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

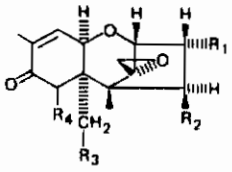
---

1. Fusarium

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 $۱۰۰^{\circ}C$ نیز به طور کامل از بین نمی‌روند.



شکل ۶-۱ ساختمان اصلی تریکوتسنها

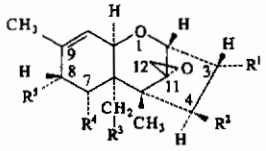
تریکوتسنها را به ۴ گروه تقسیم می‌کنند، گروه A، B، C، D. اساس طبقه‌بندی این گروهها در شکل ۶-۲ مشخص شده است (۱).

تریکوتسنها از نظر شیمیایی ترکیبات غیرفعالی هستند که بر خلاف آفلاتوکسینها در زیر نور U.V از خود فلورسانس نشان نمی‌دهند.

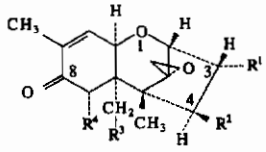
غیرفعال بودن تریکوتسنها از نظر شیمیایی به سبب در دسترس نبودن حلقه ۱۲ و ۱۳- اپوکسی است که مرکز اصلی فعالیتهای بیولوژیک این گروه از مایکوتوکسینها است. برای تجزیه[1] این مایکوتوکسینها می‌توان از اسیدهای خیلی قوی نظیر تری فلورومتان، اسید سولفوریک و اسیدهیدروفلوروبوریک همراه با SbF_5 استفاده نمود (۱).

1. Degradation.

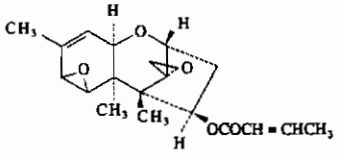
(A)



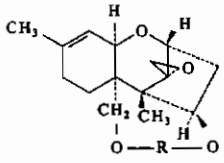
(B)



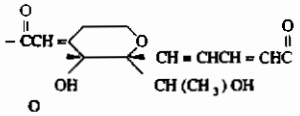
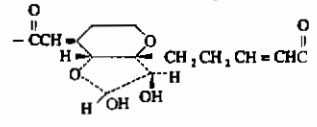
(C)



(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 (Neorolaniol)	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	Crococin		$OCOCH = CHCH_3$			

		R
D	Verrucarin A	$-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}CH(OH)CH(CH_3)CH_2CH_2O\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}CH=CH-CH=CH\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-$
	Roridin A	$-\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}CH(OH)CH(CH_3)CH_2CH_2O\overset{CHOH}{\overset{\|}{C}}H=CH-CH=CH\overset{O}{\overset{\|\|}{C}}-$
	Satratoxin H	
	Vertisporin	

شکل ۶-۲ گروههای تریکوتسن

جدول ۶-۱ خصوصیات فیزیکوشیمیایی تریکوتسنها

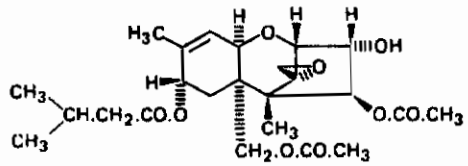
تریکوتسن	حالت یا شکل	حلال مناسب کریستالیزاسیون مجدد	نقطه‌ذوب °C	چرخش نوری و حلال	جذب، ماکزیمم طول موج و حلال
DON	سوزنی‌شکل	اتیل‌استات و اترپترولیوم	۱۵۱-۱۵۳	+۶/۳۵ ETOH	۴/۵۰۰ETOH ۲۱۸
تری‌استات DON	بی‌رنگ‌سوزنی‌شکل	اتیل‌استات‌واترپترولیوم	۱۵۵-۱۵۷	-	-
Nivalenol	کریستال	متانول	۲۲۲-۲۲۳	+۲۱/۵ETOH	۷/۵۰۰MEOH ۲۱۸
مونواستات DON	-	اتروپنتان	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	اتیل‌استات‌وایزواکتال	۱۷۲-۱۷۳	-	۰

۳- T-2 Toxin

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 ایزوالرات در کربن ۸ می‌باشد.

از نظر حلالیت این ترکیب در حلالهای آپروتیک[1] نظیر اتیل استات، استون، کلروفرم و دی اتیل 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).



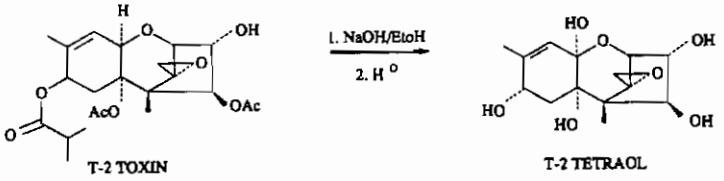
شکل ۶-۳ ساختمان شیمیایی T-2 Toxin

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).

---

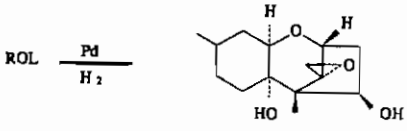
1. Aprotic 2. Protic



شکل ۶-۴ هیدرولیز T-2 Toxin

۳-۱-۲- هیدروژناسیون

پیوند دوگانه C_{9-10} 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 $۲۵^{\circ}C$ 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 $۸۰^{\circ}C$ به مدت ۷۲ ساعت قرار دهیم، و پس از استخراج آن را در انیدریداستیک حل کرده و ۲۴ ساعت در $۲۵^{\circ}C$ نگهداریم، ترکیب به دست آمده پس از این مدت مشتق ۸-کتوتریکوتسن خواهد بود. گزارش شده است که سایر

---

۱ اکسید سلنیوم

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 دلیلِ 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).

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 وکاهش مشخصی در تعداد سلولهای سفید خونی در نتیجه تجویز متوالی سم فوق ظاهر 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

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 T-2 Toxin ۰/۱mg/kg 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 12-13 epoxy trichothecene بطور اختصاصی سنتز پروتئین را مهار می‌کند. اثر

---

1. Fusarotoxicose

۲. از تریکوتسن‌های گروه B

3. Chemoreceptor trigger zone

4. Eucaryotic.

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.

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			

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 ۳۴ppb از سم در ۱۶۰ دقیقه و یا ۱۴۰ppb 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.

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 در گربه 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).

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[1] 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[2] (HT-2Toxin و DAS) و (Verrucarin A و Rovidin A)[3] 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[4]

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

(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

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 می‌رسد که‌سم‌سریعاً از 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

٦-۱- 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

۶-۲- 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

۶-۲-۱- 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.

۶-۲-۲- 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

حلال[1] را پشت سر گذاشته است یا خیر، متفاوت خواهد بود. به گونه‌ای که در هر مورد سیستم حلال شستشو دهنده[2] 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.

٦-۳- 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).

٦-۳-۱- روشهای تشخیص بیولوژیکی[3]

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[4] 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

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، در اندازه گیریهای کمی و نیمه‌کمی 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

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 تتراکلراید کربن تهیه می‌شود.

اسپری اسیدسولفوریک، یکی دیگر از معرفهای مورد مصرف است. پس از اسپری و خشک کردن صفحه و حرارت دادن آن در حدود $۱۰۵^{\circ}C$ 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)

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 به کار می‌رود. این ترکیب به گروه 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 (H.P.T.L.C) high-performance.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

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.

---

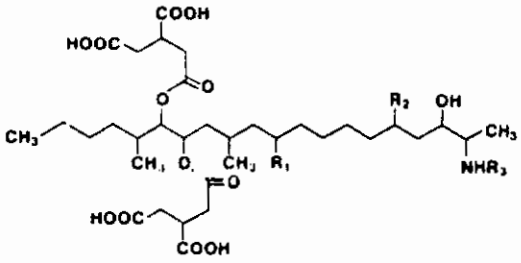
1. GLC
2. M.S
3. Selected Ionmonitering

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 و A_1، 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.

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 related 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.