

دانشگاه تهران

۲۲۲۱

شماره پایان نامه  
۱۰۵۰

دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی ۵۳-۵۴

پایان نامه

برای دریافت درجه دکترای دامپزشکی از دانشگاه تهران

موضوع:

بررسی آلودگی غذاهای دامی به آفلاتوکسین

نگارش:

شهلا مقبل فر

هیئت داوران

دکتر محمود شماع      دانشیار دانشکده دامپزشکی ( راهنما و رئیس هیئت داوران )

داور

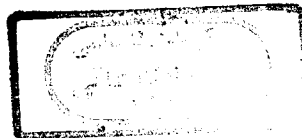
استاد دانشکده داروسازی

دکتر حسن فرسام

داور

استاد دانشکده دامپزشکی

دکتر مراد طلی زهری



۲۲۲۱

تقدیم به : پسر و مادر

تقدیم به : خواهران و برادر

تقدیم به : دوستان ارجمند

تقدیم به استادان ارجمند ( ہیئت داوران ) کہ در تنظیم  
این رسالہ اینجانسب را راہنمائی فرمودند .

## فهرست مند رجسات

<u>صفحه</u>	<u>موضوع</u>
	پيشگفتار
۵	تاريخچه بيمارى آفلاتوكسيكوسيس
۹	تعريف كلّى براى قارچها
۱۱	كپكها
۱۳	شكل قارچ اسپرژيلوس
۱۵	چگونگى متابوليسم در قارچها
۱۸	شرائط رشد كپك
۲۱	شرائط رشد قارچ اسپرژيلوس فلاووس
۲۵	علامت مسموميت با كپك در حيوانات
۲۸	ساختمان آفلاتوكسين
۳۲	خواص آفلاتوكسين
۳۴	چگونگى عمل آفلاتوكسين در بدن موجود زنده
۳۵	حيوانات حساس به آفلاتوكسين
۴۱	علامت مسموميت با آفلاتوكسين
۴۷	علامت كالبد گشائى در مسموميت با آفلاتوكسين

<u>صفحه</u>	<u>موضوع</u>
۴۹	رابطه آفلاتوکسین با ایجاد ایمنیت
۵۱	روشهای جلوگیری از رشد قارچ مولد آفلاتوکسین
۵۳	استفاده از جیره های غنی بمنظور خنثی کردن اثر آفلاتوکسین
۵۵	درمان مسمومیت با آفلاتوکسین
۵۶	ارزیابی غذا و بهداشت کردن کپک و توکسین
۵۹	روش کروماتوگرافی
۶۱	کروماتوگرافی روی لایه نازک T.LC
۶۳	وسایل و محلولهای مورد احتیاج برای اندازه گیری سم آفلاتوکسین
۶۴	جدا سازی سم آفلاتوکسین
۶۶	اندازه گیری سم آفلاتوکسین
۶۹	بخش کارهای عملی
۷۰	تهیه محلول استاندارد آفلاتوکسین
۷۱	استخراج آفلاتوکسین

<u>صفحه</u>	<u>موضوع</u>
۷۱	۱- استخراج استونیک
۷۴	- بازیابی
۷۶	- استخراج استونیک ( اندازه گیری آفلاتوکسین بروش کروماتوگرافی روی صفحات شیشه ای )
۷۹	- استخراج استونیک ( بدون استفاده از ماده غذائی )
۸۱	۲- استخراج کلروفورمیک ( استفاده از ستون برای جدا کردن فراکسیونها بکمک حلالهای مختلف )
۸۵	- بازیابی
	خلاصه و نتیجه
	منابع مورد استفاده
	برای مطالعه بیشتر در این باره می توان به منابع زیر نیز مراجعه کرد .

## به نام خدا پیشگفتار

ارزش غذایی بسیاری از مواد غذایی دام، در اثر تهیه غذای نامرغوب و نامتناسب از بین می‌رود و در نتیجه استعداد بدن دام برای ابتلا به بیماری‌های گوناگون افزایش می‌یابد. تا این اواخر ساله تغذیه و رابطه آن با آلودگی‌های محیط چندان توجه پژوهشگران را جلب نکرده بود چه آنان می‌پنداشتند که چون بهترین نوع غذاها بطرز مطلوب تغذیه گردد از بروز بیماری‌های گوناگون جلوگیری بعمل می‌آید اما کم‌کم در این طرز تفکر تردید حاصل شد چه امروزه برای دامپزشکان روشن شده است که عده زیادی از عوامل ناشناخته در محیط وجود دارند که بطور حتم باعث نقصان ارزش غذایی بسیاری از مواد میشوند و بسا دلائل و شواهد ثابت کرده اند که این عوامل در خاک و در موادی که از خاک جدا میشوند بحد وفور وجود داشته و باعث آلودگی مواد غذایی دامی می‌گردند.

کشف مایکوتوکسین‌ها (Mycotoxins) نمونه‌ای است از وجود موادی که بطور طبیعی توسط موجودات مختلف تولید شده و محیط زندگی انسان و حیوانات را آلوده ساخته و خساراتی وارد می‌سازند.

این مواد توسط بعضی از قارچها تولید شده و بر روی مواد غذایی اثر میگذارند . امروزه اکثر کشورها توجه دقیقی بموادى که بمنافع مختلف بزمین کشاورزی و یا جیره دامها و طیور اضافه میگردند مبذول میدارند .

تعداد زیادی از مواد نیز وجود دارند که بمقادیر کم ولی بامصرف طولانی اثر نامطلوبی در حیات بشر و حیوان دارد . با این تفاوت که این مواد بوسیله انسان به محیط اضافه نشده اند بلکه موجودات زره بینی که در کره زمین هستند مواد مزبور را به محیط اضافه کرده اند . بطور دقیق نمیتوان تعداد و انواع این موجودات را تعیین نمود ولی یکی از موجوداتی که اخیرا شناخته شده و توجه تعداد زیادی از محققین را بخود جلب نموده است ، قارچ زره بینی سبزرنگی است که مواد دفعی خود را به محیط اضافه مینماید . این مواد دفعی برای انسان و حیوانات سمی بسیار قوی و خطرناک بشمار میآید . این قارچ بنام اسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) خوانده میشود و سم آن - آفلاتوکسین (Aflatoxine) نام دارد . نه تنها اسپرژیلوس فلاووس سم فوق الذکر را تولید می کند بلکه سایر اسپرژیلوسها و پنی سیلیوم نیز در ترشح این سم دخالت دارند .



قارچ مولد این سم قادر است که در روی انواع مختلفی از دانه های

غذایی که جیره دام و طیور را تشکیل می دهند رشد نموده و تولید سم -

افلاتوکسین را نماید .

مواد غذایی که تاکنون تولید سم آفلاتوکسین در آنها دیده شده

است عبارتند از :

کنجاله با دام زمینی که بعنوان منبع پروتئینی در جیره طیور مصرف

میشود ، ذرت ، جو ، گندم ، کنجاله سویا ، پودر ماهی ، کاه و کنجاله

پنبه (Cotton Seed meal) .

باید توجه داشت که رشد قارچ و تولید سم آفلاتوکسین بیشتر هنگام

برداشت محصول بخصوص غلات و ذخیره آنها اهمیت دارد .

محیط مناسب برای این رشد اغلب محیط تقریباً مرطوب بوده و در

محلها نیکه قارچ و یاکپک در روی دانه های غذایی رشد می کند ، قارچ مولد

آفلاتوکسین نیز میتواند رشد نموده و مواد غذایی را آلوده سازد . لذا بجهت

اهمیتی که این سم در آلودگی مواد غذایی دارا میباشد لازم بود که مطالعاتی

بر روی مواد غذایی مصرفی دامها بشود . برای این منظور از تعدادی -

نمونه های غذایی مشکوک دامدارها و مرغدارهای اطراف تهران که جهت  
بازرسی به آزمایشگاه اصلاح نژاد و تغذیه دام و آزمایشگاه بخش طیور دانشکده  
دامپزشکی دانشگاه تهران ارسال شده بود در آزمایشگاه شیمی عمومی دانشکده  
داروسازی دانشگاه تهران آزمایش بعمل آمد که مشخصات کامل آن در داخل  
متن به تفصیل ذکر شده است.

تاریخچه\* بیماری آفلاتوکسیکوسیس (Aflatoxicosis)

اولین گزارش این بیماری در سال ۱۹۶۰ با تلف شدن ۱۰۰۰۰۰ -

جوجه بوقلمون در انگلستان توسط Blount داده شده است (۱) .

اتیولوژی بیماری بسیار پیچیده بود و لذا بدان نام بیماری " X بوقلمون"

داده شد . بعد از گذشت زمانی کوتاه بیماری تقریباً با همان شرایط در

جوجه اردکها و قرقاولهای جوان ظاهر کرد .

(۱) در سال ۱۹۶۱ تحقیقات Carnaghan , Asplin , Blount

نشان داد که فاکتورهای اصلی موجد بیماری در بادام زمینی برزیلی که جهت

تغذیه بکار میرفته وجود دارد و موجب ضایعاتی در کبد جوجه بوقلمون ها و

مرغان خانگی و اردکهای جوان گردیده بود ولیکن با وجود بررسی هائی که

بر روی این مواد غذایی بعمل آوردند وجود سم مشخص نگردید . ضمناً

دانشمندان نامبرده وجود بیماری را با همان نشانیها بدون مصرف بادام زمینی

در کبد جوجه اردکهای که توسط لابراتوار مرکزی دامپزشکی آفریقای شرقی

فرستاده شده بود گزارش نمودند و این اولین موردی بود که نشان میداد بادام

زمینی برزیلی تنها عامل بروز بیماری نمیتواند باشد . در خلال همین سال

بیماری مزبور در خوکها مشاهده و مشخص گردید و عامل بیماری فاکتور سمی

ناشناخته گزارش گردید ، درگاوه‌های شیری نیز گزارش مشابهی دیده شد اما عامل بیماری همچنان مجهول ماند . بالاخره در همین سال بود که ضمن تحقیقات دامنه داری که برای جستجوی عامل بیماری در آزمایشگاه مرکزی - دامپزشکی و بیرچ توسط Carnaghan, Allcroft بعمل آمد ، سمی را از کبد جوجه مرغابی هایپکه با بادام زمینی برزیلی تغذیه شده بودند بدست آوردند و با تشریک صاعی مؤسسه محصولات منطقه ای لندن نشان دادند که هیچ نوع آلکالوئیدی در ماده مستخرجه وجود ندارد . در ضمن تستهای بیولوژیکی با استفاده از حیوانات آزمایشگاهی خصوصا از جوجه اردکها توسعه یافت و این امر سبب گردید که آزمایشات زیادی بر روی جیره های غذایی حاوی بادام زمینی و سایر مواد غذایی دامی بعمل آید .

نتایج حاصله از صدها آزمایشات که در سالهای ۱۹۶۱ و ۱۹۶۲ بر روی نمونه های غذایی حاوی بادام زمینی و سایر دانه های غذایی ۳ کشور تولید کننده که محتوی فاکتور سمی بودند بعمل آمد نشان داد که سمومیت حاصله بطور انفرادی در نقاط مختلف جهان وجود دارد .

Austwick and Ayerst (1) ضمن

در سال ۱۹۶۳

آزمایشاتی که بر روی غذا های حاوی بادام زمینی بعمل آوردند به این نتیجه رسیدند که سم حاصله ناشی از ترشحات قارچهایی است که سلولهای دانه بادام زمینی را آلوده نموده اند ، زیرا در دانه هایی که آلودگی قارچی وجود نداشت سمی مشاهده نکردند . تا اینکه Sargeant (1) این سم را از دانه هایی که بوسیله کپک اسپرژیلوس فلاووس آلوده شده بودند استخراج کرد و طبق نظریه او عامل سمومیت کپک محسوب گشت . با وجودیکه اولین مورد بیمار (1) در سال ۱۹۶۰ گزارش گردیده مدارك نشان میدهد در سال ۱۹۵۴ Eaget همین سمومیت را در خوکچه هندی با توجه به تظاهرات و نشانیهای آن از قبیل ادم زیر پوستی ، آسیت و هیپاتیت بنام هیپاتیت اکسوداتیو نامیده بوده است و حتی در سال ۱۹۴۷ هم Parkes, Bruce (1) این سمومیت را در حیوانات آزمایشگاهی که با رژیم غذایی دانه ای Pellet حاوی ۱۵ درصد بادام زمینی تغذیه شده بودند مشاهده کردند و در سال ۱۹۶۱ Schoental در کالبد گشایی موشهاییکه مورد آزمایش و تحقیق قرار گرفته بودند تومورهای کبدی مشاهده کرده بود .

در سال ۱۹۶۲ Paterson ثابت نمود که میزان سم مزبور

در بادام زمینی در حدود 5 PPM است .

سرانجام در سال ۱۹۶۲  
Interdepartmental Working Party on Groundnut

Toxicity Research

این فاکتور سعی را آفلاتوکسین "Aflatoxin" نامید .

در سال ۱۹۶۲ Loosmore (1) گزارش داد آفلاتوکسین

در کنجاله تخم کتان نیز وجود دارد چنانچه موجد علائم درمانگاهی خفیفی از

آفلاتوکسیکوسیس ( مسمومیت ناشی از آفلاتوکسین ) در گاوهای شیری بود ه

است . سپس در سال ۱۹۶۶ Raymound (1) پس از مطالعات

فراوان متوجه شد که آفلاتوکسین در سایر مواد غذایی دامی غیر از بادام زمینی

اما به میزان کمتر وجود دارد .

## تعریف کلی برای قارچها

قارچها عبارتند از نباتات پست و طاری از کلروفیل و بدین سبب قادر

نیستند کربن لازم برای تغذیه خود را از سایر مواد و  $CO_2$  بدست آورند .

تغذیه قارچها به دو صورت انجام میپذیرد :

۱ - زندگی و تغذیه روی موادیکه در حال تجزیه و تخریب است باین

دسته قارچها ساپروفیت (Saprophyte) گویند .

۲ - زندگی و تغذیه روی بدن موجودات زنده که بنام پارازیت

(Parasite) نامیده میشوند . این میکروارگانیسم ها بعلت

فقدان کلروفیل قادرند در تاریکی و در داخل نسوج بدن انسان و حیوان زندگی

و تکثیر حاصل نمایند . قارچهای بیماریزا بعضا ممکن است بحالت ساپروفیت

درآمده و بسیر تکامل خود ادامه دهند .

قارچها ممکن است انگل قسمت خارجی بدن باشند که در این صورت

بنام اکتوفیت (Ectophyte) و یا در داخل بافتهای بدن زیست نمایند

که بنام آندوفیت (Endophyte) نامیده میشوند . بعضی از قارچها

قادرند بهر دو شکل بالا زندگی نمایند .