکها داشت. درهمین ایام نیز در امریکا شیوع یک ناراحتی کبدی در ماهی قزل‌آلا گزارش گردید (۳۱، ۲۸، ۴ و ۵).

بلافاصله پس از این حوادث آزمایشگاههای متعددی در امریکا وانگلستان بسیج شدند، تا این عارضه را پی‌گیری کرده وعلت اصلی آنرا مشخص کنند. گروههایی از متخصصین دامپزشکی، میکروبیولوژی، تغذیه، شیمی‌آلی و معدنی با بکار گرفتن تکنیک‌های مدرن و پیشرفته درعلوم مربوط، فعالیتهای تحقیقاتی را آغاز کردند.

علائم این عارضه در پرندگان عبارت بود از: بی‌اشتهایی، خواب‌آلودگی، ضعیف شدن بالها، انحنای گردن و در نهایت مرگ حیوان که در فاصله زمانی ۳ الی ۴ هفته اتفاق می‌افتاد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آزمایشهای کالبد شکافی، از خونریزی، نکروزه[1] شدن کبد و تورم کلیوی حکایت می‌کرد. بررسیهای نسجی نشان داد که در سلولهای پارانشیم کبد، آتروفی[2] و در سلولهای اپی‌تلیوم لوله صفراوی، بشدت هایپرپلازی[3] ایجاد شده است (۳۱، ۲۸، ۵ و ۴).

نه تنها حیوانات فوق، بلکه خوک، گوسفند و گوساله نیز تحت تأثیر این بیماری قرار می‌گرفتند.

علائم این بیماری مشابه مسمومیت با گیاهانی نظیر senecio می‌باشد. سمیت این گیاهان ناشی از وجود آلکالوئیدهای پیرولیزیدین[4] است.

در مطالعات گسترده دانشمندان دریافتند که علت این مرگ و میر، هیچ عامل ویروسی، باکتریایی و یا میکروارگانیسم نوظهوری نمی‌باشد. سرانجام محققین وجود ترکیبات سمی، در ماده غذایی مصرف شده توسط حیوانات را عنوان کردند.

بررسیهایی که در سال ۱۹۶۰ انجام گرفت، نشانگر این واقعیت بود که ماده سمی می‌بایست، منشأ قارچی داشته باشد. سپس قارچ را از مواد غذایی آلوده جدا نمودند. پس از کشت آن در محیط غذایی مناسب و کروماتوگرافی به کمک صفحات نازک، لایه متابولیتهای حاصل از قارچ، فلورسانس آبی و سبز در مقابل اشعه ماورای بنفش از خود ساطع می‌کنند. قارچ جدا شده آسپرژیلوس فلاووس[5] نام داشت و توکسین آن هم به عنوان آفلاتوکسین (Aspergillus flavus toxin)، نامیده شد (۴۶، ۳۱، ۲۸، ۵ و ۴).

درمیان مایکوتوکسینها، آفلاتوکسینها مهمترین آنهاهستند و بیماریهای ناشی‌از تغذیه مواد آلوده به آفلاتوکسین، خطرات قابل ملاحظه‌ای را برای انسان، دام و طیور به همراه دارد.

آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس[6] دوگونه مهم تولید کننده آفلاتوکسین، در بین گونه‌های مختلف آسپرژیلوسها هستند. این دو قارچ بعنوان یک عامل مولد فساد در فرآورده‌های انباری به حساب می‌آیند.

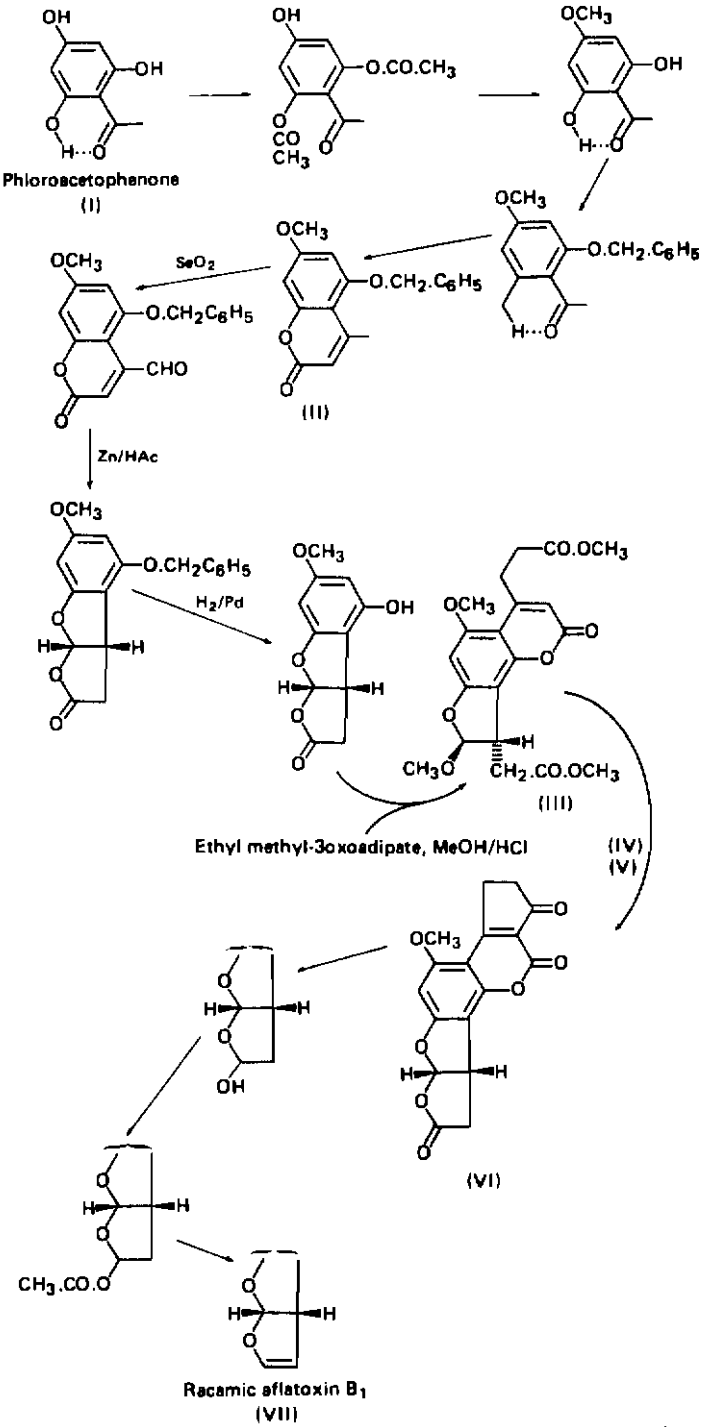
خصوصیات فیزیکو شیمیایی و مراحل بیوسنتز بعضی از آفلاتوکسینها و متابولیتهای آنها در جدول ۴-۱ و شکل ۴-۱ خلاصه شده است (۴۹، ۴۱ و ۱۱).

---

1. Necrosis
2. Atrophy
3. Hyperplasia
4. Pyrrolizidine alkaloids
5. Aspergilus flavus
6. Aspergillus parasiticus

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۴-۱- مراحل بیوسنتز آفلاتوکسینها (۴۹، ۴۱ و ۱۱)

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

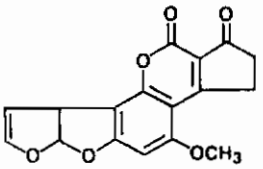
جدول ۴-۱. خصوصیات فیزیکو شیمیایی آفلاتوکسینها و متابولیتهای آنها

آفلاتوکسین	فرمول مولکولی	وزن مولکولی	نقطه ذوب °C	جذب UV		نشر فلئورسنس nm
				۲۶۵nm	۳۶۰-۳۶۲nm	
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	۳۱۲	۲۶۸-۲۶۹	۱۲۴۰۰	۲۱۸۰۰	۴۲۵
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	۳۱۴	۲۸۶-۲۸۹	۱۲۱۰۰	۲۴۰۰۰	۴۲۵
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	۳۲۸	۲۴۴-۲۴۶	۹۶۰۰	۱۷۷۰۰	۴۵۰
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	۳۳۰	۲۳۷-۲۴۰	۸۲۰۰	۱۷۱۰۰	۴۵۰
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	۳۲۸	۲۹۹	۱۴۱۵۰	(۳۵۷nm)۲۱۲۵۰	۴۲۵
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	۳۳۰	۲۹۳	(۲۶۴nm)۱۲۱۰۰	(۳۵۷nm)۲۲۹۰۰	-
P_1	$C_{16}H_{15}O_6$	۲۹۸	>۳۲۰	(۲۶۷nm)۱۱۲۰۰	(۲۶۲nm)۱۵۴۰۰	
Q_1	$C_{17}H_{12}O_7$	۳۲۸	-	(۲۶۷nm)۱۱۴۵۰	(۳۶۶nm)۱۷۵۰۰	-
آفلاتوکسیکول	$C_{17}H_{14}O_6$	۳۱۴	۲۳۰-۲۳۴	(۲۶۱nm)۱۰۸۰۰	(۳۲۵nm)۱۴۱۰۰	۴۲۵

۲- انواع آفلاتوکسین

۲-۱- آفلاتوکسین B_1

آفلاتوکسین B_1 با وزن ملکولی ۳۱۲ و با فرمول $C_{17}\ H_{12}\ O_2$ در مقابل نور ماورای بنفش، فلورسانس آبی نسبتاً قوی از خود نشان می‌دهد. این آفلاتوکسین به شکل بلورهای کریستالی بی‌رنگی است و در حرارت ۲۶۹-۲۶۸ درجه سانتی‌گراد که نقطه ذوب آن است، تجزیه می‌شود. لازم به تذکر است که اخیراً فرم راسمیک آفلاتوکسین B_1 نیز سنتز شده است.



شکل ۴-۲- ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_1

Www.Negashteh.Com

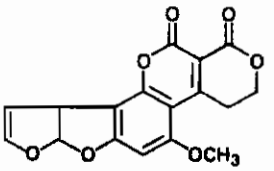
Www.Negashteh.Com

۲-۲- آفلاتوکسین G_1

آفلاتوکسین G_1 با وزن ملکولی ۳۲۸ و با فرمول $C_{17}\ H_{12}\ O_7$ که در برابر اشعه ماورای‌بنفش ساطع کننده نور فلورسانس سبز است.

شواهد اخیر نشان می‌دهد که فلورسانس سبز آفلاتوکسین G_1 احتمالاً بدلیل ناخالصی زردرنگی است که می‌توان آن را جدا نمود. در واقع آفلاتوکسین خالص G_1 فلورسانس آبی از خود نشان می‌دهد.

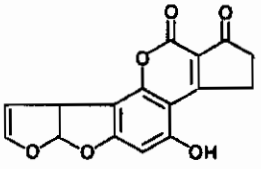
نقطه ذوب این آفلاتوکسین ۲۴۶-۲۴۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۴۲، ۱۶، ۳۲ و ۱۲).



شکل ۴-۳. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین G_1

۲-۳- آفلاتوکسین P_1

آفلاتوکسین P_1 متابولیتی است که در اثر دمتیلاسیون آفلاتوکسین B_1 ایجاد می‌شود. در ادرار حیواناتی چون میمون می‌توان آن را ردیابی کرد. این آفلاتوکسین از کشت آزمایشگاهی قارچ آسپرژیلوس استخراج شده است (۴۲، ۳۲، ۱۶، ۱۵ و ۱۲).



شکل ۴-۴. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین P_1

۲-۴- آفلاتوکسین B_2 و G_2

آفلاتوکسین B_2 با وزن ملکولی ۳۱۴ و با فرمول $C_{17}\ H_{14}\ O_6$ و آفلاتوکسین G_2 با وزن ملکولی ۳۳۰ و با فرمول $C_{17}\ H_{14}\ O_7$ می‌باشد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

این آفلاتوکسینها به ترتیب در مقابل نور ماورای بنفش، فلورسانس آبی و سبز از خود ساطع می‌کنند. نقطه ذوب آنها نیز به ترتیب ۲۸۹-۲۸۶ و ۲۴۰-۲۴۷ درجه سانتی‌گراد است. آفلاتوکسینهای B_2 و G_2 را از هیدروژناسیون دقیق آفلاتوکسینهای B_1 و G_1 می‌توان بدست آورد (۴۲، ۳۲ و ۱۲).

آفلاتوکسین G_2 آفلاتوکسین B_2

شکل ۴-۵. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_2 و G_2

۲-۵- آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 و GM_1

اگر آفلاتوکسین B_1 به تنهایی یا همراه با آفلاتوکسینهای دیگر در خوراک دام بوسیله حیوانات خورده شود به توکسینهای دیگری در ترشحات و بافتهای آنها تبدیل می‌شود، که دوتا از این توکسینها که در شیر حیوانات مشخص گردیده است تحت عنوان توکسینهای شیر یا اصطلاحاً آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 نامیده می‌شوند (M از کلمه Milk به معنای شیر منشاء گرفته است). آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 از نظر ساختمانی به ترتیب مشتقات ۴ هیدروکسی آفلاتوکسین B1 و آفلاتوکسین B_2 هستند. خاصیت فلورسانس آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 ۳ مرتبه بیشتر از آفلاتوکسین B_1 است و خاصیت سرطانزایی، جهش‌زایی و سمیت آن مشابه آفلاتوکسین B_1 است، این توکسین بعد از اینکه آفلاتوکسین B_1 بوسیله حیوان خورده شود یا مستقیماً به حیوان تزریق گردد در اوره، مدفوع، عضلات، کبد و کلیه قابل تشخیص و شناسایی است. فرمول مولکولی آفلاتوکسین M_1 یک اکسیژن بیشتر از آفلاتوکسین B_1 دارد (فرم هیدروکسی). آفلاتوکسین M_1 شباهت ساختمانی زیادی با آفلاتوکسین B_2 و G_2 دارد و محصول هیدروکسیله شده آفلاتوکسین G_1 به نام آفلاتوکسین GM_1 خوانده می‌شود و شباهت زیادی به آفلاتوکسین

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

M_1 دارد. ترکیب حاصل از هیدروکسیله شدن آفلاتوکسین G_2 را GM_2 می‌خوانند که از نظر ساختمانی شباهت زیادی به آفلاتوکسین M_2 دارد(۳۲). اپتیمم، درجه pH برای تبدیل آفلاتوکسین B_1 به M_1 در کبد موجودات زنده‌ایی نظیر موش، سنجاب، میمون، گاو، مرغ و انسان در سیستم آنزیمی NADPH حدود ۸/۹ است و همچنین Km واکنش آنزیمی حدود ۰/۱۲ میلی‌مول و سرعت ماکزیمم واکنش (V_{max}) ۰/۴۴ نانومول در هر میلی‌گرم از پروتئینهای میکروزمال به‌ازای هر دقیقه می‌باشد. البته کبد بعضی از گونه‌های حیوانی از نظر آفلاتوکسین B_1 به M_1 ممکن است فعالتر باشند. مثلاً سرعت تبدیل در سنجاب و میمون به‌ترتیب ۱ و ۳ درصد است شرایط آزمایش و پارامترهایی نظیر pH و غلظت در سرعت تبدیل دخالت دارند. سمیت حاد آفلاتوکسین M_1 و تأثیر آن در ممانعت ازکد برداری RNA و سنتز پروتئینها درست باندازه آفلاتوکسین B_1 است ولی تأثیر آن بر DNA کمتر از آفلاتوکسین B_1 می‌باشد. قدرت سرطانزایی آفلاتوکسین M_1 $\frac{1}{10}$ قدرت سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 است و قدرت جهش‌زایی آن $\frac{1}{30}$ جهش‌زایی آفلاتوکسین B_1 می‌باشد.

آفلاتوکسین M_1 درجه حرارت پاستوریزاسیون را تحمل می‌کند و بررسیهای انجام شده با شیرهایی که بطور طبیعی و مصنوعی با آفلاتوکسین M_1 آلوده شده بودند مقاومت آفلاتوکسین M_1 را ثابت کرده‌اند. آفلاتوکسین M_1 درجه حرارت ۶۴°C را بمدت ۲ ساعت تحمل کرده و حالت اولیه خود را حفظ می‌کند ولی افزایش درجه حرارت ثبات ساختمانی آنرا کاهش می‌دهد. فرآیندهای مختلف حرارتی که برای تهیه انواع فرآورده‌های لبنی بکار می‌روند، نمی‌توانند پایداری آفلاتوکسین M_1 را کاهش دهند و همچنین مشخص شده است که پایداری آفلاتوکسین M_1 در طی فرآیند حرارتی به نوع آلودگی محصول بستگی ندارد و در شیر با آلودگی طبیعی و مصنوعی مقاومت به حرارت یکسانی داشته است (۵۱، ۴۶، ۳۲ و ۲۶). امروزه به‌کمک جذب سطحی خاک بنتونیت توانسته‌اند آفلاتوکسین موجود در شیر را حذف نمایند. ۲درصد بنتونیت باعث شده تا آفلاتوکسین M_1 و M_2 تا حد ۸۹ درصد از محیط حذف شود و استفاده بیشتر از بنتونیت باعث شده تا آفلاتوکسین بیشتری کاهش یابد. البته بنتونیت روی محتوای پروتین شیر تأثیر گذاشته و ثابت شده است به ازای مصرف هر ۲ درصد بنتونیت ۵ درصد (یا کمتر) از کل پروتئین شیر کاسته می‌شود. نتایج بررسیهای مختلف ثابت کرده است که می‌توان از بنتونیت بعنوان وسیله‌ای برای حذف آفلاتوکسین از شیرخام کمک گرفت. البته

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مطالعات دقیقتری برای تعیین ایمنی و حفظ مواد مغذی و خواص شیر درصورت کاربرد این روش باید انجام گردد تا مسلم شود که به کیفیت شیر لطمه‌ای وارد نشده و کاملاً سم‌زدایی می‌شود، و نیز از آن می‌توان در ساخت انواع فرآورده‌های لبنی استفاده نمود. آفلاتوکسین M_1 در pH بین ۶/۵ - ۴/۵ بسیار پایدار است. آزمایشات مختلف در pH های متفاوت این نظر را اثبات کرده است، به نظر می‌رسد که محیط اسیدی برای تجزیه آفلاتوکسین M_1 قدرت نداشته باشد. غلظتهای بالای آمونیاک نیز قادر است آفلاتوکسین M_1 را حتی در سطوح خارجی تر پنیر که آلودگی به آفلاتوکسین M_1 را دارند تخریب کند. برای انجام اینکار لازم است که آمونیاک در زمان طولانی و در غلظتهای بالا با محصول اینکوباسیون شود. مشخص شده است که آفلاتوکسین M_1 موجود در شیر کامل خام می‌تواند بوسیله آب اکسیژنه به همراه ریبوفلاوین و لاکتوپراکسیداز غیرفعال گردد. عمل خنثی کردن آفلاتوکسین M_1 به کمک این مواد در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت نیم ساعت صورت می‌گیرد و در طی آن اگر دما را تا ۶۳ درجه سانتی‌گراد افزایش دهند ۹۸ درصد کاهش آفلاتوکسین M_1 خواهیم داشت. این روش در صنایع لبنیات و تخمیر و تولید انواع محصولات لبنی نظیر پنیرسازی به دلیل مشکلات ایمنی و بیولوژیکی و تغییرات ویژگیهای تغذیه‌ای کاربرد ندارد (۵۱، ۳۲ و ۲۶). سولفیت پتاسیم سبب خنثی کردن آفلاتوکسین M_1 در شیر و فرآورده‌های شیری می‌شود. بیشترین درصد کاهش آفلاتوکسین یعنی ۴۵ درصد بوسیله سولفیت پتاسیم در غلظت ۵٪ مول و در درجه حرارت ۲۵°C در زمان ۵ ساعت بوده است. بابکارگیری غلظتهای بیشتر میزان حذف آفلاتوکسین M_1 کاهش یافته‌است (۳۳، ۳۲ و ۱۲).

توسط کروماتوگرافی کاغذی اشباع شده بوسیله فرمالدئید-آب به نسبت ۱۵ : ۸۵ و سیستم حلال اتیل استات - بنزن به نسبت ۱ : ۹ دو آفلاتوکسین M_1 و M_2 شناسائی شده است که در آن M_1 فلورسانس آبی مایل به بنفش و R_f = ۰/۳۴ و M_2 فلورسانس بنفش و با R_f = ۰/۲۳ را نشان می‌دهد.

گزارش شده است که شدت فلورسانس آفلاتوکسینهای M_1 و M_2 سه بار قوی‌تر از شدتی بوده که از آفلاتوکسین B_1 انتظار می‌رود.

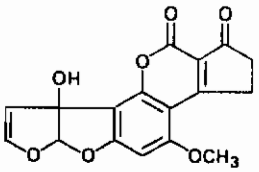
این توکسین در شرایط آزمایشگاهی نیز از آسپرژیلوس فلاووس جدا شده که نشان می‌دهد می‌توان در آزمایشگاه هم آن را تهیه و مورد مطالعه قرار داد.

Www.Negashteh.Com

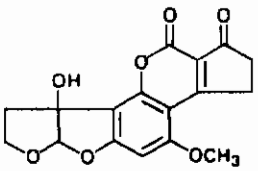
Www.Negashteh.Com

این آفلاتوکسینها بصورت کریستالهای جامد بوده و آفلاتوکسین M_1 دارای نقطه ذوب ۲۹۹ درجه سانتی‌گراد و آفلاتوکسین M_2 دارای نقطه ذوب ۲۹۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

فرمول شیمیایی آفلاتوکسین M_1، C_{17} H_{12} O_7 بوده و در واقع ۴-هیدروکسی آفلاتوکسین B_1 است. طیف ماورای‌بنفش و مادون قرمز این دو توکسین نیز شبیه یکدیگر است. آفلاتوکسین M_2 مشابه دی‌هیدرو آفلاتوکسین M_1 و در واقع ۴- هیدروکسی آفلاتوکسین B_2 است. به عبارتی از هیدروژنه شدن آفلاتوکسین M_1 حاصل می‌شود. فرمول شیمیایی آفلاتوکسین M_2، C_{17} H_{14} O_7 می‌باشد. گزارش شده است که سمیت آفلاتوکسین M_1 در واقع معادل آفلاتوکسین B_1 می‌باشد (۵۱، ۴۲، ۳۲ و ۱۲).



شکل ۴-۶. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین M_1



شکل ۴-۷. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین M_2

۴-۶- آفلاتوکسینهای B_{2a} و G_{2a}

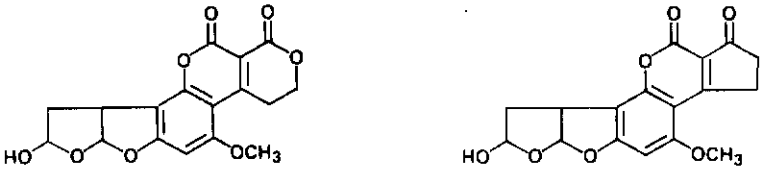
این دو آفلاتوکسین ترکیب هیدروکسی آفلاتوکسین و مشتق آفلاتوکسینهای B_2 و G_2 هستند. آفلاتوکسین B_{2a} ایزومر آفلاتوکسین M_2 با گروه هیدروکسیل در موقعیت ۲ مولکول است و آفلاتوکسین G_{2a} در واقع ۲- هیدروکسی آفلاتوکسین G_2 است.

در سال ۱۹۶۶ این دو مشتق در شرایط آزمایشگاهی از کشت آسپرژیلوس فلاووس جدا

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

شدند. همچنین با افزودن کاتالیزورهای اسیدی به سوسپانسیون آفلاتوکسین B_1 نیز می‌توان آنها را بدست آورد(۴۲، ۳۲ و ۱۲).

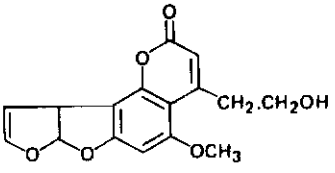


آفلاتوکسین G_2a آفلاتوکسین B_2a

شکل ۴-۸. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_2a و G_2a

۲-۷- آفلاتوکسین B_3

همان آفلاتوکسین B_1 است که در حلقه سیکلوپنتان آن اتانول جایگزین شده است و بنابراین در واقع ۶- متوکسی، ۷- دی‌فوروکومارین است. شکل زیر ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_3 را مشخص کرده است (۴۲، ۳۲ و ۱۲).



شکل ۴-۹. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_3

آفلاتوکسین B_3 را، پارازیتیکول[1] هم می‌نامند، و برای جوجه اردک بشدت سمی است ولی برای جنین مرغ سمیت کمتری نسبت به آفلاتوکسین B_1 دارد.

---

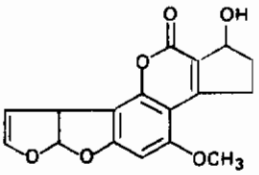
1. Parasiticol

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲-۸- آفلاتوکسین R_o یا آفلاتوکسین L یا آفلاتوکسیکول[1]

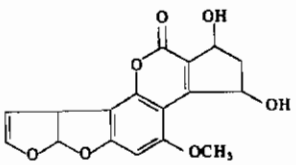
چنانچه بجای بخش کتونی سیکلوپنتان در آفلاتوکسین B_1، گروه هیدروکسیل قرار بگیرد، آفلاتوکسین حاصل را، آفلاتوکسین R_o گویند. این توکسین، تغییرات عمده‌ای را در پلاسمای موش صحرایی موجب می‌شود و خاصیت سرطانزایی دارد. این واکنش از تبدیل آفلاتوکسین R_o به آفلاتوکسین B_1 (هیدروژناسیون آفلاتوکسین R_o) صورت می‌گیرد. شکل زیر ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین R_o یا L را نشان می‌دهد (۳۲ و ۱۲).



شکل ۴-۱۰. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین R_o

۲-۹- آفلاتوکسین LH_1

آفلاتوکسین LH_1 مشتق دی‌هیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 است. شکل زیر ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین LH_1 را نشان می‌دهد.



شکل ۴-۱۱. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین LH_1

۲-۱۰- آفلاتوکسین LM_1

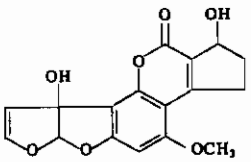
ترکیبی است که از احیای آفلاتوکسین M_1 بدست می‌آید. همچنین بوسیله اکسیداسیون آفلاتوکسین R_o یا آفلاتوکسیکول نیز حاصل می‌شود (۵۱، ۴۲، ۳۲ و ۱۲).

---

1. Aflatoxicol

Www.Negashteh.Com

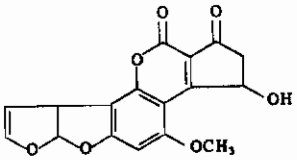
Www.Negashteh.Com



شکل ۴-۱۲. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین LM_1

۲-۱۱- آفلاتوکسین Q_1

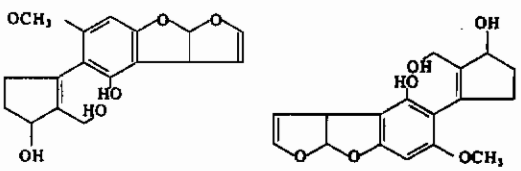
مشتق مونوهیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 است که گروه هیدروکسیل روی اتم کربن β کربنیل حلقه سیکلوپنتان واقع شده است و بررسیهای آزمایشگاهی[1] سمیت آن را در موش صحرایی، گاو و موش به اثبات رسانیده است.



شکل ۴-۱۳. ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین Q_1

۲-۱۲- آفلاتوکسین RB_1 و RB_2

آفلاتوکسینهای B_1 و B_2 احیا شده را، $AFRB_1$ و $AFRB_2$ می‌گویند.



آفلاتوکسین RB_2 آفلاتوکسین RB_1

شکل ۴-۱۴ ساختمان شیمیایی آفلاتوکسینهای RB_1 و RB_2

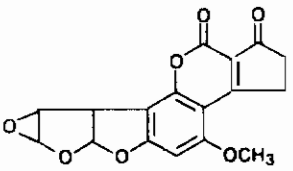
1. invitro

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴-۱۳- آفلاتوکسین B_1 - 2 , 3 - oxide

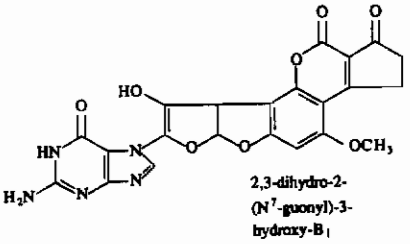
آفلاتوکسین B_1 - 2, 3 - oxide یا آفلاتوکسین B_1 - 8 , 9 - oxide یکی از ترکیبات حد واسط و متابولیسم آفلاتوکسین B_1 است و در واقع امروزه بر این اعتقاد هستند که این آفلاتوکسین شکل فعال یا ماده سرطانزایی نهایی حاصل از آفلاتوکسین B_1 است. قابلیت پیوند کوالانسی -اپوکسیدی که این ترکیب با ماکرو ملکول‌هایی نظیر DNA، RNA و پروتئینها انجام می‌دهد علت اصلی سمیت و سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 شناخته شده‌است.



شکل ۴-۱۵ ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_1 - 2, 3 - oxide

۴-۱۴- آفلاتوکسین o-alkyl

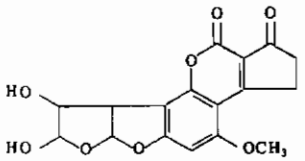
این آفلاتوکسینها ناشی از متوکسیله کردن آفلاتوکسینها می‌باشند. ساختمان برخی از مشتقات o-olkyl آفلاتوکسینها در شکلهای زیر مشخص گردیده است. علاوه بر مواد فوق‌الذکر، سایر مشتقات و متابولیتهای دیگری از آفلاتوکسینها خالص شده‌اند که ساختمان شیمیایی آنها در اشکال زیر مشخص گردیده است.



شکل ۴-۱۶ ساختمان شیمیایی مشتقات آفلاتوکسین

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۴-۱۷ ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین B_1 - دی‌هیدرودیول[1]

۳- روشهای حذف و غیرفعال کردن آفلاتوکسینها

۳-۱- روش فیزیکی

۳-۱-۱- درجه حرارت

حساسیت آفلاتوکسینها، در برابر حرارت تابع شرایط محیطی است. برای مثال وجود رطوبت در مواد غذایی باعث افزایش درصد تجزیه و از بین رفتن آفلاتوکسینها در برابر حرارت می‌شود و این کار تحت تأثیر هیدرولیز حلقه لاکتونی در غلظتهای مؤثر رطوبت و درجه‌حرارت انجام می‌گیرد. یا اینکه حضور رطوبت در محیط سبب تحریک واکنشهای شیمیایی در موقعیتهای مختلف بعضی مایکوتوکسینها شده و در نتیجه سمیت آنها را تغییر می‌دهد. یا حضور پروتئینها و سایر ترکیبات غذایی در محیط باعث حفظ و ثبات آفلاتوکسینها در مواد غذایی حرارت دیده می‌شوند که اینکار ناشی از کاهش نفوذ حرارت و تثبیت توکسین بوسیله اتصال با پروتئینها و سایر اجزای تشکیل دهنده نمونه غذایی است (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

در شرایطی که مایکوتوکسین خالص است مقاومت زیادی در برابر درجه حرارت دارد و برای تجزیه شدن نیاز به درجه حرارت‌های بالاتری دارد. نقطه ذوب ۹۰ درصد از مایکوتوکسینها بالاتر از ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است و ۷۰ درصد از توکسینهای قارچی نقطه ذوب ۲۵°C-۱۵۰ دارند. در جدول زیر لیست مایکوتوکسینهایی آمده است که در درجه حرارت ذوبشان تجزیه می‌شوند.

1. B1- dihydrodiol

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۲ - مایکوتوکسینهایی که در نقطه ذوبشان تجزیه می‌کردند.

مایکوتوکسین	درجه حرارت °C
Atlatoxin B_1	۲۶۸-۲۶۹
Atlatoxin B_1 aldehyde	۲۷۳-۲۷۶
3-Hydroxy atlatoxin B_1	۲۸۰
Aflatoxin D_1	۲۵۵-۲۵۸
Aflatoxin Q_1	۲۶۶
Agroclavine	۱۹۸-۲۰۳
Alternariol	۳۵۰
Alternariol methyl ether	۲۶۶-۲۷۰
Cyclochlorotine	۲۵۱
Cytochalasine E	۲۰۶-۲۰۸
Ergocryptine	۲۱۲
Errgometrine	۱۶۲-۱۶۳
Ergotamine	۲۱۲-۲۱۴
Flavutoxin	۳۵۰
Gliotoxin	۲۲۱
Ibotenic acid	۱۴۵
Lysergic acid	۲۴۰
Malformin C	۳۰۰
Maltorhyzine	۶۹
Muscazone	۱۹۰
Muscimol	۱۷۲-۱۷۴
Phalloin	۲۵۰-۲۸۰
Rubratoxin B	۱۸۵-۱۸۶
Ruguiosin	۲۹۰
Sterigmatocystin	۲۶۵
Tremortin A	۲۱۰-۲۳۰
Tremortin B	۱۸۵-۱۹۵
Verruculogen (TR.1)	۲۳۳-۲۳۵
Viomellein	۲۶۰

برای افزایش درصد تجزیه و کاهش انواع مایکوتوکسینها و بخصوص آفلاتوکسینها در مواد غذایی انواع روشهای حرارتی وجود دارد که عبارتند از :

الف - بریان کردن مواد غذایی[1]

مواد غذایی حاوی آفلاتوکسین و یا اوکراتوکسین چنانچه به‌مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت بالاتر از ۲۰۰°C-۱۵۰ سرخ شوند، سمیت آنها به میزان ۸۰-۴۰ درصد کاهش می‌یابد.

1. Roasting

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

در مواردی که مایکوتوکسینها داخل بافت میسلیومی قارچ جای گرفته است روش بریان کردن درصد کمی از توکسینها راکاهش می‌دهد(۳۲، ۳۱).

ب - پخت بصورت نان یاکیک یا پخت در فر[1]

درجه حرارتهای ۱۲۰°C-۹۰ فر سبب می‌شود که ۸۰ درصد آفلاتوکسین در نان یاکیکی که ۲۰ درصد آفلاتوکسین داشته، تجزیه شود (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

ج - پخت در محیطهای آبکی[2] **یا پخت مرطوب**

درصد تجزیه آفلاتوکسینها و بخصوص آفلاتوکسین B_1 در محیطهای آبکی و در درجه‌حرارتهای ۱۲۰°C به‌مدت ۲۰ دقیقه افزایش می‌یابد. زیرا در این روش حلقه لاکتونی آفلاتوکسین بلوکه شده و خصوصیات خود را از دست می‌دهد، برای تأثیر بهتر درجه‌حرارت مرطوب، را با فشار توأم می‌کنند. تأثیر درجه حرارت توأم با فشار در مقایسه با سایر روشهای حرارتی در تجزیه و خنثی کردن آفلاتوکسینها در جدول مقایسهٔ روشهای حرارتی برای تجزیه آفلاتوکسینها مشخص شده است.

بنظر می‌رسد که فاکتورهای موجود در مواد غذایی تأثیر زیادی در اثر حرارت مرطوب دارند. برای مثال مواد غذایی که درصد چربی بالایی دارند و یا روغن آنها زیاد است در برابر تجزیه شدن آفلاتوکسینها در روش حرارت مرطوب مقاومت زیادی از خود نشان می‌دهند. (۳۳، ۳۲).

همچنین در جدول ۴-۳ درصد تجزیه آفلاتوکسین B_1، M_1 و اوکراتوکسین در مواد غذایی مختلف تحت تأثیر شرایط مختلف حرارتی نشان داده شده است.

در روشهای جدید و پیشرفته تهیه مواد غذایی و تهیه خوراک دام حرارتهایی اعمال می‌گردد تاکیفیت محصولات در ضمن فرآیند تهیه افزایش یافته و نیز درصد کاهش و میزان تجزیه انواع مایکوتوکسینهای موجود در آنها نیز افزایش یابد. در جدول ۴-۵انواع درجات حرارت و روشهای پیشرفته کاربردی برای ایمن سازی و تهیه خوراک‌دام مشخص شده است.

---

1. Baking 2. Cooking

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۳ تأثیر فرآیندهای مختلف حرارتی بر میزان تجزیه انواع مایکوتوکسینها در فرآورده‌های غذایی و خوراک دام

نوع فرآورده	روش بکار رفته حرارتی	درصد تجزیه
	آفلاتوکسین B_1	
بادام‌زمینی	بریان کردن در ۱۵۰°C بمدت ۳۰ دقیقه	۸۰
بادام‌زمینی	بریان کردن خشک	۶۹
بادام‌زمینی	بریان کردن روغنی	۶۵
فرآورده‌های بادام‌زمینی	بریان کردن در ۲۰۴°C	۴۰-۵۰
ذرت	بریان کردن در ۱۶۵°C-۱۴۵	۴۰-۵۰
دانه‌های روغنی	بریان کردن در ۱۹۰°C بمدت ۱۵ دقیقه	۸۰
آرد دانه روغنی	بریان کردن در ۱۹۰°C بمدت ۱۵ دقیقه	۶۰
دانه روغنی	سرخ کردن در ۱۹۰°C بمدت ۶ دقیقه	۶۰
آرد گندم	پخت در فر	۶۰-۹۰
آرد گندم	پخت در فر با دمای ۱۲۰°C بمدت ۳۰ دقیقه	۸۰
محلول آبی	حرارت ۱۲۰°C بمدت ۲۰ دقیقه	کمی
آرد بادام‌زمینی	اتوکلاو در ۱۲۰°C بمدت ۴ ساعت	۹۵
میوه‌ها و ادویه‌ها	اتوکلاو در ۱۲۰C بمدت ۳۰ دقیقه	۲۹-۳۹
میوه‌ها و ادویه‌ها	اتوکلاو در ۱۲۰°C بمدت ۶۰ دقیقه	>۵۰
میوه‌ها و ادویه‌ها	حرارت خشک در آون ۶۰°C بمدت ۶۰ ساعت	۲۲-۷۷
روغن بادام‌زمینی	حرارت دادن در ۱۲۰°C بمدت ۱۰ دقیقه	۵۰
روغن بادام تصفیه نشده	حرارت بالاتر از ۲۵۰°C	ناچیز
روغن نارگیل	حرارت دادن در ۲۱۵°C-۱۸۰ بمدت ۱۰ دقیقه	۴۱
آرد بادام‌زمینی	پخت در حرارت ۱۰۰°C بمدت ۲ ساعت	۳۴
آرد پنبه دانه	پخت در حرارت ۱۰۰°C بمدت ۲ ساعت	۸۰
برنج	جوشاندن خیلی زیاد	-
برنج	پخت تحت فشار و حرارت ۱۲۰°C	۷۳
برنج	پخت معمولی	۴۹
برنج	پخت تحت فشار و آب زیاد	۸۲
آرد ذرت فشرده	جوشاندن	۲۸
آرد ذرت فشرده	سرخ کردن	۳۳-۵۳
آرد ذرت	پخت در فر و بصورت کماج	۱۳
جو خیسانده	پخت معمولی	۷۲-۸۶
ذرت	پخت در فر بصورت کیک	۷۰
	آفلاتوکسین M_1	
پنیر	حرارت دادن در ۹۰°C بمدت ۳۰ دقیقه	۹
	اوکراتوکسین A	
قهوه	بریان کردن	۸۰-۹۰
دانه قهوه سنبله‌دار	بریان کردن در ۲۰۰°C بمدت ۵ دقیقه	۱۰۰
دانه قهوه تلقیح‌نشده	بریان کردن در ۲۰۰°C بمدت ۲۰-۱۰ دقیقه	۰-۱۲
فرآورده‌های غلات	اتوکلاو کردن در ۱۲۰°C بمدت ۳ ساعت	۷۰
جو خیسانده	پخت معمولی	۷۲-۷۳
	وُمی توکسین	
آرد گندم	پخت در فر	۱۹-۶۹

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۴ درصد تجزیه آفلاتوکسین را در انواع روش‌های حرارتی و انواع مواد غذایی

ماده غذایی	درصد تجزیه	روش حرارتی
روغن بادام‌زمینی	۵۰	حرارت در ۱۲۰°C بمدت ۱۰ دقیقه
روغن بادام‌زمینی تصفیه نشده	اندکی	حرارت بالاتر از ۱۵۰°C
روغن بادام‌زمینی	اندکی	حرارت بالاتر از ۲۵۰°C
روغن نارگیل	۴۱	حرارت در ۲۱۹°C-۱۸۰ بمدت ۱۰ دقیقه
روغن زیتون	اندکی	حرارت بالاتر از ۲۰۰°C
روغن زیتون	۶۵	حرارت بالاتر از ۲۵۰°C
محلول آبی	اندکی	حرارت در ۱۲۰°C بمدت ۲۰ دقیقه
بادام‌زمینی	۵۹-۳۵	حرارت خشک در ۱۰۵°C
آرد بادام‌زمینی	۶۶	پخت در ۱۰۰°C بمدت ۲ ساعت و رطوبت ۳۰ درصد
آرد پنبه‌دانه	۸۰	پخت در ۱۰۰°C بمدت ۲ ساعت
برنج	۴۹	پخت معمولی
برنج	۷۳	پخت توأم با فشار در ۱۲۰°C
برنج	۸۲	پخت توأم با فشار و افزایش آب
شلتوک برنج	۱۰۰	جوشاندن زیاد توأم با فشار ۲۰PSI در مدت ۱۰ دقیقه
جو خیسانده	۸۶-۷۲	پخت معمولی
کیک ذرت	اندکی	پخت در شرایط قلیایی
ذرت	۴۰	پخت در فر بصورت کیک
ذرت	۴۶	پخت در فر بصورت کیک
آرد ذرت	۲۸	جوشاندن
آرد بادام‌زمینی	۹۵	اتوکلاو در ۱۲۰°C بمدت ۴ ساعت
میوه‌ها و ادویه‌ها	۳۹-۹	اتوکلاو در ۱۲۰°C بمدت ۳۰، دقیقه
میوه‌ها و ادویه‌ها	> ۵۰	اتوکلاو ۱۲۰°C بمدت ۶۰ دقیقه
بادام‌زمینی	۱۰۰ و ۹۶ و ۷۲	اتوکلاو در ۱/۵ اتمسفر و زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه
میوه‌ها و ادویه‌ها	۷۷-۲۲	آون کردن بصورت خشک دمای ۶۰°C بمدت ۶ ساعت
آرد گندم	۹۰-۶۰	پخت در فر
آرد گندم	۸۰	پخت در فر در ۱۲۰°C بمدت ۳۰ دقیقه
آرد ذرت	۱۳	پخت در فر بصورت کماج
ذرت	۷۰	پخت در فر بصورت کیک
آرد ذرت	۵۳-۳۳	سرخ کردن
دانه روغنی (Pecan)	۶۰	سرخ کردن در روغن در ۱۹۰°C بمدت ۶ دقیقه
بادام زمینی	۶۵	بریان کردن در روغن ۳۴۵°C-۳۲۵ بمدت ۷-۳ دقیقه
ذرت	۸۱-۴۰	بریان کردن در ۱۶۵°C-۱۴۵
دانه روغنی (Pecan)	۸۰	بریان کردن در ۱۹۰°C بمدت ۱۵ دقیقه
آرد دانه روغنی	۶۰	بریان کردن در ۱۹۰°C بمدت ۱۵ دقیقه
آردبادام‌زمینی	۸۳-۴۱	بریان کردن در ۲۰۴°C
بادام زمینی لپه شده	۸۳-۵۰	بریان کردن در ۱۵۰°C بمدت ۳۰ دقیقه
بادام زمینی که مصنوعاً آلوده شده	۴۵-۳۰	بریان کردن در ۱۵۰°C بمدت ۳۰ دقیقه
بادام زمینی	۷۹-۵۸	بریان کردن خشک در ۴۰۰°C-۲۵۰ بمدت ۳۰-۵ دقیقه
دانه روغنی	۹۰-۶۰	بریان کردن خشک در ۱۹۱°C بمدت ۱۵ دقیقه
بادام زمینی	۹۵	بریان کردن با مایکروویو (۶kw) بمدت ۴ دقیقه
بادام زمینی	۹۵	بریان کردن با مایکروویو (۱/۶kw) بمدت ۱۶ دقیقه
بادام‌زمینی که مصنوعاً آلوده شده	۴۵-۳۰	بریان کردن با مایکروویو (۰/۷kw) بمدت ۸/۵ دقیقه
بادام زمینی	۷۱-۴۸	بریان کردن با مایکروویو (۰/۷kw) بمدت ۸/۵ دقیقه

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۵ روشهای پیشرفته حرارتی برای ایمن‌سازی خوراک دام از مایکوتوکسینها

روش حرارتی	شرایط اعمال حرارت
بخار	بخار در شرایط اتمسفر معمولی بمدت ۳۰-۱۵ دقیقه
	یا بکارگیری بخار در اتمسفر ۷۵PSI-۲۵ بمدت ۵-۶ دقیقه
پخت بصورت انفجاری	بخار خشک در اتمسفر ۴۳PSI-۳۳ بمدت ۲۵-۲۰ ثانیه
بریان کردن با حرارت خشک	حرارت بالاتر از ۱۴۹°C-۱۲۸
اشعه مادون قرمز	حرارت ۱۴۹°C بمدت ۵۰-۲۰ ثانیه
بودادن (تفت دادن)	حرارت ۴۲۷°C-۳۷۰ بمدت ۲۰-۱۵ دقیقه

۳-۱-۲- استفاده از صافیها

امروزه به‌کمک صافیها و عمل فیلتراسیون در صنایع مختلف بخصوص صنایع روغن‌کشی قادرند ۱۰۰ درصد آفلاتوکسین موجود در روغنهای خوراکی را حذف نمایند (۳۲، ۳۱). عمل سانتریفوژ کردن قادر است فقط ۶۵ درصد آفلاتوکسین موجود در روغن بادام‌زمینی را رسوب داده و حذف نماید و ۳۵ درصد باقی‌مانده را می‌توان به‌کمک خاکهای فعال شده و جذب سطحی آفلاتوکسین بر روی آنها از محیط غذایی دور نمود. از اینرو صافیهای بالشتک مانند به گونه‌ای طراحی می‌شوند که بعنوان ابزاری در صنایع روغن‌کشی بدون ایجاد زیان و یا داشتن هزینه بالا استفاده شوند. فیلترهای مخصوص جذب سموم در مرحله اول عبور روغن ۸۵ درصد آفلاتوکسین را حذف می‌کنند و بعد از عبور مجدد روغن از میان آنها قابلیت حذف آفلاتوکسین به ۱۰۰ درصد می‌رسد. مقدار جذب آفلاتوکسین تابعی از نوع خاک مورد استفاده در صافی است. قدرت جذب خاک نیز بستگی به عوامل محیطی دارد. برای مثال در pH خنثی ۱۰۰ میلی‌گرم آفلاتوکسین B_1 بوسیله ۱۰۰ میلی‌گرم کربن فعال جذب می‌شود، و در شرایط pH اسیدی و قلیایی قدرت جذب آن بالاست اما نه به‌اندازه شرایط pH خنثی.

اندازه و مناسبت صافیها برای استفاده در آزمایشگاه، پایلوت، و یا صنعت نیاز به‌بررسی و کنترل دارد (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

۳-۱-۳- جداسازی مکانیکی

جداسازی مکانیکی یا سورت محصولات کشاورزی آلوده به آفلاتوکسین، به عنوان یک روش فیزیکی خنثی سازی و یا غیرفعال نمودن آفلاتوکسینها نبوده، بلکه سیستمی است جهت

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

پیشگیری از رشد و توسعه و نفوذ عوامل تولیدکننده انواع آفلاتوکسین در محصولات کشاورزی و بخصوص محصولات غذایی. بنابراین توصیه‌های زیر به عنوان ساده‌ترین راهها برای حفظ کیفیت محصولات و همچنین حذف آفلاتوکسین ارائه می‌گردد: (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲):

- محصولات حساس و آسیب‌پذیر در برابر حمله قارچها و آلودگی به سموم قارچی، باید در محیطی مناسب انبار، نگهداری و حمل و نقل شوند.

- هنگام تهیه و استفاده از غذای دام در مواردی که آلودگی قارچی زیاد است، محصول کنار گذاشته شود، همچنین غذای‌دام و طیور در شرایط مناسبی ازنظر درجه‌حرارت و رطوبت نگهداری شوند تا از رشد و تکثیر قارچها و آلودگی به سموم قارچی مصون باقی بمانند.

- دستگاههای انتقال و تغذیه دامها نیز باید دارای امکانات نظافت و ضد عفونی باشند.

- داخل مخازن غذا بخصوص بخشهای قیفی شکل باید کاملاً صیقلی بوده و هم‌زنی جهت بهم زدن محتویات داشته باشد تا امکان چسبیدن مواد به گوشه‌ها و یا جدارهای مخازن وجود نداشته باشد.

- بازرسی مداوم و دقیق کارشناسان فنی و کارگران از مراحل و بخشهای مختلف تهیه و تولید محصولات، انبار و کنترل کیفیت دقیق مواد اولیه (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

۳-۲- روش اشعه‌دهی[1]

اشعه‌های یونیزه کننده نظیر اشعه گاما اغلب برای حذف میکروارگانیسمهای بیماریزا از مواد غذایی مختلف و انواع خوراک دام استفاده می‌شود. این اشعه در مقایسه با اشعه مرئی و یا UV تأثیر بیشتری دارد، چون قابلیت نفوذ آن در انواع جامدات و مایعات بیشتر از سایر اشعه‌ها می‌باشد. اما مولکولهای آلی با ساختمان پیچیده نظیر انواع آفلاتوکسینها در برابر اشعه گاما مقاومند و تأثیر غیرمستقیم این اشعه سبب تجزیه آفلاتوکسینها می‌گردد به صورتی که اشعه گاما آب‌را تجزیه کرده‌وسبب آزادشدن‌رادیکالهامی‌گردد ودرنتیجه‌شرایط لازم‌برای‌تخریب‌وتجزیه آفلاتوکسینها ایجاد می‌شود. برای مثال آفلاتوکسین B_1 در محیط خشک به مقدار زیاد در برابر تأثیرات مخرب اشعه گاما مقاومت نشان می‌دهد، حتی اگر از دوزهای بالای اشعه و مقادیر ۳۰

1. Radiation

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مگاراد استفاده گردد، ولی زمانی که توکسین در محیط مرطوب یا آبکی باشد دوزهای پایین‌تر اشعه گاما (بالاتر از ۱ مگاراد) می‌تواند آفلاتوکسین B_1 را بطور کامل تجزیه نماید (۴۳ و ۳۳).

توانایی تجزیه کنندگی اشعه گاما و حساسیت انواع مایکوتوکسینها در مقایسه با انواع منابع اشعه در جدول ۴-۶ مشخص شده است.

جدول ۴-۶ درصد تجزیه آفلاتوکسین B_1 و اوکراتوکسین A در مواد غذایی مختلف و در حضور منابع نوری متفاوت

مایکوتوکسین	درصد تجزیه	منابع و شرایط نور	ترکیب
آفلاتوکسین B_1	جزئی	فلئورسنس ۱ ساعت	روغن پنبه‌دانه
آفلاتوکسین B_1	بیشتر از ۴۵	نور معمولی ۶۰ ساعت	میوه‌های خشک و ادویه‌ها
آفلاتوکسین B_1	جزئی	فلئورسنس ۱ ساعت	صفحه کروماتوگرافی لایه نازک
آفلاتوکسین B_1	جزئی	نور سفید ۱ ساعت	صفحه کروماتوگرافی لایه نازک
افلاتوکسین B_1	۹۳-۶۳	لامپ تنگستن - جیوه	برنج
اوکراتوکسین A	ایجاد ترکیب جدید	لامپ گزنون ۶-۵ ساعت	حلال‌ها

با افزایش غلظت آفلاتوکسین یا در حالت خشک و رسوبی، درصد تجزیه بوسیله اشعه گاما کاهش می‌یابد. در جدول ۴-۷ حساسیت آفلاتوکسین B_1 و اوکراتوکسین به اشعه گاما در انواع مواد غذایی مشخص گردیده است.

در بعضی اوقات کاهش دوز اشعه گاما به میزان ۱۰۰ کیلوراد باعث تحریک تولید آفلاتوکسین در فرآورده‌های غذایی می‌شود و این مسئله ناشی از تغییرات مسیرهای بیوشیمیایی میکروارگانسیمها و تولید بیشتر مایکوتوکسین می‌باشد.

پرتودهی آفلاتوکسین B_1 و G_1 با نور ماورای‌بنفش و روی صفحات سلیکاژل با طول موج ۳۶۵ نانومتر باعث ایجاد دو ترکیب با سمیت کمتر می‌گردد. کاهش سمیت مربوط به بازشدن حلقه لاکتونی آفلاتوکسینها نمی‌باشد بلکه مربوط به از دست دادن یکی از بندهای مضاعف در حلقه فوران و یا از دست دادن حلقه فورانی می‌باشد (۴۳، ۴۲ و ۳۳).

در جدول ۴-۸ درصد تجزیه آفلاتوکسینها در انواع مواد غذایی که در معرض اشعه UV و مرئی قرار گرفته‌اند، مقایسه شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۷ حساسیت آفلاتوکسین B_1 و اواکراتوکسین در برابر اشعه گاما

درصد تجزیه	روش حرارتی	محصول غذایی
	آفلاتوکسین B_1	
هیچ	۷ تا ۱۵ یا ۳۰ مگاراد روی صفحات نازک کروماتوگرافی	سم خالص
جزئی	بیشتر از ۳۰ مگاراد روی صفحات نازک کروماتوگرافی	سم خالص
جزئی	۱-۰/۲۵ مگاراد در محلول آبی	سم خالص
تماماً	جز از ۱ مگاراد در محلول آبی	سم خالص
هیچ	۲/۵ مگاراد	آرد بادام‌زمینی
هیچ	۳ مگاراد ۸، ۱۶ یا ۳۲ درصد رطوبت	برنج
۵۰-۰	۵-۰/۲۵٪ مگاراد در برش‌های خشک	نان
	اوکراتوکسین A	
هیچ	۷/۵ مگاراد در متانل	حلال

جدول ۴-۸ درصد تجزیه آفلاتوکسینها در برابر اشعه مرئی و UV

نوع ماده غذایی	درصد تجزیه	روش اشعه‌دهی
آرد بادام زمینی		اشعه UV ۸ ساعت
روغن بادام زمینی	۴۵-۴۰	اشعه UV ۲ ساعت
روی صفحه نازک کروماتوگرافی	جزئی	نورفلئورسنس ۱ ساعت
روغن پنبه‌دانه	جزئی	نور فلئورسنس ۱ ساعت
ادویه و میوه‌های خشک	بالاتر از ۴۵	نور مرئی بیشتر از ۶۰ ساعت
روی صفحه نازک کروماتوگرافی	جزئی	نور سفید ۱ ساعت
برنج	۹۳-۶۳	لامپ تنگستن - جیوه
روغن بادام‌زمینی	۱۰۰	نور خورشید ۱۵ دقیقه
روغن پنبه‌دانه	> ۷۵	نور خورشید ۳۰ دقیقه
روغن ذرت	۹۵	نور خورشید ۴۰ دقیقه
کازئین	۸۳	نور خورشید ۶ ساعت
خمیر بادام زمینی (کیک)	۵۰	نور خورشید ۶ ساعت
آرد نارگیل خشک شده	ناچیز	نور خورشید ۳/۵ ساعت
برش نازک بادام زمینی با چربی	۹۰	نور خورشید ۱۴ ساعت
برش نازک بادام زمینی بدون چربی	۷۷	نور خورشید ۱۴ ساعت
بادام زمینی که بطور طبیعی آلوده شده	۵۰	نور خورشید ۱۴ ساعت
غذاهای نواحی گرمسیر	جزئی	نور خورشید

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳-۳- روش عمل‌آوری یا فرآیندکردن

عمل‌آوری بعضی از محصولات کشاورزی باعث کاهش میزان آفلاتوکسین در محصول نهایی می‌شود. برای مثال آسیاب کردن دانه‌های مرطوب باعث می‌شود عصاره دانه که محتوی مواد پیش‌ساز و تشکیل دهنده آفلاتوکسین است، خارج شوند. یا عمل‌آوری و خیساندن دانه‌های ذرت موجب می‌شود که آفلاتوکسین در بخشهای مختلف دانه قرار گیرد به‌صورتی‌که ۴۰ درصد آفلاتوکسین موجود در آب مرحله خیساندن دانه‌ها، ۳۸-۳۰ درصد در فیبر دانه، ۱۷-۴ درصد در گلوتن و ۱۰-۶ درصد در جوانه قرار می‌گیرد، همچنین اگر دانه برنج مرطوب تخمیر شده و برشته گردد، آفلاتوکسین موجود در دانه از بین می‌رود (۳۳، ۳۲).

۳-۴- روش شیمیایی

روشهای شیمیایی غیرفعال کردن انواع آفلاتوکسین در محصولات کشاورزی، باید آفلاتوکسینها را به طور کامل به یک فرآورده غیرسمی تبدیل کند، بدون اینکه تغییری در کیفیت و ماهیت مواد اولیه ایجاد نماید.

حلقه لاکتونی در ساختمان انواع آفلاتوکسینها بیشترین تأثیر را در برابر عوامل شیمیایی می‌پذیرند. برای مثال در برابر عوامل قلیایی حلقه‌های لاکتونی باز شده و هیدرولیز می‌شوند و اینکار منجر به کاهش سمیت و سرطانزا بودن آفلاتوکسینها می‌گردد (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

انواع عوامل شیمیایی برای حذف و غیرفعال کردن آفلاتوکسینها در زیر مشخص شده است.

۳-۴-۱- عوامل کلرینه کننده

کلریت سدیم به عنوان اولین و اصلی‌ترین ماده شیمیایی برای حذف انواع آفلاتوکسینها از سطوح آلوده کاربرد دارد و نیز تأثیر خوبی در تجزیه آفلاتوکسینها از مواد غذایی دارد. کلرینه کردن مواد غذایی با هیپوکلریت سدیم در غلظتهای ۰/۲، ۱، ۵ و ۱۱ درصد همراه با ۳ درصد اسیدکلریدریک و یا ۱۰ درصد گاز کلر سبب می‌شود که آفلاتوکسین B_1 موجود در مواد غذایی و یا بشکل خالص به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم تجزیه شود. (۳۳)

حداقل غلظت هیپوکلریت سدیم (بلیچ) برای تجزیه کامل آفلاتوکسین در مواد غذایی،

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

$۸/۸\times۱۰^{-۳}$ مول در یک دوره دو ساعته است. برای تأثیر بهتر هیپوکلریت سدیم کنترل pH محیط نقش مؤثری دارد و تحت شرایط اسیدی، کلر به صورت یک اکسید کننده قالب عمل می‌کند و آفلاتوکسین B_1 موجود در محیط را به ترکیبات دیگری به نام ۸ و ۹- دی‌کلرو و ۸ و ۹- دی‌هیدرکسی آفلاتوکسین B_1 تبدیل می‌کند. ۸ و ۹- دی‌کلرو آفلاتوکسین B_1 خاصیت سرطانزایی دارد اما ناپایدار است و بسرعت به ۸ و ۹- دی‌هیدرکسی آفلاتوکسین B_1 هیدرولیز می‌شود. برای سرعت بخشیدن بیشتر به عمل هیدرولیز می‌توان از استن به میزان ۵ درصد نیز استفاده نمود.

کلرینه کردن مواد غذایی برای حذف آفلاتوکسین از آنها مشکلاتی را از نظر ایمنی و سلامت غذاها ایجاد می‌کند، زیرا کلر باقی‌مانده در ماده غذایی سبب تغییر شکل چربیها و مواد پروتئینی می‌شود. با این وجود سمیت کلر هنوز بدرستی مشخص نشده است (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

۳-۴-۲- عوامل اکسید کننده

- پراکسید هیدروژن: پراکسید هیدروژن ماده‌ای است ارزان قیمت که به آسانی در دسترس است، و کارآیی آن در تجزیه سموم قارچی بالا است و باقی‌مانده آن در مواد غذایی تجزیه شده و از بین می‌رود. همچنین پراکسید هیدروژن مانع از رشد قارچهای تولید کننده آفلاتوکسین در محیط کشتهای مصنوعی می‌شود و در غلظت ۰/۵ درصد و pH حدود ۴ و یا غلظت ۶ درصد و pH = ۹/۵ آفلاتوکسین موجود در مواد غذایی را بطور کامل تجزیه می‌کند. آزمایشات مشخص کرده است که ۹۷ درصد آفلاتوکسین موجود در بادام‌زمینی بدون چربی وقتی که در معرض غلظت ۶ درصد پراکسیدهیدروژن قرار گرفته است، تخریب شده است (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

- اُزن: اُزن یک اکسید کننده قوی است که بصورت عرضی با باندهای دوگانه ۹-۸ حلقه فوران آفلاتوکسینها اتصال برقرار می‌کند و بصورت الکتروفیلیک جذب حلقه فوران می‌گردد. بنابراین بعنوان یک تجزیه کننده قوی برای آفلاتوکسینها محسوب می‌شود و قادر است در مدت چند دقیقه و در درجه حرارت اتاق آفلاتوکسینها را بطور کامل تجزیه کند.

بکارگیری اُزن برای کاهش آفلاتوکسین در پنبه دانه‌ایی که ۲۲ درصد رطوبت داشته است، باعث شده است که در طی دو ساعت و در درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ۹۱ درصد آفلاتوکسین B_1 موجود در پنبه دانه تخریب گردد. البته اُزن سبب کاهش پروتئین و اسیدآمینه و

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

لیزین شده است و بنابراین بعنوان یک روش موفق در حذف آفلاتوکسین از مواد غذایی مطرح نمی‌باشد (۳۳).

شرایط کاربرد	محصول غذایی	ماده شیمیایی
به طور کامل آفلاتوکسین B_1 بمدت ۲ ساعت در ۱۰۰°C از بین برده است	پنبه دانه با ۲۲ درصد رطوبت	اُزن
۷۸ درصد کل آفلاتوکسین موجود در مدت ۱ ساعت و دمای ۱۰۰°C از بین رفته است	بادام‌زمینی با ۳۰ درصد رطوبت	

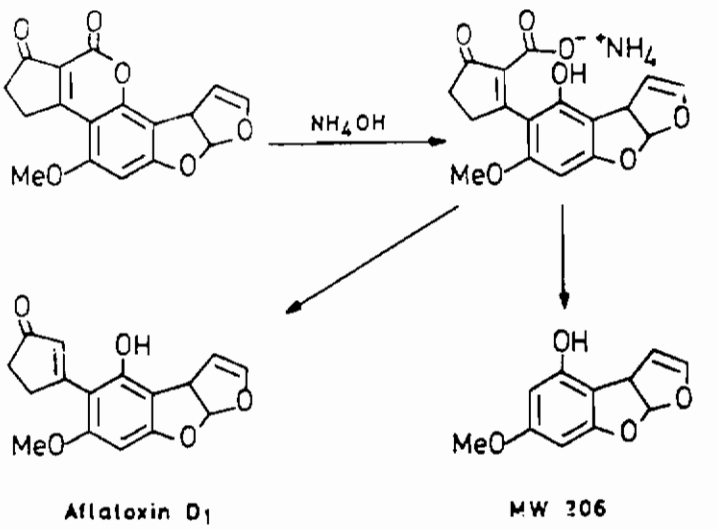
- بی سولفیت سدیم: بی‌سولفیت سدیم بعنوان یک افزودنی در صنایع غذایی کاربرد زیاد دارد و نیز ماده‌ای است که می‌تواند در غیرفعال کردن آفلاتوکسینها در مواد غذایی مؤثر باشد. این ماده در غلظتهای ۰/۵ و ۱ درصد سبب غیرفعال شدن آفلاتوکسین در مواد غذایی می‌شود. حتی بسیار مؤثرتر از هیدروکسید سدیم و آمونیاک، بی‌سولفیت سدیم به دو صورت در دو جایگاه فعال آفلاتوکسین اثر می‌گذارد؛ اول اینکه به حلقه لاکتونی متصل می‌شود و آنرا غیرفعال می‌کند، و دوم اینکه به انتهای حلقه فورانی آفلاتوکسین اضافه می‌شود و آنرا غیرفعال می‌کند، و یا همزمان هر دو کار را انجام می‌دهد.

۳-۴-۳- عوامل هیدرولیتیک

- آمونیاک: ۹۵ درصد آفلاتوکسین موجود در مواد غذایی و خوراک دامها با کمک آمونیاک گازی یا مایع تخریب می‌گردد. چنانچه درکاربرد این ماده، فاکتور مدت زمان استفاده، درجه‌حرارت و غلظت را در ترکیب مناسبی داشته باشیم، درصد تجزیه و کاهش آفلاتوکسین در مواد غذایی بطور مؤثرتری انجام خواهد شد. برای مثال در درجه حرارت ۱۲۰°C-۸۰ و فشار بالا لازم است ماده غذایی بمدت ۳۰-۱۵ دقیقه حرارت ببیند تا آفلاتوکسین کاملاً تجزیه شود. آمونیاک بوسیله هیدرولیز حلقه لاکتونی آفلاتوکسین B_1 و دکربوکسیکه کردن آن سمیت آفلاتوکسین B_1 راکاهش داده و از بین می‌برد و آنرا به‌ترکیب غیر سمی آفلاتوکسین D_1 تبدیل می‌نماید (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۴-۱۸ مرحله تشکیل آفلاتوکسین D_1 در حضور آمونیاک

با رعایت محدودیتهایی سازمان غذا و دارو (FDA)، کاربرد آمونیاک برای خنثی کردن آفلاتوکسین موجود در غذای دام در ایالات مختلف آمریکا مجاز اعلام شده است (۳۳).

تأثیر انواع غلظتهای آمونیاک در تجزیه آفلاتوکسین و در شرایط متفاوت درجه‌حرارت، فشار و رطوبت در جدول ۴-۹ مشخص شده است.

- هیدروکسیدکلسیم : لایم یا هیدروکسیدکلسیم در غلظت ۲ درصد موجب تجزیه آفلاتوکسین B_1 در مواد غذایی می‌شود و اگر آنرا به همراه فرمالدئید و یا مونومتیل آمین استفاده کنیم قدرت خنثی سازی آنرا برای آفلاتوکسینها افزایش می‌دهیم. در زمان بکار بردن هیدروکسیدکلسیم حلقه لاکتونی آفلاتوکسین B_1 باز شده و آفلاتوکسین D_1 با سمیت کمتر ایجاد می‌شود (۴۳، ۴۲ و ۳۳).

- متیل آمین : ۹۰ درصد آفلاتوکسین موجود در مواد غذایی به کمک ۱/۲۵ درصد متیل آمین تجزیه می‌شود. همین اثر را فرآیند پخت، در دمای ۱۰۰°C بمدت ۲ ساعت دارد (۴۳، ۴۲ و ۳۳).

به طور کلی تأثیر مواد قلیایی در محیطهای محلول و دمای ۱۱۰°C برای تجزیه

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۹ تأثیر انواع غلظتهای آمونیاک در تجزیه آفلاتوکسین

آفلاتوکسین							
مقدار نهایی ppb	مقدار اولیه ppb	سوبسترا	زمان	درجه‌حرارت	فشار	رطوبت	غلظت آمونیاک
۳۰	۲۷۰	ذرت	۳ ساعت	۱۴۵	–	۲۰	٪۰/۵
۱۰۳	۳۳۴	آرد پنبه‌دانه	۳۰ دقیقه	۹۳	۴۵psi	۱۵	آنهیدروز
۸۵	۳۴۰	آرد پنبه‌دانه	۳۰ دقیقه	۸۲	۴۰psi	۱۰	آنهیدروز
۱۲۵	۴۰۰۰	آرد پنبه‌دانه	۳۰ دقیقه	۱۰۰	۴۰psi	۱۴	٪۴
۶۰	۳۵۰	آرد پنبه‌دانه	۱۵ دقیقه	۹۳	۴۵psi	۱۲/۵	آنهیدروز
۶۰	۱۲۱	بادام‌زمینی	۱۵ دقیقه	۹۳	۴۵psi	۱۰	آنهیدروز
۱۰۵	۷۰۹	آرد بادام‌زمینی	۱ ساعت	۹۳-۱۲۱	۲۰۰	۱۰-۱۵	–
۶۳	۱۱۱	آرد بادام‌زمینی	–	–	۴۳۰	۱۵	٪۶/۷
۷۳	۶۰۰	کیک خروجی‌بادام‌زمینی	۳۰ دقیقه	۹۵	۳bar	۱۵	آنهیدروز
۱۸۲	۱۵۳	آردبادام‌زمینی	۱۵ دقیقه	۸۰	۳bar	–	گاز
۳۷	۱۱۴۰	آرد بادام زمینی	۱۵ دقیقه	۸۰	۳bar	–	گاز
۹۳	–	آرد بادام‌زمینی	۱۵ دقیقه	۸۰	۰/۵-۲bar	۸	گاز
۶۵	–	آرد بادام‌زمینی	–	۸۵	فشار پمپ	۲۰	۲/۵ درصد
۱۴/۵	۳۰۰	کیک بادام‌زمینی	۱ ساعت	۵-۹۵	محیط	۱۰-۱۵	۱ درصد
۲۸	۱۹۷۷	آردبادام‌زمینی	۱ ساعت	۱۱۸	۲۶psi	۱۷	۴ درصد
۹۱	۴۰/۰۰۰	سلیکاژل H	۳۰ دقیقه	۱۰۰	۴۰psi	خشک	۴ درصد
۱۵	۱۶۰	ذرت	۱۲ روز	۴/۹	محیط	۱۷/۵	۱/۵ درصد

Www.Negashteh.Com
Www.Negashteh.Com

ادامهٔ جدول ۴-۹.تأثیر انواع غلظتهای آمونیاک در تجزیه آفلاتوکسین

آفلاتوکسین							
مقدار نهایی ppb	مقدار اولیه ppb	سوبسترا	زمان	درجه‌حرارت	فشار	رطوبت	غلظت* آمونیاک
۱۶	۱۰۰۰	ذرت	۱۴ روز	۲۵	محیط	۱۷/۶	گاز
۱۱۷	۸۹۶	ذرت	۱۷۹ روز	محیط	محیط	۱۱	۱/۵
۵	۷۵۰	ذرت	۱۳ روز	محیط	محیط	۱۷/۵	۱/۵ درصد
۱۵	۹۰	ذرت	۷ دقیقه	محیط	محیط	۱۱	۱/۱ درصد
۵	۶۰۰	ذرت	۳ روز	۳۸	محیط	۱۵	۰/۵ درصد
۱۱۵	۱۹۰۰	پنبه‌دانه	۲۱ روز	محیط	محیط	۲۰	۱/۵ درصد
۸۱	۸۰۰	پنبه‌دانه	۱۵ روز	۴۳	محیط	۱۲/۵	۲ درصد
۱۴۰	۴۰۰	پنبه‌دانه	۲۱ روز	محیط	محیط	۱۷	۱/۵ درصد
۱۷۵	۲۵۰۰	آرد بادام‌زمینی	۵ روز	محیط	محیط	۲۰	۵ درصد
۱۳۵	۷۹۰	آرد بادام‌زمینی	۵ روز	۵۰	محیط	۱۵	۳ درصد
۸۷	–	کیک بادام‌زمینی	۱۰ روز	محیط	محیط	۲۰	۵ درصد
۲۷	۱۰۰۰	آرد بادام‌زمینی	۱ ساعت	۱۰۰	<1bar	۱۷	۷ درصد
۸۷	–	ذرت	۱۰ روز	محیط	محیط	۲۰	۵ درصد
۱۰۴	–	پنبه‌دانه	۷ روز	۲۰	محیط	–	هیدروکسیدآمونیوم
۱۰۴	–	پنبه‌دانه	۱ ساعت	۱۰۰	محیط	–	هیدروکسیدآمونیوم

* درصد آمونیاک بر مبنای مقدار آمونیاک اضافه شده به ۱۰۰گرم سوبسترا است به شکل محلول آمونیاک و یا هیدروکسید آمونیوم.

Www.Negashteh.Com
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آفلاتوکسینها به صورت زیر می‌باشد :

کربنات آمونیوم < بی‌کربنات سدیم < هیدروکسید آمونیوم < بی‌کربنات پتاسیم < کربنات سدیم <کربنات پتاسیم < هیدروکسید سدیم < هیدروکسید پتاسیم

در زیر شرایط کاربرد متیل آمین برای کاهش غلظت آفلاتوکسین موجود در انواع محصولات غذایی مشخص شده است :

شرایط کاربرد	نوع محصول	ماده قلیایی و غلظت
در یک راکتور متحرک به مدت ۲ ساعت و دمای ۱۰۰°C باعث شده آفلاتوکسین از ۱۱۱μg/kg به کمتر از ۵μg/kg کاهش یابد	بادام‌زمینی با ۳۰ درصد رطوبت	متیل آمین ۱/۲۵ درصد
آفلاتوکسین B_1 را از ۱۳۰μg/kg به ۱۴μg/kg کاهش داده و آفلاتوکسین B_2 را حذف کرده است.	پنبه دانه	متیل‌آمین ۱/۲۵ و ۱۵ درصد آب
آفلاتوکسین B_1 را از ۲۸/۵۰μg/kg به ۶۳μg/kg رسانده و کل آفلاتوکسین موجود را از ۴۰۰۰μg/kg به ۶۵μg/kg رسانیده است و کاهش داده است.	بادام‌زمینی با ۱۵ درصد آب	متیل آمین ۱/۲۵ درصد

ـ انواع اسیدها : اسیدهای مختلف باعث هیدراسیون آفلاتوکسین B_1، در محل پیوند اولفینی ۹-۸ انتهای حلقه فوران می‌شوند. در این واکنش آفلاتوکسین B2a ایجاد می‌شود که سمیت آن $\frac{1}{200}$ آفلاتوکسین B_1 است.

آفلاتوکسین G_1 نیز تحت تأثیر اسیدها به آفلاتوکسین G2a تبدیل می‌شود. کاربرد اسیدها در فرآیند خنثی سازی انواع آفلاتوکسین در مواد غذایی موجب کاهش کیفیت و ارزش پروتینی مواد غذایی می‌شود و در تجزیه آفلاتوکسین در فرآیندهای تهیه مواد غذایی کاربردی ندارند (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳-۴-۴- سایر مواد شیمیایی

محلولهایی نظیر دی متیل آمین هیدروکلراید (۵ درصد)، آلدئیدها (فرمالدئید)، پراکسید بنزوئیل، یُد، سولفات، آهن آمونیاکی، پرمنگنات پتاسیم و برات سدیم به‌مقدار قابل توجهی آفلاتوکسین موجود در مواد غذایی راکاهش می‌دهد، اماکاربرد این مواد در مواد غذایی محدودیت‌هایی دارد زیرا مشکلاتی‌رانظیر ایمنی و سلامت ماده غذایی ایجاد می‌کنند (۴۳، ۴۲، ۳۳و ۳۲).

۳-۴-۵- تصفیه یا استخراج آفلاتوکسین به کمک حلالها

روش تصفیه یا حذف آفلاتوکسین از مواد غذایی بیشتر برای از بین بردن آفلاتوکسین در روغنهای حاصل از دانه‌های روغنی کاربرد دارد. از آنجاکه آفلاتوکسین به صورت خالص در آب و هیدروکربنهای اشباع، محلول بوده، اما در حلالهای قطبی نظیر متانول، اتانول، کلروفورم و بنزن محلول می‌باشد، سیستمهای بکارگیری حلالها، روش مناسبی برای خنثی سازی آفلاتوکسین در مواد غذایی آلوده و بخصوص دانه‌های روغنی می‌باشد (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

از جمله حلالهایی که بیش از همه توصیه می‌شوند، استون، بنزن و کلروفورم هستند و متانول بصورت مایع نیز نتایج بسیار خوبی را می‌دهد. همچنین استون به همراه ۱۰ درصد وزنی آب کاهش شدیدی در میزان آفلاتوکسین ایجاد می‌کند (۴۳، ۴۲، ۳۳و ۳۲).

حلالها از طریق تغییر ساختمان شیمیایی آفلاتوکسین، تولید یک فرآورده با سمیت کمتر را می‌نمایند.

جدول ۴-۱۰ سیستم حلال مناسب برای حذف انواع آفلاتوکسین در انواع محصولات کشاورزی را مشخص کرده‌است.

۳-۴-۶- ویتامینها

الف - ویتامین A

بررسی اثر ترکیبات غذایی بر روی خاصیت سرطانزایی آفلاتوکسینها نتایج منطقی و جالبی را مشخص می‌کند، بدین ترتیب که اگر رژیم غذایی از نظر لیپیدها فقیر باشد برای رشد و گسترش سرطان‌مناسب است. بعلاوه آفلاتوکسین B_1 می‌تواند آسیب‌سرطانی درموشهایی‌که دچارکمبود

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۱۰ حلالهای مناسب حذف آفلاتوکسین

محصول	سیستم حلالی مورد استفاده برای حذف آفلاتوکسین	نحوه کاربرد
بادام زمینی	هگزان - اتانل (۷۹:۲۱)	برای استخراج روغن و آفلاتوکسین
	هگزان - متانل (۷۳:۲۷)	
	هگزان - استن (۴۱:۵۹)	
	هگزان - اتانل - آب (۸۲:۱۲:۳)	
	هگزان استن - آب (۴۴/۴:۵۴/۵:۱/۱)	
بادام‌زمینی بصورت	حرارت دادن نیم‌ساعت در آب $90^{\circ}C$	جهت حذف ۹۵-۹۰ درصد آفلاتوکسین
لپه شده	یا کلرید کلسیم ۰/۵ درصد	
آرد بادام‌زمینی	کلروفرم	آردبادام زمینی بصورت مرطوب
آرد بادام‌زمینی	استن - هگزان - آب	-
آرد بادام‌زمینی	بی‌کربنات سدیم ۱ درصد	حذف ۱۰۰ درصد آفلاتوکسین به همراه ۳۳ درصد پروتئین
آرد بادام‌زمینی	کلرید کلسیم ۱ درصد	حذف ۸۰ درصد آفلاتوکسین به همراه ۶ درصد پروتئین
آرد بادام‌زمینی	ایزوپنتانل آبی - آب (۸۰:۲۰)	-
کیک پرس شده بادام‌زمینی	استن - هگزان - آب (۵۴:۴۴:۲)	استخراج در حد پایلوت
فرآورده بادام‌زمینی	استن - هگزان - آب (۵۰:۴۸/۵:۱/۵)	-
آرد پنبه‌دانه	استن به همراه ۳۰-۲۵ درصد آب	حذف ۹۷ درصد از آفلاتوکسین B_1
آرد پنبه‌دانه	ایزوپروپانل - آب (۸۰:۲۰)	-
آرد دانه روغنی	استن، بنزن، کلروفرم، متانل و آب جوش	حذف نشده است
آرد دانه روغنی	استن و ۱۰ درصد آب	کاهش سمیت و رساندن آفلاتوکسین به به پایین‌تر از ۳۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم
آرد دانه روغنی	استن - هگزان - آب	-
فرآورده‌های دانه روغنی	استن	-
روغن	سودا	-

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ویتامین A هستند ایجاد کند اما در موش‌های کنترل، این وضع مشاهده نمی‌شود و از آنجایی که ویتامین A جزو ویتامین‌های محلول در چربی می‌باشد این مطلب بطور کاملتری تأیید می‌شود.

تستهای تغذیه‌ای بطور واضح نشان می‌دهد که رژیم غذایی می‌تواند در مطالعات طویل‌المدتی که بر روی بروز غدد سرطانی انجام می‌گیرد مؤثر باشد. بر طبق بررسیهای به‌عمل آمده هسته دی‌هیدروفوران به تنهایی در ملکول آفلاتوکسین خاصیت سرطانزایی ایجاد می‌کند و احتمال دارد که خاصیت سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 هم مربوط به دلتالاکتون غیراشباع و هم به سیستم حلقوی دی فوران در ساختمان شیمیایی توکسین باشد (۴۳، ۴۲، ۳۲ و ۲۲).

ب - ویتامین D

بررسیهای انجام شده نشان می‌دهد که مایکوتوکسینها موجب کاهش مقاومت استخوانها می‌شوند که از طریق شکستن آنها قابل اندازه گیری است. همچنین خاصیت ارتجاعی استخوانها را افزایش می‌دهد که این حالت از طریق خم کردن و هنگام شکستن با یک نیروی عملی بکار گرفته شده قابل اندازه گیری است. این روش محاسبه در مورد بیشتر بیماریهای ساق پا در پرندگان تجربه شده است. آفلاتوکسینها باعث کاهش میزان فسفر و کلسیم سرم خون می‌شوند و ثابت شده است که این کاهش بستگی به جیره غذایی ندارد (۴۳، ۴۲، ۳۲ و ۲۲). آنچه از این مشاهدات می‌توان انتظار داشت، این مطلب است که اثرات سوء آفلاتوکسینها با کمبود ویتامین D رابطه متقابلی دارد.

پ - ویتامینهای گروه B

تیامین و ویتامینهای گروه B سنتز آفلاتوکسین را تحریک می‌کنند، ولی ریبوفلاوین و پیریدوکسین در این امر دخالتی نداشته و مؤثر نیستند.

ت - ویتامین E

ویتامین E بعنوان یک آنتی اکسیدان، گرچه تأثیر قابل توجهی بر رشد میسلیومهای قارچی از خود نشان نمی‌دهد، لیکن در محیطی که از تتراکلرید کربن بعنوان عامل محرک تولید آفلاتوکسین استفاده شده باشد نه تنها اثر مهارکنندگی بر تولید آفلاتوکسین نداشته بلکه برعکس در بالاترین غلظتهای مورد استفاده از ویتامین E در مقایسه با محیطی که فقط شامل تتراکلریدکربن بوده است، افزایش قابل توجهی را در تولید آفلاتوکسین نشان داده است. (۲۲، ۸).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ث - ویتامین C

مطالعات بیوشیمیایی اهمیت ویتامین C را در ایجاد سرطان نشان داده است (۲۲). ویتامین C در غلظتهای متفاوت اثرات گوناگونی را از خود نشان می‌دهد، بطوریکه برخی محققین معتقدند که اثر ویتامین C بعنوان یک آنتی‌اکسیدان درست مشابه ویتامین E می‌باشد و در محیطهای حاوی تترا کلریدکربن سبب تشدید تولید آفلاتوکسین می‌شود؛ این در حالی است که تأثیر چندانی بر رشد میسلیوم‌های قارچی ندارد. اما در بررسی انجام شده توسط برخی از دیگر محققین نتایج متفاوتی حاصل شده است.

۳-۴-۷- ترکیبات فنلی

ترکیبات فنلی دارای خواص ضدمیکروبی کاملاً شناخته شده‌ای هستند، امروزه دریافته‌اند که این ترکیبات می توانند در مهار تولید آفلاتوکسین در محیطهای آبکی و برخی از سوبستراهای جامد مؤثر واقع شوند. بدین جهت از ارتووانیلین به منظور جلوگیری از تولید آفلاتوکسین در برخی از غلات و دانه‌های روغنی استفاده شده است.

در پژوهشی که در همین خصوص انجام شد، ۲۵ گرم از هریک از دانه‌های زیر از قبیل: برنج (var.sita)، گندم (var.s-۳/۸)، ذرت (var.conga-۲) بادام‌زمینی (var.Ak۱۲-۲۴)، خردل (var.BR-۱۳) در ppm ۵۰۰ محلول آبکی ارتووانیلین به مدت ۲ ساعت در یک ارلن مایر ۱۵۰ میلی‌لیتری خیسانده شدند (دانه‌های کنترل در آب مقطر خیسانده شدند). پس از جدا کردن مقادیر مازاد محلول، تعداد زیادی از دانه‌های روغنی اتوکلاو شدند. روز بعد، دانه‌ها با ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور سویهٔ تولیدکنندهٔ آفلاتوکسین، یعنی آسپرژیلوس پارازیتیکوس (NARL-۳۲۴۰) تلقیح شدند. دانه‌های آلوده شده به مدت ۷ روز و در حرارت $۲۸ \pm ۱^{\circ}C$ اینکوباتور و نگهداری شدند. سپس آفلاتوکسینها استخراج شده و بوسیله اسپکتروفتومتر، میزانشان تعیین گردید.

به منظور ارزشیابی اثرات ارتووانیلین، درصد جوانه زنی[1] دانه‌های روغنی، تعیین شده است که نتایج آن در جدول زیر درج گردیده است:

1. Germination

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۱۱ درصد اثر مهارکنندگی ارتووانیلین در تولید آفلاتوکسین و جوانه‌زنی

دانه‌ها	تولید آفلاتوکسین	جوانه زنی
برنج	۸۵/۶۳	-
گندم	۵۴/۱۸	۲/۲۲
ذرت	۵۲/۲۷	-
بادام‌زمینی	۷۶/۲۵	۸/۲۴
خردل	۵۱/۰۶	۱۰/۵۶

تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس بر روی غلات و دانه‌های روغنی می‌توان به مقدار قابل توجهی توسط ارتووانیلین مهار و کنترل نمود. ماکزیمم اثر بازدارندگی در تولید آفلاتوکسین به ترتیب در برنج و به میزان ۸۵/۶، بادام‌زمینی به میزان ۷۶/۲۵ درصد، گندم به میزان ۵۴/۲، ذرت به میزان ۵۲/۳ و خردل به‌میزان ۵۱/۱ درصد گزارش شده است.

ارتووانیلین اثر قابل توجهی بر روی جوانه‌زدن دانه‌ها نداشته است. ماکزیمم اثر مهار کنندگی در جوانه‌زدن به میزان ۱۰/۶٪ مشخص گردید. تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس با موفقیت در محیط مایع و بر روی برخی از سوبستراهای جامد کنترل و بررسی گردیده است. نتایج این بررسی نشان دهنده این مطلب است که می‌توان از ارتووانیلین در برخی از دانه‌هایی که از نظر اقتصادی بسیار مهم هستند به منظور جلوگیری از تولید آفلاتوکسین استفاده نمود.

این موضوع هم که استفاده از ارتووانیلین هیچ اثر جانبی نامطلوبی در جوانه زدن دانه‌ها نداشته است از نکات برجسته کاربرد این ماده شیمیایی می‌باشد.

طی سال‌های گذشته، مطالعات وسیعی راجع‌به کافئین یا، ۱ و ۳ و ۷ تری متیل گزانتین، صورت گرفته است که نشان دهندهٔ اثرات بسیار زیاد کافئین بر سیستمهای بیولوژیکی است. در بین نتایج حاصله مشخص شده است که کافئین سبب مهار رشد و تولید مایکوتوکسینهای پلی‌پپتیدی که توسط تعدادی از گونه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم ایجاد می‌شود، می‌گردد. این بررسیها نشان می‌دهد که خاصیت مهارکنندگی کافئین سبب مقاومت دانه‌های کاکائو و قهوه در مقابل آلودگی با آفلاتوکسین بوده و تصور می‌شود که نقش کافئین دراین موارد، مشابه عمل یک

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

باز دارنده طبیعی رشد قارچ[۱] است. در مطالعات متعددی به این مسئله اشاره شده است که اثر مهارکنندگی کافئین بسیار اختصاصی بوده بطوریکه ترکیبات شیمیایی مختلفی که از نظر ساختمانی مشابه کافئین بوده‌اند بر تولید آفلاتوکسین اثر نمی‌گذارند. به‌نظر می‌رسد که کافئین در مهار فسفودی‌استراز Amp حلقوی دخالت داشته باشد (۲۷، ۲۳، ۱۴).

سنتز آفلاتوکسینها در محیطهای کشت آسپرژیلوس پارازیتیکوس با افزودن ۲ میلی‌گرم کافئین به هر میلی‌لیتر از محیط کشت، کاملاً مهار شده است.

بررسیهای آنزیمی نشان داده است که هیچ تغییر مهمی در فعالیتهای اختصاصی گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز، مانیتول دهیدروژناز، فسفوفروکتوزکیناز، فروکتوز ۱ و ۶ دی فسفاتاز، پیروات کیناز و یا مالات دهیدروژناز ایجاد نشده است.

ظاهراً بنظر می‌رسد که کافئین توسط محدودکردن جذب کربوهیدراتها که توسط کپک به منظور سنتز این گروه از مایکوتوکسینها مورد استفاده قرار می‌گیرد، سنتز آفلاتوکسین را مهار می‌نماید (۳۳، ۲۷، ۲۶، ۲۳، ۱۵ و ۱۴).

دهیدروکسی آنیزول بوتیله (BHA)، هیدروکسی تولوئن‌بوتیله (BHT)، آلفاتوکوفرول (ویتامین E)، اسیدآسکوربیک (ویتامین C)، گلوتاتیون احیا شده[۲] و سیستئین که بعنوان آنتی اکسیدان کاربرد دارند در محیط کشت آسپرژیلوس پارازیتیکوس حاوی تتراکلریدکربن که محرک پرقدرتی در سنتز آفلاتوکسین می‌باشد مورد سنجش قرار گرفته‌اند. نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که حضور BHA در محیط به مقدار زیادی سبب مهار تولید آفلاتوکسین می‌شود و اثر مهارکنندگی این ماده با کاهش غلظت، کاهش می‌یابد. برخلاف این ماده، ویتامین E، ویتامین C، گلوتاتیون احیا شده و سیستئین سبب تشدید اثر تحریکی تتراکلریدکربن بر تولید آفلاتوکسین می‌شوند.

افزودن ترکیبات فوق تأثیر قابل توجهی بر رشد میسلیومهای قارچ نمی‌گذارد. پژوهشگران دریافتند که اکسیداسیون چربیها[۳] نقش مؤثری در بیوسنتز آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس فلاووس هم در موجود زنده و هم در آزمایشگاه ایفاء می‌کند.

در موجود زنده با مشاهده این مطلب که تولید آفلاتوکسین موقعی که آسپرژیلوس

---

1. Fangi Static.
2. Reduced glutathione (GSH)
3. Lipoperoxidation.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

پارازیتیکوس و آسپرژیلوس فلاووس روی دانه‌های روغنی رشد می‌کنند، بیشتر از زمانی است که بر روی دانه‌های حاوی نشاسته رشد می‌نمایند. مشخص شده است که بازده آفلاتوکسین بطور مستقیم در ارتباط با عدد پراکسیدی می‌باشد که در عصاره چربی دانه‌ها وجود دارد. در آزمایشگاه تولید آفلاتوکسین در محیط کشت آسپرژیلوس پارازیتیکوس یا آسپرژیلوس فلاووس با افزودن مواد زیر به مقدار زیادی افزایش می‌یابد.

- مواد هیدروفیلیک با حلقه اپوکسید (حتی اپوا کسیدهایی که به میزان محدودی در طی اکسیداسیون چربیهای غیراشباع تولید می‌شوند).

- هیدروپراکسیدهایی که از واکنش لیپواکسیژناز لوبیای ژاپنی[1] بر اسیدلینولئیک بدست می‌آید.

- ارگواسترول و سیتواسترول که به ترتیب مهمترین استرول‌های قارچ ودانه‌های روغنی می‌باشند.

تعدادی از محققین نیز نقش سوربات پتاسیم را در حفظ و نگهداری دانه‌های ذرت که حاوی ۳۰، ۲۴ و ۱۸ درصد رطوبت بوده بررسی نموده‌اند. در این آزمایش از کشت خالص آسپرژیلوس پارازیتیکوس NRRL2999 استفاده گردید و سپس رشد میسلیوم، تولید گازکربنیک ومایکوتوکسین اندازه گیری شد. بطورکلی نتایج حاصله نشان داد که تولید دی‌اکسیدکربن و مایکوتوکسین با افزایش مقدار سوربات در محیط کاهش می‌یابد. همچنین سوربات پتاسیم بر روی دانه‌های ذرت که حاوی رطوبت کمتری بوده و در داخل ظرف در بسته در حضور غلظتهای بالای CO_2 نگهداری شده بودند، تأثیر بیشتری نشان داد.

۳-۵- روشهای بیولوژیکی و میکروبی

در سال ۱۹۶۶، دانشمندان توانستند از میکروارگانیسمهایی مانند مخمرها، کپکها، اسپورکپکها، آکتینومیستها، باکتریها، خزه و جلبکها جهت از بین بردن آفلاتوکسین، استفاده نمایند.

برای مثال یکنوع باکتری بنام فلاوباکتریوم اورانتیکوم (B-184NRRL) می‌تواند سبب

1. Soybean.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

تخریب آفلاتوکسین در محیط کشت شود و عمل سم‌زدایی این میکروارگانیسم در محیط شیر، روغن، ذرت، کره بادام‌زمینی، سبوس، و بادام، به اثبات رسیده است. در کلیه این آزمایشات مشخص گردیده است که فلاو با کتریوم اورانتیکوم در حرارت ۲۸°C ، به‌مدت ۱۲ ساعت، قادر است تمامی آفلاتوکسینها را در محیط کشت از بین ببرد.

گونه‌های فراوانی از قارچها دربخشهای مختلف گیاه بادام‌زمینی حضور دارند که قانون حاکم در میان این میکروارگانیسمها، رقابت است.

شاید امکان داشته باشد که گونه‌هایی راکه از رشد آسپرژیلوس فلاووس جلوگیری می‌نمایند تقویت کرد. تأیید اصلی روی این گونه تحقیقات از مشاهدات دو دانشمند به نامهای chang-min-chung و Lynd منشأ گرفته به این معنی که بیشترین مقدار آفلاتوکسین در بادام‌زمینی‌هایی که در خاکهای اسیدی پرورش یافته‌اند و پایین‌ترین مقدار توکسین در آنهایی که در خاکهای قلیایی رشد کرده‌اند مشاهده شده است. این تفاوت در مقدار تولید توکسین ممکن است مربوط به اثر pH بر روی فعالیت آنتاگونیستی میکروارگانیسمها بر علیه آسپرژیلوس فلاووس باشد.

نه‌اینکه‌فقط قارچها بلکه‌باکتری‌ها هم ممکن است نقشی در این رقابت ایفاء کنند بطوری که باکتریها تولید آفلاتوکسین رامتوقف و یا آنرا متابولیزه و تبدیل به ماده‌ای با قدرت سمیت کمتری می‌نمایند. ضمناً استفاده‌از آنتی‌بیوتیک aureofungin نیز،گاهی‌جهت‌توقف تولید آفلاتوکسین توصیه شده است. این چنین مشاهداتی زمینه‌ایی برای تحقیقات عمیق در مورد استفاده از روشهای بیولوژیکی که بتواند مواد آلوده به مایکوتوکسینها را سَم‌زدایی کند، بوجود می‌آورد.

در یک مقیاس صنعتی (یعنی در مقیاس بزرگ و اقتصادی، نه آزمایشگاهی و کوچک) تمام روشهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی که برای بهبود کیفیت بهداشتی غذاهای آلوده به مایکوتوکسینها بکار برده می‌شوند، باید شرایط زیر را داشته باشند (۲۷، ۲۳، ۱۴).

- انجام‌تمام‌روشها‌آسان‌وساده‌باشدوسبب‌نشودکه‌به‌بهای‌اولیه‌ماده‌غذایی‌زیادافزوده شود.

- روشهایی راکه بکار می‌بریم، نباید سبب مرطوب شدن یک غذای خشک شوند. زیرا علاوه بر اینکه لازم است مجدداً ماده غذایی را خشک کنیم. اشکالاتی در حمل و نقل و انبارداری ماده غذایی نیز ایجاد می‌شود.

- روش مورد استفاده نباید ترکیب اصلی را تغییر دهد، چنین تغییری ارزش غذایی و

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مخصوصاً میزان پروتئین را تغییر خواهد داد.

ـ روش مورد استفاده نباید سبب ایجاد یا باقی ماندن سمی یا سرطانزا شود.

۴ـ آفلاتوکسیکوز[1]

آفلاتوکسینها گروهی از توکسینهای قوی هستند که باعث تأثیرات مخرب در سیستمهای بیولوژیکی می‌شوند. این متابولیتها در پاره‌ای از پستانداران، پرندگان و ماهیها ایجاد سرطان، جهش و ناهنجاری جنینی می‌کنند.

۴-۱- آفلاتوکسیکوز در انسان

بطور کلی آفلاتوکسینها عامل ایجاد نکروز و سیروز حاد کبدی می‌باشند. علائم آفلاتوکسیکوز در پستانداران، از دست دادن اشتها، کمبود وزن، یرقان و تکثیر سریع سلولهای مجرای صفراوی است (۴۲، ۳، ۲).

آلودگی حاد به آفلاتوکسین موجب زردی غشای مخاطی، تجمع چربی در کبد و خونریزی می‌شود. گرچه کبد آماج حمله آفلاتوکسیکوز است، اما ضایعات سرطانی در دیگر اندامها بویژه معده، کلیه، کولون، ریه، غدد بزاقی و اشکی و نسج پوست پستانداران زیاد گزارش شده است (۴۲، ۳ و ۲).

افزایش فعالیت فسفاتاز در سرم نشان گویایی بر آلودگی کبدی و اختلال در اعمال متابولیسمی و بدکارکردن آن است. شواهدی از عکس‌العمل انسان در برابر آفلاتوکسینها و گزارشهایی از جنوب شرقیّ آسیا، هندوستان، افریقا و آلمان در دست است، مؤید این نظریه است که آفلاتوکسینها در مرگ و میر انسان بخصوص کودکان دخیل بوده‌اند.

شباهت زیادی در اثرات ناشی از استعمال دوزهای مؤثر آفلاتوکسین B_1 روی میمون گونه[2] و سندرم ری[3] در تایلند وجود دارد. این علائم عبارتند از: تب، اسهال، استفراغ، تشنج و اغما که در کودکان و در میمونها کاملاً به هم شباهت دارند. بررسی موادغذایی مورد مصرف کودکان تایلندی، آلودگی شدید آنها را به آفلاتوکسین نشان می‌دهد (۴۲، ۳ و ۲).

---

1. Aflatoxicosis 2. Macaque 3. Rèy's syndrom

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آثار بروز آفلاتوکسیکوز در انسان از روی انجام مطالعات آزمایشگاهی روی میمون رزوس[۱] بدست آمده است.

مواردی چند از آفلاتوکسیکوز در انسان به شرح زیر است (۴۴، ۴۲ و ۳۴):

در اوگاندا، پسر بچه‌ای از ناراحتی و تورم شکم رنج می‌برد و به بیمارستان مراجعه کرد و پس از ۲ روز جان سپرد. در کالبد شکافی از اندامها، نکروز کبدی کاملاً مشهود بود. او از کاساوای[۲] کپک زده تغذیه کرده بود. بعد از تجزیه شیمیایی سیب‌زمینی شیرین ۱۰۷ppm توکسین بدست آمد.

در تایوان، در دو دهکده مجاور هم، ۲۶ نفر در نتیجه خوردن برنج کپک زده حاوی ۲۰۰ppm آفلاتوکسین B_1 مسموم شده بودند با وجود اینکه تحت درمان قرار گرفتند. اما به‌فاصله چند ساعت تا چند روز ۳کودک آنها، جان سپردند.

در هندوستان در سال ۱۹۷۴ در دو ایالت گجرات و راجستان از ۳۹۷ بیمار مسموم، پس از پذیرش در بیمارستان ۱۰۶ نفر آنها درگذشتند، این افراد از ذرت آلوده به آسپرژیلوس‌فلاووس تغذیه کرده بودند. پس از تجزیه ماده غذایی مصرفی میزان آفلاتوکسین در آن ۶-۱۶ppm مشخص گردید.

تجزیه عصاره نسج کبدی در ۲ مورد مرگ و میر در چکسلواکی و نیوزیلند نشان داد که آفلاتوکسینهای B_1 و G_1 در کبد قابل ردیابی بودند.

تحقیقات زیادی در زمینه رابطه بین میزان آفلاتوکسین موجود در جیره غذایی و بروز سرطانهای کبدی انجام شده است. در این زمینه با اندازه گیری میزان آفلاتوکسین موجود در غذاهای مصرفی اعم از خریداری شده از بازار و یا نگهداری شده در انبارهای منازل، رابطه مستقیمی بین مصرف آنها با بروز مصرف آفلاتوکسیکوز مزمن بدست آمده است. از بررسی نتایج حاصله می‌توان قبول کرد که هزاران نفر در نقاط مختلف دنیا از آفلاتوکسیکوز ناشی از تغذیه مواد غذایی آلوده رنج می‌برند (۴۲، ۲۹، ۲۵، ۲۰ و ۱۹).

البته در بررسیها و مطالعات اپیدمیولوژیکی سعی می‌کنند موارد دیگری چون الکلیسم،

---

1. Rhesus

۲. سیب‌زمینی شیرین

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مصرف پاره‌ای از داروهای گیاهی، سوء تغذیه، آلودگیهای ویروسی راکه همگی منجر به سرطانهای کبدی می‌شوند از آفلاتوکسیکوز تفکیک کنند. مواردی هم از وابستگی سرطان کولون به آفلاتوکسین ذکر شده است.

سرطان کولون در امریکا، پس از سرطان ریه در مردها و پس از سرطان پستان در زنها بالاترین رقم مبتلایان به سرطان را داشته است.

۴-۲- آفلاتوکسیکوز در حیوانات

پژوهشگران دریافتند که مواردی از تومورهای کبدی در موش صحرایی در نتیجه رژیم غذایی آلوده به آفلاتوکسین ایجاد شده است. همچنین آفلاتوکسینها بوجود آورنده سرطان‌های کبدی در حیوانات هستند.

تأثیر آفلاتوکسین به این صورت است که چربی مدفوع بالا رفته و یا بعبارت دیگر با خوراندن غذای آلوده به آفلاتوکسین از یک طرف و خروج آن از طرف دیگر نشان داده شده است که مقدار کمی از آنزیمهای هاضمه چربی و نمکهای صفراوی در هضم و جذب مواد غذایی در لوله‌های گوارشی دخالت می‌نمایند. تأثیر دیگر آفلاتوکسینها، ایجاد کوفتگی و خونریزی است. آفلاتوکسینها، پرندگان را از طریق بالا بردن شکنندگی دیواره مویرگهای خونی، کاهش مقاومت بافتی و کاهش در غلظت فاکتورهای مخصوص انعقاد خون آماده و مستعد کوفتگی می‌سازد. گذشته از خونریزی و کوفتگی آشکار در لاشه‌ها، این علائم در جریان کشتار طیور بوسیله لکه‌های کوچک قرمز رنگی که به علت وجود نقصی در دستگاه گردش خون ایجاد شده قابل تشخیص است.

در بررسی انجام شده، LD_{50}[1] انواع آفلاتوکسینها به عوامل چندی بستگی دارد که از آن جمله موارد زیر قابل ذکر هستند (۱۰).

۱- سن ۲- جنسیت ۳- نژاد ۴- راه ورود به بدن ۵- شرایط حیوان ۶- ترکیب رژیم غذایی ۷- شرایط محیط در زمان مصرف آفلاتوکسین ۸- فاصله بین زمان مصرف و اندازه گیری آفلاتوکسین

---

۱. آن مقدار از ماده سمی که نیمی از حیوانات مورد آزمایش را هلاک کند.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

حساسیت حیوانات مختلف در برابر آفلاتوکسینهای بررسی شده که نتیجه آن در جدول زیر منعکس است (۱۰):

جدول ۴-۱۲- توکسیسیته حاد آفلاتوکسین B_1

گونه حیوان	LD_{50} میلی‌گرم آفلاتوکسین به ازای کیلوگرم وزن بدن
جوجه اردک	۰/۳۳۵
خرگوش	۰/۳
گربه	۰/۵۵
خوک	۰/۶۲
سگ	۰/۵-۱/۰
گوسفند	۱/۰
خوکچه هندی	۱/۴
موش	۹
موش صحرایی نر	۷/۲
موش صحرایی ماده	۱۷/۹

میزان آفلاتوکسین موجود در جیره غذایی که منجر به بروز و ظهور لکه‌ها و ضایعات در کبد می‌شود، در حیوانات مختلف متفاوت است و بسته به حساسیت آنها از ۳۰ تا ۴۵۰۰ pbb متغیر است. جدول ۴-۱۳ نشان دهنده این ارتباط است.

جدول ۴-۱۳ رابطه بروز ضایعات کبدی و میزان آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی حیوانات

گونه حیوان	میزان آفلاتوکسین B_1 در جیره غذایی که سبب بروز ضایعات کبدی می‌شود (pbb)
جوجه اردک	۳۰
جوجه بوقلمون	۳۰۰
مرغ	۵۰۰
گاو گوشتی	۷۰۰
خوک	۸۰۰
گوسفند	۱۰۰۰
میمون	۲۰۰۰
گاو شیرده	۲۳۰۰
موش	۴۵۰۰

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول زیر اثرات سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 در موش صحرایی را نشان می‌دهد (۲۰).

جدول ۴-۱۵- بررسی اثرات مقادیر مختلف آفلاتوکسین B_1 در ایجاد سرطان در موش

کل حیوانات آزمایش شده	تعداد حیوانات با اثرات سرطانی	مقادیر آفلاتوکسین (ppb)
۱۸	۰	۰
۲۲	۲	۱
۲۲	۱	۵
۲۱	۴	۱۵
۲۵	۲۰	۵۰
۲۸	۲۸	۱۰۰

۵- سمیت آفلاتوکسینها

۵-۱ بررسی سمیت کبدی ایجاد شده در موش صحرایی ماده توسط آفلاتوکسین B_1 و تداخل با اتنیل استرادیول[1]:

برای انجام این بررسی به موشهای صحرایی ماده[2] یک دوز داخل صفاقی آفلاتوکسین B_1 به مقدار ۶-۳ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن تجویز گردید. ۲۴ ساعت بعد و هر هفته، تا زمانی که کشته شدند به تعدادی از موشهایی که آفلاتوکسین B_1 دریافت می‌کردند از طریق لوله گذاری در معده[3] دوزی معادل ۱۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، اتنیل‌استرادیول تجویز گردید.

سپس ۱، ۳، ۶ و ۹ ماه پس از شروع آزمایش، حیوانات کشته شدند. کبد توسط میکروسکوپ نوری و تعیین هیستو شیمیایی آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) کبد و پلاسما و همچنین سنجش فعالیت آنزیمهای متابولیزه‌کننده در کبد، مورد سنجش و بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان دادند آفلاتوکسین B_1 فقط تغییرات بسیار اندکی در میزان اجزای متفاوت مورد مطالعه ایجاد می‌کند. بنابراین مایکوتوکسین اثری برروی فعالیت آنزیم گاماگلوتامیل ترانسفراز

1. Estradiol ethynyl 2. Spaque-Dacoley 3. Gavage

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

نداشته و فعالیت آنزیم اپوکسید هیدرولاز را تا ما کزیمم، ۴۲ درصد افزایش می‌دهد. در مقابل اتنیل استرادیول به میزان ۵۰-۲۰ درصد فعالیت آنزیم UDPGT[1] و همچنین غلظت سیتوکروم p-۴۵۰ و پروتئینهای میکروزومال[2] کاهش می‌دهد. ولی استروژن فعالیت اپوکسید هیدرولاز را تا میزان ۱۵۰ درصد و GGT کبدی را تا ۴۰۰ درصد، و GGT پلاسمایی را نیز تا ۱۷۵ درصد افزایش می‌دهد (۱۰، ۹).

درکبد موش صحرایی مورد آزمایش ضایعات بافتی در حالتی که بطور توأم از اتنیل استرادیول و آفلاتوکسین B_1 استفاده شده بود، مشخص‌تر بود.

این مطالعه نشان می‌دهد که تداخل بین تجویز طولانی اتنیل استرادیول و یک دوز منفرد تزریقی داخل صفاقی از آفلاتوکسین B_1 تولید ضایعات کبدی را تحریک کرده که احتمالاً نشانه سرطان سلولهای کبد می‌باشد.

بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که آفلاتوکسین B_1 مؤثرترین عامل ایجادکننده سرطان کبد در موشهای صحرایی شناخته شده است. درحالی که هورمونهای استروئیدی مثل اتنیل استرادیول ممکن است بعنوان عامل ایجادکننده تومورهای کبدی عمل نمایند.

نتایج حاصل از بررسی فوق نشان دهندهٔ این مطلب است که اتنیل استرادیول بعنوان یک جزء استروژنی داروی ضد حاملگی خوراکی می‌تواند ضایعات کبدی ایجاد نماید، ولی ضایعات بافتی ایجاد شده درکبد حیواناتی که بطور توأم از اتنیل استرادیول و آفلاتوکسین B_1 استفاده کرده‌اند، افزایش یافته است. علاوه بر این دانشمندان دریافتند که سلولهای فاقد سیتوپلاسم[3] و سلولهای اسیدوفیل و بازوفیل کانونی می‌تواند نشانه ایجاد سلولهای سرطانی باشد (۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹).

ضایعات کبدی ناشی از اتنیل استرادیول به تنهایی و یا همراه با آفلاتوکسین B_1 با افزایش فعالیت آنزیم GGT پلاسمای کبدی همراه بود که بعنوان نشانه‌ای مثبت برای ضایعات پیش سرطانی و سرطانی است (۱۰، ۹).

کبد، جایگاه اصلی تغییرات مختلف استروئیدها بوسیله اکسیداسیون و کنژوگه کردن می‌باشد. این عمل ممکن است اثرات مختلف اتنیل استرادیول را بر روی کبد توضیح دهد.

---

۱. UPD گلوکورونوزیل ترانسفراز

2. Microsomal proteins

3. Clear cell

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

کاهش وزن کبد احتمالاً مربوط به اثرات کاتابولیزه نمودن استروژنها در موش صحرایی است.

اثرات شدید آفلاتوکسین B_1 بر روی کبد و در ناحیه شکم نیز ارزیابی شده است. بطوریکه مصرف روزانه ۰/۴ میکروگرم از آفلاتوکسین B_1 توسط موش صحرایی سبب رشد غیرطبیعی در لایه اپتیلیوم مجاری صفرا می‌شود.

ضمناً ناراحتیهای زیاد درونی برای حیوان بوجود می‌آورد که حساسترین قسمت اجزاء درونی همان کبد حیوان است.

اخیراً شواهدی مبنی بر این وجود دارد که مصرف دراز مدت آفلاتوکسین توسط حیوانات آزمایشگاهی موجب بروز تومورهای بدخیم می‌شود (۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹).

با تستهای تغذیه‌ای دراز مدت[1] بر روی ماهی قزل‌آلا در آزمایشگاه مشاهده شده است که نوع و مقدار پروتئین رژیم غذایی، قدرت سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 را تغییر می‌دهد، بطوریکه رژیمهای غذایی حاوی مقادیر بالای کنسانتره پروتئین ماهی[2]، ایجاد تومورها و آسیب شدیدتری نسبت به رژیمی که حاوی مقادیر کمتری پروتئین باشد، می‌کند.

تجربیات آزمایشگاهی وجود آفلاتوکسینها را در جفت حیوان اثبات نموده است. طبق یک گزارش به گاو حامله‌ای که آفلاتوکسین خورانده شده بعد از وضع حمل، گوساله کاملاً سالم بدنیا آمده است. نظیر همین آزمایش درمورد موش نیز انجام گرفته ولی اثرات ناهنجاری جنینی مشاهده نشده است. در کل، آفلاتوکسینها موجب کاهش رشد و نقصان مقاومت بدن حیوانات در مقابل بیماریها می‌گردد، معذالک زیاد شدن سلولها در اپی‌تلیوم مجاری صفرا از نشانه‌های بارز این نوع مسمومیت می‌باشد.

اثرات مسمومیت مزمن بسته به نوع حیوان متفاوت است زیرا حساسیت حیوانات گوناگون در مقابل آفلاتوکسین فرق می‌کند. حیوانات جوان نسبت به حیوانات مسن حساسترند. نشخوار کنندگان نسبت به سایر حیوانات به آفلاتوکسین مقاومترند. کاهش حساسیت دامهای روستایی بدین‌صورت رده‌بندی می‌شود.

گوسفند < اسب < گاو < خوک

در آفلاتوکسیکوز حاد به علت وارد شدن غلظتهای زیاد آفلاتوکسین به بدن حیوان

---

1. Longterm 2. Fish protein concentrated

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ضایعات بعدی بیشتر و به صورت تورم کبدی، سختی پارانشیم کبدی و خونریزی ظاهر می‌شود. اثرات کلیوی آفلاتوکسینها بسیار نادر و تنها در موارد معدود ضایعات کلیوی همراه با نفریت گزارش شده است. همچنین اختلال در عمل ریه‌ها موجب تجمع خلط در آنها می‌گردد. علاوه بر این مشخص شده است که اثر سوء آفلاتوکسین بر روی سیستم اعصاب مرکزی سبب تشنج عضلانی در حیوان می‌گردد و بعد از ظاهر شدن این علائم است که مرگ حیوان فرا می‌رسد. ولی در آفلاتوکسیکوز مزمن، اثرات مزمن آفلاتوکسینها در حیوانات بصورت بیماریهای کلینیکی ظاهر می‌شود که شایعترین آنها سل می‌باشد. بهترین راه مبارزه با شیوع آفلاتوکسیکوز تغییر رژیم غذایی حیوان می‌باشد.

اولین آزمایشاتی که برای پی بردن به اثرات سمی آفلاتوکسینها انجام شد، تست روی جوجه اردک یک روزه به وزن تقریبی ۵۰ گرم بوده است. به این منظور عصاره بادام‌زمینی و یا فرآورده آن را در کلروفرم حل کرده و بدین ترتیب چربی را خارج می‌کنند و باقیمانده را بوسیله متانول و اتر (ده حجم متانول، یک حجم آب، ده حجم اتر) استخراج می‌کنند. آفلاتوکسین در فاز آبی متانول باقی می‌ماند که پس از خارج کردن حلال، آفلاتوکسین را در آب امولسیون کرده و نتیجه آن معمولاً به صورتی می‌باشد که غلظت نهایی به ازای هر سانتی‌متر مکعب معادل ۴۰ گرم از نمونه اولیه است، آنگاه امولسیون حاصله را بوسیله یک لوله پلاستیکی، وارد سنگدان جوجه‌اردک می‌کنند.

در روز اول مقداری معادل ۱۰ واحد بین‌المللی در جیره غذای هر جوجه در نظر می‌گیرند و مقدار توکسین تجویز شده، تدریجاً افزایش پیدا می‌کند.

یک نمونه وقتی خیلی سمی تلقی می‌شود که بچه اردک در عرض هفت روز پس از تزریق بمیرد. بچه اردکهایی را که زنده می‌مانند، برای بررسی ضایعات حاصله از مصرف توکسین در کبد، آزمایش می‌کنند. ارزش این آزمایش قسمتی مربوط به دانستن مقدار قدرت کشندگی سم و همچنین قسمتی مربوط به شناسایی اثرات مزمن و غیرکشنده توکسین روی مجاری صفراوی است که با تزریق مقدار کم آفلاتوکسین به بچه اردک «۰/۰۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم» مورد بررسی قرار می‌گیرد. تست جوجه اردک یک روزه دشواریهایی را نیز بدنبال دارد نظیر، لزوم پرورش مداوم حیوانات، اما مسایلی مانند پس آوردن و استفراغ کردن ماده سمی تزریق شده هرگز در این آزمایش وجود ندارد (۱۹، ۱۸، ۷، ۶، ۵ و ۴).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

پس از تست جوجه اردک یک روزه مهمترین تست بیولوژیکی مورد استفاده تست جنین جوجه است که عبارت است از تلقیح عصاره سمی مورد آزمایش به داخل کیسه هوا یا کیسه زرده یک تخم بارور از نژاد white-leghorn، یا یک نژاد بارور دیگر.

سپس تخم مذکور را به مدت ۵ روز در گرمخانه نگاهداری می‌کنند. بعضی از دانشمندان تخم را قبل از قراردادن در گرمخانه مورد تلقیح قرار می‌دهند.

پژوهشگران دیگر ۹ روز پس از اینکه تخم در گرمخانه قرار گرفت عمل تلقیح روی آن انجام می‌دهند. جنین جوجه خیلی نسبت به آفلاتوکسین حساس است و دو روز پس از تزریق در مقایسه با نمونهٔ شاهد که برای نخستین بار بر روی آن تست انجام می‌شود، از روی شدت ضایعات کبدی، اثرات سمی بوجود آمده مورد بررسی واقع می‌شود.

جوجه اردک حساس به آفلاتوکسین است، بنابراین امکان شناسایی مقادیر کم سم وجوددارد. تست جوجه اردک یک روزه برای ارزیابی اثرات سمی آفلاتوکسینها کاربرد فراوانی دارد.

برای تعیین LD_{50} در بیشتر آزمایشها از جوجه اردک یک روزه استفاده می‌شود، بطوریکه LD_{50} مربوط به آفلاتوکسین B_1، ۰/۵۶۴mg/kg و LD_{50} برای آفلاتوکسین G_1، ۱/۸mg/kg تعیین شده است.

۶- معالجه آفلاتوکسیکوز

واضح است که در هنگام مواجه شدن با یک مورد اثبات شده آفلاتوکسیکوز نخستین اقدامی که باید انجام داد تنظیم یک رژیم غذایی متناسب با موازین بهداشتی است که بدینوسیله منشاء اولیه آلودگی بر طرف می‌شود.

مخلوطی از کولین، اینوزیتول، ویتامین B_2 و ویتامین E باعث جلوگیری از ایجاد ضایعات کبدی ناشی از مصرف آفلاتوکسین می‌گردند.

باید یادآوری کرد که می‌توان از اثر سمیت آفلاتوکسین بوسیله معالجه پیش‌گیرانه با فنوباربیتال[1] جلوگیری نمود. فنوباربیتال آفلاتوکسین را به محصولات غیر سرطانزا متابولیزه

1. Phenobarbital

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

می‌کند. به کمک استات کورتیزون و دهیدروکورتیزون یک کاهش نسبی در هپاتوم[۱] موش صحرایی بدست آمده، اما چنین معالجه‌ای روی کارسینومهای[۲] ماهی قزل‌آلا اثری نداشته است.

آفلاتوکسین B_1 می‌تواند آسیب سرطانی در موشهایی که دچار کمبود ویتامین A هستند ایجاد کند، اما در موشهای کنترل این وضعیت بروز نمی‌کند. علاوه بر این آفلاتوکسین باعث کاهش در میزان فسفر و کلسیم سرم خون می‌شود و در نتیجه آفلاتوکسین با کمبود ویتامین D اثرات متقابلی دارد. از آنجایی که این دو ویتامین (A , D) از ویتامینهای محلول در چربی محسوب می‌شوند، بنابراین رژیم غذایی که از نظر لیپیدها ناقص باشد، برای رشد و گسترش سرطان مناسب است. از اینرو می‌توان انتظار داشت که این دو ویتامین در معالجه آفلاتوکسیکوز نقش مؤثری را ایفا کنند.

۷ـ خواص بیولوژیکی آفلاتوکسینها

۷-۱- سرطانزایی آفلاتوکسین

عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسینها به دو صورت ظاهر می‌شود:

الف - پدیده‌های سریع وابسته به خاصیت سمیت

ب - پدیده کند مربوط به خاصیت سرطانزایی

ممانعت از بروز بیماریهای نوع اول لزوماً وقوع اثرات ناشی از مصرف طویل‌المدت توکسین را جلوگیری نمی‌کند.

در سال ۱۹۴۳ پیدایش غدد کبدی در ماهی گزارش شده است ولی در آن زمان، هیچگونه اطلاعات علمی در مورد آفلاتوکسین وجود نداشت. در سال ۱۹۴۴، در مراکش، پژوهشگران کثرت وقوع ضایعات کبدی در خوکهای مورد آزمایش راگزارش نمودند. علاوه براین وجود غدد متعدد به همراه التهاب[۳]، کم و بیش مشخص در کبد آنها ذکر شده بود و مطالعات بافتی[۴] غدد مشخص می‌کرد که آنها غدد خوش‌خیم[۵] یا سرطانی[۶] بودند (۱۷).

---

۱. تومورهای خوش خیم کبدی
۲. تومورهای بدخیم کبدی
3. Cirrhosis
4. Histology
۵. ادنوما
۶. کارسینوما

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

در سال ۱۹۶۱ نیز چندین مورد از تومور کبد در اردکهای ۹ ماهه یا بزرگتر، از چندین منطقه در فرانسه گزارش گردید که در بعضی موارد مربوط به تومورهای خوش‌خیم بود و در برخی موارد هم مربوط به تومورهای بدخیم می‌شد. در اینجا یک فرضیه با منشاء ویروسی متصور شده بود.

بطور مشابه در سال ۱۹۶۰ وجود تومور کبدی[۱] را در موشهایی که تحت یک رژیم معین قرار گرفته بودند، تشخیص دادند. در سال بعد نقش توکسینی راکه توسط آسپوژیلوس فلاووس تولید می‌شود، چنین تعریف گردید.

تولید غدد سرطانی در کبد موشهایی دیده می‌شود که تنها ۶ ماه از شیر گرفته شده بودند و با غذای آلوده به آفلاتوکسین به میزان ۱۰ قسمت در ۱۰ میلیون، تغذیه شده بودند.

پس از تغذیه کردن موشها با مواد حاوی آفلاتوکسین، مشاهده شده بود که غدد سرطانی به رنگ زرد مایل به خاکستری با علایم خونریزی[۲] و مرگ بافت[۳] ایجاد می‌شود.

اگر مقدار نسبتاً زیادی از محصولات غذایی بادام‌زمینی که با آسپرژیلوس آلوده شده بودند به رژیم غذایی موشها افزوده شود، احتمال بروز تومورهای کبدی، متناسب با غلظت آفلاتوکسین در غذا وجود دارد.

جدول ۴-۱۶ رابطه بین غلظت آفلاتوکسین تعیین شده توسط فلورسانس و احتمال بروز سرطان کبد در موش

غلظت آفلاتوکسین در غذا (mg/kg)	دورهٔ آزمایش (روز)	احتمال بروز تومورهای کبدی
۵/۰	۳۷۰	۱۴/۱۵
۳/۵	۳۴۰	۱۱/۱۵
۳/۵	۳۳۵	۷/۱۰
۱/۰	۳۲۳	۸/۵۱
۰/۲	۳۶۰	۲/۱۰
۰/۰۰۵	۳۸۴	۰/۱۰

۱. هپاتوما ۲. هموراژیک و نکروتیک

3. Necrotic

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

چنانچه به جای غذای بادام‌زمینی آلوده به آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین بصورت خالص به غذا افزوده شود، نتایج مشابهی حاصل خواهد شد.

هرچه حیوان جوانتر باشد، در مقابل خاصیت سرطانزایی توکسینها حساس خواهد بود. ایجاد تومور در حیوانات تازه از شیر گرفته شده، به میزان ۰/۵-۰/۲ میلی‌گرم آفلاتوکسین در هر کیلوگرم رژیم غذایی آنها کفایت می‌کند و اثراتش غیرقابل برگشت است.

گزارش شده است که مصرف روزانه ۵ میکروگرم آفلاتوکسین، موجب افزایش غددی که رشد غیرعادی دارند نمی‌شود. حتی پس از یکسال بنظر می‌رسد که حیوانات از نظر سلامت عمومی در وضع بسیار خوبی هستند، لیکن بازهم در ۶۰-۵۰٪ از موشهایی که تحت این اثر غذایی قرار گرفته بودند، نهایتاً غدد سرطانی ظاهر شده بود (۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹).

بر خلاف حالت بالا، خوردن ۲۰ میکروگرم آفلاتوکسین در روز، هرچند که در ابتدا هیچ ضایعه‌ای ایجاد نمی‌کند، اما پس از یکسال برحالت ضعف مزاجی افزوده شده و در ۷۰-۶۰٪ موارد هم تومورهای بدخیم بوجود می‌آید.

بنابراین افزایش در دوز مصرفی روزانه آفلاتوکسین بدون اینکه موجب ظاهر شدن تعداد خیلی بیشتری تومور بشود، در وضعیت کلی سلامتی، تغییراتی را باعث می‌شود.

بعلاوه با مشاهده یک مورد سرطان در معده موش انسان به این فکر افتاد که آفلاتوکسین، ممکن است ایجاد سرطانهای مختلفی در اعضایی به جز کبد بکند، (مثلاً در ریه‌ها).

مسلم است که رژیم غذایی سهم مهمی را در سرطانی شدن به عهده دارد، بدین ترتیب که اگر رژیم غذایی که از نظر لیپیدها ناقص باشد، برای رشد و گسترش سرطان مساعد است.

طبق بررسیهایی که به عمل آمده مشخص گردیده است که هسته دی‌هیدرودی فوران تنها ترکیب شیمیایی با خاصیت سرطانزایی در مولکول آفلاتوکسین نیست، و ممکن است که، خاصیت سرطانزایی آفلاتوکسین B_1 هم به وجود سیستم دی‌هیدرودی فوران و هم به دلتا - لاکتون غیر اشباع، بستگی داشته باشد (۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹).

همچنین ممکن است که آفلاتوکسین B_1 تنها یک سرطانزای مقدماتی باشد و برای اینکه تبدیل به یک ترکیب سرطانزای فعال بشود، لازم است که احتمالاً توسط آنزیمهای میکروزومی دگرگون گردد (۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۷-۲- اثرات ایجاد ناهنجاری جنینی[1]

اثرات ایجاد ناهنجاری جنینی توسط آفلاتوکسین در سال ۱۹۷۵ مورد بررسی قرار گرفته است. هر چند که اثر آفلاتوکسین B_1 بر روی جنین و ایجاد نقص فیزیکی در آن، در سال ۱۹۶۷ گزارش شده بود، تزریق داخل صفاقی[2] آفلاتوکسین B_1 به مقدار ۴ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن که در روز هشتم حاملگی انجام شده بود، منجر به مرگ جنین گردید.

تقریباً ۵۰٪ جنینها در مادرانی که آفلاتوکسین دریافت کرده بودند و بیش از ۸۵٪ جنینها در مادران شاهد طبیعی بودند. ولی دوز آفلاتوکسین به میزان ۲ میکروگرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن هیچگونه اثر سوئی نداشته است.

در سال ۱۹۶۷ طی آزمایشاتی به ۱۲ موش باردار، آفلاتوکسین B_1 بصورت دوزهای مکرر روزانه از طریق تزریق داخل صفاقی به مقدار ۴ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن داده شد و هیچگونه اثرات ایجاد ناهنجاری جنینی مشاهده نگردید (۱۹).

با وجود این تعداد قابل توجهی جنین مرده در مادرانی که آفلاتوکسین دریافت کرده بودند، مشاهده گردید در حالی که در مادران شاهد چنین مسأله‌ای دیده نمی‌شد.

۷-۳- اثرات جهش‌زایی

آفلاتوکسین B_1 موجب انحرافات کروموزمها، شکسته شدن کروموزمها، شکسته شدن کروماتیدها و شکسته شدن DNA در سلولهای گیاهی و حیوانی می‌شود.

اطلاعات حاصل از تست Ames مشخص کرده است که آفلاتوکسین B_1 نسبت به سایر آفلاتوکسینها دارای بیشترین فعالیت جهش‌زایی می‌باشد. جدول ۴-۱۷ قدرت جهش‌زایی انواع آفلاتوکسینها را در مقایسه با یکدیگر مشخص کرده است (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

همچنین جهش‌زا بودن آفلاتوکسین B_1 در سالمونلاتیفی‌موریوم TA۹۸ در مقایسه با سایر انواع آفلاتوکسین و نیز سرطانزا بودن آنها در حیوانات مختلف بررسی شده است که نتایج آن در جدول ۴-۱۸ مشخص شده است (۴۳، ۴۲، ۳۳ و ۳۲).

---

1. Teratogenic 2. Peritoneum

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۱۷ قدرت جهش‌زایی انواع آفلاتوکسینها

آفلاتوکسین	مقداردوز برحسب‌نانوگرم	میانگین‌مقدارارتباط‌خطی ± انحراف معیار	جهش‌زایی‌درمقایسه باآفلاتوکسین B_1
B_1	۲۵-۲۰۰	۰/۹۲±۰/۰۷	۱
B_2	۱۰۰-۳۲۰۰	۰/۹۲±۰/۰۹	۰/۰۰۲
G_1	۵۰-۸۰۰	۰/۹۸±۰/۰۲	۰/۰۳۳
G_2	۱۰۰-۱۶۰۰۰	۰/۷۹±۰/۱۰	۰/۰۰۱
M_1	۵۰-۸۰۰	۰/۹۸±۰/۰۰	۰/۰۳۲
L	۲۵-۴۰۰	۰/۹۴±۰/۰۴	۰/۲۲۸
LH_1	۲۵-۴۰۰	۰/۰۸±۰/۰۱	۰/۰۲۰
Q_1	۱۰۰-۲۰۰۰	۰/۹۷±۰/۰۳	۰/۱۲
P_1	۱۰۰-۶۰۰۰	۰/۷۹±۰/۱۹	۰/۰۰۱
B_2a	۱۰۰-۴۰۰۰	۰/۳۵±۰/۳۵	۰/۰۰۰
G_2a	۵۰-۱۴۰۰		۰/۰۰۰

جدول ۴-۱۸ - خاصیت جهش‌زایی آفلاتوکسین B_1

آفلاتوکسین	مقدارجهش‌زایی	جاندارها	سرطانزایی
B_1	۱۰۰	موش‌صحرایی	بالاترین قابلیت ایجاد سرطان‌کبد
B_2	۰/۲	راسو	وجود دارد
		ماهی قزل‌آلا	
		موش‌صحرایی	ضعیف
G_1	۳/۳	راسو	کمتر از آفلاتوکسین B_1
		ماهی‌قزل‌آلا	
		موش صحرایی	
G_2	۰/۱	راسو	غیرممکن
		ماهی قزل‌آلا	
M_1	۳/۲	موش‌صحرایی	کمتر از آفلاتوکسین B_1
L	۲۲/۸	راسو	$\frac{1}{3}$ سرطانزایی آفلاتوکسین B_1
		ماهی قزل‌آلا	
		راسو	$\frac{1}{2}$ سرطانزایی آفلاتوکسین B_1
		ماهی‌قزل‌آلا	

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ارتباط قابل توجهی بین جهش‌زایی بودن و سمیت انواع آفلاتوکسینها وجود دارد که در جدول ۴-۱۹ این ارتباط در مقایسه با آفلاتوکسین B_1 به تنهایی مشخص گردیده است (۴۲، ۳۲).

جدول ۴-۱۹ - ارتباط بین سمیت و خاصیت جهش‌زایی آفلاتوکسین B_1

آفلاتوکسین	سمیت	جهش‌زایی
B_1	بسیاربالا	در سالمونلاتی فی‌موریوم به اثبات رسیده است.
B_2	۲/۴ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1	۵۰۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
B_2a	۲۰۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1	۱۰۰۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
B_1s	مشخص نشده و عقیده برآن است که غیرسمی است	-
D_1	۱۸ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B	۱۵۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
G_1	۱/۶ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1	۳۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
M_1	به اندازه سمیت آفلاتوکسین B_1	۳۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
P_1	۱۵ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B	۱۰۰۰ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1
Q	۱۸ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1	۸۳ مرتبه کمتر از آفلاتوکسین B_1

۴-۷- اثرات بیوشیمیایی

مطالعات زیادی در حال انجام است تا مکانیزم و راههای مختلف اثرات بیوشیمیایی آفلاتوکسینها در هر سطح را در آزمایشگاه[1] و در موجود زنده[2] مشخص نماید. در موجود زنده عمل متقابل توکسین با اجزای متشکله سلولی، بخصوص نوکلئیک اسید و واسطه‌های متابولیسم پروتئین، حائز اهمیت فراوان است.

آفلاتوکسین می‌تواند به عنوان یک باز دارنده بیوسنتز مواد عمل کند، به‌طوری که دوزهای بالای آن باعث بازدارندگی کلی شده و دوزهای کمتر آن به تدریج بر سیستمهای مختلف اثر می‌کند. همچنین اثر مستمر آفلاتوکسین بر روی سلولهای کبدی را می‌توان بصورت زیر طبقه‌بندی نمود، بطوری که هر مرحله نتیجه مرحله قبلی باشد (۳۸، ۳۷).

۱- عمل متقابل با DNA و ممانعت از عمل پلیمرازهایی که مسئول سنتز DNA و RNA هستند.

1. in Vitro 2. in Vivo

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۲- جلوگیری از سنتز DNA
۳- جلوگیری از سنتز RNA و باز داشتن RNA پیامبر (mRNA)
۴- تغییر دادن مورفولوژی یا شکل هسته
۵- کاهش در بیوسنتز پروتئین

۷-۵-۱ اثر متقابل با DNA

آفلاتوکسین می‌تواند به DNA متصل شود و در ساختمان مولکولی آن تغییر ایجاد کند. آفلاتوکسین B_1 که از لحاظ بیولوژیکی فعالترین نوع آفلاتوکسین است قویتر از آفلاتوکسینهای G_1 و G_2 وارد واکنش می‌شود.

براساس عمل متقابل آفلاتوکسین با پورین و مشتقات پورینی که بوسیله دستگاه اسپکتروسکپی تعقیب شده است، یک تفاوت اساسی بین آفلاتوکسین و سایر ترکیباتی که با DNA واکنش نشان می‌دهند، این است که آفلاتوکسین با DNA یک رشته‌ای هم می‌تواند وارد عمل متقابل شود. معهذا اتصال با DNA آنچنان ضعیف است که عبور از یک ستون کروماتوگرافی[1] به سادگی کمپلکس را از هم جدا می‌کند. این عمل متقابل می‌تواند ممانعت از سنتز DNA و RNA را بطور همزمان توسط آفلاتوکسین توضیح دهد.

۷-۶- جلوگیری از سنتز DNA

ممانعت از بیوسنتز اسیدنوکلئیک می‌تواند به علت غیرفعال کردن سیستمهای سازنده آنزیم باشد، و یا ممکن است به این خاطر باشد که ملکولهای DNA ایی که در سلولهای صدمه دیده وجود دارند دیگر نمی‌توانند مدل خوبی برای همانندسازی[2] باشند.

این ضعف همانند سازی DNA تحت تأثیر آفلاتوکسین، با عمل اکتینومایسین[3] قابل مقایسه است (بخصوص که ساختمان این دو ملکول از بعضی جنبه‌ها مشترک است). اکتینومایسین بدرون زنجیر مارپیچی دوگانه DNA نفوذ کرده و در جایگاهی که حاوی گوانین است جای می‌گیرد. در حالی که آدنین و تیمین بصورت تغییر نیافته باقی می‌مانند. مطالعات دقیقی در مورد عملکرد آفلاتوکسین B_1 بر روی متابولیسم کبد به عمل آمده است که طی آن از

1. Sephadex 2. Daplication 3. Actinomycin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

برداشت بافت کبد[1] برای تحریک سنتز استفاده شده است.

چنانچه یک برداشت کبدی جزئی در فرد سالم انجام شود، پُرسازی جبرانی حاصل خواهد شد که این فرآیندی است که توسط آفلاتوکسین از آن ممانعت می‌شود.

اگر ۶۰-۳۰ میکروگرم در روز توکسین در طی پنج روز قبل از عمل جراحی برداشتن $\frac{2}{3}$ از جگر تزریق شود، حیوان تا ۲۴ ساعت پس از جراحی تلف خواهد شد که این نشانه بارزی است از نقش آفلاتوکسین در جلوگیری از سنتز DNA می‌باشد.

۷-۷-کاهش سنتز RNA

آفلاتوکسینها بوسیله عمل متقابل و واکنش با DNA می‌توانند از نسخه‌برداری DNA توسط RNA پلیمراز ممانعت کرده و بدین صورت از بیوسنتز RNA نیز جلوگیری نمایند (۱۳). فعالیت RNA سیتوپلاسمی به‌کل متوقف می‌شود در حالیکه این حالت در مورد RNA هسته‌ای خفیف‌تر است. فعالیت RNA هسته‌ای در مراحل اولیه کاهش پیدا می‌کند و بعد از ۱۵ دقیقه تماس با آفلاتوکسین، بیوسنتز، به میزان ۹۵-۹۰٪ متوقف می‌شود.

نتایج آزمایشات بر روی موجودات زنده و بر روی سلولهای کبدی موش نسبت به‌بررسیهای آزمایشگاهی بر روی سلولهای موجود درکشتی از بافتهای انسانی (بعنوان مثال سلولهای کلیوی Helas3 و T یا سلولهای changکبد) سریعتر بدست می‌آید.

این پدیده در دوزهای کم (۱mg/kg-۰/۵) بازگشت‌پذیر است و فرآیندهای بیوسنتزی مختلف طبق نظم زیر مجدداً شروع می‌شود:

پس از ۲۴ ساعت سنتزکلی RNA هسته‌ای، سپس سنتز RNA هستک، و پس از ۴۸ ساعت سنتز DNAاز سرگرفته می‌شود.

۸-۷- تغییرات مورفولوژی هستک

چنانچه برای موشهای نر[2] به وزن ۱۰۰گرم یک دوز آفلاتوکسین به میزان ۱ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن بطور داخل صفاقی تزریق کنیم، پس از ۳۶ ساعت موجب

1. Hepatectomy 2. Fischer

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

تغییر ساختمانی در هستک سلولهای کبدی می‌شود، این امر بستگی به ممانعت از فعالیت آنزیمی دارد.

به هرحال این بی‌نظمی هستک حتی به دنبال یک دوز آفلاتوکسین B_1 حداقل به میزان ۰/۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، قابل مشاهده است. و این پدیده با مصرف ۰/۱mg/kg اتفاق نمی‌افتد. علیرغم این مطلب مشاهداتی در دست است که نشان می‌دهد این غلظت، فعالیتهای آنزیمی را به میزان ۵٪ کاهش می‌دهد.

مشاهدات مشابهی در رابطه با هستک سلولهای کبد جنین جوجه در کشت بافت[1] به‌عمل آمده است. این تغییرات از نظر مورفولوژیکی بعنوان قطعه قطعه شدن هستگی[2] تعبیر شده‌اند (۲۳ و ۱۳).

۷-۹-کاهش در بیوسنتز پروتئین

قابلیت ممانعت کنندگی آفلاتوکسین B_1 از سنتز پروتئینها بیش از سرعت و میزان اثر ممانعت کنندگی آن از سنتز DNA و RNA است (جدول ۴-۲۰). بعد از نشاندار کردن اسید آمینه‌لوسین مشخص شده که پس از ۳ تا ۸ ساعت مصرف دوزهای خوراکی آفلاتوکسین B_1 به میزان ۳mg/kg، ۶۰ درصد سنتز پروتئین در سلولهای کبد موش متوقف گردیده است (۳۲).

همچنین در بررسی میمون بصورت آزمایشگاهی بعد از ۱۳۰-۳/۵ ساعت مصرف ۲mg/kg آفلاتوکسین B_1، ۴۵ درصد سنتز پروتئین در سلولهای کبد متوقف شده است و تزریق صفاقی ۶۰mg/kg آفلاتوکسین B_1 به جگر موش موجب شده است که ۳۰ درصد از سنتز پروتئین بعد از گذشت ۱ ساعت متوقف گردد.

اثر ممانعت کنندگی آفلاتوکسین B_1 و تقلیل بیوسنتز پروتئینها تحت تأثیر دو عمل صورت می‌پذیرد (۴۲ و ۳۲):

- بر هم خوردن نظم پلی ریبوزمها
- ایجاد ریبوزمهای مارپیچی

1. Tissueculture 2. Nucleolas segregation

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بر هم خوردن نظم پلی ریبوزمها:

بعد از استفاده از آفلاتوکسین B_1 در کبد موش، سنجاب، میمون و کشت سلولهای کشت داده شده و بررسی بافتها مشاهده گردیده که ۷۰ درصد پلی زومهایی که در معرض ۱/۵mg/kg دوز تزریق صفاقی آفلاتوکسین B_1 بوده‌اند بعد از ۱۸ ساعت، تبدیل به مونوزمها شده‌اند. همچنین وقتی کبد موش در معرض ۱۵mg/kg آفلاتوکسین B_1 به صورت تزریق صفاقی قرار گرفت بعد از ۷ روز، ۵۰ درصد پلی زومهایش تبدیل به مونوزم شد.

- ایجاد ریبوزمهای مارپیچی:

حضور پلی ریبوزمهای مارپیچی بعد از تزریق ۱mg/kg آفلاتوکسین B_1 به جگر و کلیه سنجاب و موش، پس از گذشت ۱۵ دقیقه از تزریق با میکروسکوپ الکترونی تأیید شده است. هر مارپیچ ریبوزم دارای ۳۰-۲۵ ریبوزم بوده که با زاویه °۷۰-۶۰ نسبت به یکدیگر قرار گرفته‌اند و مانع از کارکرد صحیح mRNA می‌شوند.

آفلاتوکسین M_1 و G_1 نیز مانع از سنتز پروتئینها در جگر و کلیه سنجاب می‌شوند. اما اثر آنها در ممانعت کنندگی سنتز پروتئین به اندازه آفلاتوکسین B_1 نمی‌باشد. سنتز پروتئینهای پلاسما «آلبومین، فیبرونوژن، آلفا- ۲گلبولین، و آلفا اسیدگلیکو پروتئین» بعد از اضافه کردن مقادیر ۱۰۰۰-۱۲۵ $\mu g/100g$ آفلاتوکسین B_1، ظرف ۴-۲ ساعت متوقف شده است (۴۲ و ۳۲).

۷-۱۰- ممانعت از سنتز چربیها

در بررسی آزمایشگاهی و بافتی مشخص شده که آفلاتوکسین B_1 مانع از سنتز لیپیدها می‌گردد، و از ورود پارافسفات به داخل فسفولیپیدهای جگر و استات به داخل چربیهای جگر ممانعت می‌کند.

آفلاتوکسین B_1 همچنین مانع از ورود استات به داخل تری‌گلسیریدها، اسیدهای چرب، کلسترول و استرکلسترول جگر می‌شود و مصرف ۵mg/kg-۲ آفلاتوکسین به شکل تزریق صفاقی موجب شده که سنتز کلسترول در جگر سنجاب بطور کامل متوقف گردد (۴۲ و ۳۲).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۴-۲۰ تأثیر غلظت آفلاتوکسین B_1 بر مقدار سنتز DNA ، RNA و پروتئین توسط فلاویاکتریوم آرنتیاکوم، ارقام داده شده بیانگر میانگینی حاصله از افزایش مقدار آفلاتوکسین B_1 و میزان سنتز DNA ، RNA و پروتئین در ۱۰ میلی‌گرم از محیط کشت حاوی باکتری پس از ۴ دوره اینکوباسیون در مقایسه با مقدار سنتز DNA ، RNA و پروتئین نمونه شاهد که فاقد آفلاتوکسین B_1 بوده، می‌باشد.

پروتئین (Mg)	RNA (Mg)	DNA (Mg)	B_1 (Mg/l)
۱۹۰	۷۰	۳۳	۰
۱۹۰	۶۰	۲۷	۱۰
۱۸۰	۶۰	۲۱	۲۵
۱۷۰	۶۰	۰	۵۰
۱۶۵	۵۰	-	۱۰۰

۷-۱۱- ذخیره آفلاتوکسین در بافتها

در کالبد شکافی از بافتهای اجساد ۲۳ کودک مبتلا به آنسفالوپاتی دژنراسیون چربی[1] در اثر مصرف آفلاتوکسین B_2 دیده شده که مقدار این توکسین در کبد برابر ۰/۰۹۳ mg/kg، در مدفوع ۰/۱۲۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، در معده ۰/۱۲۷mg/kg و در صفرا ۰/۰۸mg/lit بوده است.

نمونه‌های ادرار ۵۱ کودک مبتلا به بیماری فوق مورد مطالعه قرار گرفته است. در ۸ نمونه از ادرار آنها آفلاتوکسین B_1 مشاهده شده است. در حالی که از تجزیه ادرار ۲۳ کودک سالم حضور هیچگونه آفلاتوکسینی گزارش نشده است، که دلیل عدم تماس قبلی این کودکان با آفلاتوکسین می‌باشد. ذخیره شدن آفلاتوکسین در بافتهای بدن میمون هم شبیه انسان است. آفلاتوکسین در مغز، کبد، کلیه، قلب و صفرای بعضی از حیوانات، حداقل ۲ روز و حداکثر ۳ روز باقی می‌ماند.

۸- روشهای تشخیص، تخلیص، و شناسایی آفلاتوکسینها

اکثر، متدهای استخراج، تشخیص و شناسایی آفلاتوکسینها، براساس قابلیت انحلال

1. Encephalopathy-Fatty-Degenerative

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آفلاتوکسینهادر حلالهای قطبی مانندکلروفرم،متانول،اتانول،استون،بنزن وغیرقابل نامحلول بودن آنها در حلالهای غیرقطبی (لیپیدی)، مانند هگزان، اتردوپترول و دی‌اتیل اتر، صورت می‌گیرد.

استخراج چربی در نمونه‌های مورد آزمایش هنگامی ضروری است که بیش از ۲۰٪ چربی در ماده مورد آزمایش وجود داشته باشد. این چربیها می‌توانند، یا بوسیله اتردوپترول و یا پاپنتان، و یا با استفاده از هگزان در دکانتور، در حالی که خوب تکان داده می‌شود، استخراج گردد. سپس عصاره استخراج شده با آب مقطر، رقیق می‌گردد و بوسیله کلروفرم استخراج می‌شود و فاز محلول درکلروفرم لایه‌ای جداگانه‌ای را تشکیل می‌دهد. پس از جدا شدن حلال، باقی مانده آن را در مخلوطی از پترولیوم اتر، متانول و آب، حل کرده وبا تکانهای شدید آن را جدا می‌کنند. سپس فاز زیرین (متانول) را بوسلیه اتر دوپترول دوباره شستشو داده و تحت فشارکم تبخیر می‌کنند.

روش خالص‌سازی آفلاتوکسینها بوسیله کروماتوگرافی لایه نازک صوت می‌گیرد اگر صفحه را در معرض اشعه ماورای بنفش قرار دهند ظهور یک نقطه فلورسانس آبی، زیر امواج بلند ماورای بنفش دال بر وجود آفلاتوکسین می‌باشد، در واقع آفلاتوکسینها وقتی در معرض نور ماورای بنفش با طول موج بالا قرارگیرند، دارای خاصیت فلورسانس شدیدتری هستند. این خاصیت موجب می‌شود که این ترکیبات حتی در مقادیر بسیار جزئی (۰/۵ نانوگرم یاکمتر در نقطه) ۰/۵ ngr/spot مشخص شوند.

۸-۱- جداسازی و تشخیص آفلاتوکسینها به روش T.L.C

روش کروماتوگرافی لایه نازک یاT.L.Cبه علت سرعت عمل، حساسیت و سادگی کار، در اکثر آزمایشگاهها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش انتخاب نوع ماده جاذب از اهمیت خاصی برخوردار است و معمولاً سیلیکاژل همراه باگچ در لایه‌های نازک به ضخامت ۰/۲۵-۰/۵ میلی‌متر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

حلالهای رایج مورداستفاده جهت جداسازی آفلاتوکسینهای مورد آزمایش عبارتنداز: (۲۴)

کلروفرم/متانول (۹۳:۷ تا ۹۹:۱)

کلروفرم/استون (۸۵:۱۵) تا (۹۰:۱۰)

کلروفرم/استون/اتانول (۸۹:۱۰:۱)

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

متانول/آب/اتر (۸۲۵:۱۵۰:۲۵)

بنزن/اتانول/آب (۳:۱:۹۶)

معمولاً عمل تبخیر برحسب درجه حرارت و حلال مورد استفاده از ۴۵ دقیقه تا ۳ ساعت متغیر است.

در این روش با اندازه گیری R_F که عبارت است از مسافت طی شده توسط ماده مجهول نسبت به مسافتی که حلال پیموده و مقایسه آن با R_F استاندارد، نمونه مورد آزمایش تشخیص داده می‌شود.

۸-۲- تشخیص و شناسایی آفلاتوکسین به روش گاز کروماتوگرافی ـ اسپکترومتری جرم (G.C.M)

شناسایی آفلاتوکسین به کمک روش گاز کروماتوگرافی - اسپکترومتری جرم، یک روش سریع برای آفلاتوکسینهای B_1 و B_2 می‌باشد که در این روش، تشخیص به کمک بمباران الکترونی و شناسایی یون انتخابی صورت می‌گیرد.

در این روش ابتدا عصاره را خالص نموده و سپس به داخل ستون مخصوص تزریق می‌شود. حد تشخیص این روش برای آفلاتوکسینهای B_1 و B_2 ۰/۱ppb می‌باشد.

۸-۳- تشخیص و شناسایی آفلاتوکسینها با روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC)

در روش HPLC ابتدا به کمک روشهای شیمیایی، مشتقات آفلاتوکسینهای مورد بررسی را تهیه می‌نمایند. این عمل بدین منظور صورت می‌گیرد تا قدرت تشخیص، حساسیت و میزان انتخابی و اختصاصی بودن روش افزایش پیداکند.

برای مثال، آفلاتوکسینهای B_1 و G_1 به کمک مخلوط اسیدتری فلورواستیک و آب به همی‌استالهای[1] B_2 و G_2 که خاصیت فلورسانس بیشتری دارند، تبدیل می‌شود و سپس این مشتقات بوسیله کروماتوگرافی مایع با فاز معکوس جدا شده و تفکیک می‌گردد. این روش در

1. Hemiacetaldehydes

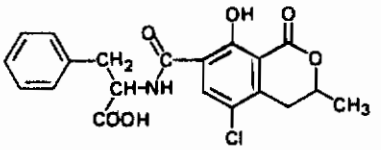
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مقایسه با سایر روشها قابل اطمینانترین و معمولترین روش استفاده برای آنالیز و شناسایی آفلاتوکسینها می‌باشد که بعنوان یک روش استاندارد و برتر در مقابل سایر روشهای جدید، شناخته شده است (۴۰، ۳۳، ۳۱ و ۲۷).

۹- اوکراتوکسین[1]

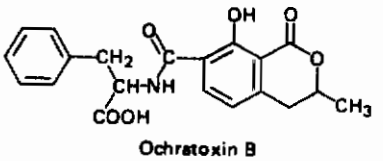
اوکراتوکسینها جزو ترکیبات فنیل آلانینی بوده که دارای یک هسته ایزوکومارین می‌باشند (۴۵، ۴۰، ۳۵ و ۳۱).



Ochratoxin A

شکل ۴-۱۹ اوکراتوکسین A (C_{20} H_{18} O_6 NCl)

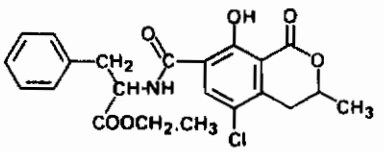
نقطه ذوب ۹۴-۹۶°C



Ochratoxin B

شکل ۴-۲۰ اوکراتوکسین B (C_{20} H_{19} O_6 N)

نقطه ذوب 221°C



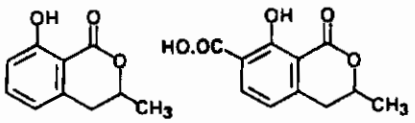
شکل ۴-۲۱ اوکراتوکسین C یا اتیل استراوکراتوکسین A

(C_{22} H_{22} O_6 NCl)

1. Ochratoxin.

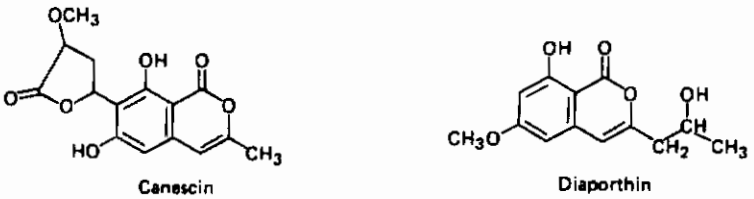
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۴-۲۲ اوکراسین یا ملین (دی هیدروکسی - ۳ و ۴ -دی هیدرو - ۸ - هیدروکسی ۳- متیل ایزوکومارین)

تجزیه‌اوکراتوکسین سبب‌ایجاد دی‌هیدروایزوکومارین می‌شود. دی‌هیدروایزوکومارین در ادرار سنجاب آزمایشگاهی که با سم اوکراتوکسین تغذیه شده بود، مشاهده گردیده است. هیدرولیز اوکراتوکسین A با آنزیمهای پروتئولیتیک ایجاد ال- فنیل آلانین و ماده‌ای به نام اوکراتوکسین آلفا (۷-کربوکسی، ۵-کلرو، ۸- هیدروکسی، ۳ و ۴ -دی‌هیدرو، ۳R- متیل ایزوکومارین)می‌کند.این ماده‌درعصاره‌صفراهم‌دیده‌می‌شود.ساختمان‌شیمیایی‌اوکراتوکسینها شبیه ساختمان شیمیایی توکسین Diaporthin است که بوسیله Endothia parasitica تولید می‌شود.علاوه براین به canescin تولید شده بوسیله penicillium canescens نیز شباهت دارد.



شکل ۴-۲۳ ساختمان شیمیایی Diaporthin و Canescin

اوکراتوکسینها به مقدار زیاد و متنوع بوسیله Aspergillus ochraceus تولید می‌شوند. این توکسینها خیلی ساده‌تر از آفلاتوکسینها، استخراج می‌گردند.

سمیت اوکراتوکسین تابعی از سهولت از دست دادن گروه فنلی آن می‌باشد (۴۰ و ۳۱).

برای مثال بیشترین سمیت را اوکراتوکسین A دارد و LD_{50} این سم برای جوجه اردک یک روزه ۲۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن جوجه است. البته مقدار ۵۰ $\mu g/kg$ نیز در بعضی موارد گزارش شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

LD_{50} این سم در مورد موش Albino به روش خوراکی در نرها ۲۲mg/kg و در ماده‌ها ۲۰ mg/kg می‌باشد. این مقادیر LD_{50} درست نصف مقداری است که در مورد LD_{50} آفلاتوکسین B_1 گزارش شده است. LD_{50} اوکراتوکسین در مورد لارو یا نوزاد میگوی آبهای شیرین (Artemia salina) حدود ۱۰/۱μg/ml می‌باشد. ترکیب متیل اتر اوکراتوکسین A دقیقاً به اندازه اوکراتوکسین A سمی می‌باشد. همچنین مشخص شده که اوکراتوکسین C نیز به اندازه اوکراتوکسین A سمیت دارد. ولی LD_{50} این توکسین در جوجه‌های یک روزه ۲۱۶ میکروگرم است، در حالی که LD_{50} اوکراتوکسین A در مورد همین جوجه‌ها ۱۶۶ میکروگرم تعیین شده است.

اوکراتوکسین سبب مرگ جوجه‌ها و بره‌ها می‌شود و همچنین سبب فلج شدن و خرابی دستگاه تنفس دراین موجودات است. درگوساله‌ها و خوکها همراه با بهم چسبیدن[1] گلبول‌های قرمز خون در کبد و ایجاد ضایعات قلبی موجب مرگ می‌شود.

این توکسین در جوجه‌های ۴ هفته‌ای نژاد White leghorn، باعث تأخیر بلوغ جنسی می‌شود، و زمانی که غلظت سم افزایش می‌یابد، مقدار تولید تخم‌مرغ نیز کاهش پیدا می‌کند. همچنین اوکراتوکسین سبب ضایعات کلیوی و گاهی اوقات مرگ حیوان می‌شود. ترکیب شدن آنزیم فسفوریلاز کبدی بااوکراتوکسین سبب افزایش گلیکوژن در این بافت می‌شود. اوکراتوکسین به همراه یکی از متابولیتهای ناشی از هیدرولیز خود، مانند دی‌هیدروایزوکومارین سبب تأثیر منفی بر بافت تنفسی می‌شود، در واقع اثر آن روی میتوکندری بافت تنفسی است. کپکهایی که قابلیت تولید اوکراتوکسینها را دارند شامل Aspergillus ochraceus که بیشتر از همه سم تولید می‌کند و کپکهای دیگری نظیر A.sulphureus، Penicillium viridiatum، A.mellcus و A.alliaceus می‌باشند. کپک A.sulphureus دارای بازدهی زیاد تولید اوکراتوکسین است و چنانچه به مدت ۱۰-۸ روز روی محیط کشت حاوی گلوکز یا ساکارز که دارای ۱۰mg/lit پتاسیم و ۲۵mg/lit فسفر در دامنه pH = ۶-۶/۳ پرورش یابد، مقدار قابل توجهی توکسین تولید می‌کند. همچنین مقدار اوکراتوکسین B و A ایجاد شده بوسیله کپک A.ostianus تقریباً به اندازه میزان تولید آفلاتوکسین در این کپک می‌باشد (۴۵ و ۳۵).

1. Agglutination

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۹-۱- استخراج و شناسایی اوکراتوکسین

همانطور که قبلاً اشاره شد استخراج اوکراتوکسینها نسبت به آفلاتوکسینها به‌مراتب ساده‌تر است. به این منظور ابتدا با کلروفرم این توکسین از ماده غذایی استحصال شده و سپس بوسیله حلال هگزان رسوب داده می‌شود. آنگاه به کمک فیلتراسیون مجدداً سم جدا شده را در کلروفرم حل می‌کنیم تا خلوص آن افزایش یافته و متعاقباً به کمک محلول آبی ۰/۵ مولار بیکربنات سدیم، دوباره خالص‌سازی و در انتها به کمک روش TLC بر روی ستون سلیکاژل شناسایی می‌شود.

حلالهای مورد استفاده در شناسایی اوکراتوکسین عبارتند از (۳۹ و ۳۰):

اسیداستیک - بنزن به نسبت ۴:۱

اسیداستیک - متانول - بنزن به نسبت ۱۲:۲:۱

اتیل‌استات - تولوئن - اسیدفرمیک ۹۰٪ به نسبت ۵:۴:۱

در انتها به کمک روش اسپکتروفلورودنسیمتری[1] و روش فلورسانس[2] مقدار دقیق اوکراتوکسین، مشخص می‌گردد.

۹-۱-۱- شناسایی اوکراتوکسینها به روش Bioassay

در روش bioassay از باسیلوس سرئوس واریته میکوئیدس[3] استفاده می‌شود میزان بازدهی و تولید اوکراتوکسین با توجه به محیط کشت مصرفی متفاوت خواهد بود، البته شرایط محیطی نیز تأثیر می‌گذارد، مثلاً اگر در فرایند کشت ارلن‌مایر یا فرمانتور راکه حاوی محیط کشت است، خوب تکان دهیم، بازدهی افزایش می‌یابد. همچنین حضور منابعی نظیر اسیدگلوتامیک و پرولین به میزان ۸gr/lit و سایر منابع ازته، به میزان ۶۰ gr/lit ۱۵-۶۰ تأثیر عمده‌ای در بازدهی خواهد داشت.

شرایط مناسب تولید اوکراتوکسین در دامنه‌حرارتی $28^{\circ}C$ بعد از گذشت ۱۴-۷ روز و در محدوده pH = ۶-۶/۳ می‌باشد (۳۰، ۲۹).

---

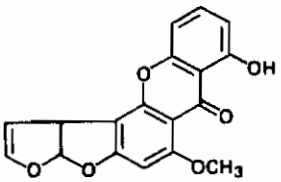
1. Spectrofluorodensitometry Method
2. Fluorescence method
3. Bacillus Cereus Var.Mycoides.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۰- استریگماتوسیستین[1]

فرمول شیمیایی استریگماتوسیستین $C_{10}H_{12}O_6$ می‌باشد و ساختمان شیمیایی آن در شکل زیر مشخص شده است (۴۲، ۲۵ و ۱).



شکل ۴-۲۴ ساختمان شیمیایی استریگماتوسیستین

استریگماتوسیستین به صورت کریستالهای زردرنگی است که نقطه ذوب حدود ۲۴۶°C دارد و در آب نامحلول می‌باشد.

از نظر ساختمانی این توکسین دارای هسته دی‌هیدروفوروبنزوفوران می‌باشد. استریگماتوسیستین بوسیله Aspergillus versicolor تولید می‌شود.

استریگماتوسیستین، سمیت کمتری نسبت به آفلاتوکسینها دارد و LD_{50} این سم برای موش‌ها عبارت است از (۴۲، ۳۵ و ۲).

بصورت خوراکی ۱۶۶ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم برای ماده‌ها
بصورت خوراکی ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم برای نرها
بصورت داخل صفاتی ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم برای نرها

LD_{50} در مورد میمون‌ها ۳۲mg/kg می‌باشد و در نوزاد میگوی آبهای شور LD_{50} ۰/۵۴μg/ml است.

استریگماتوسیستین در مقادیر بین ۱۰۰ mg/kg-۱۸ سبب نکروز بافت کبدی می‌شود. وسعت صدمه‌ای که به بافت وارد می‌شود بستگی به نحوی مصرف سم دارد که آیا بصورت

1. Sterigmatocystin.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

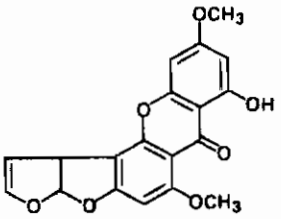
خوراکی مصرف گردیده یا صفاقی تزریق شده است.

در مقادیر بسیار بالای سم یعنی ۱۴۴mg/kg نکروز بافتها همراه با پرخونی کلیه‌ها می‌باشد. این مایکوتوکسین بعد از متابولیسم در طول ۲۴-۱۲ ساعت در ادرار، مدفوع و بخصوص دستگاه گوارش موش ظاهر می‌گردد.

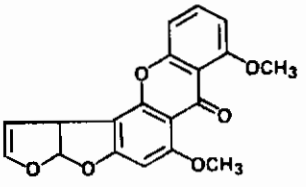
دانشمندان مختلف مشخص کرده‌اند که استریگماتوسیستین یک ترکیب سرطانزا است و از نظر ساختمانی، شباهت زیادی به آفلاتوکسینها دارد (۴۲، ۳۵ و ۲).

مایکوتوکسینهای دیگری نیز شناسایی شده‌اند که شباهت زیادی به استریگماتوسیستین دارند، مانند ۶- متوکسی استریگماتوسیستین ($C_{19}H_{14}O_7$) با نقطه ذوب ۲۲۳°C و $[\alpha]_D^{25}=۳۶۰$.

اورتومتیل استریگماتوسیستین که از A.flavus ایزوله شده‌اند و همچنین آسپرتوکسین که از ۲گونه متفاوت A.flavus جداگردیده، از نظر ساختمان شیمیایی و شکل فضایی مشابه استریگماتوسیستین می‌باشند (۴۲، ۳۵ و ۲).



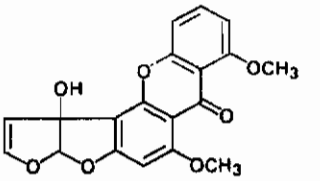
شکل ۴-۲۵ ساختمان شیمیایی ۶- متوکسی استریگماتوسیستین



شکل ۴-۲۶ ساختمان شیمیایی اورتومتیل استریگماتوسیستین

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



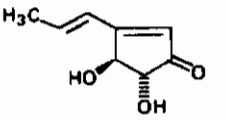
شکل ۴-۲۷ ساختمان شیمیایی آسپرتوکسین

۱۰-۱- استخراج و شناسایی استریگماتوسیستین

روش استخراج و آنالیز فیزیکوشیمیایی و شناسایی استریگماتوسیستین در غلات و دانه‌های روغنی بدین صورت است که ابتدا این توکسین به مشتقات منواستات تبدیل می‌شود تا خاصیت فلورسانس آن افزایش یابد. به این ترتیب، طیف جذبی UV استریگماتوسیستین بخوبی قابل تشخیص است و می‌توان این ترکیب را بخوبی از آنتراکینون‌ها تفکیک نمود (۴۲، ۳۵، ۲ و ۱).

۱۱- ترین یا اسید تریک[1]

تریک اسید یا ترین، آنتی‌بیوتیکی است که بوسیله کپک A.terreus تولید می‌شود. فرمول شیمیایی این اسید عبارت است از $C_8H_{10}O_3$ و ساختمان شیمیایی این توکسین در شکل زیر مشخص گردیده است.



شکل ۴-۲۸ ساختمان شیمیایی تریک اسید

تریک اسید خاصیت یک اسید حقیقی را ندارد و LD_{50} آن، در روش تزریق صفاقی ۷۱-۱۱۹mg/kg گزارش شده است.

1. Teric Acid.

Www.Negashteh.Com

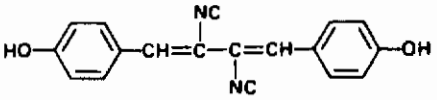
Www.Negashteh.Com

بعضی از گونه‌های A.terreus، علاوه بر ترین، به طور هم زمان تولید سیترینین می‌کنند. همچنین این کپک قادر است اسید سوکسنیک و اسیدا گزالیک را نیز تولید کند.

A.terreus کپکی است که به مقدار زیاد از خاک و گاهی اوقات از سبزیجات ایزوله شده است و علاوه بر ترین، فلاویپین (Flavipin) یا ۳ و ۴ و ۵- تری هیدروکسی -۶- متیل فتالیک آلدهید[۱] را نیز تولید می‌کند. (۱)

۱۲- گزانتوسیلین[۲]

گزانتوسیلین مایکوتوکسینی است که بوسیله A.chevulievi و بعضی از گونه‌های کپک نظیر Aspergillus notatum تولید می‌شود. این سم در گروه سموم کبدی[۳] می‌باشد.



شکل ۴-۲۹ ساختمان شیمیایی گزانتوسیلین

LD_{50} این سم برای موش به صورت تزریق عضلانی ۲۵mg/kg است و در تزریق صفاقی ۳۵mg/kg و در مصرف خوراکی ۴۰ mg/kg می‌باشد (۱).

۱۳- فوماگیلین[۴]

این سم اولین‌بار درسال ۱۹۵۴ از پالیده کشت کپک A.fumigatus استخراج گردید(۲).

فرمول بسته آن $C_{26}H_{34}O_7$ است و اثر سمیت سلولی[۵] زیادی دارد. فوماگیلین، مانع از سنتز اسیددزوکسی ریبونوکلئیک یا DNA می‌شود. و از این نظر عملکرد آن شبیه تأثیر

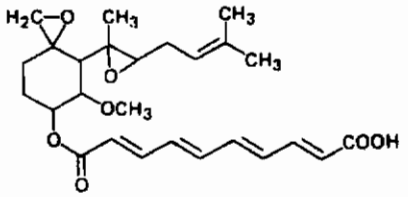
1. 3, 4, 5- Trihydroxy- 6 Methyylphthalic
2. Xanthocillin
3. Hepatotoxic.
4. Fumagillin.
5. Cytotoxic.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

توکسینهای Sporofusarin، barbituric Acid و Streptomycin می‌باشد.

LD_{50} این سم در موش در فرم تزریقی عضلانی ۸۰۰ mg/kg و در فرم خوراکی ۲۰۰۰ mg/kg می‌باشد.

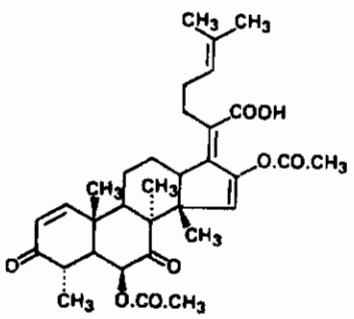


شکل ۴-۳۰ ساختمان شیمیایی فوماگیلین

سمیت این توکسین بالا نبوده و قابلیت آن را دارد که به عنوان دارو علیه بیماریهایی نظیر اسهال آمیبی[1] استفاده شود. امروزه تحت عنوان دارویی بنام Fumidile یا Fumogilline، amebaciline، phagopedine sigma، با کنترل دقیق قدرت سمیت آن مصرف می‌شود. (۲)

۱۴- اسید هلولیک[2]

اسیدهلولیک، تری‌ترپنی است که در فرم طبیعی و ثابت به صورت دی‌استات می‌باشد. فرمول شیمیایی هلولیک اسید $C_{33}H_{44}O_8$ است (۱).



شکل ۴-۳۱ ساختمان شیمیایی هلولیک اسید

1. Amoebic Dysentry
2. Helvolic Acid.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

نقطه‌ذوب این توکسین $^{\circ}C$ ۲۱۱-۲۰۸ می‌باشد و سایر خصوصیات فیزیکی آن به‌صورت زیر است:

$[\alpha]_D^{25} = ۱۲۴^{\circ}$ (کلروفرم) و λmax ۳۲۲nm (E =۹۸) و ۲۳۱nm (E =۱۷/۳۰۰)

LD_{50} هـلولیک اسـید در تـزریق صـفاقی بـه مـیزان ۴۰۰mg/kg و در تـزریق وریـدی ۲۵۰mg/kg و بصورت خوراکی ۱mg/kg است. اگر همین مقدار خوراکی را در حالت تزریق وریدی به‌کار ببریم، با تغییر شکل چربیها درکبد مواجه می‌شویم.

جـهش یـافتگان A.fumigatus و A.helvole ، تـولید مـقدار زیـادی اسـیدهلولیک می‌کنند (۱).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Abedi. Z.H. et Scott P.M. 1969.--Detection of toxicity ofaflatoxins, sterigmaticystin and other fungal toxins by lethal action on zebra fish larvae. J. Ass. Offic. Anal. Chem., t. LII, p. 963-969.

2- Albarak. et Yamagishi S. 1970.--Effects of ultraviolet irradiation on the destruction of aflatoxin B1. In HERZBERG M., Toxic Micro-organisms, p. 211-221.

3- Akaom., Kuroda K. et Wogan G. N.1971.--Aflatoxin B1: the kidney as a site of action in the mouse.Life sci., II, t. X, p. 495-501.

4- Allcroftr. 1964.--Aspects of aflatoxicosis in farm animals. Mycotoxins in Foodstuffs., p. 153-162.

5- Allcroftr. 1969.--Aflatoxicosis in farm animals. in GOLDBLATT L.A., Aflatoxin. Academic Press, p. 237-264.

6- Alperte., Serck-Hanssen A. et Rajagopollan B. 1970.-- Aflatoxin-induced hepatic injury in the African monkkey. Arch. Environ. Health, t. XX, p. 723-728.

7- Ayresj .L., Lee D.J., Wales J.H. et Ssjjhuber R.O. 1971.-- Aflatoxin. structure and hepatocarcinogenicity in rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Nat. Cancer Inst., t. XLVI, p. 561-564.

8- Basappas. C., Jayarman A., Areenivasamurthy V. et Pappia H.A.B. 1967.--Effect of B-group vitamins and ethyl alcohol on aflatoxin production by Aspergillus oryzae. Indian J. Exp. Eiol., t. V, p. 262-263.

9- Bassiro. et Adekunle A. 1970.--Teratogenic action of aflatoxin B1 palmotoxin Bo and palmotoxin Go on the chick embryo. J. Pathol., t. CII,p. 49-51.

10- Bauerd., Lee B. J. et Ssnnhuber R. O. 1969.--Acute toxicity of aflatoxins B1 and G1 in the rainbow trout (Salmo gairdneri). Toxicol. Appl. Pharmacol., t. XV, p. 415-419.

11- Biollazm., Bochi G. et Milne G. 1970.--Biosynthesis of the aflatoxins. J. Am Chem. Soc., t. XCII, p. 1033-1055.

12- Buchi G. et Weinreb S.M. 1969.--The total synthesis of racemic allatoxin M1 (milk toxin). J. Am. Chem. soc., t. XCI, p. 5408-5409.

13- Cappucid. T. 1966.--Aflatoxin and chromosomal studies (Aspergillus flavus).Bull. Environ. Contam. Toxicol., t. I, p. 205-207.

14- Chelkowski, J. 1980. Formation of mycotoxins and detoxification in cereal grains. Roczniki, Academii Rolniczes. Wpoznaniv - Rozprawy Naukowe Nukoo. 47pp.

15- Coomest. J., Crowther P. C., Feuell A.J. et Francis B.J. 1966.--Experimental detoxification of groundnut meals containing aflatoxin. Nature, G.B., t. CCIX, p. 406-407.

16- Daleziosj., Wogan G. N. et Weinreb S. M. 1971.-- Aflatoxin P1 : a new aflatoxin metabolite in monkeys. Science, t. CLXXI, p. 584-585.

17- Darnes., G. L., Nelson G. L. et Manbeck H.B. 1970.-- Effects of drying, storage gases, and temperature on development of mycoflora and aflatoxins in stored high-moisture peanuts. Phytopathology, t. LX, p. 581.

18- Davis., N.D. et Diener U.L. 1970.--Environmental factors affecting the production of aflatoxin. in HERZBERG M., Toxic micro-organisms, p. 43-47.

19- Dicknes., J. W. et Pattee H.E. 1956.-- Time- Temperature-Moisture effects on aflatoxin production in peanuts inoculated with a toxic strain of Aspergillus flavus. Rept. to Peanut

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Improvement Working Group Meeting, Washington, 27-28 avr., 13 p.

20- Dolimpio., D., Jacobson C. et Legator M. 1968.--Effect of aflatoxin on human leucocytes. Proc. Sox. Exp. Biol. Med., t. CXXVII, p. 559-562.

21- Dowell, F. Smith, j. 1995. Anote on high moistore conter Forigen material effects on aflatoxin in peanutsduring storage. peanut science. 22 (2). 166-168.

22- Dutton., M. F. et Heathcote J. G. 1969.--O-Alkyl derivatives of aflatoxins B2 and G2 .Chem. and Ind., p. 983-986.

23- Dwarakanath 21- C. T., Rayner E. T., Mann G. E. et Dollear F. G. 1968.-- Reduction of aflatoxin levels in cottonseed and peanut meals by ozonization. J. Amer. Oil Chem. Soc., t. XLV, p. 93-95.

24- Eldridge., D.W.--Nutritional factors influencing the synthesis of aflatoxin B1 by Aspergillus flavus. M.S. Thesis, Auburn Univ., Alabama.

25- Finoli, G. Galli, A. Vecchig, A. Villani, A. 1995. aflatoxin producting strainsof Aspergillus flavus from spieces. industrie alimentori. 340, 342, 1174-1151.

26- Fischbach., H. et Campbell A.L. 1965.-- Note on detoxification of the aflatoxins. J. Assoc. Off. Agr. Chem., t. XLVIII, p. 1-28.

27- Goldblatt., L.A. et Robertson J.A. 1965.--Extraction of Aspergillus flavus aflatoxin from groundnut meal with acetone-hexane-water azeotrope. Int. Biodet. Bull., t. I, p. 41-42.

28- Gourama, H. Bullerman, L. B. 1995. Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus, Aflatoxigenic fungi of concern in food and feeds. Journal of food protection, 58 (12), 1305-1404.

29- Hesseltine., C. W. 1967.--Aflatoxins and other mycotoxins. Health Laboratory Science, t. IV, p. 222-228.

30- Karainnonglou, P., et 1989. Occurrence of aflatoxin M1 in raw and pasturized milk and in feta and relema cheese samiles. Milchwissenschafy, 44(12). pp: 746-748.

31- Klich, M. A., Yu, J. Change, P. K. Mullaney, E. J. Bhatnagar, D. clevland, T. E. 1995. Hybridization of genes involved in aflatoxin biosynthesis to DNA of aflatoxiyenic and nonaflatoxiyenic, asperyilli. Applied Microbiology and biotechnology 44 (314), 439-443.

32- Letutour, B. Tantaovi, Elaruki, A. Ihlal, L. 1983. Simultaneous detection of alfatoxin B_1 and ochratoxin A in olive oil. Journal of the American oil chemistry society. 60 (4), 835-837.

33- Lindenfelser., L.A. et Ciegler A. 1970.--Studies on aflatoxin detoxificationin shelled corn by ensilling. J. Agric. Food Chem., t. XVIII, p. 640-643.

34- Macdonal, S. Castle, L. 1996. Auk vetail survey of aflatoxins in herbs and spices and their fare during cooking. Food Additives and contaminants, 13 (1) , 121-128.

35- Majerus, P. Woller, R. leevivat, P. Klintrimas, T. 1985. Spices mould contamination and content of aflatoxins, ochratoxin A and steriymatocystin. Bilographic citation, fleischwirt schafr, 65 (9) 1155-1158.

36- Manabe., M. et Matsuura S. 1971.--Liquid chromatography of aflatoxins including aflatoxins B2 and G2 . Agric. Biol. Chem., t. XXXV, p. 417-423.

37- Micco, C. Gross, M. Ononi, R. Chirico, M. Brea, C. 1986. Monitoring for aflatoxin B_1, ochratoxin A and zearalenone in Italian moize of the 1982-1984. Crops. Rivista, della, societa, Italiana, di, scienza, dell, Alimentazionei 15(3), 113-116.

38- Nesheim., S. 1967.--note on ochratoxins (Aspergillus ochraceus). Ass. Off. Anal. Chem.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

J., t. L. p. 370-371.

39- Nesheim., S. 1969.--Isolation and purification of ochratoxin A and B and preparation of their methyl and ethyl esters. J. Ass. Off. Anal. Chem., t. LXX, p. 975-979.

40- Pons., W.A., and Franz, W.O. 1977.--High performance liquid chromatography of aflatoxins in cottonseed products. J.A.O.A.C., 60, p. 89-95.

41- Resnik, S. Neiva, S. Pacin, A. Martinez, E. Apro, N. Latreites, S. 1996. A survey of the natural occurence of aflatoxins and zeralenone in orgentine filed maize. Food additives and contaminats 13(1), 115-120.

42- Salunkhe, D.K., Adsole, R.N., Padule, D.N., 1987. Aflatoxins in foods and feeds, published by, B.V. Gupta, managing, Director metropolitan.

43- Samarajeewa, U., Sen, A.C., Cohen, M.D., Wei, C. I., 1989. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods.

44- Schroeder., H.W. et Ashwortii L.J. 1966.--Aflatoxins: some factors affecting production and location of toxins in Aspergillus flavus-oryzae. J.Stored Prod. Res., t. I,p. 267-271.

45- Searcy., J. W., Davis N. D. et Diener V. L. 1969.-- Biosynthesis of ochratoxin A. Appl. Microbiol., t. XVIII, p. 622-617.

46- Shibatu, TM. M., Souzacunha, M. Del. R. Hirooka, E. Y. 1995. Risk of aflatoxin production is soybean. Semina, 16(1), 168-177.

47- Van Zytveld., W.A., Kelley D.C. et Dennis S.M. 1970.-- Aflatoxicosis : the presence of aflatoxins or their metabolites in livers and sk...at museles of chickens. plult. Sci., t. XLIX, p. 1350-1356.

48- Varham., S.D. et Yadava I.S. 1968.-- Biochemistry of aflatoxins. A review. J. Nutr. Diet., t. V,p. 87-89.

49- Whiaker, I. Horwitz, W., Albert, R. Nesheim, S. 1996. Variability associated with analytical methods used to measure aflatoxin in agricultural commodities. Journal of AOAC International, 79(2) 476-485.

50- Wogan., G.N. 1966.-- Chemical nature and biological effects of aflatoxins. Bacteriol. Rev., t. XXX, p. 460-470.

51- You-Min., Fu, 1996. Determination of aflatoxin M_1 in milk and milk product using immuno - affinity column and fluorescence measurements. Journal of Food and Drug analysis. 4(2). 175-183.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل پنجم

پتولین

پتولین[1]

۱- تاریخچه

پتولین اولین‌بار در دههٔ ۱۹۴۰ از پنی‌سیلیوم کلاوی فورم[2] ایزوله شده است و مشخص شد که دارای خاصیت آنتی‌بیوتیکی است. آزمایشات تجربی نشان داد که می‌تواند در درمان سرماخوردگی در انسان، بسیار مؤثر باشد. شاید یک دلیل مهم برای کشف سریع این مایکوتوکسین مفید بودن آن از نظر پزشکی بوده است.

پتولین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک روی طیف وسیعی از میکروارگانیسمها اثر می‌گذارد و در بررسی بیش از ۷۵ گونه باکتری مشخص شده است که هیچکدام در برابر پتولین مقاوم نبوده‌اند. علاوه بر این، قارچها نیز از نظر تحمل پتولین، متفاوتند و در مورد پروتوزوئرها[3]، زمان تماس و غلظت سم، میزان حساسیت در برابر پتولین را مشخص می‌کند.

به دلیل گزارشات متعددی که در رابطه با خاصیت سمی این ماده منتشر شده است، استفاده از آن به عنوان یک آنتی‌بیوتیک و یا دارو ممنوع گردید (۵).

۲- تولید پتولین

مایکوتوکسین پتولین بوسیله انواع گونه‌های کپک Penicillium ، Aspergillus و Byssochlamys تولید می‌شود. برای تولید پتولین بوسیله انواع گونه‌های پنی‌سیلیوم و

---

1. Patulin
2. P. claviform
3. Protozoa

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آسپرژیلوس از دو محیط کشت سنتتیک Patulin-thom و Czapek-Dox استفاده می‌شود. اضافه کردن عصاره مخمر یا شیره ذرت به محیط کشت Czapek-Dox سبب کاهش تولید پتولین بوسیله گونه‌های پنی‌سیلیوم می‌شود. اما تأثیری روی آسپرژیلوس کلاواتوس[1] ندارد.

تولید پتولین در کشتهای کم‌هوازی تا بیهوازی بیشتر است و دمای ۲۵-۲۰°C نسبت به ۳۰°C برای تولید سم مطلوبتر می‌باشد و در طی ۱۲-۸روز بعد از تلقیح به حد ماکزیمم می‌رسد. در این رابطه مشخص شده که برخی مواد طبیعی موجب افزایش هرچه بیشتر پتولین می‌شوند، مانند آبجو، ماست، برنج، پوسته گندم، خاک برگ و باقی مانده میوه‌جات. پتولین همچنین بر روی محیط کشت Patato-dextrose Agar نیز بوسیله گونه‌های پنی‌سیلیوم تولید می‌شود.

جدول ۵-۱ قارچهای تولید کننده مایکوتوکسین پتولین

PENICILLIUM	ASPERGILLUS	BYSSOCHLAMYS
P.claviforme	A.spclavatus	Byssochlamys nivea
P.divergens	A.giganteus	
P.equinum	A.Terreus	
P.expansum		
P.griseofulvum		
P.novae		
P.melinii		
P.patulum (urticae)		

پتولین دارای نامهای مختلفی است مانند:

۱-Clavicin	(کلاوسین)	۵-Leucopin	(لوکوپین)
۲-Clavaitin	(کلاوی‌تین)	۶-Mycosin-c	(مایکوزین-سی)
۳-Claviformin	(کلاوی‌فورمین)	۷-Penicidin	(پنی‌سیدین)
۴-Expansin	(اکسپانسین)	۸-Tercinin	(ترسی‌نین)

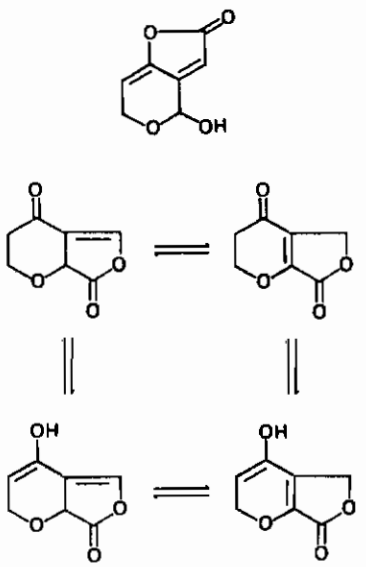
1. Aspergillus clavatus

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۳- خصوصیات فیزیکوشیمیایی پتولین

پتولین از دو حلقه کامل لاکتونی غیراشباع تشکیل شده است که ۵ وجهی هستند. در واقع پتولین یک فوروپیران است (۱۱).



شکل ۵-۱ اساس ساختمان شیمیایی و فرمهای توتومریک پتولین

فرمول شیمیایی پتولین ($C_7H_6O_4$) به صورت زیر بیان می‌شوند:

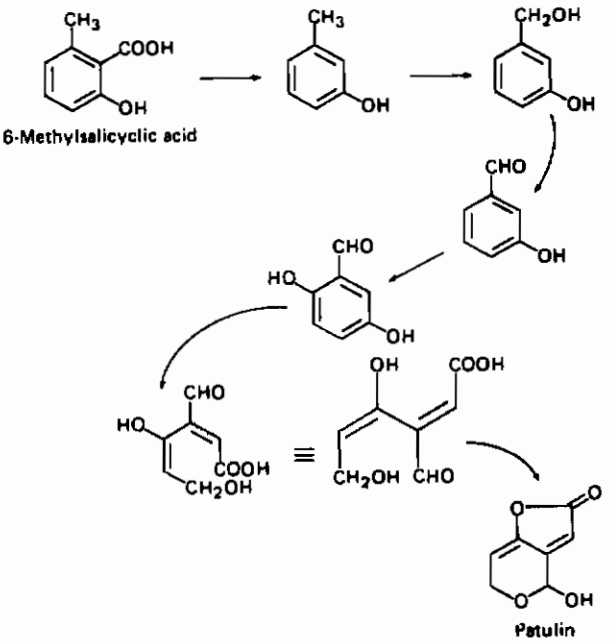
4Hydroxy-4H, Furo - [3, 2, c] pyran, 2[6H] one

بیوسنتز پتولین با استات شروع می‌شود و پیشرفت آن از طریق انواع مواد واسطه آروماتیک مانند ۶- متیل سالسیلیک اسید و ترکیب شیمیایی gentisaladehyde صورت می‌گیرد (۳۲).

خصوصیات فیزیکی و طیف‌جذبی پتولین، با توجه به وزن ملکولی این ماده، در جدول ۵-۲ مشخص شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۵-۲ مراحل بیوسنتز پتولین

جدول ۵-۲ خصوصیات فیزیکی مایکوتوکسین پتولین

طیف رزونانس مغناطیسی هسته	طیف مادون قرمز cm^{-1}	طیف UV		وزن مولکولی
		مقدار نشر	NM	
$CDCL_3$:۵/۹۷ ۳/۴۶d. و ۴/۷۳dd	۳۳۴۰ و ۳۵۸۰ ۱۷۵۳ و ۱۷۸۲	۱۴/۴۵۰	۲۷۶	۱۵۴/۱۲

۳- خواص بیولوژیکی پتولین

پتولین دارای خاصیت ایجاد ناهنجاری در جنین [۱]، جهش زایی [۲] و سرطان زایی [۳] می باشد و بدین سبب در کنار تمام بررسیهای سم شناسی، آزمایشاتی در نظر گرفته شده تا مسمومیت زایی

1. Teratogenic 2. Mutagenic 3. Carcinogenic

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جنینی، جهش‌زایی و سرطانزایی پتولین را بررسی کنند و چون مایکوتوکسینها به صورت خالص بسیار گرانند، بررسی فقط با مقادیر موثر سم، امکان‌پذیر خواهد بود.

پتولین مانع از رشد و جوانه زدن گیاهان مختلف می‌شود و اثر سمیت شدیدی روی ریشه نباتات نوع Alliumcepar دارد. همچنین زمانی که سلولهای گیاهی در حضور پتولین کشت داده می‌شوند، باعث تشکیل سلولهای دو هسته‌ای و اختلالات کروموزومی می‌شود. همچنین عمل میتوز سلولی را متوقف کرده یا باعث ایجاد اختلال در فرآیند آن می‌شود.

پتولین تنفس سلولهای جوانه سیب و سلولهای سویا را متوقف می‌کند و مانع از فعالیت سیستمهای اکسیدازی سلول می‌شود (۲۸).

پتولین در غلظت ۳/۲μg/ml و در مدت ۲ ساعت باعث شکسته شدن ساختمان دوکی شکل سلولهای کبد جانداران در مرحله تقسیم میتوز می‌شود. در حضور پتولین ساختمان دوکی شکل مرحله میتوز در تخم جاندار شکسته شده و سلولهای $Helas_3$ کبد جاندار بعد از اینکه به مدت ۲ ساعت در معرض ۳/۲μg/ml پتولین قرار گیرند، سنتز RNA و پروتئینها به‌میزان ۸۰٪ در آنها متوقف می‌شود، و زمانی که این غلظت افزایش یابد (حدود ۵۰μg/ml)، سنتز پروتئینها در سلولهای رتیکولوسیت[1] خرگوش کاملاً متوقف می‌شود. در شرایط موجود زنده[2]، تأثیر پتولین بر روی سلولهای مغز استخوان مشخص نموده است که پتولین باعث صدمه به کروموزمهای سلول می‌شود وایجاد انحراف در رشته‌های کروماتید بخصوص در کروموزومهای همولوگ V79-E می‌کند (۸).

تزریق صفاقی ۲mg/kg-۱/۵ پتولین، به مدت ۱۷-۶ روز در دوران حاملگی موش CD-۱ سبب کاهش وزن جنینها و در دوزهای بالاتر موجب ناهنجاری در جنینها می‌شود.

همچنین تزریق صفاقی به میزان ۴mg/kg پتولین به مدت ۹-۸ روز در موشهای CD-۱ ایجاد تغییرات جنینی یا ناهنجاری نداشته است اما دوز ۶mg/kg به مدت ۱۰ روز تأثیر کشنده می‌گذارد.

۲mg/kg پتولین به طور روزانه و دو مرتبه در روز، در موشهای swiss و در دوران حاملگی ۱۹-۱۴ روزگی موجب مرگ و میر جنینها بعد از تولد می‌شود.

---

1. Reticulocyte 2. Invivo

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مقدار ۱/۵-۱۵mg/kg پتولین در جیره غذایی روزانهٔ موشهای نر و ماده‌ای که با هم جفت‌گیری کرده بودند، نتایج زیر را بدنبال داشته است:

-گروههایی که دوزهای بالاتر پتولین را مصرف کرده بودند، دچار مرگ و میر بیشتری شدند. و گروههایی که دوزهای پایین‌تر را مصرف کرده بودند، ناهنجاری در جنینهایشان، بوجود آمده بود.

موشهایی که در جیره غذایی آنها ۰/۲mg پتولین بطور روزانه و بمدت ۶ هفته استفاده شده هیچ اثری در آنها مشاهده نگردیده است. زمانی که، به موش نر و ماده، دوزهای مرگ‌آور پتولین یعنی ۱/۵mg/kg را هر روز به صورت خوراکی و به مدت ۱۴-۱۰ هفته تغذیه نمودند حاملگی به صورت طبیعی بود و هیچ ناهنجاری در جنینها مشاهده نشد، بجز اینکه رشد موشها، کاهش یافت. اما زمانی که مقدار ۰/۲mg پتولین به صورت تزریق زیر پوستی و دو بار در هفته برای ۶۴-۶۱ هفته تجدید گردید، تومورهای فیبروزی بدخیم در محلهای تزریق مشاهده گردید که بعداً گسترش پیدا نمود.

در یک بررسی دیگر که از تزریق پتولین به حیوانات آزمایشگاهی استفاده شد، در محلهای تزریق حالت ادم و بی‌رنگی ظاهر گردید، موشها بی‌تاب و بی‌قرار شدند و به‌سختی نفس می‌کشیدند.

تزریق وریدی پتولین، به موشها موجب مرگ آنها می‌شود. مرگ موشها توأم با تشنج می‌باشد، ریه‌ها دچار ادم شده و خونریزی می‌کنند، ششها، کلیه‌ها و طحال احتقان یافته و آب می‌آورند (۷ و ۶).

در موشهای صحرایی، LD_{50} پتولین اندکی بیشتر از موشهای آزمایشگاهی است، علایم ظاهری و پاتولوژیکی تأثیرات پتولین در آنها مشابه موشهای کوچک است بجز اینکه بطور قابل ملاحظه‌ای پتولین اثرات ضد ادراری دارد (۷ و ۶).

تزریق زیرپوستی و داخل صفاقی ۰/۱mg پتولین به مدت بیشتر از ۴ هفته در مرغها موجب، خرابی کبد می‌شود، ولی وقتی مقدار پتولین کم می‌شود و به صورت تزریقی به‌کار می‌رود در جنین مرغها ایجاد ناهنجاری می‌شود که بصورت انحناء و تغییر شکل پاها و مفاصل، اگزنسفالی[1] و اگزوفتایموس[2] و ... دیده شده است.

---

1. Exencephaly 2. Exophthaimos

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

LD_{50} پتولین برای هر تخم‌مرغ ۶۸/۷μg و برای جنینهای چهار روزه بسیار کمتر و تقریباً حدود ۲/۳۵μg است مقدار ۲μg-۱ پتولین در جنینهای چهار روزه ایجاد حالت غیرطبیعی و ناهنجاری، بخصوص در ناحیه پاها کرده است. LD_{50} پتولین در جوجه‌های چهار روزه بمیزان ۲/۴μg به ازای هر تخم‌مرغ خواهد بود.

LD_{50} پتولین در موش متفاوت است. بطوری که برای تزریق زیر پوستی ۱۵mg/kg-۸ تزریق وریدی ۲۵mg/kg-۱۶ و تزریق صفاقی ۶-۳/mg/kg، و در موشهای بزرگ ۲۵mg/kg-۱۵ برای تزریق زیر پوستی و ۵۰ mg/kg-۲۵ تزریق وریدی تعیین شده است.

جدول ۵-۳ مقادیر LD_{50} پتولین برای جانوران مختلف
(میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن جاندار)

گونه	از طریق پوست (S.C)	تزریق داخل وریدی (I.V)	تزریق داخل صفاقی (I.P)
موش	۱۵-۸	۲۵-۱۶	۶-۳
موش‌صحرایی	۱۵	۵۰-۲۵	

هنوز دقیقاً مشخص نشده است که آیا پتولین می‌تواند در پستانداران، ایجاد ناهنجاریهایی بکند یا خیر، ولی قادر است که درجنین ایجاد مسمومیت نماید، بنابراین بایستی که از تماس و از آلودگیهای مواد غذائی با پتولین پرهیز کنیم یا اینکه مطمئن شویم پتولین نمی‌تواند در جنین انسان ایجاد ناهنجاری کند (۲۷ و ۲۵ و ۲۴ و ۱۶).

در واقع در تستهای متعددی مشخص شده است که مصرف خوراکی پتولین بیشتر از حالت تزریقی آن ایجاد سرطان می‌کند.

در تست Ames که جنبه‌های جهش‌زایی پتولین را بررسی می‌کند، مشخص شده است که پتولین در مقادیر دوز مؤثر باعث افزایش و تولید بیشتر یک ماده جهش‌زای قوی[1] می‌شود که می‌تواند سبب جهش ژنهای مختلفی می‌گردد.

1. 8-Azaguanin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

در آزمایشات کشت بافت[1]، پتولین مانع تقسیم سلولی در فیبروبلاست موشها شده است. براساس اطلاعات بدست آمده از آزمایش با تخم دوزیستان، پتولین مسئول شکستگی دوک میتوزی می‌باشد، همچنین پتولین مانع تقسیم سلولها می‌شود. این مایکوتوکسین باعث شکستگی کروموزمها در تخم‌های سمندر می‌شود و سلولهای پلی‌پپتیدی لکوسیت‌های[2] کشت داده شده انسانی را می‌شکند.

شکستگی، هم در رشته‌های تکی و هم در رشته‌های دوتایی DNA مشاهده می‌شود. زمانی که سلولهای $Helas_3$ کلیه، به‌مدت یک ساعت در معرض غلظت ۳۲$\mu g/ml$ پتولین قرار می‌گیرند تجزیه رشته‌های تکی به صورت قابل ملاحظه‌ای صورت می‌گیرد.

علاوه بر این شکستگی در رشته‌های تکی DNA سلولهای موش Fm3A نیز مشاهده شده است (۲۵ و ۸ و ۷ و ۶).

۴-۱-۱ اثر پتولین بر روی سنتز پروتئینها

پتولین به میزان ۸۰٪ مانع سنتز DNA و RNA و پروتئینها می‌شود. در سلولهای کبد، سنتز RNA و پروتئین تا حدود ۶۰-۴۰٪ کاهش می‌یابد زیرا در مجاورت غلظت ۲/۵$\mu g/ml$ پتولین و به مدت ۴ ساعت از انتقال اسیدهای آمینه به داخل ساختمان پروتئینها تا حدود ۴۰٪ جلوگیری می‌شود.

در بررسیهای آزمایشگاهی انجام گرفته هسته سلول کبد موش، وقتی در معرض ۲۰۰$\mu g/ml$ پتولین قرار داده شود، سنتز rRNA در آن تاحدود ۷۰٪ کاهش می‌یابد.

پتولین همچنین باعث آسیب به عمل نسخه‌برداری از DNA می‌شود. علاوه بر این مشخص شده است که سنتز پروتئینها در سلولهای رتیکولوسیت خرگوش، کاملاً متوقف می‌شود (۸).

۴-۲-۱ اثر پتولین بر روی انتقال مواد در سلول

در بررسیهای آزمایشگاهی روی گلبولهای قرمز حیوانی، زمانی که در مجاورت ۱میلی‌مول پتولین قرار گیرند مشاهده شده است که جذب پتاسیم در آنها متوقف می‌شود. هم

---

1. Tissue Culture. 2. Leukocyte

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

چنین وجود پتولین در غلظت ۳۰ mg/ml در محیط بطور شدیدی از انتقال گلی‌سین به داخل رتیکولوسیتهای خرگوش جلوگیری می‌کند.

عمل انتقال مواد به داخل سلولها که معمولاً بوسیله ATPase غشا با صرف انرژی صورت می‌گیرد اگر تحت تأثیر مایکوتوکسین پتولین قرار گیرد این سم مانع فعالیت ATPase غشا می‌شود. عمل انتقال در سطح سیستم آنتی‌ژنی نوعی پروتوزوئر به نام pavameciumaurda نیز، زمانی که در معرض ۱μg/ml پتولین به مدت ۴۸-۱۶ ساعت قرار گیرد، مختل می‌شود. علاوه بر این، پتولین موجب تغییرات نامطلوب در انتقال آنتی‌ژن D و آنتی‌ژن B در سیستم سرولوژیکی یا ایمنی ارگانیسم می‌شود (۸).

۴-۳- اثر پتولین بر روی تنفس سلولی

تنفس سلولی بافتهای حیوانی و گیاهی، تحت تأثیر غلظتهای بالای سم پتولین قرار می‌گیرد، بدین‌صورت که در بافتهای عصبی خوک و بافت کلیه که در معرض ۱۵۰μg/ml پتولین واقع می‌شوند جذب اکسیژن در آنها به ترتیب ۸۰٪ و ۵۰٪ کاهش می‌یابد.

متابولیسم سلولی و فعالیت انتقال غشایی ۳۰ ثانیه بعد از اضافه شدن پتولین متوقف می‌شود. همچنین این سم مانع فعالیت سیستمهای اکسیداتیو در سلول می‌شود (۸).

۴-۴- اثر پتولین بر روی فعالیت آنزیمها

پتولین مانع از فعالیت انواع مختلف آنزیمها می‌شود. این آنزیمها، شامل گروههای آنزیمی تیول[۱]، آلدولاز عضلات، لاکتیک دهیدروژناز عضلات[۲] و الکل دهیدروژناز مخمر[۳] است. همچنین اثر بازدارندگی روی فعالیت کربوکسیلازها، اوره‌آزها و اشریشیا کولی پلی‌مرازها دارد. در واقع سیستئین بلوکه شده مانع از فعالیت LDH می‌شود، اما روی آلدولازو ADH اثر نمی‌گذارد. پتولین مانع فعالیت ATPase می‌شود، اما با کمک ترکیبات سولفوریل‌دار، که عامل SH دارند، این ممانعت از بین می‌رود (۸).

---

1. Thiol. 2. LDH. 3. ADH.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۵- متابولیسم و انتشار پتولین

متابولیسم انتشار واستخراج پتولین با کمک کربن ۱۴ قابل پیگیری است. در صورت نشاندار کردن پتولین با کربن ۱۴، متابولیسم و انتشار این سم را در بدن حیوان بعد از مصرف خوراکی طی ۷ روز از طریق میزان رادیواکتیویته، در ادرار، مدفوع و CO_2 بازدم اندازه گیری می‌کنند. که به ترتیب ۴۰٪ در ادرار ۵۰٪ در مدفوع و ۲-۱٪ در هوای بازدم از بدن خارج می‌شود.

بدین ترتیب در صورت نشاندار کردن پتولین با مواد رادیواکتیو، قسمت اعظم ماده رادیواکتیو بعد از ۲۴ ساعت در ادرار و بعد از ۴۸ ساعت در مدفوع قابل اندازه گیری است.

فعالیت رادیواکتیویته در بافتها و سلولهای قرمز خون تا ۷ روز بعد از مصرف مشاهده می‌گردد. پتولین در موش خیلی سریع متابولیزه می‌شود.

٦- مکانیسم ایجاد سمیت پتولین

امروزه، جهت بررسی مکانیسم اثر سمیت پتولین بر روی سلولها از چند روش B.A.F (Bio Assay Fluorescent) استفاده می‌کنند.

با بکار بردن ۰/۱ میکرومول پتولین، کاهش بسیار معنی‌داری در میزان فلوروسانس منوکلروبیوآمین سلولهای GSH[1] دیده می‌شود، این کار در طی ۱ تا ۲ ساعت اتفاق می‌افتد. شبیه به همین کاهش در سلولهای GSH توسط مایکوتوکسینها بر روی سلولهای کبدی صورت گرفته است. با مجاورت همین مقدار توکسین سلولهای CLC-pk1 کلیه نیز، کاهش خاصیت فلوروسانس را نشان داده‌اند (۲۹).

بررسی پتانسیلهای الکتریکی مشخص کرده است که میزان جداسازی رودآمین ۱۲۳ میتوکندری نیز ارتباط زیادی با غلظت پتولین دارد و این جداسازی زمانی که به مدت یکساعت در معرض ۰/۱ میکرومول پتولین قرار داده شود افزایش می‌یابد (۸).

خاصیت فلوروسانس میتوکندری در دوزهای بالا، کاملاً از بین می‌رود، البته این حالت موقعی که سلولها زمان طولانی‌تری اما در دوزهای پایین‌تر در معرض پتولین قرار بگیرند نیز وجود دارد.

---

1. Reduced Glucathione

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

پتولین موجب افزایش جهش در سلولهای سوماتیک مگس سرکه می‌شود که در اینصورت بازسازی DNA در این سلولها دیده نمی‌شود.

میزان ATP سلولی، زمانی که سلول در معرض ۰/۵ میلی‌مولار پتولین به مدت ۱۵ دقیقه قرار گیرد، کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد، اما حضور یا عدم حضور گلوکز تأثیری در حجم سلول ندارد. اگر سلول به مدت ۳۰ دقیقه در معرض ۰/۱۵ میلی‌مولار پتولین قرار بگیرد، تولید ATP به مقدار زیادی متوقف می‌شود. پتولین مانع از تشکیل تری‌تیوم می‌شود، این ماده پیش‌ساز و واسطه انتقال مواد به داخل زنجیر پروتئینها و RNA می‌باشد و بدین‌طریق در وظایف سلولی ایجاد اختلال می‌کند و وضعی بحرانی و وخیم در آن ایجاد می‌گردد. میانگین حجم سلول بعد از اینکه دو ساعت در معرض ۱ میلی‌مولار پتولین قرار می‌گیرد، افزایش معنی‌داری می‌یابد. معمولاً اثرات پتولین در سنتز پروتئین و RNA به کمک دستگاههای پیشرفته‌ای اندازه گیری می‌شود.

در یک بررسی دیگر اثرات پتولین در جهش‌زایی و ایجاد ناهنجاری در جنینهای موش بررسی شده است. در این خصوص چهار موش ماده بالغ، زایمان نکرده از گونه chavles river CD-1 در یک خانه با یک موش‌نر از همان‌گونه قرار داده شدند. برجستگی واژنیال در روز اول حاملگی ظاهر شد، در روز ۱۷-۱۰ حاملگی، ماده‌ها در ۳ گروه تقسیم‌بندی شدند و به آنها ۱/۵-۲mg/kg پتولین با حجم مساوی از سرم فیزیولوژی خورانده شد، ماده‌ها در روز ۱۹ حاملگی کشته و جنینهای آنها بررسی گردید. نتایج حاصله نشان داد که پتولین به میزان ۱/۵mg/kg در موشها ایجاد ناهنجاری می‌کند. و کاهش وزن جنینهای کامل بعد از دادن پتولین، ناشی از مسمومیت جنینی خواهد بود. بررسی جنینها که مقدار ۲mg/kg پتولین را دریافت داشته‌اند، مشخص کرده که پتولین باعث نابودی جنینها شده است.

تزریق زیرپوستی ۱۵mg/kg پتولین، موشها را دچار درد و بی‌قراری تنفسی می‌کند، بافتهای پوستی ابتدا شروع به قرمز شدن و بعد بادکردگی می‌کنند و سپس مرگ بافت ایجاد می‌شود.

موشهای گونه NMRI نیز بررسی شده‌اند، در شروع آزمایش سن موشها ۱۰-۸ هفته و وزن‌شان حدود ۳۰g بود. بخاطر صرفه‌جویی در زمان بررسی اثرات ناهنجاری‌زایی، آزمایشات به جای روزهای ۱۵-۶ حاملگی در دورهٔ ۱۳-۱۲ حاملگی،انجام شد. به این دلیل در این مدت، استخوان‌بندی ناقص، شکاف در کام، خروج مغز و دنده‌های پهن (عوارض ناهنجاری) کاملاً

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ایجاد شده بود. در این بررسی مقادیر ۱/۲۵، ۲/۵، ۳/۷۵ mg/kg پتولین به صورت تزریق صفاقی و ۳/۷۵mg/kg پتولین به صورت تغذیه مستقیم به کار رفته بود. بعد از مصرف خوراکی ۳/۷۵mg/kg پتولین هیچ اثری از مسمومیت جنینی مشاهده نشد ولی افزایش شکاف کام و نقص کلیه‌ها بوجود آمد (۷ و ۶).

تزریق صفاقی این مایکوتوکسین، تأثیر بیشتری در ایجاد ناهنجاری نسبت به مصرف خوراکی آن دارد. پتولین، ایجاد موتاسیون کرده اما این جهش در جهت افزایش ضریب شکنندگی کروموزوم‌ها نمی‌باشد.

شکستگیهای کروموزومی در غلظتهای ۲۰ mg/kg-۱۰ مصرف خوراکی پتولین بسیار بالاست. این بررسی بر روی کروموزومهای سلولهای مغز استخوان ران آزمایش شده است.

در بررسی سیتوژنتیک[1] سلولهای مغز استخوان در موجود زنده مشخص شده که هر ۳ نوع مایکوتوکسین (پتولین، آفلاتوکسین B_1 و آفلاتوکسین G_1) موجب صدمه به کروموزومها و شکستگی کروماتیدها می‌شوند، اما صدمه‌ای که پتولین می‌زند به مراتب بیشتر از دو مایکوتوکسین دیگر است (۲۸، ۲۶ و ۱).

در این آزمایشات سلولهای مغز استخوان، در مرحله متافاز[2] از استخوان ران تهیه شده‌اند. صدمه و تغییرات کروموزومی در مرحله کدبرداری، و به صورت تجزیه کروماتید، تجزیه ایزوکروماتید و جابجایی داخل کروماتیدها بوده است. آزمایشات نشان می‌دهد که پتولین موجب تغییرات زیادی در میزان رطوبت، چربی و ویتامین A تخم‌مرغ و جگر مرغ ایجاد می‌شود. همچنین کلسیم پوسته به مقدار زیاد کاهش یافته و تغییراتی در شکل ظاهری آن در زمان تماس با پتولین ایجاد می‌گردد. این بررسی روی چهار تیمار، که در هر تیمار ۸ عدد تخم از مرغهای تخم‌گذاری که یک عدد خروس داشته‌اند و ۱۰۰۰ ppb پتولین به مدت ۶ هفته در تغذیه روزانه گروههای مختلف آزمایش استفاده شده، انجام گرفته است. علاوه بر این پتولین سبب ایجاد فرورفتگی‌ها و برجستگی‌هایی در پلاسمای غشا شده و حالت طبیعی سلولها را تخریب می‌کند (۱).

1. Cytoygenetic 2. Metaphase

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۷- پتولین و سیستم ایمنی

پتولین مانع تشکیل پادتنها در سیستم ایمنی موجودات زنده می‌شود. این اثرات در بررسیهای آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. آزمایشات بیشتر بر روی ماکروفاژ[1] صورت گرفته است. پتولین همچنین سبب کاهش فعالیت آنزیمهای لیزوزومی[2] و عمل فاگوسیتوز می‌شود. این اثرات، زمانی که پتولین به مقدار ۰/۱mg/ml در محیط وجود داشته باشد مشاهده می‌شود و در غلظت ۰/۵mg/ml فعالیت آنزیمها راکاملاً متوقف می‌شود.

پتولین مانع فعالیت لنفوسیتها[3] در غلظتهای بالاتر از LD_{50} خواهد شد. این مسأله در بررسیهای آزمایشگاهی و شرایط ایمونولوژیکی در موشهای نوع Balb/c به اثبات رسیده است. غلظتهای بالای پتولین باعث کاهش حساسیت بعضی از آنتی‌ژنها می‌شود و بدین وسیله این آنتی‌ژنها قادر به فعالیت نخواهند بود.

۸- پتولین و متابولیسم کربوهیدراتها

اثر سم پتولین در تمام ارگانهااز جمله کبد، کلیه و زوده حیوانات مورد بررسی واقع شده است و نتایج حاصله نشان می‌دهد که باعث ایجاد اختلال در عمل این ارگانها می‌شود. از مهمترین این تأثیرات، اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها است که تحت تأثیر تغییرات غلظت یک تعداد از آنزیمهای مؤثر در متابولیسم کربوهیدراتها انجام می‌شود. آنزیمهایی نظیر هگزوکیناز و آلدولاز بطور معنی‌داری تحت تأثیر پتولین قرارگرفته و مقدار آنها کاهش می‌یابد (۱).

استفاده از مقدار ۲/۵mg/kg پتولین در موش، مرگ‌آور و کشنده خواهد بود. در بررسیهای مصرف کوتاه مدت[4] پتولین مشخص شده است که پتولین سبب اختلال در سیستم گوارش از جمله تهوع، استفراغ، خونریزی احتقان و ایجاد زخم در این نواحی می‌شود و در مصرف طولانی‌مدت[5]، سرطانزایی پتولین در موشها محرز شده است. در یک بررسی علمی چهار گروه میمون pig-Tail گونه macaca Nemestrina در گروه دوتایی در مقایسه با یک گروه

1. Macrophage
2. Lysosome enzymes
3. Lynphocyte
4. Short term
5. Long term

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

شاهد نسبت به اثرات سمی پتولین بر روی آنها، مورد آزمایش قرار گرفتند، سایر گروهها و گروه شاهد روزانه دوزهای خوراکی پتولین را در مقادیر ۵، ۵۰، ۵۰۰ μg/kg دریافت داشتند. این مقادیر به همراه قطعات موز، به مدت ۴ هفته و به طور روزانه به جانور داده شد. بعد از پایان مدت آزمایش بررسیهای خون‌شناسی در مورد آنها صورت گرفت و پارامترهایی نظیر پروتئین سرم خون، گلوتامات اکسی‌لاکتات سرم‌خون، ترانس آمیناز، فسفاتازقلیایی، اوره، نیتروژن خون، کلسترول، پروتئین، گلوکز، سدیم و پتاسیم نیز تعیین گردید. نتایج آزمایشات نشان می‌دهد که فقط مصرف خوراکی پتولین اثر معنی‌داری بر روی میزان فسفاتهای قلیایی داشته و هیچ تغییر معنی‌داری در سایر پارامترها ندارد (۱۶ و ۸).

۹- آلودگی مواد غذایی به سم پتولین

کپکهایی که قادر به تولید پتولین هستند از انواع فرآورده‌های گیاهی و حیوانی ایزوله شده‌اند. مایکوتوکسین پتولین اصولاً توسط کپکهایی که در میوه‌جات بخصوص سیب، ایجاد فساد می‌کنند، تولید می‌شود. میوه‌هایی نظیر هلو، گلابی، انگور، آلو، خیار، آناناس، شاتوت، گوجه‌فرنگی، گوجه‌سبز، موز و مویز نیز به سادگی بوسیله پتولین آلودگی پیدا می‌کنند (۱۳ و ۲).

تحت شرایط طبیعی، پتولین منحصراً از سیب، آب‌سیب، کره سیب و سایر محصولاتی که از سیب کپک زده تهیه می‌شود، قابل جداسازی است. منبع اصلی پتولین در رژیم غذایی انسان، احتمالاً آب سیبی است که با سیبهای آلوده به پتولین و کپک‌زده تهیه شده است (۲۰ و ۱۷).

پتولین موجود در آب‌سیب، در مقایسه با سایر آب میوه‌ها، پایدارتر است. (حتی برای مدت بیشتر از ۳ هفته)، چون علاوه بر اینکه آب‌سیب دارای pH پائینی است، حاوی گروههای SH یا سولفیدریل کمی نیز است و همین مسأله سبب آلوده شدن این محصول به کپک و تولید پتولین در آن می‌شود (۱۷، ۱۳، ۱۲ و ۲). مراکز بهداشتی در سوئیس، سوئد، بلژیک، بعضی از جمهوریهای تازه استقلال یافته شوروی سابق، و نروژ، توجه ویژه‌ای به مشکل آلودگی پتولین در مواد غذایی و بویژه آب سیب، نشان داده‌اند و ماکزیمم غلظت مجاز (MPC)[1] حضور پتولین در آب سیب را ۵۰μg/lit تعیین کرده‌اند.

1. Maximum Permited Concenteration

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۵-۴ مایکوتوکسین پتولین در مواد غذایی

مایکوتوکسین	محصول	کشور	نتایج آزمایشات: تعداد نمونه‌های آلوده‌ازکل نمونه‌ها	نتایج آزمایشات: مقدار µg/kg
پتولین	شربت‌سیب	فرانسه	۹ از ۱۳	۱۰۰-۳۰۰
	آب‌سیب	امریکا-کانادا	۵۳۲ از ۹۹۵	۱-۴۵۰۰
		سوئد		
		سوئیس		
		آلمان		
		انگلستان		
		فرانسه		
پتولین	آب‌انگور		۲۱ از ۵۵	۱-۲۳۰
	آب‌سیب		۱۰ از ۲۵	۵-۵۶
	آب انگور		۰ از ۱۳	
	سیب	اسپانیا	۵۴ از ۱۰۴	۱۰۰۰-۲۵۰/۰۰۰
	گلابی		۸ از ۲۴	۹۰۰-۱۰/۰۰۰
	کنسانتره‌سیب	فرانسه	۲۷ از ۲۷	۵۵-۶۱۰
پتولین	فرآورده‌های‌سیب	آلمان	۷ از ۱۰۷	
	آب میوه	ایتالیا	۱۲ از ۵۸	۱۱-۵۰
	مربا	ایتالیا	۱۰ از ۲۰	۵-۱۵
	آب‌سیب	فنلاند	۱۰ از ۵۱	۵-۵۰
				۵-۷۲
پتولین				
	آب‌سیب	آلمان	۴۱ از ۶۶	۲-۵۰
	نوشابه‌های سبک		۲ از ۲۴	۲-۱۰
	مربا		۱۵ از ۳۵	۲-۲۰
	کمپوت		۰ از ۱۲	
	غذای کودک		۰ از ۷	
	سوپ‌های معطر	هند	۱ از ۱۴۷	

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۵-۵ پتولین موجود در آب سیب

محصول	درصد آلودگی	مقدار پتولین µg/kg
آب میوه کنار خیابانی	۵۸	۱۰-۳۵۰
آبمیوه خانگی	۴۰	۶-۱۶۴۰۰
کنسانتره آبمیوه	۲۰	۵۰-۶۹۰
آبمیوه تجارتی	۲۷	۲۳۹
آبمیوه‌خانگی	۳۰	۲۴۴۴۰۰
کنسانتره	۳۰	۵-۱۴۷۸
آبمیوه	۳	۱۰۶-۲۱۶ژ
کنسانتره آبمیوه	۱۰۰	۵۵-۶۱۰
آبمیوه و کنسانتره	۰	-
آبمیوه	۲۱	۵-۱۵
آبمیوه	۱۷	۱۰-۱۳۰
آبمیوه	۳۰	۲۰۰-۱۲۰۰
آبمیوه	۴۲	۵-۵۶
آبمیوه	۳۷	۴۰-۴۴۰
آبمیوه	۸۲	۲-۷۳
آبمیوه	۴۰	۲۰-۲۰۰
آبمیوه	۰	-
آبمیوه	۸۴	۲۰-۷۴۰۰
آبمیوه	۱۰۰	۲-۶۰
آبمیوه	۸۶	۲۴۰۲
شربت سیب	۲۱	۲۵۰-۲۰۰۰
شربت سیب	۶۲	۴۴-۳۰۹
شربت سیب	۱۰۰	۲۴۴-۳۹۹۳

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۵-۶ پتولین موجود در سایر آب‌میوه‌ها

محصول	درصد آلودگی	مقدار پتولین برحسب میکروگرم در لیتر
آب گلابی	۸۳	۲-۲۵
آب گلابی	۱۰۰	< ۲۰
کنسانتره آب گلابی	۰	-
آب گلابی	۱۰۰	<۳
کنسانتره آب‌لیمو	۰	-
آب پرتقال	۰	-
آب اناناس	۰	-
آب - آناناس	۱۰۰	<۲۵
کنسانتره آب شاتوت	۱۰۰	۱۵
آب انگور سیاه	۶۶	۸-۱۰
کنسانتره آب انگور سیاه	۱۰۰	<۵
آب انگور قرمز	۰	-
کنسانتره آب انگور قرمز	۱۰۰	۵-۳۶۱
آب انگور سبز	۰	-
آب ریواس	۰	-
آب هلو	۳۳	<۲۵
آب زردآلود	۳۳	<۲۵
آب انگور	۲۲	<۵۰
آب انگور	۱۶	۵۰-۲۳۰
آب انگور	۰	-
کنسانتره آب انگور	۳۳	۱۰
آب انگور	۰	-

جدول ۵-۷ پتولین موجود در انواع محصولات کشاورزی در کشورهای مختلف

مایکوتوکسین	محصول	کشور
پتولین	سیب	انگلستان
پتولین	شربت‌سیب	فرانسه
پتولین	آب‌سیب و هلو	آلمان
پتولین	سیب	کانادا
پتولین	آب انگور	کانادا
پتولین	آب سیب	کانادا
پتولین	موز و آناناس	آلمان
پتولین	انگور، هلو و زردآلود	آلمان
پتولین	آب سیب	سوئد

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۵-۸ پتولین موجود در آب سیب و محصولات میوه‌ای

محصول	نمونه‌های موردبررسی	نمونه‌های حاوی پتولین
اسانس سیب	۱۴	۳
کنسانتره آب‌سیب وارداتی	۶۴	۱۳
کنسانتره سیب فنلاندی	۷	۲
آب سیب تجارتی	۲۴	-
آب سیب خانگی	۲۰	۸
سیب	۱۰	-
سیبی که اسپورکپک به آن تلقیح شده	۱۰	۱۰
سیب کپک زده	۷	۲
شربت سیب	۲	-
سرکه سیب	۱	-
مربای سیب کپک‌زده	۲	۱
مربای سیب تجارتی	۲	-
سُس سیب	۱	-
برگ زردآلو	۶	-
کنسانتره آب گلابی	۱	-
مربای ریواس کپک‌زده	۱	-
سُس گوجه‌فرنگی	۲	-
جمع	۱۷۶	۳۹

کمیته WHO[1] مقدار تحمل جذب (PTWI)[2] هفته‌ای (پتولین را ۷μg/kg وزن بدن تعیین کرده است، تحت عنوان و اغلب چون این محصول بوسیله کودکان به مصرف می‌رسد،محدودیت جذب در مورد کودکان در سطح دنیا وجود دارد و بمقدار ۰/۲۶μg/kg وزن بدن در روز، تعیین شده است (FAO/WHO.1990).

مراکز بهداشتی در استرالیا، قوانینی را در مورد غذاتحت عنوان NHMRC(1987) به تصویب رسانیده‌اند. این قوانین هیچ غلظتی را برای پتولین در هر ماده غذایی مجاز ندانسته است. بررسیهای متعددی طی سالهای گذشته درکشورهای مختلف برای تعیین میزان دقیق پتولین آب‌سیب و فرآورده‌های دیگر سیب انجام شده است. طی سالهای ۷۷-۱۹۷۶ سیبهای ایالت

1. World Health Organization
2. Provisional Tolerable Weekly Intake

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ویس‌کانسین، بررسی شدند و از مجموع ۴۰ نمونه آب سیب، ۳۲ نمونه دارای ۱۰-۳۵μg/lit، پتولین بوده‌اند و متوسط آلودگی پتولین در کل نمونه‌ها ۵۰/۷μg/lit گزارش شده است. در سال ۱۹۷۴ سیبهای واشنگتن DC بررسی و متوسط آلودگی آب سیب در این نواحی به ازای هر ۸ تا ۱۳ نمونه ۴۴-۳۰۹μg/lit بوده است.

در سال ۱۹۸۴، آب سیبهای پاستوریزه ایالت جورجیا مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص شد که دارای ۲۴۴-۳۹۹۰μg/lit پتولین می‌باشند. متوسط آلودگی ۱۹۰۲μg/lit پتولین بود. در سال ۱۹۸۱ آب‌سیبهای نیوزیلند مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که دارای ۱۰۶-۲۱۶μg/lit پتولین بودند. نمونه‌برداری از کنسانتره آب‌سیب ۸ منطقه هلند مشخص کرد که متوسط غلظت پتولین در آنها ۳۰μg/lit بود. ۱۳ مورد نمونه‌برداری از آب‌سیب در سال ۱۹۸۵ مشخص کرد که آلودگی به پتولین نمونه‌های آب‌سیب انگلستان بین ۵۶-۵μg/lit بوده است.

در یک بررسی که طی اکتبر ۸۸ تا ماه می ۸۹ در دپارتمان بهداشت ویکتوریای نیوزیلند انجام شد مشخص نمود که بیشترین غلظت پتولین در نمونه‌های مورد آزمایش ۶۲۹-۶۲۵μg/lit بوده و منبع اصلی آلودگی پتولین در نمونه‌های آلوده، سیبهای فاسد و پوسیده‌ایی بودند که بصورت سورت نشده وارد پروسه تهیه آب میوه می‌شدند.

فقط تعداد کمی از تولید کنندگان صنعتی آب سیب در نیوزیلند، محصولشان فاقد پتولین بوده و متوسط آلودگی پتولین ۲۵μg/lit تعیین شده است. معذالک آب‌سیبهای آلوده بطور متوسط بیشتر از ۲۵۰μg/lit پتولین نداشتند و فرد ۷۰ کیلوگرمی که بطور متوسط روزانه یک لیوان ۲۵۰ml آب‌سیب آلوده را بنوشد، $\frac{۱}{۳۰۰۰}$ دوزی را که قادر است اثر سرطانزایی داشته باشد، مصرف می‌کند. عدم دستیابی به اطلاعات کافی در رابطه با سرطانزایی پتولین، شاید به علت فقدان یک فعالیت منظم و دقیق تحقیقاتی در اغلب کشورهاست (۲۰ و ۱۷ و ۱۳).

۱۰- تأثیر پارامترهای فیزیکوشیمیایی بر حذف یا غیرفعال کردن مایکوتوکسین پتولین

۱۰-۱- حرارت

برای بررسی تأثیر حرارت، ۲۵۰ml-۱۵۰ آب‌سیب نمونه‌های سیب جورجیا که حدود ۲۰μg/lit پتولین داشتند، تحت فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون قرار داده شدند. به این منظور تأثیر چهار

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

تیمار حرارتی مختلف ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به روش حرارتی HTST[1] مقایسه شد. دراین آزمایش از لوله‌هایی به طول ۱۶۳/۸cm و قطر ۰/۱۳cm استفاده شد. سرعت جریان ۱۲/۴۲ میلی‌متر در دقیقه و زمان توقف در لوله‌ها، ۱۰ ثانیه می‌بود. در روش HTST با درجه حرارت $90^{\circ}C$ زمان توقف نمونه‌ها درلوله متفاوت و شامل ۲۰، ۳۰، ۸۰ و ۱۶۰ ثانیه بود.

استفاده از روش حرارتی متناوب در تخریب توکسین نشان می‌دهد که این فرآیند هم به طور معنی‌داری، سبب کاهش غلظت پتولین می‌شود.

افزایش زمان نگهداری در دامنه $90^{\circ}C$ اثر معنی‌داری روی کاهش غلظت پتولین نداشت و اعمال این درجه حرارت ۱۸/۸٪ غلظت پتولین راکاهش داد. در واقع فرآیند حرارتی سبب کاهش سطح پتولین آب سیب می‌شود، اما بطور معمول فرآیندهایی که بکار می‌روند، اغلب ناکافی هستند وبطور کامل موجب تخریب توکسین نخواهند شد.

پتولین در دامنه حرارتی $80^{\circ}C$ به مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه از بین نمی‌رود ولی میزان آن زمانی که آب‌سیب به مدت ۳ هفته در $22^{\circ}C$ نگهداری شود، کمی کاهش می‌یابد.

جدول ۵-۹ اثر فرآیند پاستوریزاسیون بر غلظت پتولین

(b)درصدکاهش	(a)میکروگرم در لیتر پتولین شربت‌سیب	پاستوریزاسیون	
		زمان	درجه حرارت °C
۰	۱۱/۵c	ثانیه ۰	-
۷	۱۰/۶cd	ثانیه ۱۰	۷۰
۱۲	۱۰/۰d.e	ثانیه ۱۰	۶۰
۱۵	۹/۸d.e	دقیقه ۱۰	۹۰
۱۵	۹/۷d.c	ثانیه ۱۰	۸۰
۱۹	۹/۳e	ثانیه ۱۰	۹۰

a: میانگین‌های ۶ آزمایش انجام شده روی هر ۳ نمونه‌ها

b: درصد کاهش در مقایسه با نمونه‌های حرارت ندیده

c, de: میانگین‌ها تفاوت معنی‌داری ندارند $P > ۰/۰۵$

1. High Temperature Short Time

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

میزان سم پتولین در آب سیبهایی که در قوطی بسته‌بندی شده بودند بعد از ۵ هفته نگهداری نیز اندکی کاهش یافت. و آب‌سیبهایی که برای یکماه در $^{\circ}C$ ۲۲ نگهداری شده بودند، پتولین در آنها، به میزان کمی کاهش یافت.

پتولین در برابر تأثیرات مخرب حرارت در دامنه pH = ۳/۵-۵/۵ مقاومت نشان می‌دهد (حتی زمانی که حرارت $^{\circ}C$ ۱۲۵ بکار گرفته شود) بطور کلی نتایج حاصله از بررسی مقاومت حرارتی پتولین مشخص می‌کند که در pH پائین‌تر زمان نابودی سم افزایش می‌یابد و این بخاطر ثبات پتولین در شرایط اسیدی و محلولهای اسیدی است.

۹۰٪ پتولین در محلولهایی اسیدی با pH=۳/۵ و در حرارت $^{\circ}C$ ۱۲۵ و به مدت ۲۶۸ دقیقه از بین می‌رود و ۲۰٪ پتولین زمانی که نمونه حاوی پتولین در حرارت $^{\circ}C$ ۱۲۰ به مدت ۳۰ دقیقه فرآیند می‌شود تخریب می‌گردد، اما سم پتولین ثبات خود را در حرارت $^{\circ}C$ ۸۰ به مدت ۳۰ دقیقه حفظ می‌نماید (۳۵).

بطور کلی استفاده از فرآیند حرارتی روش کاملاً مطمئنی برای از بین بردن سم پتولین نیست.

pH -۲-۱۰

در یک بررسی علمی اثر pH محیط روی تولید پتولین در آب‌سیب واریته سیبهای دانه‌دار براملی شمال ایرلند، مشخص کرده است که درجه pH این نوع سیبها، به طور معمول ۲/۸-۳/۲ می‌باشد. بعد از آبگیری از این سیبها به کمک پرس هیدرولیک آب‌سیب را صاف می‌کنند و سانتریفوژ می‌شود و سپس تحت شرایط خلاء از فیلتر با روزنه ۰/۲μm عبور داده می‌شود. جهت اطمینان از استریل شدن، نمونه‌ها به مدت ۳ روز در $^{\circ}C$ ۲۵ نگهداری می‌شوند. بعداً نمونه‌ها را به ۷ قسمت تقسیم کرده و به کمک سود ۱ مولار درجه pH نمونه‌ها را بین ۴-۲/۸ تعین می‌کنند. سپس اسپورهای کشت ۶ روزه پنی‌سیلیوم اکسپانسوم که بر روی محیط کشت potato agar dextros (اُکسید) رشد پیدا کرده‌اند با کمک ۱۰۰ ml آب پپتونه شستشو می‌شوند. میسلیومها و سایر مواد به کمک صافی با روزنه ۰/۲mm جدا می‌شوند، بعداً اسپورها تا رقت $۱۰^{۴} \times ۵$ اسپور در هر میلی‌لیتر رقیق شده و به نمونه‌های آب سیب تلقیح می‌شوند.

نمونه‌ها به مدت ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۵ روز نگهداری می‌شوند و بعد از طی زمان مذکور، توده

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

سلولی را به کمک فیلتر جدا کرده و pH ماده صاف شده را در درجه حرارت اتاق به کمک pH متر اندازه گرفته و سپس پتولین نمونه‌ها را به کمک روشهای رایج اندازه گیری می‌کنند.

غلظت پتولین در نمونه‌های آب‌سیب، رابطه مستقیمی با pH اولیه آب سیب دارد.

جدول ۵-۱۰ غلظت پتولین و pH اولیه

لگاریتم غلظت پتولین برحسب میکروگرم در لیتر بعد از گذشت ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۵ روز مشخص شده است.

مقدار تغییر غلظت پتولین برحسب میکروگرم در لیتر	میانگین	۳۵	۲۰	۱۰	pH اولیه
۶۹۸	۲/۸۴۴	۲/۷۷	۳/۴۵	۲/۳۰	۲/۸
۲۱۵	۲/۳۳۳	۲/۱۵	۲/۶۵	۲/۲۰	۳
۴۵۷	۲/۶۶۱	۲/۶۰	۲/۹۹	۲/۳۹	۳/۲
۵۷۶۷۷	۴/۷۶۱	۴/۷۸	۴/۶۰	۴/۹۰	۳/۴۱
۳۸۱۰۶	۴/۵۸۱	۴/۶۰	۴/۶۹	۴/۴۵	۳/۶
۶۰۵۳۴	۴/۷۸۲	۴/۷۵	۴/۹۰	۴/۶۹	۳/۸
۱۷۸۲	۳/۲۵۱	۳/۳۰	۳/۵۰	۲/۹۵	۴

معنی‌داربودن	مربع خطاها	اثر تیمارها
**	۰/۰۸۰	زمان
***	۰/۱۲۳	pH
NS	۰/۲۱۲۸	pH و زمان

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پتولین زیادی در pH، ۳/۲، ۳ و ۲/۸ تشکیل نشده است ولی پتولین تولید شده در pH = ۳/۸-۳/۴ بالا بوده است. بررسیهای انجام شده نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین غلظت پتولین در pH = ۳/۸ و pH = ۳/۴ وجود ندارد.

(LSD = 0/61 و p = 0.05)

در pH = ۳/۶، غلظت پتولین اندکی کاهش می‌یابد. در واقع پتولین در دامنه ۳/۲ < pH < ۴ تولید می‌شود. این توکسین، بوسیله بایسوکلایمس فولوا نیز در انواع آب میوه با

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

pH مختلف تولید می‌شود. آب‌میوه‌ها از نظر مواد مغذی مختلف‌اند و اینکه پتولین تولید شده آیا می‌تواند تابعی از غلظت مواد تشکیل دهنده باشد، هنوز مشخص نشده است، اما پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که pH آب‌سیب یک اثر معنی‌دار روی مقدار پتولین تولید شده دارد و آب‌سیب، دانه‌دار براملی در شمال ایرلند چون pH پایینی دارد، مقدار تولید پتولین در آن بالا می‌باشد (۱۲).

۱۰-۳- فرآیند تخمیر

بررسیهای انجام شده نشان می‌دهد که پتولین موجود در آب‌سیب بوسیله فرآیند تخمیر حذف می‌شود و در طی تخمیر با گونه‌های ساکارومایسز طی زمان ۲ هفته مشخص شد که نمونه‌های آزمایشی حاوی پتولین، فاقد پتولین بودند یا پتولین آنها بمیزان قابل توجهی کاهش یافته بود.

در طی فرآیند تخمیر، پتولین موجود در آب سیب به مواد محلول در آب و غیر فرار متابولیزه می‌شود، ولی هنوز این ترکیبات دقیقاً شناسایی نشده‌اند.

۱۰-۴- افزودنیهای شیمیایی

۱۰-۴-۱- اسیدآسکوربیک:

چنانچه اسیدآسکوربیک به آب‌سیب حاوی پتولین اضافه شود، در طی نگهداری به مدت ۳ هفته پتولین از محیط حذف خواهد شد. ولی نمونه آب‌سیب شاهدی که توکسین پتولین داشته، ولی فاقد اسید آسکوربیک است، فقط ۱۰٪ پتولین آن کاهش خواهد یافت (۳۴ و ۲۴).

۱۰-۴-۲- سوربات، بنزوات و SO_2

در بررسی که با کپک بایسوکلایمس گونه NRRL-2615 صورت گرفته است، تأثیر این مواد شیمیایی و تولید پتولین و رشد توده سلولی را مشخص کرده‌اند. اساس انتخاب این گونه کپک، قابلیت تولید بالای پتولین در محیط کشت PDA و دمای محیط $4^{\circ}C$ با pH: ۵/۵ می‌باشد.

آب سیب طبیعی واریته Red deheck بدون هیچگونه مواد افزودنی برای آزمایش انتخاب شد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

برای تهیه محلولهای خالص سوربات پتاسیم وبنزوات سدیم ۲gr ازآنهارابه ۱۰۰ میلی‌لیتر آب فاقد یون اضافه می‌کنیم. و برای تهیه محلول SO_2، محلول سدیم متابی‌سولفیت یا پیروسولفیت را به میزان ۲/۹۷gr به ۱۰۰ ml آب فاقد یون اضافه می‌کنیم که این معادل با ۲gr SO_2 می‌باشد.

در این تحقیق ابتدا غلظتهای معینی از سوربات پتاسیم (۱۵۰ μg/lit و ۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۰) و (۱۰۰ μg/lit و ۵۰ و ۰). و بنزوات سدیم (۵۰۰ μg/lit و ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰ و ۰) و (۴۰۰ μg/lit و ۲۰۰ و ۰) و SO_2 (۱۰۰ μg/lit و ۷۵ و ۵۰ و ۲۵ و ۰) و (۵۰ μg/lit و ۲۵ و ۰) به نمونه‌های آب سیب طبیعی اضافه شده و بعد از نگهداری به‌مدت ۲۵ روز در دمای ۲۱°C، ۳۰°C و ۳۷°C میزان رشد و ایجاد توده سلولی بوسیله بایسوکلایمس نیوآ و بعد از ۱۵ روز نگهداری در حرارت‌های ۳۰°C و ۳۷°C و ۲۱ روز نگهداری در ۲۱°C روند تولید پتولین در نمونه‌های آب‌سیب اندازه گیری شده است. اولین نشانه‌های رشد در مدت ۹-۸ روز بدست آمد (۳۰).

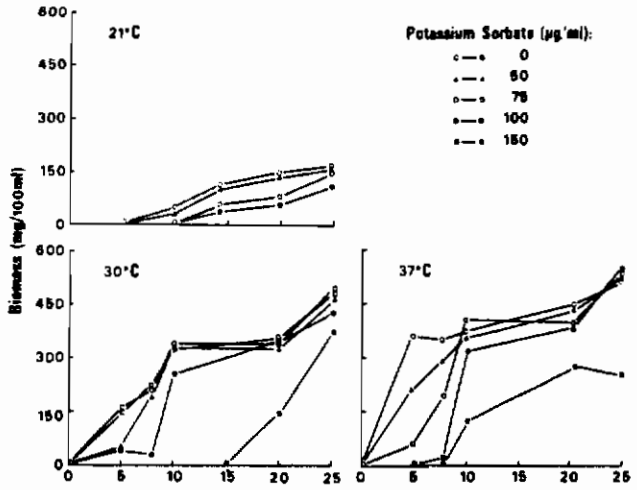
نتایج حاصله حاکی از این بود که آب‌سیبی که دارای سوربات پتاسیم در دامنه ppm (۱۵۰-۰) بود، افزایش درجه حرارت نگهداری موجب افزایش میزان رشد کپک گردید و آب‌سیبی که ppm (۵۰-۰) سوربات داشته و در دمای ۲۱°C اینکوباسیون بود در طول ۵ روز هیچ رشدی در آن بوجود نیامده ولی در دمای ۳۰°C و ۳۷°C در مدت ۵ روز رشد کپک مشاهده شد. در دمای ۲۱°C آب‌سیبی که ppm (۵۰-۰) سوربات پتاسیم داشت در طی ۱۰ روز دوره نگهداری رشد کپک را نشان داد، ولی در غلظت ppm ۱۰۰-۷۵ سوربات پتاسیم حتی در طی ۱۴ روز هم رشدی در آن دیده نشد (نمودار ۵-۳).

همانطور که در نمودار ۵-۴ مشخص شده بنزوات سدیم به‌طور معنی‌داری از رشد توده سلولی در هر غلظتی و در تمام درجات حرارت ممانعت می‌کند (۳۰).

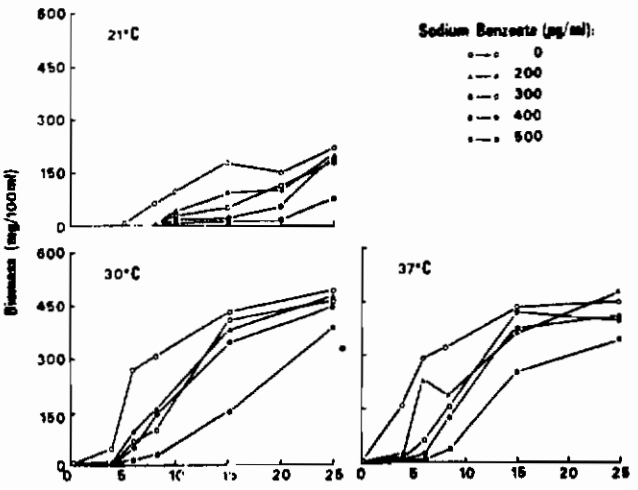
مقادیر غلظت پایین‌تر SO_2 در مقایسه با مقادیر غلظت سوربات پتاسیم و بنزوات سدیم بیشتر سبب کاهش سرعت تولید توده سلولی می‌شود. در ۲۱°C و غلظت ppm ۲۵ SO_2، سرعت رشد تغییر نمی‌کند، در حالی که در غلظت ppm ۵۰ SO_2 رشد توده سلولی متوقف می‌شود. سرعت رشد در غلظت بین ppm (۵۰-۲۵) روند کاهشی دارد. در مقادیر بالاتر SO_2 کاهش تولید توده سلولی بیشتر می‌شود. به طور کلی غلظتهای متفاوت SO_2 در مقایسه با مقادیر مختلف غلظت سوربات پتاسیم و بنزوات سدیم کاملاً معنی‌دارتر روی رشد و تولید توده سلولی کپک بایسوکلایمس نیوآ تأثیر می‌گذارد.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



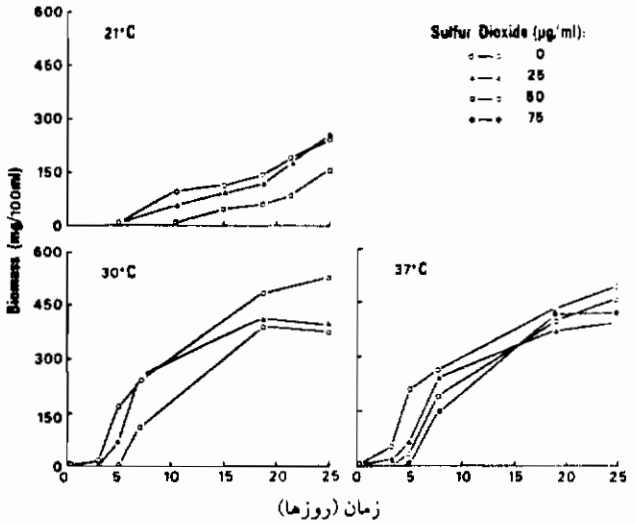
نمودار ۵-۱ اثر غلظتهای مختلف سوربات پتاسیم بر تولید توده سلولی



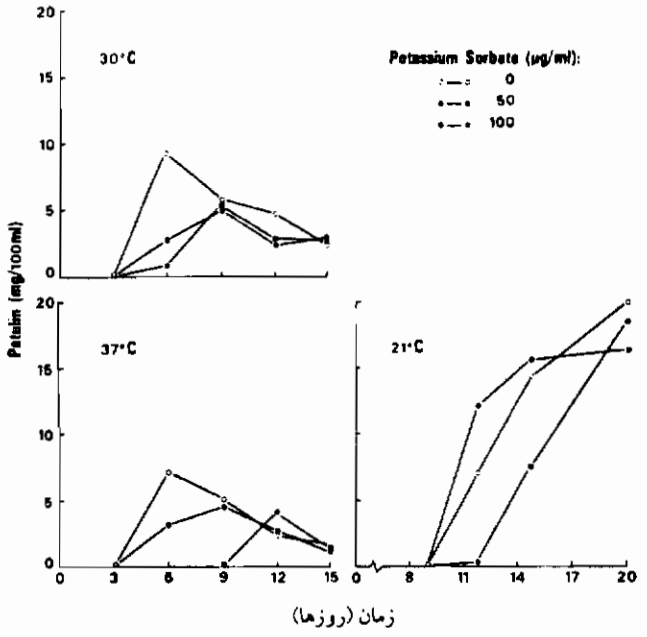
نمودار ۵-۲ اثر غلظتهای ppm ۴۰۰-۲۰۰ بنزوات سدیم بر رشد کپکها

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



نمودار ۵-۳ غلظتهای SO_2 در مقایسه با غلظتهای سوربات پتاسیم و بنزوات سدیم و تأثیر بر روی رشد توده سلولی کپک



نمودار ۵-۴ اثر غلظتهای مختلف سوربات پتاسیم بر سرعت تولید پتولین

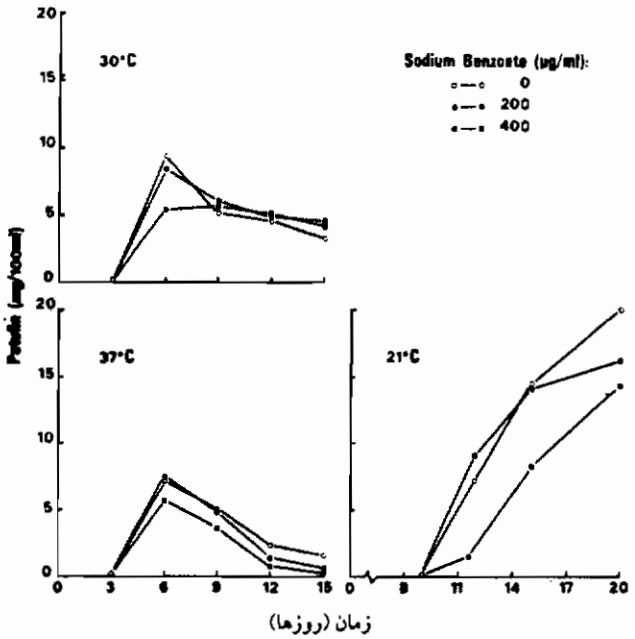
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مشابه همین بررسیها در مورد تأثیر این مواد بازدارنده بر تولید مایکوتوکسین پتولین نیز صورت پذیرفته است. آزمایش نشان داده که میزان نفوذ پتولین در آب میوه در مقایسه با مقدار آن در میسلیوم ۹۰٪بوده است (۳۰).

در آزمایش دیگری سرعت تولید پتولین تحت تأثیر مقادیر ppm(۱۰۰-۰) سوربات پتاسیم بررسی شده و بیشترین مقدار پتولین در ۲۱°C و بعد از ۲۱ روز کشت تولید شده است. همانطورکه از منحنی ۵-۴ استنباط می‌شود تأخیری ۹ روزه در تولید پتولین وجود دارد و بعد از این ۹ روز یک افزایش قابل ملاحظه در تولید پتولین در آب سیب مشاهده می‌شود (۳۰).

در حضور ppm(۵۰-۰) سوربات پتاسیم و در مراحل نهائی کشت، غلظت پتولین هنوز رو به افزایش است. علاوه بر این، نتایج آزمایشات مشخص می‌کند که در شرایط نگهداری در دمای پایین‌تر پتولین بیشتری نسبت به حرارتهای ۳۷°C و ۳۰°C تولید می‌شود، ولی این مسأله



نمودار ۵-۵ اثر غلظتهای بنزوات سدیم بر سرعت تولید پتولین

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

هنوز روشن نیست که چرا تولید پتولین در درجه حرارتهای پایین‌تر از اپتیمم درجه حرارت کشت بیشتر و بهتر صورت می‌گیرد. پژوهشگران معتقدند که آنزیمهایی با خصوصیات ویژه در سنتز پتولین دخالت دارند که در درجه حرارتهای پایین‌تر فعالیت مناسبتری دارند. تولید پتولین در $37^{\circ}C$ بعد از ۶ روز نگهداری اندکی کاهش می‌یابد، مقدار پتولین بعد از اینکه به ماکزیمم رسید کاهش نسبتاً سریعی دارد.

با افزایش غلظت سوربات یعنی در محدوده ppm ۱۵۰۰-۱۰۰۰ تولید پتولین دیده نشده است (۳۰).

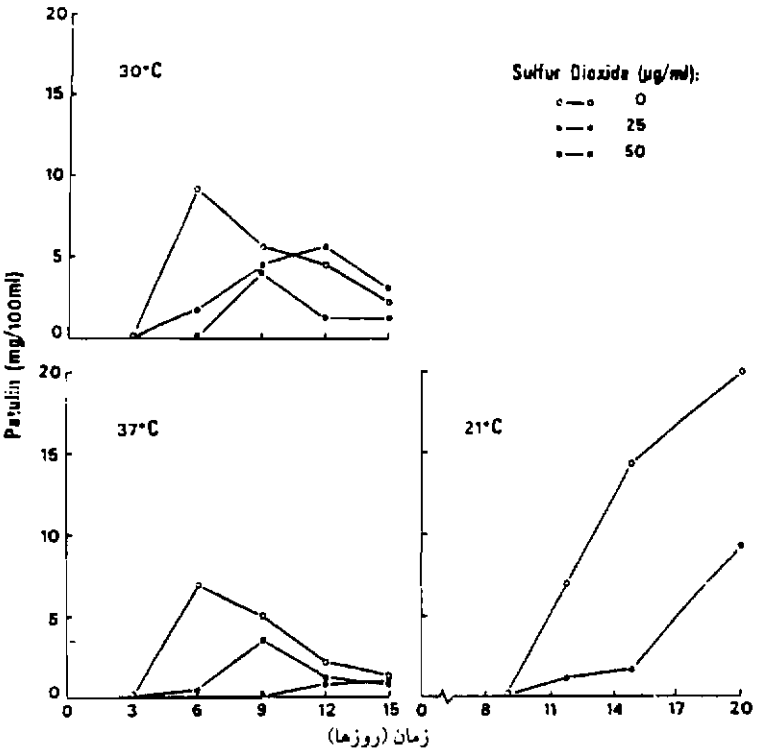
تولید پتولین در شرایط نگهداری آب‌سیب آلوده به کپک در $30^{\circ}C$ و $37^{\circ}C$ در مقایسه با نمونه شاهد آب‌سیب بررسی شده است. در آب‌سیبی که سوربات پتاسیم دارد، مقدار پتولین بعد از رسیدن به مقدار ماکزیمم خیلی سریع نزول می‌کند یعنی در طی ۶ روز دوره نگهداری در دمای $37^{\circ}C$-$30^{\circ}C$ در نمونه‌های شاهد ماکزیمم مقدار پتولین تولید شده در $21^{\circ}C$ بعد از ۲۰ روز ۲۰mg در ۱۰۰ml بوده در حالی که آب سیب حاوی نگهدارنده بیشتر از ۱۵mg به ازای هر لیتر آب میوه پتولین داشته است (۳۰).

نمودار ۵-۶ میزان پتولین تولید شده را در غلظتهای در ppm(۳۰ و ۲۵ و ۱۰) SO_2 مشخص کرده است. همانطور که نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد در غلظت ۲۵ppm SO_2 تولید پتولین متوقف شده است، مسیر منحنی میزان افزایش پتولین را در آب‌سیبی که دارای SO_2 نمی‌باشد مشخص می‌کند.

در ادامه همین بررسی به نمونه‌هایی از آب‌سیب طبیعی مجدداً غلظتهای معینی از نگهدارنده سوربات پتاسیم ($\mu g/lit$ ۷۵ و ۵۰، ۰)، بنزوات سدیم ($\mu g/lit$ ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۰) و SO_2 ($\mu g/lit$ ۲۵، ۰) اضافه شده و به ترتیب در دمای $12^{\circ}C$ به‌مدت ۱۰۳، ۱۰۵ و ۱۰۷ روز نگهداری شدند و بعد از طی این زمانها به ترتیب شرایط pH، تولید توده سلولی به ازای میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب سیب و همچنین میلی‌گرم پتولین تولید شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب سیب آزمایشی مشخص گردید، که در جدول ۵-۱۱ نتایج آن ثبت شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



نمودار ۵-۶ اثر غلظتهای مختلف SO_2 بر سرعت تولید پتولین

جدول ۵-۱۱ اثر نگهدارنده‌ها بر تولید پتولین و رشد کپک بایسوکلایمس نیوآ

نگهدارنده	غلظت پتولین μg/ml	زمان تلقیح (روز)	pH	توده سلولی mg/l	غلظت پتولین mg/100ml
سوربات پتاسیم	۰	۱۰۳	۳/۴۲	۴۵۳	۱۶/۰۳
	۵۰	۱۰۳	۳/۳۹	۳۳۵	۱۴/۶۶
	۷۵	۱۰۳	۳/۴۱	۳۹۵	۱۲/۸۴
بنزوات سدیم	۰	۱۰۵	۳/۴۱	۸۱۵	۱۸/۰۵
	۲۰۰	۱۰۵	۳/۴۲	۷۲۳	۱۷/۵۵
	۳۰۰	۱۰۵	۳/۳۹	۶۶۲	۱۷/۴۵
	۴۰۰	۱۰۵	۳/۴۰	۶۳۶	۱۷/۹۰
سولفوردی اکسید	۰	۱۰۷	۳/۳۹	۶/۵	۱۸/۰۴
	۲۵	۱/۷	۳/۴۲	۴۹۸	۱۷/۴۸

اطلاعات موجود بر مبنای میانگین دو تکرار در هر تیمار مشخص گردیده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۰-۴-۳- ترکیبات سولفیددار[۱]

اخیراً مشخص شده است که پتولین با گروههای SH ملکول سیستئین تولید اسید می‌کند ولی مکانیسم واکنش هنوز ناشناخته است. این واکنش منجربه کاهش یا عدم سمیت پتولین می‌شود. عدم ثبات پتولین درغلات و فرآورده‌های آن و انواع محصولات گوشتی نظیر سوسیس، ناشی از حضور ترکیبات سولفیدریل‌دار در این فرآورده‌ها است. پتولین محلول در آب است و به آسانی با این گروهها واکنش انجام می‌دهد (۲۴، ۱۰).

پتولین در آب‌سیب بسیار پایدار است. (حتی برای مدت بیشتر از ۳ هفته)، چون آب‌سیب علاوه بر اینکه دارای pH پایینی است، حاوی گروههای SH یا سولفیدریل کمتری نیز در مقایسه با سایر آب‌میوه‌ها نظیر آب پرتقال، می‌باشد و همین مسأله سبب آلوده شدن این محصول به کپک و تولید پتولین در آن می‌شود (۲۴ و ۱۰).

اطلاعات راجع‌به سمیت و ساختمان ترکیبی که حاوی به هم پیوستن پتولین و گروههای سولفیدریل است زیاد نیست. عقیده بر این است که بوسیله اندازه گیری فعالیت بیولوژیکی می‌توان ماهیت این ترکیبات را شناسایی کرد، هرچند که میزان آن تغییر می‌کند (۲۴).

نتایج یک بررسی نشان می‌دهد که چنانچه نمونه‌های حاوی پتولین بیشتر از ۳۰۰ روز نگهداری شوند، ۵۵٪ سَم آنها کاهش می‌یابد، ولی اگر به همین نمونه‌ها ppm ۲۰۰، SO_2 اضافه شود، ۵۰٪ سم در طی ۱۰ روز کاهش می‌یابد و چنانچه مقدار ppm ۱۰۰ SO_2 به نمونه‌ها اضافه شود و سپس بمدت ۱۵ دقیقه در $^{\circ}C$ ۷۵ حرارت داده شوند باز هم در طی ۱۰ روز ۵۰٪ سم کم می‌شود، و زمانی که به نمونه ppm ۱۰۰، SO_2 اضافه می‌شود ولی نمونه، حرارت نمی‌بیند برای کاهش ۵۰٪ درمیزان سم، زمانی معادل ۴۰ روز لازم می‌باشد (۲۴)(۱۰).

۱۰-۵- پتولین وشرایط اتمسفری محیط

در تحقیقی جهت بررسی نقش اتمسفر کنترل شده[۲] بر میزان تولید پتولین در شرایط اکسیژن ۳٪ و دی‌اکسیدکربن ۳-۱٪ و دمای $^{\circ}F$ ۳۸-۳۲ (معادل $^{\circ}C$ ۳/۳-۰) و رطوبت نسبی ۹۰٪ گونه‌های پنی‌سیلیوم اکسپانسوم (NRRL(۱۰۷۱ و (NRRL(۹۷۳ انتخاب شدند. نوع سیب،

---

۱. (دارای گروه SH هستند.)

2. Controled atmosphere

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

میشیگان واریته Red delicious بود که کاملاً بدون عیب بود. سیبها به چهار قسمت مساوی تقسیم شدند، ۲ قسمت باگونه پنی‌سیلیوم NRRL۱۰۷۱ و ۲ قسمت باگونه پنی‌سیلیوم NRRL۹۷۳ تلقیح گردیدند.

سوسپانسیون اسپورها از طریق سوراخ کوچکی، وارد سیب‌ها شدند، بعد یک قسمت تلقیح شده واریته ۱۰۷۱ و یک قسمت تلقیح شده واریته ۹۷۳ در شرایط اتمسفر کنترل شده اینکوباسیون گردیدند و یک قسمت باقی مانده از هرکدام، در هوای معمولی نگهداری شدند.

در پایان اینکوباسیون، قسمتهای فاسد شده از قسمتهای سالم نمونه‌هایی که در حضور هوا نگهداری شده بودند جداگردیدند، سپس توزین شده و پتولین آنها استخراج و اندازه گیری شد.

سیبهایی که در شرایط اتمسفر کنترل شده نگاهداری شده بودند بعد از ۱۴ هفته بررسی شدند، زیرا هدف اصلی اجازه دادن به کپک برای رشد و تولید سم تا سطح صدمه قارچی ۲۵٪ از کل سیب بود، اما این کار برای سیبهایی که با پنی‌سیلیوم اکسپانسوم NRRL۹۷۳ تلقیح شده بودند، عملی نبود زیرا صدمه این قارچها در اتمسفر کنترل شده محدود می‌باشد (۲۲).

جدول ۵-۱۲ غلظت پتولین موجود در بافتهای فاسد و سالم سیبهای تلقیح شده با پنی‌سیلیوم اکسپانسوم ۱۰۷۱

اتمسفر کنترل شده		هوای معمولی		
درصداز سیب‌کامل	غلظت پتولین μg/ml	درصد ازسیب کامل	غلظت پتولین μg/ml	نمونه
		بافت فاسد		
۳۰	۰/۶	۴۴	۲/۰	۱
۲۲	۰/۴	۳۳	۳/۰	۲
۲۴	۰/۴	۲۴	۲/۰	۳
۲۹	۰/۶	۳۱	۳/۰	۴
		بافت سالم		
۷۰	<۰/۱	۵۶	<۰/۱	۱
۷۲	<۰/۱	۵۷	<۰/۱	۲
۷۵	<۰/۱	۷۶	<۰/۱	۳
۷۱	<۰/۱	۶۹	<۰/۱	۴

* : غلظتهای کوچکتر از ۰/۱μg/ml پتولین به عنوان نتایج منفی گزارش شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

غلظت پتولین در بافتهای فاسد و در شرایط نگهداری در هوای معمولی در دامنه ۲-۳μg/ml و با میانگین ۲/۵μg/ml بود. و بخشهای فاسد شده ۴۴-۲۴٪ کل وزن را با میانگین ۳۳٪ از کل سیب در برگرفتند. غلظت پتولین در شرایط اتمسفر کنترل شده در دامنه ۰/۴-۰/۶μg/ml (با میانگین ۰/۵μg/ml)بود. بخشهای فاسد ۳۰-۲۴٪ و میانگین ۲۷/۸ کل وزن سیب را شامل می‌شدند (۲۲).

پنی‌سیلیوم اکسپانسوم NRRL۹۷۳ توانایی محدودی در ایجاد فساد سیب دارد. در شرایط نگهداری در اتمسفر کنترل شده شدت فساد در محدوده ۱۵-۵٪ با میانگین ۱۲/۳٪ کل وزن سیب می‌باشد، اما در شرایط هوای معمولی مقادیر خیلی کم پتولین در بافت‌های صدمه دیده و سالمی که تلقیح شده بودند وجود داشت. حدود ۳ میکروگرم در هر لیتر با دامنه ۴-۱ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر تولید گردیده بود. میانگین درصد وزن کل سیب و اجزای فاسد شده در حدود ۳۲/۸٪ با دامنه ۴۰-۲۵٪ بود. بنابراین هم پنی‌سیلیوم اکسپانسوم NRRL ۹۷۳ و هم واریته

جدول ۵-۱۳ تولید پتولین در سیبهایی که با پنی‌سیلیوم اکسپانسوم NRRL۹۷۳ تلقیح شده‌بودند.

	اتمسفر کنترل شده		هوای معمولی	
درصداز سیب‌کامل	غلظت پتولین μg/ml	درصد ازسیب کامل	غلظت پتولین μg/ml	نمونه
		بافت فاسد		
۱۴	<۰/۱	۴۰	۴/۰	۱
۸	<۰/۱	۳۰	۴/۰	۲
۱۲	<۰/۱	۳۱	۳/۰	۳
۱۵	<۰/۱	۲۵	۱/۰	۴
		بافت سالم		
۸۵	<۰/۱	۶۸	<۰/۱	۱
۹۲	<۰/۱	۶۵	<۰/۱	۲
۹۸	<۰/۱	۶۹	<۰/۱	۳
۸۵	<۰/۱	۷۵	<۰/۱	۴

* : غلظت‌های کوچکتر از ۰/۱μg/ml پتولین به عنوان نتایج منفی گزارش شده است.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

NRRL۱۰۷۱، قادر به تولید پتولین در سیبهای نگهداری شده در $۳۲^{\circ}F$ در شرایط هوا معمولی می‌باشند و مقدار قابل ملاحظه پتولین فقط توسط گونه ۱۰۷۱ در چنین شرایطی تولید می‌شود. قابلیت محدودکردن تولید پتولین در شرایط اتمسفر کنترل شده و ایجاد فساد و خرابی بافتهای سیب ۵ برابر شرایط سیب‌هایی بود که در حضور هوای معمولی نگهداری شده‌بودند (۲۲).

۱۰-۶- تشعشع

اثر اشعه گاما روی غلظت پتولین و سایر ترکیبات شیمیایی کنسانتره آب سیب ضمن نگهداری در $۴^{\circ}C$ مورد بررسی قرار گرفته و مشخص گردیده است که حذف مایکوتوکسین پتولین تابعی است از دوز جذب شده اشعه. برای مثال دوز ۰/۳۵Gray اشعه گاما، غلظت پتولین را ۵۰٪ نسبت به غلظت اولیه آن، کاهش می‌دهد.

زمان نگهداری، تأثیری در میزان غلظت پتولین کنسانتره اشعه دیده نخواهد داشت، اما مقدار ترکیبات کربونیلی، اسید آسکوربیک آن کاهش می‌یابد. اسیدیته کنسانتره مقدار کمی افزایش می‌یابد و واکنشهای قهوه‌ای شدن آنزیماتیک نیز در ضمن نگهداری کنسانتره اشعه دیده در مقایسه با اشعه ندیده افزایش نشان می‌دهد.

برای تأمین اشعه از منبع کبالت ۶۰ استفاده می‌گردد و بریکس کنسانتره حدود ۷۰-۶۵ می‌باشد. اشعه دادن محلولهای آبکی حاوی پتولین سبب می‌شود که جذب UV پتولین کاهش یابد و علاوه بر آن مقادیر قند و اسیدهای آمینه کنسانتره نیز کم شود (۳۶).

۱۰-۷- زغال چوب

بکارگیری فیلتر و صاف کردن آب‌سیب آلوده به پتولین سبب حذف پتولین از فرآورده می‌شود، در واقع فیلترکردن با زغال چوب و عبور دائم و چرخش آب‌سیب از بستر زغال، سبب حذف پتولین می‌گردد (۳۶، ۳۴ و ۶).

۱۱- نفوذپذیری و انتقال پتولین

میزان نفوذپذیری و انتقال پتولین در سیبهای سالمی که باگونه پنی‌سیلیوم تلقیح شده‌بودند، بررسی شده است. بدین‌صورت که پتولین ابتدا استخراج می‌شود و مقدار انتقال و نفوذ آن در هر

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

سانتی‌متر از هر نقطه تلقیح اندازه گرفته می‌شود.

برای انجام این تحقیق سیبهایی که کاملاً سالم هستند، با آب شسته می‌شوند و بعد با محلول ۱٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۹۰ ثانیه ضد عفونی می‌شوند و بعد هر سیب با کشت ۵ روزه پنی‌سیلیوم اکسپانسوم آلوده می‌شود. در واقع میسلیومهای کپک بر روی محیط کشت potato dextros agar کشت یافته و بعد از ایزوله کردن به داخل سیب تلقیح می‌شوند. عمق تلقیح ۳mm است و سیبها در $25^{\circ}C$ نگهداری می‌شوند.

زمانی که قطر محل خرابی و فساد سیب به ۴/۸-۳/۶ سانتی‌متر رسید به کمک کاردکهای مدور ضد زنگ تا قطر ۴/۸-۳/۶ یا عمق دقیقی که کپک رشد کرده است، بافت خراب و فاسد از سیب حذف می‌شود، سپس با کمک محلول ۱۲٪ سدیم هیپوکلریت ضدعفونی شده و با آب شستشو می‌شود. طول کاردکها ۱۰cm و قطر داخلی آنها ۴/۸-۳/۶cm می‌باشد و ضخامت آنها ۱/۵mm است. بخش فاسد به ۶ قسمت با ضخامت ۱cm، تقسیم می‌شود و میزان کپک‌زدگی و بافت صدمه دیده با یک خط کش برحسب cm، اندازه گرفته می‌شود.

هر قسمت جدا می‌شود و پتولین آن، استخراج و اندازه گیری می‌شود. میزان پتولین بخشهای کپک‌زده در سیبهای تلقیح شده با پنی‌سیلیوم اکسپانسوم، در جدول ۵-۱۴ آمده است.

همانطور که در جدول ۵-۱۴ مشخص شده است، فساد و پوسیدگی ایجاد شده معرف حضور پتولین بیشتر بوده و در بعضی قسمتهای بدون خرابی و فساد و یا یک حالت محدود فساد و خرابی پتولین مقدار کمی حضور داشته است.

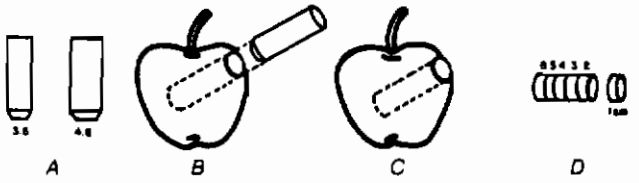
بیشترین مقدار پتولین در قسمتی از بافت سیبها مشاهده شده است که در ابتدای ۱cm فساد بوده‌اند و درفاصله یک سانتی‌متر پایین‌تر از آخرین بخش پوسیده پتولین دیده‌نشده‌است.

بنابراین حذف بافت فاسد و خراب سیب تا عمق ۱cm حول و حوش قسمت خرابی کافی است تا کاملاً مطمئن شویم که پتولین وجود ندارد. معمولاً بیش از ۹۳٪ پتولین با حذف بخشهای فاسد و خراب از سیبهای کپک‌زده، کاهش می‌یابد و این مشخص می‌کند که پتولین در بین تمام بافت میوه سیب نفوذ نمی‌کند و حذف کردن بخش فاسد بطور معنی‌داری سبب کاهش پتولین می‌شود.

ضمناً بین وزن قسمت فاسد و غلظت پتولین ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ولی حذف و جداکردن بخشهای فاسد و خراب به معنی حذف کامل همهٔ پتولین نخواهد بود. ساده‌ترین راه

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۵-۳ حذف بخش صدمه دیده و بررسی میزان نفوذ پتولین در بافت

جدول ۵-۱۴ غلظت پتولین در قسمتهای مختلف از یک سیب کامل که عمل تلقیح روی آن صورت گرفته است

مقدارپتولین	مساحت قسمت صدمه دیده برحسب سانتیمتر از نقطه‌ای که عمل تلقیح صورت گرفته است					
µg/kg	۱	۲	۳	۴	۵	۶
>۱۰/۰۰۰	۲	-	-	-	-	-
۵۰۰۱-۱۰/۰۰۰	۵	-	-	-	-	-
۱۰۰۱-۵۰۰۰	۶	۱	-	-	-	-
۱۰۱-۵۰۰۰	۶	۶	۱	-	-	-
۶/۵-۱۰۰	۳	۹	۱	-	-	-
<۶/۵	-	۶	۲۰	۲۲	۲۲	۲۲

کل نمونه سیبها ۲۲ عدد بوده است.

برای ممانعت از آلودگی، کنترل کیفیت سیبهای استفاده شده در تولید و تهیه آب میوه است و برحسب اینکه ناحیه فاسد چه اندازه از سیب را در برگرفته باشد، باید بخشهای فاسد را حذف کرد و یا سیبها را بطور کامل دور انداخت (۱۷ و ۲).

۱۲- استخراج پتولین

جهت استخراج پتولین، ابتدا غلظت آب سیب را به حد، غلظت مصرفی آن رسانده (BX=۱۲) سپس به آن اتیل استات اضافه می‌کنند. محتویات به کمک شیکر به مدت معین کاملاً مخلوط می‌گردد، پس از جدایی کامل دو فاز از یکدیگر، فاز روئی که حاوی پتولین است به کمک پی‌پت سرنگ‌دار به یک لوله آزمایش منتقل می‌شود و به آن کربنات سدیم اضافه می‌کنند. نمونه را برای شفاف شدن، سانتریفوژ کرده و خشک می‌کنند (سیستم بسته آب ۴۰ °C

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

وگاز نیتروژن). به نمونه آب مقطری که با اسید استیک گلاسیال pH آن به ۴ رسیده است اضافه می‌شود. و دور آن فویل آلومینیومی پیچیده و تا زمان انجام آزمایش، در فریزر قرار داده می‌شود. محلول استاندارد پتولین از کریستالهای خالص تهیه می‌گردد و در نهایت میکروگرم پتولین در هر میلی‌لیتر، به کمک رابطه زیر محاسبه می‌گردد (۱۴):

میکروگرم پتولین در هر میلی‌لیتر = $(a \times m \times 1000 \times cf)/e$

a = ۲۷۵^{nm} ماکزیمم جذب در طول موج

m = ۱۵۴g (وزن ملکولی پتولین)

cf= ۲۶/۰۰۴ (فاکتور تصحیح که طبق روش AOAC بدست می‌آید.)

e = ۱۶۴۰۰ (جذب مولی پتولین)

۱۳- اندازه‌گیری پتولین

۱۳-۱- روش TLC:

بعد از استخراج پتولین، صفحات کروماتوگرافی لایه نازک را آماده می‌کنیم. این صفحات حاوی ۲۵۰μm سلیکاژل k5 می‌باشند و ابعاد ۲۰ × ۲۰ دارند. برای انجام کروماتوگرافی ابتدا صفحات را با خطوط ۱cm و ارتفاع ۱۵cm علامت‌گذاری می‌کنیم و نمونه را به میزان ۱μL در ۱cm از ته صفحات علامت می‌گذاریم. صفحات در تانک شیشه‌ای که حاوی محلول تولوئن اتیل استات ۹۰٪ و اسیدفرمیک است، قرار می‌گیرند، نسبت حجمی محلول تانک به ترتیب ۵:۴:۱ است، سپس صفحات را در در جه حرارت اتاق خشک کرده و بعد بر روی آنها فنیل هیدرازین هیدروکلرید ۴٪ اسپری می‌کنند و در حرارت ۱۱۰ $^{\circ}C$ به مدت ۲ ساعت قرار می‌دهند. در این صورت پتولین به صورت نقاط زردرنگ در نور مرئی دیده می‌شود. RF استاندارد پتولین 0.44 می‌باشد (۲۶).

۱۳-۲- روش GC:

برای تعیین پتولین در نمونه‌ها به روش GC ابتدا پتولین را به صورت مشتقات پتولین در می‌آورند. [Trimethysilyl(Tms)] .این ترکیب هم برای mass spectrometry و هم برای

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

electron capture detection بکار می‌رود.

البته سایر مشتقات پتولین مانند کلرواستات و استات نیز در روش GC بکار می‌روند ولی مشتقات تری فلورواستات و هپتافلوروبوتیرات و تری‌فلورواستیک انهیدرات و هپتافلوروبوتریک انهیدرات، مطلوب نیستند. مشتق سازی بعد از استخراج پتولین انجام می‌شود (۳۳).

۱۳-۲-۱- روش مشتق‌سازی

به یک شیشه درب پیچ‌دار حاوی محلول تولوئن - استونیتریل (۹۵:۵) پتولین به میزان ۱۵۰۰μL اضافه می‌شود. سپس هپتافلوروبوتیریل ایمیدازول[1] به مقدار ۲۵μl افزوده شده و درب شیشه را خوب می‌بندیم و به مدت ۳۰-۲۰ ثانیه آن را خوب تکان می‌دهیم و سپس در اجاق $60^{\circ}C$ به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه حرارت داده می‌شود. آنگاه اجازه می‌دهند تا محلول سرد شود و به درجه حرارت اتاق برسد. سپس از محلول ۵٪ کربنات سدیم به میزان ۱ml و تولوئن استونیتریل به میزان ۵۰۰μL دوباره به آن می‌افزائیم و ۶۰-۴۵ ثانیه آن را تکان می‌دهیم. اگر بخش بالایی شفاف نشد، تکان دادن محتویات به مدت ۳۰-۱۵ ثانیه دیگر ضروری است. بعد به کمک یک پی‌پت ۲۵۰μL از فاز بالایی به ۴/۷۵ml محلول هپتان نرمال که دارای ۵۰ نانوگرم هگزاکلروبنزن است، اضافه می‌نماییم. مشتق پتولین در محلول انهپتان به مدت مشخصی، در درجه حرارت اتاق پایدار است. غلظت پتولین در مشتقات هپتافلوروبوتیریل[2] پتولین ۰/۱μgr است که به همراه سایر حجمهای مناسب به دستگاه تزریق می‌شود (۳۳).

۱۳-۳- روش HPLC

اندازه گیری پتولین در روش HPLC به دو صورت انجام می‌پذیرد (۱۵).

۱- روش Tanner و Zanier

۲- روش Stray

شماتیک این روشها در زیر مشخص شده است:

---

1. HFBI 2. HFB

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

نمونه (۵ میلی لیتر)

↓

استخراج با محلول اتیل استات

↓

جداسازی و استخراج با محلول کربنات سدیم

↓

تغلیظ

↓

اندازه گیری با دستگاه HPLC مجهز به ستون ODS

نمودار ۵-۷ روش Tanner و Zanier

نمونه (۵۰ میلی لیتر)

↓

استخراج با محلول اتیل استات

↓

تغلیظ

↓

کروماتوگرافی جذبی پتولین بر روی سلیکاژل و محلولهای تولوئن و اتیل استات

↓

به نسبت حجمی (۳:۷)

↓

تغلیظ

↓

اندازه گیری با دستگاه HPLC مجهز به ستون ODS

نمودار ۵-۸ روش Stray

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

یکسری مواد مداخله گر در آب سیب وجود دارند که ضمن آنالیز باید وجود آنها را در نظر گرفت. وجود این مواد باعث می‌شود که نتایج مختلفی از غلظت پتولین بدست آید. از جمله این مواد ۵ - هیدروکسی متیل فورفورال[۱] و اسکوپولتین[۲] گزارش شده‌اند. روش HPLC قادر به جداکردن ۵ - هیدروکسی‌متیل فورفورال از پتولین می‌باشد ولی در سایر روشهای کروماتوگرافی مرسوم امکان جداکردن آنها نیست.

سرعت جریان دستگاه HPLC، ۱/۰ ml در دقیقه، تنظیم می‌شود و طول موج دتکتور UV در ۲۵۴nm ثابت نگه داشته می‌شود.

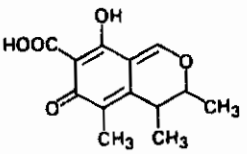
۱۳-۴- تستهای بیولوژیکی (Bioassay)

در این روش بوسیله اندازه گیری فعالیت بیولوژیکی میزان سم پتولین را تعیین می‌کنند. زیرا میزان فعالیت و خواص بیولوژیکی تحت تأثیر سم پتولین تغییر می‌یابد. بااین روش می‌توان وجود پتولین را تشخیص، و سپس آن را تعیین مقدار و اندازه گیری نمود (۱۴).

۱۴- سیترینین[۳]

این مایکوتوکسین اولین بار در سال ۱۹۳۱ شناسایی گردید. این سم جزو ترکیبات بنزوپیرونی[۴] با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{14}O_5$ است. ساختمان شیمیایی این سم در زیر مشخص گردیده‌است (۴).

سیترینین دارای خاصیت آنتی‌بیوتیکی است و می‌تواند به عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی



شکل ۵-۴ ساختمان شیمیایی سیترینین

1. 5- Hydroxy Merhyl Forfural
2. Scopoltin
3. Citrinin
4. Benzopyron

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

یا ضد قارچی عمل کند. اما خاصیت آنتی‌بیوتیکی این توکسین با باز شدن حلقه هتروسیکلیکی آن از بین می‌رود. آنتی‌بیوتیک سیترینین بوسیله قارچهای p.citrinum و p.sartoryi تولید می‌شود، این گونه‌ها علاوه بر سیترینین قادرند پنی‌سیلین و اسید گلوکونیک، اسیدسیتریک و آفلاتوکسین نیز تولید کنند. این کپکها پراکندگی گسترده‌ای در خاک، انواع مواد خوراکی نظیر سبزیجات در حال تجزیه دارند و بیشتر در مناطق گرمسیری رشد می‌کنند.

LD_{50} سیترینین درموش به‌صورت تزریق زیر جلدی ۳۵mg/kg است. مصرف این توکسین تا میزان ۵۰mg/kg در والدین موشها و همچنین خوکهای نوع guinea سبب مرگ می‌شود.

LD_{50} سیترینین در خرگوش به صورت تزریق داخل وریدی ۱۹mg/kg گزارش شده است. بعد از بررسی قدرت سمیت سیترینین مشخص گردیده است که این سم بوسیله اشعه UV غیرفعال می‌شود. سم سیترینین صدمه زیادی به کلیه و کبد می‌زند و اختلالات زیادی را در این نواحی ایجاد می‌کند. همچنین باعث از بین رفتن سلولهای اپی‌تلیوم مجاری کلیه می‌شود و ایجاد ناهنجاری در عملیات نفوذپذیری و ارتباطی این بافت می‌کند.

در بعضی موارد حالت فیبروزه ایجاد می‌کند و باعث می‌شود که دفع ادرار ۲ تا ۲/۵ بار بیشتر از حالت عادی شود.

چنانچه نمک سدیم سیترینین را روی پوست، یا مخاط انسان و حیوان بکار بریم، ایجاد حالت زخم شدن یا خراشیدگی می‌کند. درگیاهان سیترینین باعث اختلال در رشد و نمو می‌شود و در بعضی ازگیاهان نظیر نخود سبز، تأثیر زیادی روی غلظت نیتروژن خواهد داشت.

سیترینین به صورت عصاره الکلی از برنج کپک زده به کمک اتروبنزن استخراج می‌شود.

۱۵-اسید پنی‌سیلیک[1]

اسید پنی‌سیلیک، بوسیله رشد کپکهایی چون penicillium cyclopium و penicillium paberulum بر روی غلات، آرد و ... ایجاد می‌شود.

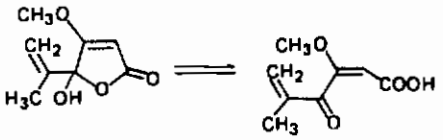
فرمول شیمیایی این اسید عبارت است از $C_8H_{10}O_4$ و ساختمان شیمیایی آن در زیر مشخص گردیده است (۳).

اسید پنی‌سیلیک در درجات حرارت پایین حدود($^{\circ}C$ ۱۰-۱) تولید می‌شود و در دو فرم یا

1. Penicillic Acid.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com



شکل ۵-۵ ساختمان شیمیایی اسید پنی‌سیلیک

دو توتومری در محیطهای آبی یافت می‌شود.

این اسید با رشد در روی محیط کشت Roulin-thom تولید می‌شود ولی با پرورش کپک روی محیط کشت czapak-Dox ایجاد نمی‌شود.

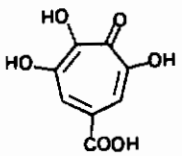
LD_{50} این توکسین در موش در فرم تزریق زیر پوستی به میزان ۱۱۰ mg/kg و به صورت تزریق داخل وریدی ۲۵۰ mg/kg و داخل صفاقی ۶۰۰ mg/kg تعیین شده است. این توکسین دارای خاصیت آنتی‌دیورتیک است و تأثیر آن بر روی قلب شبیه ترکیبات دیژیتالین[1] است.

اسید پنی‌سیلیک سرطانزا است. همچنین قابلیت ایجاد جهش در غلظتهای بالاتر از ۱۰ $\mu g/ml$ را نیز دارد.

علاوه بر کپکهای فوق‌الذکر، اسید پنی‌سیلیک بوسیله Aspergillus ochraceus، P.mariensir، P.fenelliae، P.divino-vivide و P.palitans تولید می‌شود.

۱۶- اسید پابرولیک[2]

اسید پابرولیک متابولیتی است که بوسیله P.puberulum تولید می‌شود. فرمول شیمیایی این اسید $C_8H_7O_7$ می‌باشد و ساختمان شیمیایی آن در شکل زیر مشخص گردیده است (۳).



شکل ۵-۶ ساختمان شیمیایی اسید پابرولیک.

این توکسین سبب مرگ گوسفندان و اسبها می‌شود.

1. Digitalin 2. Puberalic Acid

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Abdelhamid, A. M, Dorra, T.M. 1990. Study on offects of feeding laying hens on separate mycotoxins (Aflatoxins, patulin, citrinin) contaminated diet on the egg. Archives of animals nutrition. 40(4). 305-316.

2- Andersson, A; josefsson-E. 19?9. Patulin in fruit, berries and juices. Methods for elimination of patulin. Var-Foeda; 31(6). 365-374.

3- Anon. 1984. The mycotoxin in problem. Lebensmittel-and Biotechnologic; No 2, 49-55.

4- Bassett., E. et Tannenbaum S. 1958.--The metabolic produets of Penicillium Palulum and their probable interrelationship. Experientia, t. XIV, p. 38-40.

5- Bergel, F., Morrison A. L., Moss A. R., KLEIN R., RINDERKNECHT H. et WARD J. L. 1943.-- An antibacterial substance from Aspergillus clavatus and Penicillium claviforme and its probable identity with patulin. Nature, G.B., t. CLIII, p. 750.

6- Battaglia, R. 1972. Application of HPPC. Ernaehrung. 5(2). 57-60.

7- Bourdiol, D. and Escoula, 1. and sulvayre, R. 1990. effects of patulin on microbicidalactivity of mouse peritoneal macrophages food. Food and chemical To-xicology. 23(9). 29-33.

8- Buerger, MG. Brakhage, AA. Creppy. EE. Eirheimer, G. Roeschenthaler, RJ. Chambers, pl. chambers, CM. Eirheimer, G. 1988. Toxicity and Mutagencity of patulin in different test systems. The Target organ and the toxic process, 12. 348-35.

9- Burke, SD. 1991. Synthesis of hormonal, antibiotic and antifungal agents. Crisp Data. Base National Institutes of Health.

10- Burroughs, EF. 1977. Stabilitynof patuin to sulfur dioxide and to yeast fermentation. Journal-of- The- Association- of- official- Analytical- chemists; 60(1). 100-103.

11- Dauben, H. J. et Weisenborn F. L. 1949.--The structure of patulin. J. Am. Chem. Soc., t. LXXI, p. 3853.

12- Damoglou, AP. and Campbell, DS. 1986. effect of PH on production of patulin in apple juice. Letter in applied microbiology. vol (2) 9-11.

13- Egmond, Hpvan., speijers, GJA. wouters, R.B. 1990. Narural toxic substances in foods. 1-Mycotoxins. Voeding 51(4)- 82-86.

14- Ettre, Is. Rohrschneider, l. Schomburg, G 1980. Determination patulin in apple juice. Chromatograph ia vol (13). No(7). 435-26.

15- Forbito, PR. Babsky, N. 1985. Rapid, liquid chromatographic, Deter mination of patulin in apple juice. J. Assoc, off. anal, chem, vol (68) No (5). 950. 951.

16- Garza, He. Ssanson, BG. and Branen, AL. 1977. Toxicological study of patulin in monkeys. journal of food science . V. 142 . N. 5 . 1929-1231.

17- Harrison, MA. 1989. Presence and stability of patulin in apple products , AREview. Journal

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

of food sefety. vol 9. 147-153.

18- Harwig, J. Scott, P.M; kennedy, BPC;chen, YK.1973. Dis appearance of patulin from apple juice fermented by sacharomyces spp. Canadian-Institute of- food-science-and-Tech nology-journal; 6(1)45-46.

19- Johnson, J. R., Bruce W. F. et Dutcher J. D. 1943.-- Gliotoxin, the antibiotic principle of Gliocladium fimbriatum. I. Production, physical and biological properties. Amer. Chem. Soc. J., t. LXV, p. 2005-2009.

20- Josefsson, E.Andersson, A. 1976. Patulin in apple cider drinks. var - foedo, 28(8) . 189-196.

21- Krishna, Reddy, V. Reddy, SM. 1988. Biochemical changes and patulin and terreic acid production by aspergillus terreus in different cultivars of maize. Journal of food science and technology ,India-vol 25 No, 4 , 247. 248.

22- Lovett, j. Thompson, Rubeng JR. and Breooa, K. Boutin. 1975. patulin production in apple stored in controlled a mosphere. Journal of the AOAC, vol 58, No 5. 912-916.

23- Levenberger, U. Gauch, R. and Baumgarlner E. 1978. patulin in fruit juices by high-pressure lipuid of thin layer chromatography. Journal of chromatography. (161) 303-304.

24- Lindroth, S. von wright A, 1990. Detoxification of patulin by adduct formation with cysteine J Environ pathol Toxicol oncol; vol 10, Iss 4-5, 254-259.

25- Matthiasschk, R. Korte, 1990, Embryotoxicity and mutagencity of mycotoxins, JEPTO. vol (10) No (1-2) p, 1-7.

26- Nowotny, P. Baltes, w. kroenert, w. weder. R. 1983. Thin layer chromatographic method for determination of 22 my cotoxin in mouldy food. chemie mikrobiologie technoligie der lebensmittel, 8(1). 24-28.

27- Reddy, C. Chanping, K. Hayesdwallace, A. 1978. Tratogenicand Dominant lethal studies of patulin in mice. Toxicology vol 11, 219-223.

28- Richard, F. keeler and Anthony, T.T.V.1983 plant and fungal toxins. hand book of natural Toxins. vol 1, 218-329.

29- Riley, RT. and showkej, L. 1991. Mechanism of patulin, s cytotoxicity and the antioxidant activity of indole tetramic acids. Toxicol. Apple. PHARMACOL; VOL 109-No. 1, 108-126.

30- Roland, JO. and Beuchat, LR. 1984. patulin production by Byssochlamys Nivea in apple juice as affected by sorbat, Benzoate, so, and temperature. journal of food science. vol (42) 402-406.

31- Sakthisekaran, D. shanmugasundaram, ER. 1990. Effect of patulin on the kenetic properties of the enzyme aldolase studied in rat liver. Biochem Int; vol 21, Iss1, 117-34.

32- Tannenbaum, S. W. and Basset E. W. 1960.--The biosynthesis of Patulin. I. Related aromatic substances from Penicillium patulum, strain 2159. A. Biochim. Biophys. Acta, t. XXVIII, p. 21-31, 1958 et t. XL, p. 3.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

33- Tarter, DE. j. and scott. PM. 1991. Determination of patulin by capillary gas chromatography of the hepta fluro butyrate derivative. journal of chromatography, 538, (441-446).

34- Van-jar., 1989. Removal of patulin from apple juice by charcoal treatment. Dissertation Abstracts- International- B; 49(9), 3527. order No: DA 882-901.

35- Wheeler, JG.Harrison, MA. koehler, PE. 1987. Presence and stability of patulin in pasteurized apple cider, journal of food patulin in pasreurized apple cider, journal of food science, vol 52, No 2. 479-480.

36- Zegota, H. Zegota, A. Bachmann, s. 1988. effect of irradiation and storage of patulin disappearance and some chemical constituents of apple juice concentrate. Zeitschrift- fuer- Lebensmittel- untersuchung- und- forschung, 192(1)- 10.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل ششم

تریکوتسنها

۱- تاریخچه

تریکوتسنها دسته‌ای از مایکوتوکسینها هستند که عمدتاً توسط گونه‌های مختلفی از کپک فوزاریوم[1] تولید می‌شوند، که یکی از قویترین این سموم T-2 Toxin می‌باشد.

در طی قرون گذشته در نتیجه آلودگی علوفه و مواد غذایی مورد مصرف به تریکوتسنها مسمومیت و مرگ و میرهای دسته جمعی رخ داده است. در بررسی نمونه‌ها مشخص شده است که تریکوتسنها توسط دسته‌ای از قارچها تولید می‌شوند که پاتوژنهای گیاهی بوده و در انواع میوه‌ها و گیاهان یافت می‌شوند و تهدیدی جدی برای سلامتی انسان محسوب می‌شوند.

درسال ۱۸۹۱، عارضه Taumelgetriede رابه عنوان مسمومیت انسانی گزارش کرده‌اند. و علایم این بیماری رانیز به صورت سردرد،لرز،سرگیجه،تهوع، استفراغ و اختلالات بینایی در بین جمعیت انسانی شرق سیبری که نان تهیه شده از گندم سیاه را استفاده می‌کردند، توصیف نموده‌اند.

در سالهای ۱۹۱۲ و ۱۹۲۳که به علت یک فصل سرد و مرطوب، غلات آلودگی زیاد به قارچ F.graminearum داشتند نانهای تهیه شده از چنین گندمهایی در مصرف کنندگان مسمومیتهای مشابهی ایجاد کرد. در جنوب کره نیز مصرف جو آلوده به کپک فوزاریوم در سال ۱۹۶۳ چنین علایم کلینیکی را داشته است. در مجموع موارد فراوانی از این نوع مسمومیت که عامل آن قارچ F.graminearum می‌باشد، در کشورهای مختلف جهان رخ داده است، که در

1. Fusarium

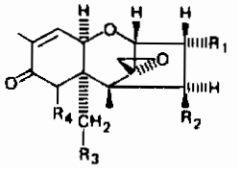
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

آنالیز نمونه‌ها وجود ترکیبات مختلف تریکوتسن به اثبات رسیده است. بطوریکه در یک نتیجه گیری کلی از همه رخدادهای فوق، چنین اعلام شد که مصرف غلات آلوده به F.graminearum موجب بروز علایم کلینیکی قی و استفراغ در ژاپن، کره و شوروی شده است (۲۰، ۱۳، ۸ و ۷).

۲- مشخصات فیزیکوشیمیایی تریکوتسنها

به طور کلی تریکوتسنها کریستالهای بی‌رنگی هستند و موجب چرخش نور پلاریزه می‌شوند. این ترکیبات در حالت جامد پایدار بوده و در درجه حرارت اتاق برای سالها می‌توانند قدرت سمیت خود را حفظ کنند و در دمای $^{\circ}C$ ۱۰۰ نیز به طور کامل از بین نمی‌روند.



شکل ۶-۱ ساختمان اصلی تریکوتسنها

تریکوتسنها را به ۴ گروه تقسیم می‌کنند، گروه A، B، C، D. اساس طبقه‌بندی این گروهها در شکل ۶-۲ مشخص شده است (۱).

تریکوتسنها از نظر شیمیایی ترکیبات غیرفعالی هستند که بر خلاف آفلاتوکسینها در زیر نور U.V از خود فلورسانس نشان نمی‌دهند.

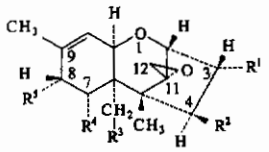
غیرفعال بودن تریکوتسنها از نظر شیمیایی به سبب در دسترس نبودن حلقه ۱۲ و ۱۳- اپوکسی است که مرکز اصلی فعالیتهای بیولوژیک این گروه از مایکوتوکسینها است. برای تجزیه[1] این مایکوتوکسینها می‌توان از اسیدهای خیلی قوی نظیر تری فلورومتان، اسید سولفوریک و اسیدهیدروفلوروبوریک همراه با SbF_5 استفاده نمود (۱).

1. Degradation.

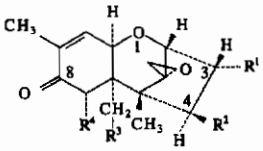
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

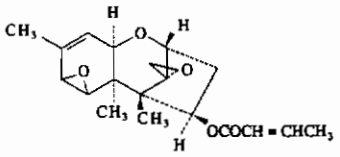
(A)



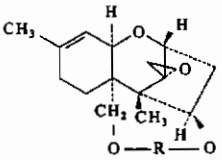
(B)



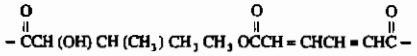
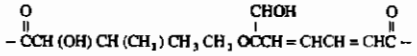
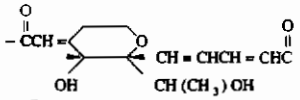
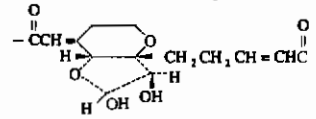
(C)



(D)



		R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
A	Trichothecene	H	H	H	H	H
	Trichoder nol(roridin C)	H	OH	H	H	H
	Trichodermin	H	OAC	H	H	H
	Dihydro trichothecene	H	OH	H	H	OH
	Verrucarol	H	OH	OH	H	H
	Scirpeperiol	OH	OH	OH	H	H
	T-2 tetraol	OH	OH	OH	H	OH
	Monoacetoxyscripepol	OH	OH	OAC	H	H
	5α - Hydroxy-diacetoxy scirpenol (Neorolanol)	OH	OAC	OAC	H	H
	Monoacetylneosoleniol	OH	OAC	OAC	H	OAC
	7α-Hydroxydiacetoxyscirpenol	OH	OAC	OAC	OH	H
	7, 8α-Dihydroxudiacetoxyscirpenol	OH	OAC	OAC	OH	OH
	T-2 Toxin	OH	OAC	OAC	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
	HT-2 Toxin	OH	OH	OAC	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
	Acetyl T-2 Toxin	OAC	OAC	OAC	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
B	Nivelenol	OH	OH	OH	OH	
	Monoacetyl niralenol	OH	OAC	OH	OH	
	Diacetylnivalenol	OH	OAC	OAC	OH	
	Monoacetyl deoxynivalenol	OAC	H	OH	OH	
	Deoxyni valenol	OH	H	OH	OH	
	Trichothecin	H	$OCOCH = CHCH_3$	H	H	
C	Crotocin		$OCOCH = CHCH_3$			

		R
D	Verrucarin A	
	Roridin A	
	Satratoxin H	
	Vertisporin	

شکل ۶-۲ گروههای تریکوتسن

Www.Negashteh.Com

جدول ۶-۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی تریکوتسنها

تریکوتسن	حالت یا شکل	حلال مناسب کریستالیزاسیون مجدد	نقطه‌ذوب °C	چرخش نوری و حلال	جذب، ماکزیمم طول موج و حلال
DON	سوزنی‌شکل	اتیل‌استات و اترپترولیوم	۱۵۱-۱۵۳	+۶/۳۵ ETOH	۴/۵۰۰ETOH ۲۱۸
تری‌استات DON	بی‌رنگ‌سوزنی‌شکل	اتیل‌استات‌واترپترولیوم	۱۵۵-۱۵۷	-	-
Nivalenol	کریستال	متانول	۲۲۲-۲۲۳	+۲۱/۵ETOH	۷/۵۰۰MEOH ۲۱۸
مونواستات DON	-	اتروپتان	۱۸۵-۱۸۶	+۴۳۰MEOH	۵/۹۰۰ETOH ۲۱۹
دی‌استیل DON	-	اتانل	۱۱۹-۱۲۰	-	-
T-2Toxin	سفیدوسوزنی	بنزن	۱۵۱-۱۵۲	+۱۵ETOH	۰
Satratoxin G	-	-	۱۶۷-۱۷۰	-	۶/۵۰۰MEOH ۲۵۶
Satratoxin H	-	-	۱۶۲-۱۶۶	-	۱۰/۴۰۰MEOH ۲۲۰
HT-2Txoin	روغن‌زردرنگ	-	-	-	۰
Fusarenon X	۶وجهی	ان‌پنتان	۹۱-۹۷	+۵۸MEOH	۶/۵۰۰MEOH ۲۲۰
DAN	کریستال	استن‌وهگزان	۱۳۵-۱۳۶	+۶۴/۳ETOH	۶/۲۰۰MEOH ۲۲۰
Neosolaniol	کریستال	اتیل‌استات‌وان‌هگزان	۱۷۱-۱۷۷	-	۰
DAS	کریستال	اتر	۱۶۲-۱۶۴	-	۰
MAS	کریستال	اتیل‌استات‌وایزوا کتال	۱۷۲-۱۷۳	-	۰

Www.Negashteh.Com
Www.Negashteh.Com

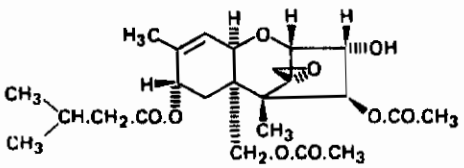
Www.Negashteh.Com

T-2 Toxin ـ۳

یکی از مایکوتوکسینهای خانواده تریکوتسن T-2 Toxin یا (4B - 15 - diacetoxy - 8 - (3 - methy butyry toxy) - 12, 13expoxy trychothecen) است که در گروه A این دسته ترکیبات قرار دارد و به دلیل اهمیت، بطور جداگانه مورد بحث قرار می‌گیرد (۵ و ۴).

این توکسین دارای یک باند اولفینی در C_{9-10}، یک گروه اپوکسی در C_{12-13} و گروه ایزووالرات در کربن ۸ می‌باشد.

از نظر حلالیت این ترکیب در حلالهای آپروتیک[1] نظیر اتیل استات، استون، کلروفرم و دی‌اتیل اتر محلول بوده، درحالیکه در حلالهای پروتیک[2] نظیر آب، حلالیت ناچیزی دارد. یکی از دلایل محلول بودن این توکسین در حلالهای آبی را می‌توان وجود گروههای استات و ایزووالرات در ترکیب ساختمان شیمیایی آن بیان نمود. این توکسین از نقطه‌نظر فیزیکی بصورت کریستالهای سوزنی سفیدرنگ، با نقطه ذوب ۱۵۲-۱۵۱ درجه سانتی گراد می‌باشد. همچنین دارای وزن ملکولی ۴۶۶ بوده و برای مدت طولانی در دمای متوسط پایدار است (۵ و ۴).



شکل ۶-۳ ساختمان شیمیایی T-2 Toxin

۳-۱- واکنشهای شیمیایی T-2 Toxin

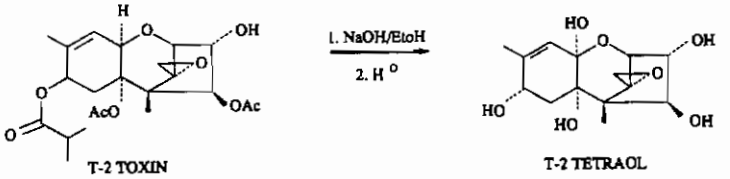
۳-۱-۱- هیدرولیز: تمام تریکوتسنها حاوی گروه استر بوده و در واکنش با باز به الکل اولیه، هیدرولیز می‌شوند. در این رابطه T-2 Toxin نیز در اثر هیدرولیز به الکل اولیه خود یعنی T-2 Tetraol تبدیل می‌گردد (۵، ۴، ۲ و ۱).

---

1. Aprotic 2. Protic

Www.Negashteh.Com

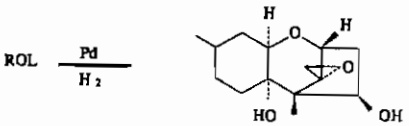
Www.Negashteh.Com



شکل ۶-۴ هیدرولیز T-2 Toxin

۳-۱-۲- هیدروژناسیون

پیوند دوگانه $C_{9\text{-}10}$ را می‌توان با یک کاتالیزور مخصوص هیدروژنه نمود. در تریکوتسنها، واکنش با هیدروژن در حضور کاتالیزور مناسب مشتق دی‌هیدرو، بدون گروه اولفینی را می‌دهد. هیدروژناسیون T-2 Toxin حل شده در اتانول (۹۵٪)، تحت فشار هیدروژن و دمای $25^{\circ}C$ و با مقدار مناسب PdO_2 به عنوان کاتالیزور، طی یک ساعت، صورت می‌گیرد (۱۱، ۵، ۴، ۲ و ۱).



شکل ۶-۵ هیدروژناسیون تریکوتسنها

۳-۱-۳-۱ اکسیداسیون

اکسیداسیون عامل الکل آلیلی c-8 در T-2 Toxin توسط اکسیدسلنیوم، ترکیب ۸-کتوتریکوتسن را می‌دهد.

چنانچه تریکوتسن را بصورت استیل T-2 Toxin در اسیداستیک اتانولی حل کنیم و بعد از اضافه کردن مقدار مناسب SeO_2[1] آن را در درجه حرارت $80^{\circ}C$ به مدت ۷۲ ساعت قرار دهیم، و پس از استخراج آن را در انیدریداستیک حل کرده و ۲۴ ساعت در $25^{\circ}C$ نگهداریم، ترکیب به دست آمده پس از این مدت مشتق ۸-کتوتریکوتسن خواهد بود. گزارش شده است که سایر

---

۱۱ اکسید سلنیوم

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

موقعیتهای تریکوتسن را می‌توان با استفاده از معرفهای شیمیایی نظیر اکسیدمنگنز و بی‌کرومات اکسید نمود (۱۱، ۵، ۴، ۲ و ۱).

۳-۱-۴- استیلاسیون

گروههای هیدروکسی تریکوتسنها به راحتی تحت شرایط معینی، استریفیه می‌شوند. به عنوان مثال با حل نمودن T-2 Toxin در پیریدین و اضافه نمودن مقدار مناسب انیدریداستیک بعد از ۲۴ ساعت در درجه حرارت اتاق استیل T-2 Toxin بدست می‌آید.

۳-۱-۵- واکنشهای گروه اپوکسید

نقطه اساسی و حیاتی ملکول T-2 Toxin گروه اپوکسید می‌باشد. به دلیل اهمیت گروه اپوکسید در سموم تریکوتسن، واکنش‌های شیمیایی گروه اپوکسید نیز از اهمیت خاصی برخوردار است.

وجود این گروه باعث می‌شود که این سموم تحت اثر محلول‌های قلیایی رقیق، سمیت خود را از دست نداده و برای مدتهای طولانی بدون تغییر قابل توجهی باقی بمانند.

مجاورت سموم تریکوتسن با حلالهای آلی مختلف و محیط اسیدی ملایم، آنها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. این خواص بعلت وضعیت خاص حلقه اپوکسیدی و ممانعت فضایی این گروه می‌باشد. بررسی هسته تریکوتسن نشان می‌دهد که اپوکسید در برابر حمله نوکلئوفیلی محافظت می‌شود. معذالک تحت تأثیر اسیدهای قوی و در دماهای بالا به آهستگی وارد واکنش شده و تجزیه می‌گردد.

گزارش شده است که حلقه اپوکسیدی در شرایط نسبتاً ملایمی تخریب می‌شود. برخی از این شرایط عبارتند از حضور نوکلئوفیلهای قوی مانند سدیم تیوفنوکسید در دی‌متیل فرمآمید و یا دی‌متیل سولفوکسید، یا سدیم تیوسیانات.

بعضی از تریکوتسنها نظیر verrucarol در حضور اسیدکلریدریک غلیظ/اتانول و اسیدبرمیدریک غلیظ/اسیدکرومیک/استون/به سرعت وارد واکنش شده و ظرف چند دقیقه، در دمای اتاق تخریب می‌گردد و سمیت خود را از دست می‌دهند. در این صورت به آنها Apothrichothecen می‌گویند (۱۱، ۵، ۴، ۲ و ۱).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴- خواص بیولوژیکی تریکوتسنها

خصوصیات بیولوژیکی تریکوتسنها بسیار متنوع، پیچیده و جالب است. همین ویژگیها باعث گردیده است که این دسته از مایکوتوکسینها به عنوان گروه خطرناکی از سموم، توجه محققین درزمینه‌های مختلف علوم را به خود جلب نماید.

تریکوتسنها به شدت برای بافتهای حیوانی سمی هستند و برای بافت ویژه‌ایی اختصاصی نیستند (۱۰، ۹، ۴ و ۲).

در توکسیکوزهایی که با مصرف غلات کپک زده حاوی قارچهای تولیدکننده این سموم ایجاد شده است علایم کلینیکی نظیر تهوع، استفراغ، التهاب، امتناع از خوردن غذا، اسهال، سقط جنین، خونریزی، تغییرات خونی، اختلالات عصبی، و افسردگی[1] وکاهش فعالیت مغز استخوان همراه بوده است. تجربیات توکسیکولوژی با انواع تریکوتسنهای جدا شده، ثابت نموده است که این علایم، می‌تواند در حیواناتی نظیر موش صحرایی، خوکچه هندی، خرگوش، گربه، سگ و اسب ایجاد شود و علاوه بر این حیوانات جوان، یا نابالغ عمدتاً بیشتر از بالغین حساس هستند، ضمن اینکه اختلالات و ناهنجاریهای زیادی در جنین مشاهده نشده است.

خونریزی از روده و و نکروز سلولهای در حال تقسیم تیموس، طحال، تخمدان و بیضه موش صحرایی نیز از علایم مشخص این بیماری است. در جوجه اردک، گربه و سگ، تهوع و استفراغ مدت کوتاهی بعد از تجویز، رخ می‌دهد و لکوسیتوز[2] نیز قابل توجه می‌باشد. از لحاظ پاتولوژی خونریزی در روده، شش و مغز، همراه باکاهش فعالیت مغز استخوان در گربه‌هایی که با تریکوتسن مسموم شده‌اند وجود داشته است و کاهش مشخصی در تعداد سلولهای سفید خونی در نتیجه تجویز متوالی سم فوق‌ظاهر می‌شود.

نحوه مسمومیت فوق در گربه‌های مسموم شده با T-2 Toxin کاملاً مشابه مسمومیت‌های انسانی حاد با غلات کپک زده و انبار شده به مدت یک دوره زمستانی که از شوروی گزارش شده بود، می‌باشد. در این رابطه نکته جالب این است که در ماکیانی که از طریق آشامیدن، تریکوتسنها را مصرف کرده بودند، زخمهایی در حفرات دهانی ایجاد گشته بود. علامت فوق در مورد طیور

---

1. Depression

۲. لکوسیتوز: افزایش گویچه‌های سفید خون

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مبتلا به فوزاریوتوکسیکوز[۱] حاد نیز مشاهده شده است. تهوع و استفراغ علایم شایع فوزاریوتوکسیکوز می‌باشد (۱۶، ۱۳، ۱۲ و ۵).

در همین رابطه Deoxynivalenol[۲] به عنوان سم عامل بیماری شناخته شده است که به عنوان Vomitotoxin نامگذاری گردید.

در بررسیهای متعدد پژوهشگران مشخص گردید که همه تریکوتسنها دارای این اثر فارماکولوژیکی هستند. تزریق زیر جلدی ۰/۱mg/kg T-2 Toxin در گربه موجب تهوع در حیوان می‌شود. گمان می‌رود که تریکوتسنها بر روی C.T.Z[۳] در مغز میانی اثر می‌گذارند.

امتناع از خوردن علوفه و یا غذا یکی دیگر از علایم مشخصه فوزاریوتوکسیکوز است و گزارش شده است که T-2 Toxin در موش صحرایی این اثر را ایجاد می‌کند. ظاهراً این پدیده ناشی از اثرات التهابی سم بوده و منجر به جراحت حفره دهانی و غشاهای مخاطی معده و روده‌ها شده و در نتیجه موجب کاهش مصرف غذا و به همان نسبت باعث کم شدن وزن می‌شود.

تریکوتسنها برای انواع حیوانات سمی هستند و فعالیتهای ضد توموری، ضد انگلی و ضد قارچی نیز دارند. در ابتدای کشف، این ترکیبات به واسطه فعالیت ضد قارچی خود مورد توجه واقع شدند و تقریباً همه تریکوتسنهای شناخته شده به نسبتهای متفاوتی دارای فعالیت ضد قارچی هستند. چنانکه T-2 Toxin یک عامل ضد قارچی ضعیف می‌باشد.

برخی از تریکوتسنها برای مصارف مختلفی بکار می‌روند . مثلاً Trichothecine با رقت ۱:۱۲۸۰۰۰ در معالجه آفت قارچی پنبه دانه مصرف می‌شود و همچنین از پژمرده شدن گیاه پنبه جلوگیری می‌کند. تریکودرمین بر علیه انواع قارچهای پاتوژن گیاهی، مؤثر است (۱۲، ۵).

پاتولوژی حاد این عوامل بویژه T-2 Toxin مانند اثرات ناشی از تاباندن اشعه‌های رادیواکتیو یا عوامل الکیله کننده نظیر نیتروژن می‌باشد.

تریکوتسنها از قویترین مهارکننده‌های سنتز پروتئین در سلولهای یوکاریوتیکها[۴] می‌باشند، ولی همه آنها بطریق کاملاً مشابهی عمل نمی‌کنند. در آزمایشات تجربی مشخص شده است که epoxy trichothecene 12-13 بطور اختصاصی سنتز پروتئین را مهار می‌کند. اثر

---

1. Fusarotoxicose

۲. از تریکوتسن‌های گروه B

3. Chemoreceptor trigger zone

4. Eucaryotic.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بازدارندگی آن در سنتز پروتئینها و سلولهای DNA، ناشی از تمایل بالای آن نسبت به سلولهای یوکاریوتیک می‌باشد و همین زنجیره ارتباطی می‌تواند به فعالیتهای ضد توموری، ضد انگلی، ضد قارچی و سایر خواص سمی آن نیز مربوط شود. ممانعت این ترکیبات از سنتز پروتئین هم در مرحله شروع و هم در مرحله پایانی سنتز زنجیره پروتئینی در سطح سلول می‌باشد، و بسته به اینکه چگونه انواع گروههای استخلافی با یکدیگر در اتصال باشند، در واکنشهای مربوط به مرحله شروع سنتز پروتئین و یا در فاکتورهای مرحله انتهایی دخالت می‌کنند، لذا 12-13 epoxy trichothecene ممکن است مهارکننده‌های اختصاصی برای مرحله‌های مختلف سیکل ریبوزوم باشند.

عمل تریکوتسنها در مهار سنتز پروتئین اختصاصی بوده و در طی آزمایشات مشخص گشته است که هیچگونه اثر مهاری با مایکوتوکسینهای دیگر که با تریکوتسنها که از نظر منبع تولید مشترک می‌باشند، نظیر فوزاریک اسید، با روش تست رتیکولوسیت خرگوش وجود ندارد.

۴-۱- سمیت تریکوتسنها

سمیت تریکوتسنها ارتباط مستقیم با خواص بیولوژیکی و مکانیسم عمل آنها دارد. در بررسی سمیت حاد[1] T-2 Toxin در ماهی قزل‌آلا از قرصهایی استفاده شد که با مقادیر مختلفی از این سم همراه بوده است. LD_{50} محاسبه شده ۶mg/kg بود که بالاتر بودن LD_{50} ماهی نسبت به سایر حیوانات ناشی از هدر رفتن مقداری از سم در آب بوده است. ماهیهایی که غذای حاوی توکسین را خوردند در روز اول از غذا خوردن امتناع نموده و اکثر ماهیهایی که مردند از خونریزی مخاط روده و ادم شدید رنج می‌بردند (۶، ۵).

مقادیر LD_{50} تعدادی از تریکوتسنها در جدول ۶-۲ ذکر شده است.

اطلاعات ارائه شده در مورد LD_{50} تقریباً حاکی از آن است که تریکوتسنها فوق‌العاده کشنده هستند. نکته جالب اینکه سمیت کشنده T-2 Toxin برای موش از طریق زیر جلدی بالاتر از راههای داخل صفاقی و داخل وریدی و خوراکی بوده است.

---

1. Acat Toxicity.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

جدول ۶-۲ مقادیر LD_{50} برای تعدادی از تریکوتسنها

گروه	تریکوتسن	حیوان	راه تجویز	mg/kg
A	T_2-Toxin	موش	I.P	۵/۲
	T_2-Toxin	موش‌صحرائی	P.O	۵/۲
	T_2-Toxin	خوک	I.V	۱/۲
	DAS	موش	I.P	۲۳
B	Nivalenol	موش	I.P	۴/۱
	Fusarenon-X	موش	I.P	۳/۴
	Fusarenon-X	موش‌صحرائی	P.O	۴/۶
	DON	موش	P.O	۴۶/۰
C	Crotoxin	موش	P.O	۱۰۰۰
D	Poridin A	موش	I.V	۱/۰
	Verrucarin A	موش	I.V	۱/۵
	Verrucurin A	موش‌صحرائی	I.V	۰/۸۷
	Verrucarin B	موش	I.V	۷/۰
	Verrucarin J	موش	I.V	۰/۵
	Satratoxin G	موش	I.P	۱/۲۳
	Satratoxin H	موش	I.P	۵/۶۹

جدول ۶-۳ LD_{50} برای T-2 Toxin

حیوان	راه تجویز			
	PO	I.P	S.C	I V
موش سوری (۶ هفته‌ای)	۵	۵/۲	۲/۱	۴/۲
موش سوری (۴ هفته‌ای)			۱/۶	
موش سوری (نوزاد)			۰/۱۵	
خوک				۱/۲
موش صحرائی (۶ هفته‌ای)	۵/۲	۳		
خوکچه هندی	۲/۷۵			

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

موش جوان ۶ هفته‌ای دارای حساسیت بیشتری از موش مسن‌تر (بیش از ۶ هفته) نسبت به T-2 Toxin بوده و مقدار LD_{50} در مورد موش نوزاد حدود $\frac{1}{10}$ LD_{50} موش جوان یعنی ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است.

سمیت گروه A تریکوتسنها که T-2 Toxin نیز جزو آنها است ۵۰ برابر سمی‌تر از گروه B می‌باشد. تجربیات سم شناسی با T-2 Toxin مشخص نموده است که ppb۳۴ از سم در ۱۶۰ دقیقه و یا ppb۱۴۰ در ۳۰ دقیقه برای کشتن حیوان ظرف چند روز کافی است.

اسهال و خونریزی از روده بطور مشخص در موشهای صحرایی مورد آزمایش وجود داشته است. زیرا T-2 Toxin از طریق بافت پوستی و غشاهای مخاطی روده به شدت جذب می‌شود (۱۴، ۱۳، ۶ و ۵).

۴-۲- اثر تریکوتسنها بر روی اندامهای خون‌ساز

بافتهای لنفاوی، خون ساز و مخاط روده و غدد از مراکزی هستند که بیشترین آسیب‌پذیری را در مقابل ورود سم دارند. اندازه و حجم اندامهای لنفاوی نظیر تیموس، طحال و غدد لنفاوی پس از تجویز T-2 Toxin کاهش پیدا می‌کند.

کبد یکی از اندامهای مورد حمله T-2 Toxin است. به طوری که به دنبال تزریق سم بزرگ شدن و خونریزی بیش از حد در آن ظاهر می‌شود. T-2 Toxin همچنین سبب صدمات و آسیب به اندامهای خون ساز و تغییر ماهیت و نکروز مغز استخوان حیوانات می‌شود که تغییرات مشخص در ترکیب سلولهای خونی نیز بدنبال دارد. در این رابطه بعد از تکرار اینکوباسیون سم T-2 Toxin برای ۳ تا ۵ روز با سلولهای خونی، سلولهای سفید خون و پلاکتها کاهش یافته‌اند.

T-2 Toxin اثر تخریب‌کنندگی قوی بر روی سیستم ایمنی دارد[1]. در بررسی اثر T-2 Toxin بر روی سیستم ایمنی در موش اثرات مشخص آن روی طحال مشاهده گردیده است و موشهایی که به ویروس یا باکتری آلوده شده بودند در صورت دادن سم نسبت به آلودگی خیلی حساس شده بطوریکه اصلاً واکنشی از نظر ایمنی نداشتند (۱۴، ۱۳، ۹، ۶ و ۵).

1. Immunosuppresive.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴-۳- تریکوتسنها و دستگاه گوارش

تأثیر T-2 Toxin و سایر تریکوتسنها بر دستگاه گوارش وعوارض آنها کاملاً مشخص شده است. در مشاهدات بعد از مرگ حیوانات خونریزیهای وسیع در روده و از بین رفتن سلولهای مخاطی غشایی وجود داشته است.

استفراغ به عنوان یکی از علایم مشخصه مسمومیت در حیوانات و انسانهایی بوده است که غلات حاوی تریکوتسنها را مصرف کرده‌اند و تقریباً همه تریکوتسنها دارای این عکس العمل فارما کولوژیکی هستند.

حداقل دوز تهوع T-2 Toxin درگربه بصورت زیر جلدی به مقدار ۰/۱mg/kg می‌باشد. این حداقل در انسان بصورت داخل وریدی، ۲/۴mg/kg مشخص گردیده است.

اصولاً فوزاریوتوکسیکوز با علایم شایع گوارشی نظیر تهوع، استفراغ، التهاب و امتناع از خوردن غذا و اسهال همراه بوده است، بطوریکه امتناع از خوردن علوفه و یا غذا یکی از علایم مشخصه در تحقیقات برای ردیابی تریکوتسنها می‌باشد (۱۴، ۱۳، ۹، ۶ و ۵).

T-2 Toxin با ایجاد التهابات فعال و جراحات در حفره دهانی و غشاهای مخاطی معده باعث می‌شود که وزن بدن نیز کاهش یابد. تزریق روزانه ۰/۱mg/kg از T-2 Toxin به یک گوساله ۲۹۵کیلوگرمی بعد از ۶۵روز باعث مرگ گوساله با علایم گوارشی فوق‌الذکر شده است.

تزریق عضلانی سم باعث اسهال می‌شود و این ناشی از اثر مستقیمی است که روی مخاط روده داشته، البته بر روی آنزیمهای روده‌ای نیز تأثیر می‌گذارند، به گونه‌ای که باعث خراب شدن سلولهای تولیدکننده آنزیم می‌شوند.

۴-۴- تأثیر تریکوتسنها بر روی آنزیمها

تجویز ۳۵۰ میکروگرم T-2 Toxin به جوجه‌های ۶ هفته‌ای باعث کاهش موقت خوردن غذا، تغییرات در میزان تری‌گلیسرید پلاسما، سطوح کلسترول، افزایش در فعالیت آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز، لاکتات دهیدروژناز و کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز شده است. همچنین سبب کاهش وزن پانکراس و بزرگ شدن کبد و یک خونریزی واضح در این عضو نیز می‌شود (۱۴، ۱۳، ۱۱، ۹، ۶ و ۵).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۴-۵- تریکوتسنها و سمیت پوستی

تریکوتسنها محرکهای پوستی هستند. از این خاصیت برای بررسی بیولوژیکی گونه‌های فوزاریوم و توکسینهای آنها بعنوان یک روش بیواسی[۱] تست بیولوژیکی استفاده شده است.

در بین تریکوتسنها، T-2 Toxin بالاترین سمیت را دارد. حداقل دوز 10^{-11} مول یا ۵ نانو گرم از این سم باعث قرمزی در پشت خوکچه هندی می‌شود.

بعد از T-2 Toxin از لحاظ قدرت، سمومی نظیر[۲] (HT-2Toxin و DAS) و (Verrucarin A و Rovidin A)[۳] در مقام دوم اهمیت قرار دارند.

۲ تا ۱۰ ساعت بعد از مصرف T-2 Toxin بر روی پوست، علایم حساسیت ظاهر می‌شود. مشخص شده است کارگران مزارعی که با محصولات آلوده به مقادیر زیاد قارچ F.tricintum در تماس بوده‌اند، دچار التهاب صورت شده‌اند که متعاقباً پوسته پوسته شدن پوست و التهاب قابل توجهی را در این ناحیه در بر داشته‌است. نکته قابل توجه اینکه T-2 Toxin و تریکوتسنهای با ساختمان حلقوی بزرگ یک روز بعد از مصرف باعث ادم پوست می‌شوند. تجربیات بیشتر با T-2 Toxin نشان داده است که درجه تحریک پوستی وابسته به زمان بوده و ۴۸ ساعت بعد از تماس، به یک سطح ثابت می‌رسد (۶، ۵).

توضیح روشنی برای ایجاد حساسیت پوستی بوسیله T-2 Toxin و سایر تریکوتسنها موجود نیست، اما حدس زده می‌شود که T-2 Toxin مستقیماً به عروق موئینه حمله کرده و باعث افزایش نفوذپذیری آنها می‌شوند (۱۴، ۱۳، ۱۱، ۹، ۶ و ۵).

۴-۶- تریکوتسنها و خاصیت سرطانزایی آنها[۴]

یکی از بحث‌های مهم درباره تریکوتسنها خاصیت سرطانزایی این سموم، بویژه T-2 Toxin می‌باشد. در صورت مصرف طولانی مدت این سم تومورهای پوستی ایجاد می‌شود.

دوزهای پائین T-2 Toxin چه از طریق خوراکی و چه از راه جذب پوستی سرطانزا نمی‌باشد ولی با توجه به یافته‌های ضد و نقیض نیاز به تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد

---

1. Biassay

۲. جدول ۶-۱ ۳. شکل ۶-۲

4. Carcinogenicity

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

(۱۴، ۱۳، ۹، ۶ و ۵).

۴-۷- تریکوتسنها و خاصیت جهش‌زائی آنها[1]

تریکوتسنها، فاقد فعالیت جهش زایی روی باکتریها، قارچها و مخمرها می‌باشند. در بررسی جهش‌زایی T-2 Toxin شواهدی دال بر منفی بودن نتایج ارائه گردیده است. ولی این بدان معنی نیست که سایر توکسین‌ها دارای این قدرت نباشند (۹، ۶ و ۵).

۴-۸- تاثیر تریکوتسنها بر سایر اندامها

اثرات سمی T-2 Toxin و ترکیبات وابسته به آن بطور گسترده‌ای بر روی اندامهای بدن ظاهر می‌گردند که در این میان T-2 Toxin اثرات خود را در دوزهای تحت بررسی بصورت افزایش ضربان قلب، اختلال در اعمال عضلانی قلب، بزرگ شدن و فیبروز شدن قلب نشان داده است، و بنابراین به عنوان سموم قلبی غیر اختصاصی مشخص شده است.

مصرف طولانی مدت تریکوتسنها در سیستم اعصاب مرکزی خونریزی مننژها را ایجاد کرده است. همچنین بعد از تجویز خوراکی ۳mg/kg از T-2 Toxin به موشها در روزهای مختلف حاملگی، متعاقب خونریزی واژینال حیوان تلف شده است (۱۴، ۱۳، ۹، ۶ و ۵).

۵- متابولیسم و توزیع تریکوتسنها

راههای متابولیسم تریکوتسنها در گیاهان و جانوران کاملاً شناخته شده نیست. از جمله مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته است برروی کروتوکسین[2] از تریکوتسنهای ماکروسیلیک بوده است. پس از تجویز زیر جلدی و خوراکی مقادیر زیاد این سم (۰/۲-۰/۳mg/kg) در موش مقدار آن قابل تشخیص نبوده است، ولی موقعی که ۲۰۰-۴۰۰ mg/kg به هر موش به صورت داخل وریدی تجویز شده است مقدار کمی از سم پس از ۳۰ دقیقه در ادرار مشخص شده است.

همچنین زمانی که Fusorenon-n بصورت نشاندار شده با H^3 در موش مورد بررسی قرار گرفته است، ۳۰ دقیقه بعد رادیواکتیویته در کبد، کلیه‌ها، روده‌ها، معده، طحال، صفرا و پلاسما یافت شده است، ولی در قلب، مغز، بیضه‌ها تشخیص داده نشده است.

---

1. Mutagenicitty 2. Crotoxin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بالاترین رادیواکتیویته در کبد وجود داشته است که ۳۰٪ دوز تجویز شده، بوده است. فعالیت رادیواکتیوته در مدفوع و ادرار $\frac{1}{3}$ فعالیت رادیواکتیوته در کبد بوده‌است. ۲۴ ساعت پس از تجویز سم، رادیو اکتیویته در بافت‌ها وجود نداشته است ولی ادرار و مدفوع تقریباً حاوی تمام رادیو اکتیویته‌بوده‌اند. بنظر می‌رسدکه‌سم‌سریعاًاز بافتهای بدن و عمدتاً از طریق کلیه دفع می‌شود.

تجویز T-2 Toxin نشاندار شده عموماً در ابتدا وجود رادیواکتیویته را در کبد آشکار نموده است. ۱۸ ساعت بعد از اینکه خوکها T-2 Toxin نشاندار را مصرف کرده بودند در مدفوع و ادرار به ترتیب ۲۵ و ۲۰ درصد رادیواکتیویته وجود داشت. غلظت ماده نشاندار در صفرا ۳۰ برابر کلیه و کبد بوده در حالی که در طحال، رادیواکتیویته، $\frac{1}{3}$ غلظت کلیه بوده است.

حدس زده می‌شود که ۵۰٪ شدت رادیواکتیویته در جهاز هاضمه، ۷۲ ساعت پس از تجویز خوراکی T-2 Toxin با دوز ۴۲mg/kg، به ترتیب حدود ۷۰ و ۳۰ درصد رادیواکتیویته تجویز شده در مدفوع و ادرار بوده است (۱۴، ۱۳، ۹، ۶ و ۵).

٦- جداسازی، خالص‌سازی و تشخیص تریکوتسنها

٦-١- جداسازی

تریکوتسنهای قطبی و هیدروکسیله شده را می‌توان بطور مؤثری بوسیله حلالهایی نظیر اتانول، متانول، آب، آب و الکل و استونیتریلها از نمونه‌ها استخراج نمود.

تریکوتسنهای غیرقطبی و یا در واقع با قطبیت کمتر نظیر T-2 Toxin با توجه به حلالیت بالای آنها در حلالهای آلی توسط این‌گونه حلالها و یا مخلوط آنها نظیر کلروفرم، متیل کلراید، اتیل استات، دی‌اتیل اتر و استون استخراج می‌گردند.

جدول ۶-۴ تعدادی از حلالهای به‌کار برده شده برای استخراج تریکوتسن

سوبسترا	توکسین	حلال
پالیده‌کشت میکروبی	Diacetoxy scirpenol	کلروفرم
ذرت	T-2 toxin	کلروفرم
پالیده‌کشت میکروبی	T-2 toxin,HT-2toxin	اتیل-استات
ذرت	D.A.S	اتیل-استات
جو	Deoxynivalenol	اتانول-آبی ۵۰٪
ذرت	Deoxynivalenol	متانول-آبی ۴۰٪
ذرت	T-2 toxin	اتیل - استات

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

٦-۲- خالص‌سازی

معمولاً برای افزایش حساسیت کیفی و کمی سم در نمونه‌ها، نیاز به خالص‌سازی می‌باشد، زیرا طبیعت و پیچیدگی مواد استخراج شده همراه سم از یک منبع تا منبع دیگر متفاوت می‌باشد.

البته خالص‌سازی تریکوتسنها روش ساده‌ای نیست و برای بدست آوردن هریک از این سموم با وجود ترکیبات مزاحمی که همراه آنها بویژه در نمونه‌های طبیعی نظیر گندم، ذرت و جو وجود دارد، مشکل بنظر می‌رسد که بتوان با یکسری آزمایش و عملیات ساده آزمایشگاهی آنها را جدا نمود. روشهای خالص‌سازی که بطور معمولی انجام می‌گیرد عبارتند از: (۱۴، ۷ و ۶).

۱- استخراج مایع - مایع

۲- استخراج جامد - مایع

٦-۲-۱- استخراج مایع - مایع

جداسازی تریکوتسنها در این سیستم بدون کاهش مقدار سم صورت می‌گیرد، اما استخراج چربیهای موجود در عصاره یکی از کارهایی است که قبل ازهر اقدام دیگری باید صورت بگیرد، و این امر بویژه در مورد نمونه‌هایی که از محیطهای طبیعی برداشت شده‌اند، به مراتب مهمتر می‌باشد. زیرا این منابع دارای مقادیر زیادی از اینگونه ترکیبات بوده که خود در مراحل بعدی خالص‌سازی و تشخیص مزاحمتهای جدی به همراه دارند.

حذف چربیها و ترکیبات واسطه به کمک حلالهایی چون هگزان و پترولیوم اتر صورت می‌گیرد، و عمل جداسازی چربیها بطور قابل توجهی در خالص‌سازی سموم جهت اندازه گیری مؤثر می‌باشد.

٦-۲-۲- استخراج جامد - مایع

سیستمهای جامد - مایع بطور گسترده‌ای در جداسازی و آنالیز تریکوتسنها مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ چون بعد از جداسازی مایع - مایع بویژه از محیط‌های طبیعی کشت مقدار زیادی از ناخالصیهای کشت همراه توکسین وجود دارد که لازم است در مراحل بعدی آنالیز از مواد جاذب و حلال خالص کننده مناسب استفاده نمود. طراحی مرحله جداسازی جامد - مایع برحسب کیفیت خلوص نمونه و اینکه مرحله خالص‌سازی با

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

حلال[۱] را پشت سر گذاشته است یا خیر، متفاوت خواهد بود. به گونه‌ای که در هر مورد سیستم حلال شستشو دهنده[۲] و مقدار و نوع مواد جاذب فرق خواهد نمود.

بطور عمومی در اغلب روشها، سلیکاژل بعنوان جاذب و خالص کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد و علاوه بر این در بعضی از آزمایشات از ستونهای ویژه تجارتی نیز استفاده شده است.

٦-٣- مرحله تشخیص تریکوتسنها

بعد از جداسازی و خالص‌سازی تریکوتسنها، مرحله تشخیص و شناسایی صورت می‌گیرد، که در یک تقسیم‌بندی کلی این مرحله به ۲ دو صورت؛ ۱- تشخیص بیولوژیکی ۲- تشخیص شیمیایی صورت می‌گیرد (۱۴، ۷ و ۶).

٦-٣-١- روشهای تشخیص بیولوژیکی[۳]

روشهای بیولوژیکی تحت عنوان روشهای بیواسی مطرح می‌شوند، و بیشتر در سیستمهای بیولوژیکی کاربرد دارند.

این روشها با اهداف مختلفی نظر تشخیص، تعیین مقدار و اندازه گیری بعضی خواص بیولوژیکی نظیر خاصیت ضد توموری طراحی شده‌اند.

الف - سنجش بیوشیمیایی: در این روش از واکنش ترکیب شدن تریکوتسن یا یک آنزیم مشخص استفاده می‌شود. پس از اضافه کردن مقدار معینی از آنزیم، غلظت باقی مانده از آنزیم، با استفاده از یک معرف تولیدکننده رنگ مشخص می‌گردد. معمولاً برای تشخیص مقادیر زیر میکروگرم از این تفکیک استفاده می‌گردد.

روش تفکیک دیگر تکنیک Elisa[۴] می‌باشد. در این روش سم را با آلبومین سرم گاو اتصال می‌دهند و همزمان با استاندارد، در روی صفحه‌های مخصوص حاوی آنتی‌بادی ویژه مورد سنجش قرار می‌گیرند. اگرچه این تکنیک روش فوق‌العاده و بسیار حساس و اختصاصی است، ولی تهیه آنتی‌بادی مخصوص بیش از چند سال طول می‌کشد.

---

1. Solvent Purification
2. Eluting
3. Bioassay Method
4. Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ب - سنجش میکروبیولوژیکی: در این روش قبل از همه چیز نیاز به میکروارگانیزم حساس می‌باشد. در این رابطه مشخص شده است که Rhodotorula rubra NRRL 7222 یک مخمر حساس به T-2 Toxin می‌باشد.

دیسکهای حاوی ۴ میکروگرم سم باعث مهار شدن رشد این مخمر گردیده است، لذا با این اطلاعات مطابق متدهای معمولی سنجشهای میکروبی می‌توان یک روش مناسب طراحی نمود.

ج - سنجشهای گیاهی[1]: از خاصیت فیتوتوکسیسیته[2] تریکوتسنها برای سنجش آنها استفاده می‌شود. این سنجش براساس توانایی تریکوتسن در مهار رشد و تکثیر دانه گیاهان می‌باشد، واز گیاهان مختلفی نظیر دانه نخود فرنگی و گندم استفاده می‌شود.

۶-۳-۲- روشهای تشخیص شیمیایی تریکوتسنها

الف - روش NMR و IR: معمولاً NMR و IR بطور روتین در تعیین و تشخیص اولیه ساختمان شیمیایی تریکوتسنها بکار گرفته می‌شوند. با توجه به گروههای مختلف شیمیایی در روی ملکول، استفاده از این دو روش کاربرد زیادی داشته و بعنوان روشهای تأییدی در مراحل مختلف آنالیز استفاده می‌شوند. جهت استفاده آسان از طیفهای حاصل از این تکنیکها درکتاب Cox و cole کلکسیونی از طیف‌های NMR و IR مایکوتوکسینهای مختلف از جمله تریکوتسنها را می‌توان یافت (۷ و ۶).

ب - روش کروماتوگرافی لایه نازک[3]: ساده‌ترین و سریعترین روش شناسایی تریکوتسنها تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک می‌باشد. این روش علاوه بر تشخیص کیفی، دراندازه گیریهای کمی و نیمه کمی تریکوتسنها نیز قابل استفاده است. فقدان پیوندهای غیراشباعی در تریکوتسنها باعث عدم جذب در ناحیه ماورای بنفش می‌گردد، لذا متدهای کروماتوگرافی معمولی در مورد آنها قابل اجرا نیست و فاقد حساسیت است و برای ردیابی این ترکیبات مجبور به استفاده از معرفهای کرموژنیک می‌باشیم. انتخاب یک سیستم حلال مناسب، علاوه بر اینکه قادر است تاحدودی پژوهشگر را از مزاحمت مواد اضافی موجود در عصاره آسوده سازد، با جداسازی مناسب بین سموم موجود در نمونه نیز می‌تواند در تشخیص هرچه بهتر کمک نماید.

سیستمهای متنوعی از حلال برای روش T.L.C پیشنهاد شده است و هر محقق برحسب

---

1. Plant Bioassay 2. Phytotoxicity 3. TLC

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

روش و تجربه عملی سیستمی را استفاده و R_F های سموم راگزارش داده است. با توجه به وابستگی R_F به بسیاری از پارامترها، مقدار R_F برای هر سم ثابت نبوده و دارای نوساناتی می‌باشد، ولی به عنوان شاخص برای درک قدرت افتراق سموم تریکوتسن و یا محل احتمالی آنها بر روی پلیت می‌توان از آن استفاده کرد.

بعد از انتخاب سیستم حلال مناسب و لکه گذاری صحفه T.L.C در پایان کار از معرفهای خاص، برای ظهور لکه‌ها استفاده می‌گردد. بخار ید یکی از ساده‌ترین معرفهای مورد استفاده است، لیکن بجز پیدایش لکه‌های قهوه‌ای، هیچگونه ویژگی خاص دیگری ندارد، لذا کمتر معمول است. این معرف بصورت محلول ۱٪ در تتراکلرایدکربن تهیه می‌شود.

اسپری اسیدسولفوریک، یکی دیگر از معرفهای مورد مصرف است. پس از اسپری و خشک کردن صفحه و حرارت دادن آن در حدود $105^{\circ}C$ برای چند، لکه‌های مربوط به سموم ظاهر می‌شوند. بااین اسپری، در نور مرئی رنگ خاکستری و در زیر اشعه UV با طول موج ۳۵۶ نانومتر فلورسانس ایجاد می‌کند. و حساسیت این روش ۰/۵microgr/spot می‌باشد. معرف بصورت محلول اتانولی یا متانولی ۲۰٪ اسید سولفوریک غلیظ تهیه می‌شود.

جدول ۶-۵ چند سیستم حلال رایج برای تریکوتسنها همراه با R_F مربوطه

	مقدار R_f در هر سیستم حلال				
T-2 Toxin	۰/۲۲۹	۰/۳۶۴	۰/۵۲۸	۰/۶۲۰	۰/۴۱۰
H-T-2 Toxin	۰/۰۲۳	۰/۰۲۹	۰/۱۰۱	۰/۲۷۷	۰/۱۲۵
Neosolaniol	۰/۰۳۷	۰/۰۸۰	۰/۱۸۸	۰/۳۴۴	۰/۱۵۲
D.A.S	۰/۱۸۷	۰/۳۱۱	۰/۴۷۴	۰/۵۹۵	۰/۳۷۳
M.A.S	۰/۱۴۹	۰/۰۲۱	۰/۰۶۶	۰/۲۶۱	۰/۱۲۱
Scripentriol	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۰۳۶	۰/۱۱۲	۰/۰۷۱
D.O.N	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۰۶۶	۰/۲۹۳	۰/۱۵۷
Fusarenon-X	۰/۰۳۰	۰/۰۶۶	۰/۱۷۰	۰/۴۰۰	۰/۲۵
T-2 Tetraol	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۶۴	۰/۰۲۱

۱	متانول/کلروفرم = سیستم حلال	(۹۸:۲)
۲	متانول/کلروفرم = سیستم حلال	(۹۷:۳)
۳	متانول/کلروفرم = سیستم حلال	(۹۵:۵)
۴	استون/بنزن = سیستم حلال	(۳:۲)
۵	اتیل استات/تولوئن = حلال	(۱:۳)

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

معرف دیگر اسپری پاراآنیز آلدهید[1] است که با این اسپری، تریکوتسنها رنگهای مخصوص نشان می‌دهند. حساسیت این معرف در ۰/۵mic.g/spot گزارش شده است. در صورت استفاده برای شناسایی T-2 Toxin نیز ایجاد فلورسانس می‌کند. این اسپری باید در یخچال نگهداری شود.

معرف بعدی اسپری آلومینیوم کلراید ($AlCL_3$) می‌باشد. این معرف بصورت محلول ۲۰-۱۰ درصد در اتانول مائی (۳۰٪) تهیه می‌شود. بعد از اسپری صفحه و حرارت دادن، سموم دارای فلورسانس می‌گردند. حد تشخیص این معرف ۰/۱mic.g/spot می‌باشد.

امروزه تکنیکهای حساستر T.L.C ارائه شده است که در اولین روش آن ترکیب ۴-پارانیتروبنزیل پیریدین[2] به عنوان معرف به‌کار می‌رود. این ترکیب به‌گروه اپوکسید حمله کرده و در قسمت اپوکسید تریکوتسن با کربن ۱۲ ترکیب می‌شود و ایجاد لکه‌های قابل روئیتی را می‌کند که می‌تواند به وسیله اسپکتروفتومتر ارزیابی شود.

ویژگی این روش در این است که با ترکیبات مشابه ولی فاقد اپوکسید تریکوتسنها جواب منفی می‌دهد. در روش عمومی این تکنیک، نیاز به حرارت دادن صفحه به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰°C می‌باشد و لذا یک روش روتین نیست.

دومین روش استفاده از معرف نیکوتینامید[3] می‌باشد. در این روش ترکیبات حاوی اپوکسید به محلول نیکوتینامید و یک کتون (مثل استوفنون) و پتاس الکلی اضافه می‌شوند که با اضافه نمودن اسید فرمیک فُرمهای فلورسانس کننده سم ایجاد می‌شوند. حساسیت این روش ۰/۱-۲ng/spot است و نیاز به حرارت هم ندارد.

روش حساس دیگر روش high-performance.T.L.C (H.P.T.L.C) می‌باشد که سریعترین روش جداسازی بدون نیاز به مشتق‌سازی قبلی نمونه‌ها است. برای تریکوتسنها انواع اسپری و صفحه‌های مخصوص بکار برده می‌شود تا نمونه‌ها دارای خاصیت فلورسانس شده و تشخیص داده شوند.

---

1. P-Anisaldehyde
2. 4-P-Nitrobenzyi Pyridine
3. Nicotinamide

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ج - روش تشخیص باکروماتوگرافی گاز - مایع[1]: این روش هم به عنوان یک روش تشخیص و هم بعنوان تعیین کمی مقدار مایکوتوکسین استفاده شده است. بخصوص استفاده از این روش وقتی اهمیت پیدا می‌کند که آنالیز بر روی نمونه‌هایی صورت گیرد که مقدار سم موجود در نمونه بسیار پایین باشد.

تشخیص و تعیین مقدار حداکثر تریکوتسنها با G.L.C امکان‌پذیر می‌باشد. برای این منظور نمونه را مشتق‌سازی نموده و به دستگاه تزریق می‌شود. مشکل اصلی در اینجا نیز مواد مداخله کننده‌ای است که همراه سم در عصاره وجود دارند. لذا معمولاً همیشه نیاز به خالص‌سازی هست. در چندین مورد آنالیز T-2 Toxin با این روش صورت گرفته است. در نمونه‌های مورد آنالیز بطور روتین از دتکتور یونش شعله‌ایی استفاده شده است.

اسپکتروسکوپی جرم[2] نیز بعنوان یکی از روشهای تأییدی در آنالیز تریکوتسنها کاربرد دارد. با ترکیب روشهای گاز کروماتوگرافی و اسپکتروسکوپی جرم تکنیک G.C/M.S ایجاد می‌شود که از آن می‌توان در آنالیز تریکوتسنها استفاده نمود. G.C./M.S در مواردی که تشخیص با G.L.C مشکل بوده و بخصوص اگر ترکیبات مزاحم زیاد باشند، استفاده می‌شود.

لذا این تکنیک در مورد آنالیز نمونه‌های پیچیده آزمایشگاهی و با مقادیر بسیار کم هم کاربرد دارد. هر تریکوتسن از جمله T-2 Toxin در این تکنیک دارای منحنی خاصی است. اطلاعات بدست آمده برای انواع منحنیهای سم، توسط کامپیوتر آنالیز می‌شود.

با توجه به اینکه طیف جرمی در فواصل زمانی معین بدست می‌آید برای هر تریکوتسن جدول و منحنی مخصوص تهیه می‌شود و از روی این جدول و منحنیهای مربوط به هر تریکوتسن می‌توان نمونه را تشخیص و تعیین مقدار کرد. به این روش (S.I.M)[3] گفته می‌شود.

د - روش تشخیص با H.P.L.C: مزیت این روش بدین صورت است که در آن، تریکوتسنها بدون نیاز به مشتق‌سازی قابل تشخیص و تعیین می‌باشند.

---

1. GLC
2. M.S
3. Selected Ionmonitering

Www.Negashteh.Com

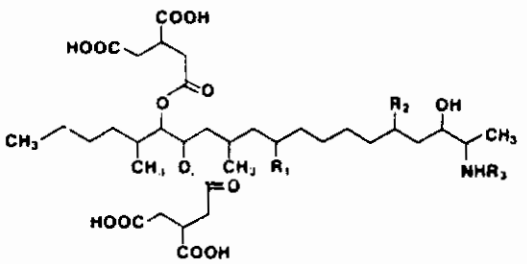
Www.Negashteh.Com

۷ـ فومونایزین[1]

فومانایزین بوسیله کپک F.moniliforme و F.proliferatum بر روی ذرت کپک زده و فاسد ایجاد می‌شود. این توکسینها سبب نرمی بخش سفید مغز اسبها و ادم ریوی در خوکها و ایجاد تومور در ناحیه کبد سنجابها می‌شود. ذرتی که بوسیله کپک F.moniliforme آلوده شده، باعث سرطان مری در بخشهایی از افریقا شده است. فومونایزینها اولین‌بار در سال ۱۹۸۸ شناسایی و در گروه مایکوتوکسینها طبقه‌بندی شدند و این کشف نتیجه تحقیقاتی بود که بر روی چگونگی ایجاد و شیوع سرطان مری در جنوب افریقا صورت پذیرفته بود.

این سموم محلول در آب و قطبی می‌باشند و حلالیت زیادی در محلول استونیتریل، آب و متانول دارند و در حلالهای غیرقطبی محلول نمی‌باشند.

فومونایزین شامل فراکسیونهای B_1، B_2، B_3، B_4، A_1 و A_2 و C_1 می‌باشد. این سموم در ذرت کپک زده و فرآورده‌های آنها حضور دارند. فومونایزینها ممکن است همزمان با آفلاتوکسینها در مواد غذایی تولید شوند و غالباً در ذرت آلوده به کپک به مقدار زیادی از این سم یافت می‌شود. ولی روشهای اندازه گیری دقیقی برای شناسایی و تعیین مقدار کمی آنها استفاده نشده است. هنوز بسیاری از فومونایزینها و ترکیبات شبیه به آنها و حتی پیش‌سازهای آنها در مواد غذایی ناشناخته‌اند (۲۰، ۱۹، ۱۲ و ۱۰).



شکل ۶-۶ ساختمان شیمیایی انواع فونونایزینها

1. Fumonisin.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Bamburg, J. R., Riggs N. V. et Strong F. M. 1968.--The structures of toxins from two strains of Fusarium tricinctum. Tetrahedron, t. XXIV, p. 3329-3336.

2- Bamburg, J. R. et Strong F. M. 1969.--Mycotoxins of the trichothecane family produced by Fusarium tricinctum and Trichoderma lignorum. Phytochemistry, t. VIII, p. 2405-2410.

3- Bamburg, J. R. et Strong F. M. 1971.--12, 13-Epoxytrichothccenes. in Kadis S. et al. Microbial Toxins, t. VII, p. 207-292.

4- Bucheli, B. Diserens, P. Rychener, M. Tieche, J. D. Trenkner, N. 1996. Investigation on the infestation by fusorium and on contamination of mycotoxins of swissbread making cereal of the 1992-1994. harvest. Mitteilungen aus dem Gebiete der lebensmittelunter suchurg und Hygiene, 37(1) 84-102.

5- Burmeister, H. R. 1971.--T-2 toxin produetion by Fusarium tricinctum on solid substrate. Appl. Microbiol., t. CCI, p. 739-742.

6- Corry, J. E. et al, Isolation and Identification methods for food poisoning organism, p: 1984, 332-334.

7- Ikeda, Y., Omori Y., Furuya T. et Ichinoe M. 1964.-- Experimental studies on some causal Fusarium for the wheat and barley scab. IV.Feeding test in mice. Eisei Shikenjo Hokolu, t. LXXXII, p. 130-132.

8- Joffe, A. Z. 1963.--Toxicity of overwintered cereal. plant and Soil, t. XVIII, p. 31-44.

9- Lauren, D. R., Jensen, DJ. Smith, W. A, Dow, B.W. sayer, S.T. 1996. Mycotoxin in Newzcaland Maize: astudy of some factors influencing contamination level in grain. Newzealand Joural of crop and Horticultural science. 24(1) 13-20.

10- Maghraby, OM. Kady, IA. Solimans, S. 1995. Mycoflora and Fusorium Toxins of the Three type of corn grains in Egypt with special reference to production of trrichothecene-Toxins. Microbiological Research, 150(3), 225-232.

11- Martinez, E. Quiroga, N. Resnik, S. Pacin, A. 1995. Natural occurrence Trichothecenes and zearalenone in orgentine wheat. Food control, 6(4), 201-204.

12- Meredith, F. T. Bacon, C. W. Plattner, R. D., Norred, W.P. 1996. Preparative LC. isolation and purification of fumonisin B1 from rice colture 1996. Journal of Agricultural and Food chemistry, 44(1), 195-198.

13- Palyusik, M. 1971.--Experimental swine fusariotoxicosis (vulvovaginitis) induced with Fusarium graminearum. C.R. 5e Congr. ISHAM, p. 222-223, Paris.

14- Saeger, S. de, Pereghem, G. Van. 1995. Fusarium T_2-Toxin enzyme immunoassay determination in wheat. Applied and Enviromental microbiology, 62(6), 1880-1884.

15- Saito, M., Umeda M., Ohtsubo K., Kurata H., Udagawa S. et Natori S. 1968.-- Studies on the detection of carcinogens in natural products. I. Toxic effects of fungi isolated from foodstuffs. Proc. Jap. Cancer Assoc., 27th Ann. Meet. Tokyo, p. 59.

16- Speers, G. M., Meronuk R. A., Barnes K. M. et Mirocha C. J. 1971.-- Effect of feeding Fusarium roseum f. sp. graminearum contaminated corn and thc mycotoxin F-2 on the growing chick and laying hen. Poult. Sci., t. L, p. 627-633.

17- Ueno, Y. 1970.--Inhibition of protein synthesis in animal cells by nivalenol and rclated metabolites; toxic principales of rice infested with Fusarium nivale. in HERZBERG M., Toxic micro-organisms, p. 76-79.

18- Ueno, Y. et Fukushima K. 1968.--Inhibition of protein and DNA synthesis in Ehrlich ascites tumour by nivalenol, a toxic principle of Fusarium nivale growing rice. Experientia, t. XXIV, p. 1032-1033.

19- Voss, K. A. Riley, R. T. Bacon, C.W. Chamberlain, W. J. Norred, W. P. 1995. Subchronictoxic effects of fusarium moniliforme and fumonisin B_1 in rat and micc. Natural toxins, 4(1) 16-23.

20- Wyllie, T. D. et al. Mycotoxin fungi, mycotoxin, mycotoxicosis,the pennsylvania univ.part 1.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل هفتم

اسپوری دسمین

۱- اسپوری دسمین[1]

اسپوری دسمین توکسیکوز بیماری است که ناشی از توکسین تولید شده بوسیله کپک Pithomyces chartarum می‌باشد (۲، ۱).

کپک Pithomyces chartarum به نامهای زیر نیز خوانده می‌شود:

1- Sporidesmium chartarum

2- Piricauda chartarum

3- Sporidesmium echinulatum

4- Sporidesmium bakeri

گونه تولید کننده سم و تولید بیماری Sporidesmium است که بصورت صحیح آن Sporodemium نوشته می‌شود.

Pithomyces chartarum کپکی است اسپورزاکه بر روی بافتهای مرده سبزیجات و علفها وکاغذ و بافتهای سلولزی رشد می‌کند. مبدأ این قارچ در نیوزیلند بوده است. در واقع اولین ترکیب سمی که بوسیله کپک P.chartarum استخراج می‌شود؛اسپوری دسمین است که بعداً به دو ترکیب سمی دیگر تحت عنوان sporidesmin B و sporidesmin C مشتق می‌گردد. از نظر ساختمانی این ۳ ترکیب شبیه یکدیگر و سمی می‌باشند (۱).

---

1. Sporidesmin

Www.Negashteh.Com

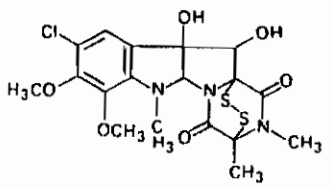
Www.Negashteh.Com

یک گروه از اسپوری دسمینها دارای اپی پلی تیودی کتوپیپرازین می باشند[1]

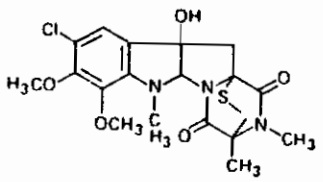
اسپوری دسمینها دارای مشتقات زیادی هستند که ۸نوع آنها تا کنون شناسایی شده است: (۳ و ۲)

sporidesmin A	$C_{18}H_{20}CLN_3O_6S_2$	۱- نقطه ذوب ۱۷۹°C و ناپایدار
sporidesmin B	$C_{18}H_{20}CLN_3O_5S_2$	۲- نقطه ذوب ۱۸۳°C
sporidesmin C	$C_{18}H_{20}CLN_3O_6S_3$	-۳
sporidesmin D	$C_{20}H_{26}CLN_3O_6S_2$	-۴
sporidesmin E	$C_{18}H_{20}CLN_3O_6S_3$	-۵
sporidesmin F	$C_{19}H_{22}CL_1N_3O_6S$	-۶
sporidesmin G	$C_{18}H_{20}CLN_3O_6S_4$	-۷
sporidesmin H	$C_{18}H_{20}CLN_3O_4S_2$	-۸

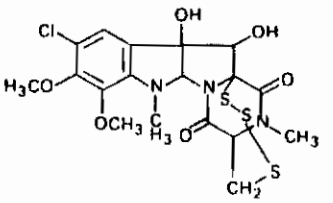
شکل زیر ساختمان شیمیایی ترکیبات فوق‌الذکر را نشان می‌دهد:



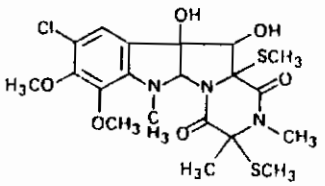
Sporidesmin A



Sporidesmin B



Sporidesmin C



Sporidesmin D

شکل ۷-۱ ساختمان شیمیایی اسپوری دسمینها

1. Epipolythiodiketo Piperazines

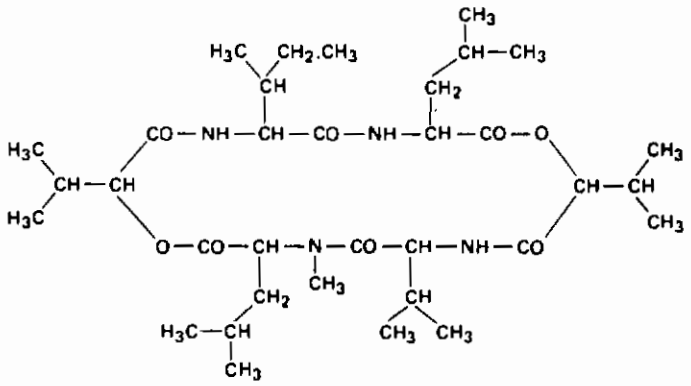
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

کپک p. chartarum برای رشد اپتیمم نیاز به رطوبت ۱۰۰٪ دارد و از این رو در چمنزارهای مرطوب به مقدار زیاد و خیلی سریع رشد کرده و جوانه می‌زند. درجه حرارت مناسب رشد این کپک ۲۴°C و حداقل رطوبت لازم برای رشد آن ۱۳°C می‌باشد. ما کزیمم آلودگی به این کپک در تابستان و پاییز اتفاق می‌افتد ولی علت آن هنوز مشخص نشده است (۲، ۱).

باران، یکی از عوامل مساعد کننده رشد این کپکهاست و در عرض ۳ روز شرایط بارانی، این کپک به ما کزیمم رشد خود می‌رسد. p.chartarum تولید یکسری سموم دی‌پپتیدی می‌کند که عبارتند از:

۱- sporidesmolideII که فرمول شیمیایی آن $C_{33}H_{60}O_8N_{41}$ می‌باشد و ساختمان شیمیایی آن در زیر مشخص شده است.



شکل ۷-۲ ساختمان شیمیایی sporidesmolide II

۲- sporidesmolide III

۳- sporidesmolide IV

۴- pithomycolide

۵- angolide

متابولیتهای سمی کپک p.chartarum، هم به‌وسیله میسلیوم و هم اسپورقارچ تولید می‌شود، اما صدمات کبدی این کپک ناشی از مصرف اسپورها می‌باشد (۱).

نوع سم تولید شده توسط p.chartarum بستگی به نژاد کپک، محیط کشت،

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

زمان اینکوباسیون، و شرایط آزمایشگاهی دارد. مشخص شده است که اگر اسپورهای کپک p.chartarum مرطوب شوند قابلیت تولید سم در آنها کاهش می‌یابد و این می‌تواند دلیلی باشد بر کاهش مسمومیت‌زایی گونه‌های آلوده‌کننده در پایان فصل مرطوب سال (۳، ۲۱).

گوسفندان بیشتر از سایر حیوانات که در معرض آلودگی به اسپور p.chartaram هستند، مسموم می‌شوند.

LD_{50} توکسین sporidesmin ۲-۱/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان است. در سایر حیوانات مانند گوساله اثر این گروه سموم شدید نبوده اما بی‌تأثیر هم نمی‌باشد و ثابت شده است که اسب، موش، سنجاب، خوگوش نیز به این توکسین حساسیت نشان می‌دهند.

در گوسفند مسمومیت ابتدا بصورت، التهاب شدید چشم و تکان دادن سریع سر ظاهر می‌شود به گونه‌ای که حیوان سعی زیاد در تخلیه بینی خود دارد. ادرار حیوان زیاد می‌شود و از آفتاب می‌گریزد و به سایه پناه می‌برد، ادم در گوشها زیاد می‌شود و به بخش‌هایی نظیر چشم، صورت، لبها و دستگاه تناسلی توسعه می‌یابد. حالتی شبیه به آفتاب سوختگی در قسمت‌های مختلف بدن ظاهر گشته که با لوسیون از بین نمی‌رود. بعد از چند روز زخم‌هایی در بدن گسترش پیدا می‌کند که این زخم‌ها بعد از چند روز سیاه شده و شکاف می‌خورد. این اختلالات پوستی چند هفته‌ای ادامه دارد بعد حالتی شبیه یرقان ایجاد می‌شود و حیوان دچار ضعف عمومی می‌شود که بدین صورت بعد از چند هفته می‌میرد. آزمایشات نشان می‌دهد که بیلی روبین در خون حیوان دیده می‌شود. در گاوهای شیرده بعد از مصرف علفهای آلوده به کپک p.chartarum مقدار شیردهی کاهش می‌یابد و حالت پرخونی، حساسیت به لمس، و خروج موکوس دیده می‌شود. در پوزه حالت سوختگی ایجاد می‌شود و حالت زردی در ناحیه چشم، زبان و اطراف قسمتهای خارجی دستگاه تناسلی توسعه می‌یابد. برای از بین بردن کپک در مزرعه از اسپری پودر سولفات کمک می‌گیرند، اما در بعضی از کشورها نظیر نیوزیلند از اسپری مخلوط اسیدهای چرب ۹ تا ۱۱ کربنه و عوامل فعال در سطح غیریونی نظیر Lissopoln استفاده می‌کنند (۹، ۸، ۷ و ۴).

اشعه دهی به کمک لامپ بخار جیوه از سمیت sporidesmins می‌کاهد (۶، ۴ و ۲).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Brook, P. J. 1963.--Ecology of the fungus Pithomyces chartarum (Berk. et Curt.) M. B. Ellis in pasture in relation to facial exzema disease of sheep. New Zealand J> Agr. Res., t. VI, p. 147-228.
2- Chapman, W. Cooper, S. Norton, D. Williams, A. 1982. Sporidesmins, biosynthetic, pathways. proc. VINT. symp. mycotoxins and phycotoxins pp, 363-373. Vienna, Austria.
3- Done, J., Mortimer P. H., Taylor A. et Russell D. W. 1961.-- The production of sporidesmin and sporidesmolides by Pithomyces chartarum. J. Gen. Microbiol., t. XXVI, p. 207-222.
4- Draughon, F. A. Ayres, J. C. 1981. Sporidesmin Toxicosis. Appl Environ, Microbiol. 41. 772-976.
5- Fridrichsons, J. et Mathieson A. MCL. 1962.--The structure of sporidesmin, causative agent of facial exzema in sheep. Tetrah. Lett., n° 26, p. 1265-1268.
6- Frook, P. J. 1964.--Growth cycle of the fungus Pithomyces chartarum (Berk. et Curt.) M. B. Ellis. New Zealand J. Agr. Res., t. VII, p. 87-89.
7- Kidder, R. W. et Beardsley D. W. 1961.--Moldy grass may cause cattle sunburn. Agr. Expt. Stn. Univ. Florida, Research Dept. n° 6, p. 15-16.
8- Krogh, P. 1980. Phytotoxicity. natural toxins pp. 673-680. Pergamon press. London.
9- Krogh, P. 1987. Mycotoxins in Food Academic press. London.
10- Marbrook, J. et Matthews R. E. F. 1962.--Loss of sporidesmin from spores of Pithomyces chartarum (Berk. et Curt.). M. B. Ellis. New Zealand J. Agr. Res., t. V, p. 232-236.
11- Mortimer, P. H. et Stanbridge T. A. 1969.--Changes in biliary secretion following sporidesmin poisoning in sheeps. J. Comp. Pathol., t. LXXXIX, p. 267-275.
12- Sinclair, D. P. 1961.--Pithomyces chartarum spores on pasture and their relation to facial exzema in sheep. Mew Zealand J. Agr. Res., t. IV, p. 492-503.
13- Worker, N. A. 1969.-- Phytotoxicity of sporidesmin. New Zeal. J. Agric. Res., t. XII, p. 271-274.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل هشتم

توکسین کپک استاکی بوتریس آترا

۱- توکسین کپک استاکی بوتریس آترا[1]

استاکی بوتری توکسیکوز، یک بیماری است که در اثر خوردن غذاهای آلوده به سم قارچ Stachybotrysatra ایجاد می‌شود. این بیماری بیشتر از همه اسب و سایر حیوانات را تحت تأثیر قرار می‌دهد اما انسان نیز ممکن است به آن دچار شود (۵، ۱).

اولین‌بار این توکسیکوز در سال ۱۹۳۱ در اوکراین مشاهده گردید. بررسیهای مختلف نشان می‌دهد که این بیماری ایجاد عفونت نمی‌کند و واگیردار هم نمی‌باشد.

انتقال بیماری از طریق: ۱- تغذیه مشترک، ۲- تزریق خون یا انتقال بافت مریض به بافت سالم انجام می‌شود. تحقیقات انجام شده در کشورهای آلمان و شوروی، مشخص کرده است که شیوع این بیماری از طریق رشد و حضور کپک Stachybotrysatra روی علفهایی است که اسبها از آنها تغذیه می‌کنند (۱).

کپک S.atra کپکی است که باعث فساد بافتهای سلولزی می‌شود، دارای گسترش فراوان است و ایجاد اسپور می‌کند و اغلب در خاک حضور دارد (۵ و ۲).

شرایط مناسب حرارتی برای رشد این کپک $^{\circ}C$ ۲۵-۲۰ است، البته در شرایط حرارتی بین $^{\circ}C$ ۴۰-۲ هم پایدار است اما در صفر درجه سانتی‌گراد، رشد نمی‌کند. این کپک نیاز به رطوبت

---

1. Stachybotrys atra

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بالایی دارد، به صورتی که در درجه حرارت ۸۰°C در رطوبت پایین در مدت یکساعت از بین می‌رود اما در رطوبت بالا درجه حرارت ۶۵°C-۶۰ را یکساعت و درجه حرارت ۱۰۰°C را به مدت ۵ دقیقه تحمل کرده و از بین نمی‌رود. اسپور این کپک درجه حرارت ۴۰°C را مدتهای طولانی تحمل می‌کند. اسپور S.atra در ضمن عبور از دستگاه گوارش حیوانات زنده باقی می‌ماند و فقط ممکن است در ضمن فرآیندهای حرارتی ناشی از فعالیت‌های بیولوژیکی این ناحیه از بین برود.

بعضی از گونه‌های S.atra بی‌ضررند و ایجاد سم نمی‌کنند. عصاره استخراج شده از گونه‌های سمی زمانی که با پوست تماس حاصل کند ایجاد التهابات پوستی می‌کند ولی در مورد گونه‌های غیر سمی هیچ واکنشی در پوست مشاهده نشده است.

توکسین تولید شده بوسیله S.atra بسیار قوی است به طوری که اگر مقدار کمی از آن یعنی حدود ۰/۰۰۱۷۵ میکروگرم را در ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر روغن زیتون حل کنند و در تماس با پوست قرار دهند، ایجاد التهاب و پرخونی[1] می‌کند. این توکسین در برابر نور UV، نور خورشید و اشعه ایکس، کاملاً مقاومت دارد و همچنین درجه حرارت اتوکلاو(۱۲۰°C) را به مدت یکساعت بخوبی تحمل کرده و نابود نمی‌شود (۲، ۱).

توکسین S.atra در برابر اسیدهای آلی یا غیر آلی با غلظت‌های حدود ۲٪ هم غیرفعال نمی‌شود، اما شرایط قلیایی آن را از بین می‌برد. در آب غیر محلول است اما در اتانول، دی کلرومتان، اتر، کلروفرم و چربی‌ها بخوبی حل می‌شود.

LD50این توکسین برای سنجاب آزمایشگاهی از طریق صفاقی ۴۴/۵ mg/kg، برای موش آزمایشگاهی ۵۱/۶ mg/kg، برای خوک آزمایشگاهی ۶۲/۴ mg/kg و برای جوجه یک روزه آزمایشگاهی ۹۲ mg/kg است.

توکسین S.atra سبب از بین رفتن سلولهای پارامسی نوع caudatum می‌شود. انسان هم بخوبی حیوانات تحت تأثیر توکسین S.atra قرار می‌گیرد. برای مثال افرادی که علفهای خشک و کپک زده را حمل و نقل می‌کنند در صورت وجود خراشیدگی در بدن آنها خصوصاً در

1. Hyperemia

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بخشهایی که در آنها تعریق زیاد صورت گیرد مانند زیر بغل، تأثیرپذیری بیشتر خواهد بود. که معمولاً این خراشیدگی و زخمها در زیر بغل به دلیل تعرق و مرطوب بودن وسعت یافته و بیشتر می شود (۲، ۱).

این توکسین سبب ایجاد التهاب آنژینی در ناحیه حلق شده و فرد بیمار دچار احساس خستگی و کسالت می‌شود و در زمان تنفس از بینی نفس می‌کشد و در مواردی خونریزی کمی همراه با سرفه نیز دیده می‌شود (۷ و ۳).

بنابراین افرادی که ممکن است در معرض آلودگی با این قارچ قرار بگیرند، لازم است صورتشان را با ماسک بپوشانند و بعد از حمل حصیر یا علفهای خشک شده آلوده به کپک کاملاً دست و صورت را با آب گرم وصابون بشویند و از پودرهای ویژه، برای ضد عفونی بخشهایی از پوست که در معرض این سم قرار گرفته استفاده نمایند.

این توکسین همچنین سبب ایجاد پرخونی و نکروز در بافتهای مختلف می‌شود که این حالت مانند کوفتگی یا خون‌مردگی است و به صورت نقطه‌ای یا خطی در مناطقی مانند غشای ریه، دیافراگم، طحال و روده مشاهده می‌شود. همچنین پرخونی در ششها وکبد وکلیه و اعصاب و مغز نیز بروز می‌کند (۷، ۵، ۳ و ۲).

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Drobotko, V. G. 1945.--Stachybotryotoxicosis, a new disease of horse and humans. Am. Rev. Soviet Med., t. II, p. 238-242.

2- Forgacs, J., Carll W. T., Herring A. S. et Hinshaw W. R. 1958.--Toxicity of Stachybotrys atra for animals. Trans. N. Y. Acad. Sci., t. XX, p. 787-808.

3- Harrach et al, 1983. Stachybotrytoxicosis. Appl, Environ. Microbiol. 45, 1419 - 1422. Krogh, p.

4- Korpinen, D. B. et Ylmaki A. 1972. -- Discovery of toxigenic Stachybotrys chartarum strains in Finland. Experientia, t. XXVIII, p. 108-109.

5- Krogh, P. 1987, Mycotoxins in foods. academic press, London.

6- Palyusik, M. 1970.--Experimental stachybotryotoxicosis of young chicks. Sabouraudia, J. Int. Soc. Hum. Anim. Mycol., t. VIII, p. 4-8.

7- Szatmary, C. I. 1983. Stachybotrytoxicosis, chemical, Biological and Toxicological, aspects, pp. 229-250.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

فصل نهم

توکسین سایر کپکها

۱- کپک Absidia

کپکهای آبسیدیا، جزو گونه‌های عفونت‌زا هستند که درجه حرارت اپتیمم رشد آنها $37^{\circ}C$ است، اما درجه حرارت زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد و بالاتر از ۵۰ درجه سانتی‌گراد را هم بخوبی تحمل کرده و از این نظر شبیه قارچ Aspergillus fumigatus است. Absidia romosa قارچی است که عموماً در روی غلات رشد می‌کند و مصرف مواد غذایی آلوده به این کپک باعث سقط جنین دامها می‌شود. Absidia spp تولید اسید اگزالیک[1] می‌کند که ممکن است خاصیت سمی داشته باشد. قارچ Absidia lichtheimii که اغلب غذاهای دامی را آلوده می‌کند سبب به هم خوردن و ایجاد اختلال در هضم غذایی دامها و کاهش میزان تخم‌گذاری طیور می‌شود. (۱۲)

۲- کپک Rhizopus

عصاره استخراج شده از مواد غذایی آلوده به قارچ رایزوپوس در غلظتهای پایین بعد از تزریق وریدی به خرگوش موجب مرگ حیوان شده است. همچنین عصاره استخراج شده از Tempeh (نوعی غذای بومی در شمال شرقی آسیا که با نارگیل، سویا و خرچنگ تازه تهیه می‌شود) ایجاد مسمومیت می‌کند و بعد از چند ساعت از مصرف این غذا، علائم و نشانه‌های

1. Oxalic acid.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

مسمومیت ظاهر می‌شود، علائمی مانند سردرد، سرگیجه، عدم تعادل در راه رفتن، اختلال در تنفس و حالت خفگی و در نهایت تشنج، سیانوز، کما، مرگ نیز ۱ تا ۲ روز بعد از صرف غذای آلوده اتفاق می‌افتد.

همچنین ادعا شده است که عصاره استخراج شده مواد غذایی آلوده به این کپک نیز خاصیت سرطانزایی دارند.

کپک رایزوپوس ۲ نوع سم تولید می‌کند: ۱- سم oxoflavin که زردرنگ است ۲- bongkrekie Acid که بی‌رنگ می‌باشد.

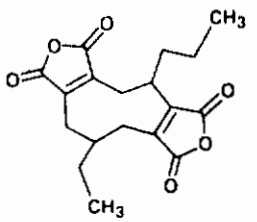
این کپک همچنین قادر است سبب تغییر شکل پروژسترون شود، تولید نکروز در ناحیه کبد نماید، و معمولاً مسمومیت با آن توأم با خونریزی و بی‌رنگ شدن سلولهای اپی‌تلیوم لوله‌های کلیه است. سایر گونه‌های قارچ رایزوپوس که مواد غذایی مختلف را آلوده می‌کند عبارتند از: (۳،۱۰)

Rhizopus orrhizus, Rhizopus nigricans

۳- کپک Byssochlamys

Byssochlamys fulva جزو قارچهای خانواده آسکومیست است. این قارچ سبب فساد آبمیوه‌جات شده و اسپور این کپک قادر است حرارت $88^{\circ}C$ را به مدت نیمساعت و درجه حرارتهای بالاتر را در زمان کوتاهتری تحمل نماید بنابراین فرآیند حرارتی که برای سالم‌سازی آبمیوه‌جات بکار می‌رود موجب نابودی اسپورهای این کپک نمی‌شود.

این گونه از کپکها تولید متابولیت byssochlamic acid را با فرمول شیمیایی $C_{18}H_2O_6$ می‌کند. که ساختمان شیمیایی آن در شکل زیر مشخص گردیده است. (۷)



شکل ۹-۱ ساختمان شیمیایی بایزوکلامیک اسید

Www.Negashteh.Com

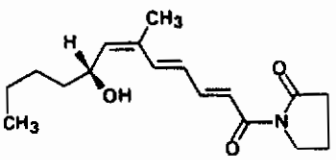
Www.Negashteh.Com

این متابولیت خاصیت سمی دارد و می‌تواند در موش ایجاد مسمومیت نماید و از نظر ساختمانی شباهت زیادی به گلوکونیک اسید[۱] یا گلاکانیک اسید[۲] دارند. این توکسین در غلظت $۱۰^{-۳}$ مول سبب ممانعت از فعالیت آنزیمهایی نظیر آدنین‌دی آمیناز، الکل دهیدروژناز و ایزوسیترات و هیدروژناز می‌شود. بایزوکلامیک اسید فقط در غذاهایی تولید می‌شود که دارای اسیدهای چرب هستند و گلیسرول آزاد دارند و بنابراین در مارگارین و یا روغن زیتون تشکیل نمی‌شود در حالی که به راحتی در کره ایجاد می‌شود.

این اسید در غذاهای مختلف به روش کروماتوگرافی لایه نازک به آسانی شناسایی می‌شود. گونه‌های کپک Byssochlamys nivea قادرند تولید مسمومیت غذایی کنند. همچنین اسپورهای این کپکها قادرند درجه حرارت $۷۵^{\circ}C$ را به مدت ۵ دقیقه بخوبی تحمل نمایند. علاوه بر این در شرایط اتمسفری ٪۹۰ = CO_2 نیز هنوز رشد می‌کنند. (۷)

۴ـ کپک Paecilomyces

کپک paecilomyces varioti یا penicilium divaricatum بیشتر در مواد غذایی نظیر تخم‌مرغ، مارگارین، فراورده‌های سویا، ساورکرات و انواع دیگر فرآورده‌ها یافت می‌شوند، این کپک ممکن است در طیور ایجاد عوارضی کند که علائم آن مشابه مسمومیت ناشی از کپکهای penicillium و Aspergillus می‌باشد. بین میزان سمیت این کپک و توانایی تولید آنتی‌بیوتیکهای variotin با فرمول شیمیایی $C_{17}H_{25}O_3N$ و assymetrin و pyrenophorol در آن رابطه‌ای مستقیمی وجود دارد.



شکل ۹-۲ ساختمان شیمیایی variotin

1. Glauconic Acids.
2. Glaucanic Acids.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

بعضی از گونه‌های این کپک قابلیت تولید پتولین را دارند و حتی قادرند تولید Byssochlamic acid نمایند.

۵- کپک Chaetomium

این کپکها تک آسکوسپوری هستند که قادرند غلات را آلوده سازند و حیواناتی که غلات آلوده به این کپک را مصرف کرده‌اند بعد از ۵ تا ۶ روز از بین می‌روند.

این کپک ماکزیمم متابولیت سمی خود را بعد از ۸-۶ هفته که از زمان کشت اولیه آنها می‌گذرد، تولید می‌کنند.

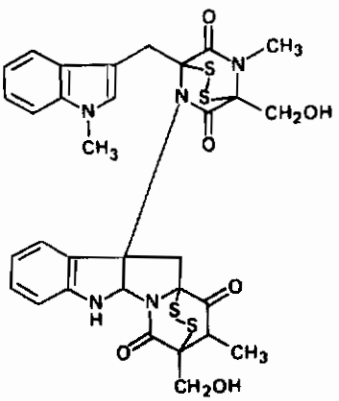
نشانه‌های آلودگی و مسمومیت با این قارچ عبارت است از تغییر در سیستم اعصاب مرکزی و همچنین در کالبدشکافی روده، زخم شدن، خونریزی و التهاب این ناحیه مشخص می‌شود.

توکسین تولید شده بوسیله این کپکها chaetomin نامیده می‌شود و از نظر ساختمانی با گلیوتوکسین و اسپوری دسمین شباهت زیادی دارد.

فرمول‌شیمیایی آن $C_{31}O_{30}O_6N_6S_4$ است و ساختمان‌شیمیایی آن‌در زیر آمده‌است.(۶)

مشخصات فیزیکی این توکسین عبارت است از :

$[\alpha]^{22}D = 360°$, $\lambda_{max} =$ 278, 287, 297nm



شکل ۹-۳ ساختمان شیمیایی chaetomin

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

در روش شناسایی و اندازه گیری دقیق توکسین chetomin ابتدا به کمک پترولیوم اتر، چربی از محیط حذف می‌شود سپس، به کمک محلول استون توکسین استخراج و خالص می‌شود و در خاتمه باکمک حلالهایی نظیر مخلوط استون ۵ درصد کلروفرم و روش کروماتوگرافی لایه نازک توکسین شناسایی می‌گردد.

٦ـ کپک Geloeotinia temalenta

این قارچ اسامی مختلفی دارد مانند Phialea temulenta و Selerotina sealincola و Stromationia temulenta. نحوه زندگی این قارچ بصورت پارازیتی و یا به صورت ساپروفیتی است و بر روی موادی نظیر انواع علفها و دانه‌های نشاسته‌دار رشد می‌کند و ایجاد مسمومیت می‌نماید.

مصرف طولانی مدت علفهای کپک زده آلوده به قارچ Geloeotinia temalenta در حیوانات علفخوار ایجاد مسمومیت می‌کند. این قارچ تولید متابولیت سمی temulin را می‌نماید.

temulin سبب کاهش جوانه‌زنی درگیاهان می‌شود همچنین رشد این کپک بر روی نان، ایجاد مسمومیت غذایی در انسان و حیوانات می‌کند.

نشانه‌های مسمومیت به صورت بیحسی، سرگیجه، تهوع و حالت استفراغ بروز می‌کند بدنبال آن ایجاد درد در نواحی معده و بدنبال آن اسهال بروز می‌نماید وگاهی اوقات تشنج و انقباضات عضلانی همراه با بیحسی است و در بعضی از موارد مسمومیت هم توأم با مرگ بوده است.

غوطه‌ورکردن دانه‌های آلوده به‌کپک در آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد کپکها را به مقدار زیاد از بین می‌برد. (۱۳)

۷ـ کپک Cladosporium

کلادوسپوریوم جزو قارچهای ناقص است که قابلیت تولید سم در مواد غذایی را دارد. بخصوص دانه‌های غذایی که فصل زمستان ذخیره شده‌اند درجه آلودگی زیاد نشان می‌دهند.

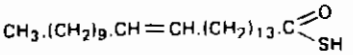
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

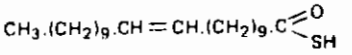
گونه‌های مهم کلادوسپوریوم شامل Chladosporium herbarum و Cladosporium fagi است که فرآورده سمی آنها عبارت است از:

۱- Epicladosparic Acid

۲- Fagicladosporic Acid



Epicladosporic acid



Fagicladosporic acid

شکل ۹-۴ ساختمان شیمیایی epicladosporic A و Fagicladosporic A

۸- کپک Alternaria

گونه‌های مختلف آلترناریا، از دانه‌های مختلف غذایی، آرد و سایرفرآورده‌ها ایزوله شده‌اند. این کپک جزو قارچهای ناقص است و Alternaria tenuis و Alterniaria humicola تولید ترکیب سمی تحت عنوان Alternaric Acid را می‌کنند که قادر است حیوانات مختلف را مسموم نماید. علایم مسمومیت ناشی از آن به صورت بی‌اشتهایی، کاهش وزن و خونریزی دستگاه گوارش می‌باشد و در مواردی حتی باعث مرگ نیز شده است (۸).

۹- کپک Epicoccum

اپی‌کوکوم کپک ناقصی است که گونه Epicoccum nigrum آن تولید فرآورده سمی تحت عنوان Flavipin یا ۳ و ۴ و ۵ - تری هیدروکسی - ۶ - متیل فنالدهید[1] را می‌کند.

مصرف مواد غذایی آلوده به این کپک سبب ایجاد زخمهایی در ناحیه کبد و کلیه می‌شود (۲).

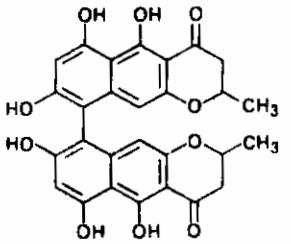
1. 3, 4, 5- Trihydroxy - 6 - Methyi - Phthaladehyde

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۰ـ کپک Cephalosporium

Cephalosporium acremonium، کپکی است که بر روی انواع سوبستراها قابلیت رشد و تکثیر دارد. قابلیت انتشار آن زیاد است و تولید چندین نوع آنتی‌بیوتیک می‌کند که تحت عنوان سفالوسپورینهای P1 تا P5 و سفالوسپورین C نامیده می‌شوند. این کپک همچنین قادر است تولید یک پیگمان رنگی به نام cephalochromin را بکند که فرمول شیمیایی آن $C_{28}H_{22}O_{10}$ است و خاصیت سمی دارد.



شکل ۹-۵ ساختمان شیمیایی سفالوکرومین

آنتی‌بیوتیکهای سفالوسپورین p_1تاp_5 و C، همه در بوتیل‌استات محلول و در محلولهای آلی غیرمحلول هستند.

سفالوسپورین N در واقع پنی‌سیلین است و سفالورسپورین C جزو خانواده آنتی‌بیوتیک β - لاکتام می‌باشد.

LD_{50} سفالوسپورین p_1 (به شکل تزریق داخل وریدی) در موش ۵۰۰ mg/kg می‌باشد. دوز خوراکی ۵mg/kg میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم سفالوسپورین P1 به صورت خوراکی هر ۱۲ ساعت و به مدت ۵ روز هیچ اثر سمی نداشته است.

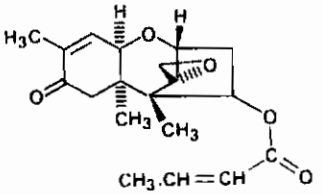
۱۱ـ کپک Trichothecium

Terichothecium roseum، کپک ناقصی است که روی انواع سوبستراها رشد می‌کند، و مخصوصاً گسترش زیادی بر روی مواد غذایی مختلف دارد. این کپک باعث ایجاد فساد صورتی در میوه‌هایی نظیر سیب و گلابی می‌شود.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

این کپک تولید آنتی‌بیوتیکی به نام Trichothecin رابا فرمول شیمیایی $C_{19}H_{24}O_5$ می‌کند که در شکل ۹-۶ مشخص شده است.



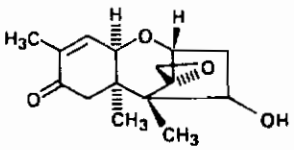
شکل ۹-۶ ساختمان شیمیایی تریکوتسین

این ترکیب از نظر ساختمانی شباهت‌زیادی به متابولیتهای سمی کپکهای Fusarium ، Trichoderma و Myrothecium دارد.

تریکوتسین استرایزوکروتونیک[1] الکل - استن است و هنگامی که بصورت داخل وریدی 5mg از آن به موش تزریق می‌شود، موش مقاومت نشان می‌دهد و هنگامی که 500 mg/kg استفاده شود، حیوان می‌میرد.

LD_{50} این سم به‌صورت تزریق زیر جلدی در خرگوش 250 mg/kg تخمین زده می‌شود. Trichothecium roseum همچنین تولید فرآورده سمی دیگری به نام Trichothecolone می‌کند با فرمول شیمیایی $C_{15}H_{20}O_4$ که مشخصات فیزیکی آن عبارت است از

$[\alpha]_{19.5}^{D} = 22.5^{\circ}C$, m.p = 183 - 184°C



شکل ۹-۷ ساختمان شیمیایی Trichothecolone

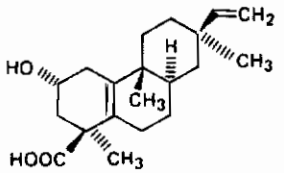
1. Iso Crotonic ester

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

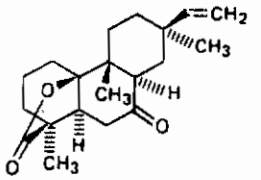
Trichothecium roseum دو فرآورده سمی دیگر نیز تولید می‌کند که isorosenolic acid و Rosenolactone نامیده می‌شوند. هر دو این ترکیبات محرک بوده و باعث ایجاد زخم معده می‌شوند.

نقطه ذوب isorosenolic acid، ۱۹۳°C است و فرمول شیمیایی آن $C_{25}H_{30}O_3$ می باشد.



شکل ۹-۸ ساختمان شیمیایی isorosenolic acid

نقطه ذوب Rosenolactone، ۱۸۶°C است و فرمول شیمیایی آن $C_{20}H_{30}O_3$ می‌باشد.



شکل ۹-۹ ساختمان شیمیایی Rosenolactone

مصرف غذاهای آلوده به قارچ Trichothecium بوسیله مرغها، ایجاد عوارض گوناگونی چون کاهش اشتها و کاهش میزان تخم‌گذاری می‌کند. همچنین عوارضی چون فلج شدن، اختلال در حرکت، تشنج عضلات و در بعضی موارد مرگ بعد از ۲۰-۱۰ دقیقه پس از مصرف غذای آلوده به کپک مشاهده شده است.

سموم ناشی از این کپک خاصیت تومورزایی دارند (۹).

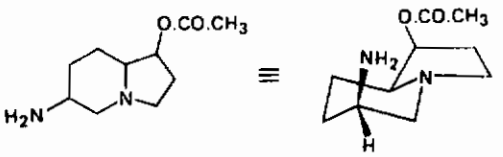
Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

۱۲- کپک Rhizocotonia

کپک Rhizocotonia leguminicola مواد غذایی نظیر یونجه و شبدر را آلوده می‌کند و چنانچه دامها این مواد خوراکی آلوده را مصرف نمایند، میزان شیردهی در آنها کاهش می‌یابد. همچنین در اثر مصرف آن بزاق حیواناتی نظیر گوسفند، خوک و جوجه افزایش پیدا می‌کند. علاوه بر این حیوان از تکرر ادرار و تراکم آن رنج می‌برد و قبل از مرگ، تنفس حیوان با اشکال صورت می‌پذیرد. در کالبدشکافی، آمفیزیم ریوی[1] و نکروز توبول‌های[2] مرکزی کبد نیز مشاهده شده است.

کپک Rhizocotonia leguminicola متابولیت سمی تحت عنوان slaframine را سنتز می‌کند که فرمول شیمیایی $C_{10}H_{18}O_2N_2$ داشته و ساختمان آن درشکل زیر مشخص گردیده‌است.



شکل ۹-۱۰ ساختمان شیمیایی Slaframine

slaframine باعث افزایش فعالیت پاراسمپاتیکی می‌شود. مسمومیت ناشی از این سم را می‌توان به کمک آتروپین یا methantheline bromide و همچنین hexamethy amonium bromide خنثی نمود (۱).

1. Pulmonasy Emphysema
2. Tubules

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

منابع

1- Aust, S. D., Broguist H. P. et Rinehart K. L. 1968.-- Slaframine, a parasympathomimetic from Phizoctonia leguminicola. Blotechnol. Bioeng., t. X, p. 403-412.
2- Bamford, P. C., Norris G. L. F. et Ward G. 1961.--Flavipin production by Epicoccum spp. Trans. Brit. Mycol. Soc., t. XLIV, fasc. 3, p. 354-356.
3- Blakeslee, A. F. et Gortner R. A. 1913.--On the occurrence of a toxin in juice expressed from the bread mould, Rhizopus nigricans (Mucor stolonifer). Biochem. Bull., t. II, p. 542-544.
4- Brian, P. W., Curtis P. J., Hemming H. G. et Mcgowan J. C. 1946.-- The production of viridin by pigment-forming strains of Trichoderma viride. Ann. Appl. Biol., t. XXXIII, p. 190-200.
5- Brian, P. W. 1944.--Production of gliotoxin by Trichoderma viride. Nature, t. CLIV, p. 667-668.
6- Christensen, C. M., Nelson G. H., Mirocha C. J., Farn Bates et Dorworth C. E. 1966.--Toxicity to rats of corn invaded by Chaetomium globosum. Appl. Microbiol., t. XIV, p. 774-777.
7- Chu, F. S. 1969.--Studies on the fungus Byssochlamys fulva, in Byssochlamys Seminar Abstracts, Dept. Food Sci. and Technol., Cornell Univ., Cire. n° 20, p. 3-4.
8- Doupnik, B. et Sobers E. K. 1980.--Mycotoxicosis: toxicity to chicks of Alternaria longipes isolated from tobacco. Appl. Microbiol., t. XVI, p. 1596-1597.
9- Freeman, G. G. et Morrison R. I. 1948.--Trichothecin: an antifungal metabolic product of Trichothecium roseum. Nature, G. B., t. CLXII, p. 30.
10- Fujiwara, A., Landau J. W. et Mewcomer V. D. 1970.-- Preliminary characterization of the hemolysin of Rhizopus nigricans. Mycopathol. Mycol. Appl., t. XL, p. 139-144.
11- Godtfredsen, W. O. et Vangedal S. 1964.--Trichodermin, a new antibiotic relared to trichothecin. Proc. Chem. Soc., p. 188-189.
12- Hagem, O. 1972.--L'Absidia corymbifera (Cohn) Sace. et Trott., cause possible d'accidents chez les poules pondeuses. Bull. Soc. Mycol. Fr., t. LXXXIX, p. 73-78.
13- Hardison, J. R. 1962.--Susceptibility of Gramineae to Gloeotinia temulenta. Mycologia, t. LIV, fasc. 2, p. 201-216.
14- King, A. Schade, J. 1984. Secandery Metabolites Species of Alternaria, Journal of Food Protection, 47, 886-901.
15- Myoung Kyokang, 1995. Carboxy methyl cellvloases active and atable at alkaline pH from alkalaohilic cephalosporium sp. Biotechnalogy letters, 14 (5), 507-512.
16- Stinson et al. 1981. Alternaria Toxins. J, Agric, Food chemisty, 299, 790-792.
17- Tertzakian, G., Haskins R. H., Slater G. P. et Nesbitt L. R. 1964.--The structure of cephalochromin. Proc. Chem. Soc., p. 195-196.
18- Tietjen, W. H. Ceponis, M. J. 1981. Alternaria Toxins. Phytoparhalogy, 72. 266-267.

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

واژه‌یاب

آفلاتوکسین
B_1، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲،
۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۸، ۵۹، ۶۱، ۶۲، ۶۳،
۶۴، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴،
۸۰، ۸۱، ۸۳، ۸۴، ۸۵، ۸۶، ۸۸، ۸۹، ۹۱،
۹۲، ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۱،
۱۰۴، ۱۱۳
B_2، ۴۷، ۴۸، ۵۱، ۵۲، ۵۴، ۷۱، ۸۸،
۹۳، ۹۴، ۹۹، ۱۰۱، ۱۱۳
B_{2a}، ۵۱، ۵۲، ۷۱
B_3، ۵۲
G_1، ۴۷، ۴۸، ۶۳، ۷۱، ۸۱، ۸۸، ۹۸،
۱۰۱، ۱۱۲
G_2، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۱، ۵۲، ۷۱، ۹۳،
۹۵، ۱۰۱، ۱۱۳
G_{2a}، ۵۱، ۵۲، ۷۱
M_1، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۳، ۵۴، ۵۸،
۵۹، ۹۸
M_2، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱
Q_1، ۵۴
RB_1، ۵۴
RB_2، ۵۴
آفلاتوکسیکوز، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۶، ۸۷، ۸۸، ۸۹
آفلاتوکسیکول، ۴۶، ۵۳
استخراج، ۴۷، ۷۲، ۷۳، ۷۵، ۸۷، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۳، ۱۰۵، ۱۰۸، ۱۰۹
اندازه گیری، ۷۴، ۷۸، ۸۱، ۸۲، ۱۰۱
جهش‌زایی، ۴۸، ۴۹، ۹۲، ۹۳، ۹۴
خصوصیات فیزیکو شیمیایی، ۴۴، ۴۶
سرطانزایی، ۴۸، ۴۹، ۵۳، ۵۵، ۶۶، ۷۲، ۷۴، ۸۴، ۸۶، ۸۹، ۹۱، ۹۳
سمیت، ۴۴، ۴۸، ۴۹، ۵۱، ۵۲، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۶۳، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۹، ۸۴، ۸۸، ۸۹، ۹۴، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۶، ۱۰۹، ۱۱۰
مراحل بیوسنتز، ۴۴، ۴۵
ارگوت، ۶

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

ارگوتیسم، ۶
اسپوری دسمین، ۱۸۳
استاکی بوتری توکسیکوز، ۱۸۹
استریگماتوسیستین، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۰۸
اسید پابرولیک، ۱۵۵
اسیدپنی‌سیلیک، ۱۵۴، ۱۵۵
اسیدهلولیک، ۱۱۰، ۱۱۱
اوکراتوکسین، ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۳، ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵
پتولین
استخراج، ۱۲۴، ۱۴۵، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۴
اندازه گیری، ۱۲۴، ۱۲۵، ۱۳۶، ۱۳۸، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۸، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۳
جهش‌زایی، ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۱، ۱۲۵
خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ۱۱۷
سرطان‌زایی، ۱۱۸
سمیت، ۱۱۹، ۱۲۴، ۱۴۴، ۱۵۴
مراحل بیوسنتز، ۱۱۸
تریکوتسن
اندازه گیری، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۸۱
استخراج، ۱۶۴، ۱۷۴، ۱۷۵
جهش‌زایی، ۱۷۳
خالص‌سازی، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۸۰
خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ۱۶۲
سرطانزایی، ۱۷۲
سمیت، ۱۶۰، ۱۶۵، ۱۶۸، ۱۷۰، ۱۷۲
فوزاریوتوکسیکوز، ۱۶۷، ۱۷۱
فومونایزین، ۱۸۱
سیترینین، ۱۵۳، ۱۵۴
فوماگیلین، ۱۰۹، ۱۱۰
کپک آبسیدیا، ۱۹۳
کپک آلترناریا، ۱۹۸
کپک اپی‌کوکوم، ۱۹۸
کپک کلادوسپوریوم، ۱۹۷، ۱۹۸
مایکوتوکسیکوز، ۹، ۱۰
مایکوزیس، ۷، ۹

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

FERDOWSI UNIVERSITY OF MASHHAD

Publication No. 227

Mycotoxins

by

Mortazavi. Ali

Tabatabai. Faredeh

FERDOWSI UNIVERSITY PRESS

1998

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com

Www.Negashteh.Com