Persian Version

Newsletter

Vol; 3, No., 30.

> سرمقاله

در گذشته اغلب با این سوال مواجه می‌شدیم که بهترین روش برای اندازه‌گیری مقدار مایکوتوکسین در خوراک و غلات چیست؟

برای پاسخ به این سوال می‌توان گفت روشی که به طور گسترده استفاده می‌شود HPLC می‌باشد. این روش، روشی کاملا دقیق برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم مایکوتوکسین-های مختلف محسوب می‌گردد. بنابراین HPLC روش کمی بسیار مناسبی می‌باشد.

با این حال، با بهبود مستمر روش‌های تشخیص و اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها از گذشته، نتیجه بدست آمده تنها به روش اندازه‌گیری بستگی ندارد. در واقع، تقریبا ۹۰ درصد خطای ایجاد شده در برآورد مایکوتوکسین‌ها را می‌توان به نمونه-برداری نسبت داد!

"نمونه‌ای تهیه کنید و به آزمایشگاه بفرستید". اگر منظور تهیه یک نمونه از شیر آب باشد، بسیار ساده خواهد بود. اما تهیه نمونه برای اندازه‌گیری مطمئن مایکوتوکسین‌ها، آسان نخواهد بود. از آن جایی که مایکوتوکسین‌ها به طور یکنواخت در دانه و خوراک توزیع نمی‌شوند، نمونه‌برداری صحیح چالشی اساسی محسوب می‌گردد.

اگر خوراک آلوده به مایکوتوکسین باشد، برای مثال، ممکن است ذرات آلوده به مایکوتوکسین در قسمت‌هایی به نام "نقاط داغ" قرار گرفته باشند. اگر نمونه از یک محل برداشته شده باشد، ممکن است اصلا از ذرات آلوده نمونه‌ای برداشته نشود که در این صورت اصطلاحا نتیجه بدست آمده "منفی کاذب" خواهد بود و یا ممکن است از قسمت بسیار آلوده‌ای برداشته شود که پاسخ "کاذب مثبت" خواهد بود.

Dian Schatzmayr

از آن جایی که مایکوتوکسین‌ها غیر قابل رویت، بی‌بو و بدون طعم هستند تنها راه تشخیص این ترکیبات مضر در خوراک و دانه‌ها، آنالیز آن‌ها می‌باشد. باوجود این که روش‌های بسیار دقیق برای آنالیز صحیح مایکوتوکسین‌ها در دسترس است، اما به دلیل تغییرپذیری زیاد در مورد روش آزمون مایکوتوکسین‌ها، برآورد دقیق غلظت آن‌ها مشکل به نظر می‌آید.

نمونه‌گیری برای مایکوتوکسین‌ها – آیا به قدر کافی مراقب هستیم؟

آزمایش مقدار مایکوتوکسین‌ها، فرآیند پیچیده‌ای است که عموما شامل سه مرحله می‌باشد: ۱) چندین نمونه کوچک بطور تصادفی برداشته می‌شود، با هم مخلوط می‌شوند که اصطلاحا به آن نمونه پر می‌گویند. ۲) نمونه پر، آسیاب و یکسان‌سازی شده و یک نمونه کوچک‌تر به نام "نمونه آزمایشگاهی" از آن جدا می‌شود. ۳) مایکوتوکسین‌ها در نمونه آزمایشگاهی اندازه‌گیری می‌شوند.

روش‌های آنالیز برای تشخیص مقدار مایکوتوکسین‌ها نسبت به گذشته بهبود یافته است. با این حال، حتی در زمان استفاده از بهترین روش‌های اندازه‌گیری، در مورد هر کدام از مراحل نامبرده شده تنوع وجود خواهد داشت. مطالعات نشان داده است که معمولا مرحله نمونه‌برداری دارای بیش‌ترین تنوع تغییرات می‌باشد (۲،۱، ۳ و ۴). برای مثال ۹۰ درصد از خطای ایجاد شده در مورد اندازه‌گیری آفلاتوکسین را می‌توان به نمونه‌برداری نسبت داد. همان‌طور که برای آنالیز مایکوتوکسین‌ها هزینه و زمان صرف می‌شود، صرف زمان کافی جهت نمونه‌برداری صحیح برای بدست آوردن نتایج قابل اطمینان ضروری می‌باشد.

نمونه‌برداری باید تحت نظارت و با روش مناسب انجام شود. روش‌های نمونه‌برداری باید نوشته شوند و توسط تمام افرادی که با مسئله درگیر هستند بررسی شوند.

خطای زیاد در نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها به دو عامل اصلی نسبت داده می‌شود: غلظت کم مایکوتوکسین‌ها در حجم اصلی (مشکل تشخیص مقادیر قسمت در بیلیون) و توزیع ناهماهنگ آنها در کل محصول.

مشکل تشخیص مقادیر قسمت در بیلیون

با وجود آنکه میزان مایکوتوکسین‌ها در برخی دانه‌ها بسیار بالا می‌باشد، غلظت کلی مایکوتوکسین‌ها در اکثر دانه‌ها بسیار پایین است. واحد اندازه‌گیری آن معمولا " قسمت در بیلیون یا ppb" می‌باشد. برای نشان دادن مفهوم این مقادیر بسیار کم، چند نمونه در جدول ۱ نشان داده شده است. همیشه به خاطر داشته باشید: مایکوتوکسین‌ها با این مقادیر بسیار جزیی هم بر سلامت انسان و دام تاثیر می‌گذارند!

جدول ۱: "۱ قسمت در بیلیون" چه مقدار است؟

یک قسمت در بیلیون:

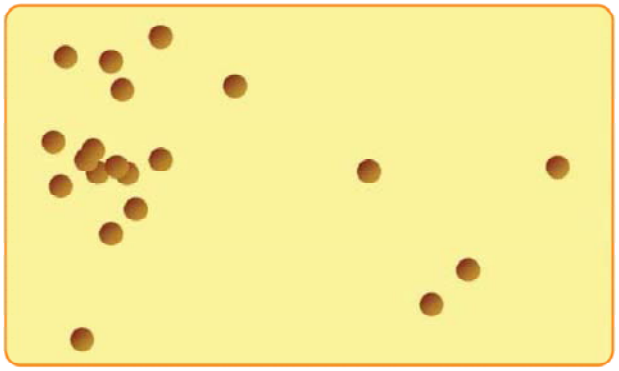
- یک قسمت در ۱،۰۰۰،۰۰۰،۰۰۰
- یک ثانیه در ۳۲ سال
- یک ذره شن در ۲۲ کیلومتر
- یک گیاه ذرت در ۴۰،۰۰۰ هکتار زمین ذرت
- یک دانه ذرت در ۳/۵ واگن قطار

توزیع نابرابر

برخلاف مقدار پروتئین و رطوبت ذرت و گندم، مایکوتوکسین‌ها در تمام دانه‌ها تولید نمی‌شوند. در شرایط حاد امکان دارد چند بلال و کاکل در کل مزرعه آلوده شوند. این بدین معنی است که بعضی از دانه‌ها ممکن است حاوی سم زیاد در حالی که دانه‌های دیگر فاقد هرگونه آلودگی باشند.

این امر به دلیل رشد غیر یکنواخت قارچ‌ها در مزرعه و یا انبار غلات است. مایکوتوکسین‌ها معمولا در نقاط بخصوصی که در اصطلاح به آن‌ها "نقاط داغ" می‌گویند، رشد می‌کنند. در حالی که باقی محصول عاری از سم می‌باشد (شکل ۱).

با این حال، هر قدر میزان آلودگی شدیدتر باشد، احتمال توزیع هماهنگ‌تری وجود خواهد داشت. برعکس، هنگامی که غلظت سم پایین است، توزیع آن ناهماهنگ‌تر خواهد بود [۳].



شکل ۱: توزیع ناهماهنگ. دوایر قهوه‌ای نشان‌دهنده "نقاط داغ" هستند.

مراقب نتایج "مثبت کاذب" و "منفی کاذب" باشید.

آنالیز صحیح به معنی اندازه‌گیری میانگین آلودگی کل محصول می‌باشد. اگر مراحل نمونه‌برداری به طور صحیح انجام نشود، به احتمال زیاد نتایج آنالیز مایکوتوکسین دست کم گرفته می‌شود (اگر از قسمت‌های کم یا بدون آلودگی نمونه‌برداری شود) و یا بیش از حد واقعی برآورد می‌شود (در صورت نمونه‌برداری از نقاط داغ).

به علت نمونه‌برداری غلط و آماده‌سازی نامناسب آن، نتایج منفی کاذب در اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها بسیار رایج است. هنگامی که تعداد نمونه‌های کمی از نمونه کل برداشته شود و یا اندازه نمونه‌ها کوچک باشد، احتمال عدم نمونه‌برداری از دانه آلوده بسیار بالا خواهد بود. بدست آوردن چنین نتایجی، در هنگامی که کل محصول قبل از آسیاب شدن تقسیم شود محتمل است. تعداد نتایج منفی کاذب می‌تواند از ۵ درصد تا ۹۰ درصد باشد!

از طرف دیگر، پاسخ مثبت کاذب، مقداری بیش از اندازه واقعی است. احتمال کسب پاسخ مثبت کاذب بسیار پایین‌تر از منفی کاذب می‌باشد.

با این حال، هر دو نتایج مثبت و منفی کاذب زیان‌آور خواهند بود و می‌توانند باعث ضررهای مالی قابل توجهی شوند (جدول ۲) [۳].

عواقب ناشی از پاسخ‌های مثبت و منفی کاذب

منفی کاذب

- هزینه صرف شده برای تست مایکوتوکسین‌ها هدر خواهد رفت.
- هنگام آلوده بودن بار با مایکوتوکسین‌ها، هزینه اضافه‌ای برای حمل و نقل و مرجوع کردن آن به فروشنده تحمیل می‌شود.
- فروشنده اعتبار خود را از دست می‌دهد.
- اگر کالا مورد فرآوری قرار گیرد و مصرف آن تاثیری بر سلامت ایجاد کند، ممکن است پرونده‌های حقوقی سنگینی به دنبال داشته باشد.

مثبت کاذب

- دانه‌های با کیفیت بالا، ارزان فروخته می‌شوند.
- ترکیب‌سازی و تیمار دانه‌های سالم باعث تحمیل هزینه اضافی خواهد شد.
- نتایج نادرست بر برنامه کل نمونه برداری تاثیر می‌گذارند و مانع فعالیت برای فروشندگان بالقوه خواهد شد.

اهمیت نمونه‌برداری صحیح برای نتایج تحلیلی صحیح

نمونه‌برداری به عنوان فرآیند جداسازی مقدار مناسبی از یک بخش بزرگ‌تر برای آزمایش، به گونه‌ای که نسبت و توزیع عوامل آزمایشی در هر دو (نمونه آزمایشی و نمونه کل) برابر باشد، تعریف شده است. اهمیت نمونه‌برداری صحیح زمانی برای ما روشن می‌شود که متوجه شویم برای مثال، هر قطار باربری حدود ۵۵ تا ۸۰ تن و هر کامیون حدود ۲۰ تن ذرت حمل می‌کنند و نهایتا فقط ۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده را برای تجزیه و تحلیل به عنوان معرف کل بار مورد آزمایش قرار می‌دهند.

برای اطمینان از قابل اعتماد بودن نمونه برداشته شده، باید از روش‌های نمونه‌برداری صحیح استفاده شود. نمونه‌برداری از قسمت در معرض دید بار در کامیون، یا برداشتن یک سطل نمونه در هنگام تخلیه بار از قطار، به هیچ وجه نمونه قابل اطمینانی نخواهد بود، بنابراین هرگز نباید مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین اشخاص نمونه‌بردار، با اندازه‌گیری تنها بخشی از دانه‌ها می‌توانند بر میزان اطمینان نمونه برداشته شده تاثیر بگذارند. بنابراین نمونه برداری با روش چنگ زدن در بار در بازرسی‌های رسمی قابل قبول نخواهد بود.

معمولا پراکندگی اجزا تشکیل‌دهنده، مانند دانه‌های شکسته و یا مواد خارجی در سرتاسر بار یکنواخت نمی‌باشد. همان طور که دانه‌ها بارزده می‌شوند (در کامیون، واگن قطار یا انبار) اجزا با توجه به اندازه، شکل و چگالی از هم جدا می‌شوند.

جدول ۳: تنوع نتایج بدست آمده در ارتباط با حجم نمونه. (مطالعه توسط آزمایشگاه رومر®)

اندازه نمونه (کیلوگرم)	تعداد تقریبی دانه-های ذرت	دامنه[1] نتایج آنالیز (ppb)
۴/۵	۳۰ هزار	۱۱/۶- ۲۸/۴
۲/۲	۱۵ هزار	۸/۱- ۳۱/۹
۱/۱	۷۵۰۰	۳/۲- ۳۸/۸
۰/۴	۳ هزار	۰- ۴۶/۹

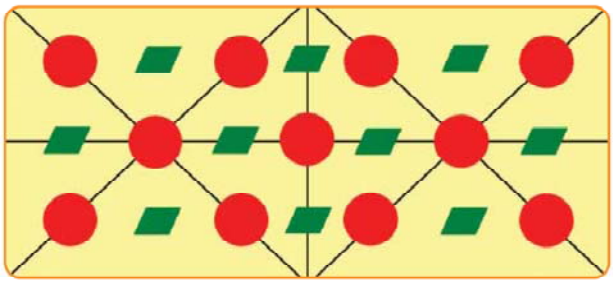
[1] با صحت اطمینان ۹۵ درصد

در هنگام بارگیری، ذرات کوچک‌تر در مرکز بار و ذرات درشت‌تر معمولا در اطراف بار تجمع پیدا می‌کنند. در هنگام تخلیه، جداشدگی معکوسی صورت می‌گیرد. این مساله اهمیت نمونه‌برداری صحیح برای بدست آوردن نمونه مورد اطمینان را توضیح می‌دهد.

اهمیت تهیه نمونه‌ای با حجم مناسب برای دقت و صحت نتیجه تحلیلی بدست آمده در این مطالعه نشان داده شده است (جدول ۳) نمونه‌ها از کامیونی با بار ذرت که با ۲۰ قسمت در بیلیون آفلاتوکسین آلوده بود، برداشته شد. با برداشتن نمونه‌ای کوچک، یا به طور کلی از نمونه‌های آلوده انتخابی صورت نخواهد گرفت و یا مقادیر اندازه‌گیری شده خیلی کمتر از مقادیر موجود خواهد بود [۳].

برای داشتن نمونه‌ای که نماینده قابل اطمینانی از کل باشد، باید:

- **نمونه‌برداری با تجهیزات مناسب انجام شود، برای مثال فرد نمونه بردار برای دانه‌های ثابت و یک نمونه‌بردار مکانیکی و یا نمونه‌بردار پلیکانی برای دانه‌های در حال حرکت.**
- **جمع‌آوری نمونه با استفاده از الگوی نمونه‌برداری و مراحل طراحی شده برای جمع‌آوری نمونه از تمام نقاط محصول (شکل ۲).**
- **مقدار مناسب نمونه، بستگی به مقدار کل محصول دارد. به عنوان مثال، باید از ذرت ۲/۵ تا ۵ کیلوگرم نمونه و از گندم جو ۱/۵ تا ۲/۵ کیلوگرم از کامیون یا واگن قطار برداشته شود.**
- **بر روی کیسه‌ها برچسب شناسایی زده شود.**
- **نمونه‌ها به گونه‌ای نگهداری شوند که آنالیز داده‌ها قابل اطمینان باشد. این بدین معنی است که نمونه‌ها باید در جای خشک و خنک و در کیسه‌های دو یا سه لایه کاغذی و یا در کیسه‌های پارچه-ای با قابلیت عبور هوا حمل شوند. نباید نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی ارسالگردد، زیرا در صورت وجود رطوبت بیش از ۱۴ درصد، رشد کپک‌ها امکانپذیر خواهد بود.**



شکل ۲: الگوی نمونه‌برداری. دوایر قرمز نشان‌دهنده نقاطی هستند که باید نمونه‌برداری شوند. نقاط سبز نشان‌دهنده نقاط نمونه‌برداری اختیاری، در صورت بزرگ بودن سطح نمونه کل، است. یک نمونه کوچکتر به وزن تقریبی ۲ کیلوگرم برای آنالیز به آزمایشگاه فرستاده شود.

لغت‌نامه:

نمونه برداری از کل: چند نمونه کوچک که به صورت تصادفی از کل محصول برداشته شده است.

نمونه آنالیزی: نمونه‌ای که برای آنالیز از نمونه اصلی برداشته شده است.

نمونه‌برداری تصادفی: هر ذره باید شانسی مساوی برای انتخاب شدن داشته باشد.

تکرار: نتیجه بدست آمده از تکرار نمونه‌برداری از یک بار خاص و آنالیز آن-ها، باید یکی باشد.

نمونه‌برداری از خوراک مخلوط

هنگامی که خوراک‌های مخلوط برای آنالیز مایکوتوکسین‌ها نمونه-برداری می‌شوند، دو وضعیت امکان‌پذیر است:

۱- **مایکوتوکسین‌ها قبل از مخلوط شدن اجزا خوراک با هم برروی یک یا چند جز آن وجود دارند:** پراکندگی مایکوتوکسین‌ها در خوراک مخلوط شده توزیع هماهنگ‌تری نسبت به اجزا خوراک دارند، زیرا در خوراک آماده، اجزا آسیاب و مخلوط شده-اند. یک نمونه ۱ کیلوگرمی از خوراک آماده، برای آنالیز مقدار مایکوتوکسین‌ها کافی می‌باشد.

۲- **به علت شرایط نامناسب نگهداری خوراک (رطوبت ۱۴ درصد یا بیشتر) مایکوتوکسین‌ها بعد از مخلوط شدن خوراک شروع به رشد کرده‌اند:** در این شرایط مایکوتوکسین‌ها توزیع ناهماهنگ‌تری در سطح خوراک خواهند داشت. خوراک ابتدا در محل مرطوب شروع به کپک زدن می‌کند و به تدریج کپک‌های در حال رشد، به قسمت‌های خشک‌تر حرکت خواهند کرد. در این شرایط روش مناسب نمونه‌برداری برداشتن حداقل یک کیلوگرم نمونه از قسمت مرطوب (معمولا لبه‌های بیرونی و گوشه‌ها) و یک نمونه یک کیلوگرمی از مرکز خواهد بود. با این حال، برای این که کاملا از نتایج اطمینان داشته باشید، باید همیشه توزیع مایکوتوکسین‌ها را ناهماهنگ در نظر گرفت!

> WHO TO CONTACT FOR QUESTIONS ON THE MYCOFIX® PLUS PRODUCT LINE:

Name: Dr. Dian Schatzmayr
Position: Product Manager
Education: BOKU - University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Spec. Food and Biotechnology
Master thesis: Electrophoretic differentiation of milks of different animal species based on g- and para-k-caseins (Department of Dairy Research and Microbiology)
Doctoral thesis: Investigations of a microbial-based feed additive for the detoxification of trichothecenes with regard to viability, activity and safety aspects (Institute for Agrobiotechnology, Tulln)
1997 - 2001: R&D-Manager, Microbiology, Biomin, Austria: Biological Detoxification of Trichothecenes and Ochratoxin A
Since July 2001: Product Manager (Mycofix® Plus product line)

Address: Biomin IAN GmbH, Industriestrasse 21, 3130 Herzogenburg, Austria
Phone: +43 2782 803–0, Fax:+43 2782 803–40
e-mail: dian.schatzmayr@biomin.net

> Literature

[1] Coker RD, Nagler MJ, Blunden G, Sharkey AJ, Defize PR, Derksen GB, and Whitaker TB (1995). Design of sampling plans for mycotoxins in food and feeds. Natural Toxins, 3, 257-262.

[2] Park DL, Rua SM, Paulson JH, Harder D and Young AK (1991). Sample collection and sample preparation techniques for aflatoxin determination in whole cottonseed. J Assoc Off Anal Chem Intl, 74, 73-75.

[3] Richard J (2000). Sampling and Sample Preparation for Mycotoxin Analysis. RomerTM Labs' Guide to Mycotoxins, 2.

[4] Schatzki TF (1995). Distribution of aflatoxin in pistachios. J Agric Food Chem, 1566-1569.

[5] Whitaker TB, Dowell FE, Hagler WM, Giesbrecht FG, and Wu J (1994). Variability associated with sampling, sample preparation and chemical testing of farmers' stock peanuts. J Assoc Off Anal Chem Intl, 77, 107-116.

[6] Whitaker TB (2003). Standardisation of mycotoxin sampling procedures: an urgent necessity. Food Control, 14, 233-237.

برای دریافت ماهنامه‌های علمی شرکت افزودنی‌های ایتوک فردا، درخواست خود را به ایمیل
newsletter@etoukfarda.com
ارسال نمایید و یا با شماره تلفن ۲۲۲۶۳۰۲۴- ۰۲۱ تماس حاصل نمایید.

> Impressum

Newsletter is published by the export department of Biomin Innovative Animal Nutrition GmbH
Editors: Ruben Beltram, Dian Schatzmayr, Gwendolyn Jones, Christian Lückstädt, Verena Starkl
Industriestrasse 21, A-3130 Herzogenburg, Austria
Tel: +43 2782 803-0, Fax: +43 2782 803-40; e-Mail: office.ian@biomin.net, www.biomin.net, Publisher: Erich Erber