اندازه گیری آفلاتوکسین‌ها در میگوی پرورشی ایران به روش کروتوماتوگرافی مایع با کارآیی عالی

• **عباسعلی مطلبی مغانجوقی**، عضو هیات علمی سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
• **ودود رضویلر**، رئیس گروه بهداشت وموادغذائی دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم تحقیقات

تاریخ دریافت: مردادماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۲

چکیده

در ایـن تحقیـق از یک روش جدید HPLC با اسـتفاده از خالص سـازی از سـتونهای ایمونوافینیتی و مشـتق سـازی پس سـتون الکتروشـیمیائی و نهایتاً تشـخیص با آشکارگر فلورسانس جهت تعیین مقدار باقیمانده آفلاتوکسـین در عضله میگو استفاده شد. میگوی یکنواخت شـده به‌وسـیله مخلوط آب و متانول (۸۰٪ V/V) عصاره گیری شد و چربی این عصاره توسط هگزان جدا گردید. این عصاره با آب رقیق گردید و از سـتون مناسـب عبور داده شد . آفلاتوکسین‌ها متعاقباً از ستون های ایمونوافینیتی خارج شده و توسـط HPLC با آشـکارگر فلورسانس اندازه گیری شدند. متوسط میزان بازیافت آفلاتوکسـین در بافت‌هایی که به‌طور مستقیم در سـطوح ppb ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ غنی سـازی شـده بودند ۸۶٪ بود (محدوده بین ۸۷/۸ تا ۱۱۲٪) انحراف معیار نسـبی داخل آزمایشـگاهی کمتـر از ۱۶/۶ ٪ بـود (محدوده ۳/۴ تا ۱۶/۶٪). ۴۷ نمونه میگوی پرورشـی از اسـتانهای جنوبـی ایران انتخاب و از نظر حضور آفلاتوکسـین های گروههای B,G مورد آزمایش قرار گرفتند ، آفلاتوکسـین B۱ تنها در یک نمونه به میزان ngg ۱/۷۱ تشخیص داده شد . این میزان بسیار کم ، خطر قابل چشم پوشی را برای سلامت انسانها می‌تواند در پی داشته باشد.

کلمات کلیدی : آفلاتوکسـین، ایمونوافینیتی، مایکو توکسـین ها، ماتریکس ها، باقیمانده های داروئی و سـموم و آلاینده های محیط زیست.

Pajouhesh & Sazandegi No 61 pp: 65-70

High performance liquid chromatographic determination of aflatoxins in Iranian shrimp.

By: Motalebi , A. A. Ministry of Jihad-e-Agriculture ; Razavilar V. University of Tehran , Faculty of Veterinary Medicine

An HPLC method using immunoaffinity column cleanup and post-column electrochemical derivatization with fluorescence detection was developed for the quantitation of aflatoxin residues in shrimp muscle . The shrimp homogenate (50 g) is extracted with methanol : Water (80%) , and the extract was defatted with hexane , and the aflatoxins were partitioned into methanol : water. The extract wan diluted by water , and the solution is passed through an immunoaffinity. Aflatoxins subsequently eluted and were detected using an HPLC with Fluorescence detection. Mean recoveries of flatoxins (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) from tissue directly fortified at 1.25 , 2.5 , 5 , 10 and 20 ppb , were over 87% (ranged from 87.7 to 112 %) . The within laboratory relative standard deviations [RSDr] were less than 16.6% (ranged from 4.3 to 16.6%). Subsequently 47 samples of shrimp were collected from the southern provinces of Iran and were analyzed for the presence of and aflatoxins B1 , B2, G1, and G2. Aflatoxin B_2 contamination only detected in one sample at a level of 1.71 ppb . Such a low contamination level may pose a negligible risk to human health.

Key words: Aflatoxins, Immunoaffinity, Mycotoxinns, Matrix, Drug, Toxins and environmental contaminants.

Archive of SID

مقدمه

موضوع آبزی‌پروری و مراقبت از باقیمانده‌های داروئی و سموم و آلاینده هـای محیط زیسـت در فرآورده های دریائی را نـه تنها می‌توان جزئی از بخش کلان تولید دانسـت، بلکه در سـطوح کشوری بایسـتی بدان توجه داشـت. با تحـول در صنعت آبزی پروری و رویدادهای اخیر جهانی شـدن تجارت ، یقیناً دیدگاه‌های فنی نیز می بایسـتی دسـتخوش تحولات جدی مبحث حمایت از مصرف کننده باشد.

سهم پرورش و توسعه دام و آبزیان در تولیدات کشاورزی معادل ۵۱/۴ درصد کشورهای در حال توسعه و میزان ۲۴/۷ درصد در کشورهای توسعه یافته اسـت (۲)، تناسب تجارت فرآورده های آبزیان در کشورهای صنعتی به شکل عرضه بیش از تقاضا و یا با کاهش عرضه وافزایش تقاضا است .

بدون شـک عرضه مواد غذایی چه از لحاظ کیفی و چه کمی بایسـتی بهبود و افزایش یابد. در دهه هشـتاد تولیـد جهانی غذا ۲۴٪ افزایش یافته اسـت . این تولید در کشورهای توسـعه یافته ۳۹٪ و در کشورهای توسعه نیافته تنها ۱۰٪ بوده اسـت . از میان کشـورهای در حال توسعه کشورهای خاور دور به میزان ۴۷٪ رشـد در تولید مواد غذایی سهم داشته اند و سایر مناطق تنها ۲۷٪ رشـد را نشـان می دهند . البته این ارقام در کشـورهای خاور نزدیک بسـیار متغیر بوده اسـت در همین دهه تولیـد فرآورده های دامی به میزان ۲۷ ٪ در جهان رشد کرده است . از این میزان ۱۲٪ رشد در کشورهای توسعه یافته و ۵۳٪ در کشورهای در حال توسعه بوده است به هر حال علیرغم رشد جهانی تولید موادغذایی ، هنوز هم کشورهای آفریقایی و خاور شرق دچار فقر غذایی می باشند(۲).

با توجه به رشـد روز افزون جمعیت جهان ، نیازهای پروتئین نیز همه روزه افزایـش می یابد که دریا یکی از منابـع تأمین این نیازهای پروتئینی می باشـد . تا چنددهه قبل بهترین منبع تأمین آنها صید از دریا محسـوب می شـد . ولی امروزه آبزی پروری توسـعه فراوانی یافته و تا حدود زیادی نیازهای بشر را مرتفع می‌نماید.

پرورش مدرن میگو در دنیا از سـال ۱۹۳۰ شـروع شـد، به‌طوری که مرتـب توسـعه پیدا کرده و میـزان تولیـد جهانی آن در سـال ۱۹۸۵ به ۲۰۰۰۰۰ تن و در سـال ۱۹۸۸ به ۴۵۰۰۰۰ رسـیده اسـت . پیش بینی می‌شود این میزان در سال ۲۰۰۵ به ۲۱۰۰۰۰۰ تن برسد (۲) در این میان پرورش میگو در ایران نیز رو به توسـعه گذارد، به‌طوری که اولین سـابقه پرورش میگو به سـال ۱۳۷۱ بر می‌گردد که در این سـال در بندر کلاهی در جنوب شـرق شهرستان میناب واقع در استان هرمزگان مزرعه پرورشی میگوی غیـر بومی *Penons mondon* احداث گردید و بعدها سیاسـت شـرکت سـهامی شـیلات ایران بر روی میگوی بومی ایران *P. indicus* از طریق صید از دریا برای توسـعه پرورش میگو معطوف گردید و بدین طریق پرورش میگو در اسـتخرهای خاکی در اسـتانهای جنوبی کشور شروع و در سـال ۱۳۸۲ به حدود ۷۵۰۰ تن رسـید . و پیش بینی می شود این میزان تولید در سـال ۲۰۰۵ به ۳۰۰۰۰ تن برسد (۳). لذا به دلیل اهمیت بازار میگوی پرورشـی خصوصاً در کشورهای پیشـرفته به ارزیابی احتمال وقوع طبیعی مایکوتوکسین‌ها در میگوی پرورشی ایران پرداخته شد.

مایکو توکسین‌ها از دسته سموم طبیعی[1] با ساختمان شیمیایی متفاوت و با وزن مولکولی کوچک می باشـند . مایکوتوکسـین از کلمه"Myco" به معنی قارچ و "Toxin" به معنی سـم گرفته شـده است . و به آن دسته از سمومی گفته می شود که توسط قارچها تولید می‌گردند.

از مهمترین مایکوتوکسـین‌ها می توان به آفلاتوکسـین ها اشاره نمود. آفلاتوکسـین‌ها عمدتاً حاصل متابولیت ثانویه دو گونه مهم قارچی از جنس آسپرژیلوس می باشند (*A. flavus* و *A. parasiticus*) آفلاتوکسین دارای انواع مختلفی بوده و از مهمترین آنها می توان به گروههای B, G, M اشاره نمود(۱).

آفلاتوکسـین‌ها بـه دلیل احتمال وقـوع طبیعی[2] در مـواد مختلف و همچنین خطر سرطان زا بودن آنها بیشتر از سایر سموم مورد توجه و بحث قرار گرفته اند. آفلاتوکسـین ممکن است در بسیاری از مواد از قبیل گندم، جو ، برنج ، ذرت ، سـویا ، بلوط ، انواع خشـکبار (پسـته ، بادام ، فندق)، میوه‌های خشک شده ، ادویه جات ، ارزن ، کنجد ، اجرای خوراک دام و ... مشاهده گردد.

از کلیـه مواد غذایی فوق الذکر و یا مـواد غذایی ترکیبی که از یکی از این مواد به عنوان پایه غذا اسـتفاده می شـود، می‌تواند عامل انتقال سم به بدن موجود زنده باشد (۸).

آفلاتوکسین‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم مانند تماس مستقیم (پرسنل آزمایشـگاههای ذیربط یا غیر مستقیم سـلامتی موجودات زنده را به خطر بیاندازند(۹).

غذای آلوده مورد مصرف حیوانات علاوه بر آسـیب به سـلامتی و رشد طبیعـی حیوان ، امکان ذخیره شـدن در بدن (عضله موجـود) نیز وجود داشـته و همچنین در اثر متابولیزه شدن در کبد ترکیبات خطرناک دیگری را تولید نماید، امکان انتقال آفلاتوکسـین M_1 که حاصل متابولیسم ثانویه آفلاتوکسین B_1 در کبد دام می باشد، از طریق شیر و سایر محصولات لبنی به انسان وجود دارد(۵).

با توجه به خاصیت سرطان زایی آفلاتوکسین‌ها ، توجه دولتها به ایجاد امنیت غذایی از طریق مصرف غذای سـالم جلب شـده است . به این دلیل کشـورهای پیشرفته مقررات سخت گیرانه‌ای را برای واردات غذا اعمال می نمایند. خطر تحریم مواد غذایی آلوده به این دسـته از قارچها توسط بعضی کشورها به خصوص کشورهای عضو اتحادیه اروپا بسیار جدی است. اتحادیه اروپا حدود مجاز پایینی را برای سـموم آفلاتوکسـین در غذای وارداتی در نظر می‌گیرد. (حداکثر مجاز اروپا برای نوع B_1 = ۲ ug/kg و برای مجموع انواع Total = ۴ ug/kg است)(۴).

جایگاه و اهمیت صادرات میگوی پرورشـی ایران خصوصاً به کشورهای عضـو اتحادیـه اروپا عامل مهم انجـام این پروژه بوده اسـت . توجه خاص و رعایـت کامل اصول HACCP در تولیـد میگو می تواند موقعیت تجاری میگو را حفظ نماید.

میگوی پرورشـی ایران یکبار خطر تحریم را از سـوی اروپا پشـت سر گذاشته است، لذا مراقبت از کیفیت آن امروز الزامی است.

و در این تحقیق برای اولین بار احتمال وجود آفلاتوکسین B_2 به میزان ۱/۷۱ ppb و B_1 به میزان ۰/۲۱ ppb در عضله میگو تشـخیص داده شده است).

انتخاب نمونه‌ها و روش نمونه برداری

مقـدار مورد نیاز میگو برای هر آزمون حدود ۱۰۰۰-۸۰۰ گرم میگوی زنده صید شده از استخرهای پرورشی بود . نمونه ها از استانهای سیستان و بلوچستان (چابهار)، هرمزگان ، بوشهر با احتساب تولید ۶-۵ هزار تن تولید میگوی پرورشی ، و با فرض یک نمونه از هر ۱۰۰ تن تولید سالیانه و جمع آوری نمونه از حداقل ۱۰٪ محل های ثابت شـده و دارای پروانه از سازمان دامپزشـکی کشـور و جمعاً به تعداد ۵۴ نمونه برداشت گردید که روی ۴۷ نمونه آزمایشات لازم به‌عمل آمد. زمانی که میگوها آماده عرضه به بازار می شـوند . وزن متوسـط هر میگو حدود ۱۵ گرم اسـت که ۶۰٪ - ۵۰٪ وزن آنها ماهیچه می باشـد . بنابراین برای تهیه ۵۰۰ گرم ماهیچه میگو ، حدود ۱۰۰۰ – ۸۰۰ گرم میگوی (درسته) تهیه شد.

ظروف نمونه برداری در حدود ۱ کیلوگرم گنجایش دارند و حدود ۵۰۰ گـرم میگوی زنده در آنجا قرار داده شـد . پیش از بسـتن ظرف در مزرعه پرورش میگو و در محل نمونه برداری ، نمونه (میگوی زنده) به کمک ترازو وزن گردید تا مطمئن شویم ۵۰۰ گرم نمونه برداشت شده است.

ظروف نمونه برداری از جنس پلی اتیلن و دارای دهانه گشـاد و در دار انتخاب شده است که پس از بستن در خود به‌خود و کاملاً جفت می گردند. وقتی که در این ظروف بسـته شـود ، امکان بازکردن مجدد آنان و آسـیب رسـاندن به ظروف وجود ندارد. این ظروف تا برودت ۱۸- درجه سانتیگراد مقاومند.

میگوها در داخل ظروف گذاشـته و بلافاصله منجمد شدند. در صورتی که امکان انجماد بلافاصله وجود نداشـت آنهـا را در جعبه های بزرگ پلی اسیتیرن در کنار کیسه‌های یخ گذاشته و به نزدیکترین آزمایشگاه یا کارگاه عمل آوری حمل و در آنجا ظرف ۴ ساعت منجمد گردید.

در موقع نمونه برداری ، فرم های نمونه برداری توسط بازرسان تکمیل شـد و هر نمونه به شماره مرجع مخصوص خود شماره گذاری شد و همراه هر نمونه برای ردیابی و تعیین منشاء آلودگی (در مواردی که نتایج مثبت یا مشکوک است) بایگانی و نگهداری شد.

روش آزمون

الـف - روش انـدازه گیـری IAC Clean up و HPLC method, Post column derivatization بـود. در این روش ابتدا سـم موجود در نمونه توسط یک حلال قطبی (متانول) استخراج شده و عصاره استخراجی به منظور حذف ترکیبات مداخله گر با استفاده از ستون های ایمونوافینیتی که از ویژگی بالایی برخوردار است خالص‌سازی شد.

در مرحلـه عبور عصـاره از سـتون ایمونوافینیتی، سـم موجود در عصـاره به‌عنوان یک پادگـن به پادگن اختصاصـی درون سـتون متصل شـده و کلیه ترکیبات دیگر بهمراه حلال از ستون متصل شده و کلیه ترکیبات دیگر به‌همراه حلال از سـتون بـا آب و یا در صورت نیاز بافر شستشو داده تا بیرنگ شده و در همین حالت سطح پادتن شسـته شده و نهایتاً سـم خالص درون ستون به صورت متصل به پادتن باقی می‌ماند. سـم تخلیص شده توسـط متانول خالص از پادتن جدا و درون ستون باقی می‌ماند.

محتـوی ویال با آب رقیق و به دسـتگاه HPLC که دارای آشـکارگر فلورسـانس است تزریق و جداسـازی در طول موج ۳۶۵ نانومتر انجام می پذیرد . سـرعت عبور فاز متحرک ۱ میلی متر بر دقیقه می‌باشـد. سیستم مشـتق ساز (؟) آفلاتوکسـین های B_1 ، G_1 و تبدیل آنها به آفلاتوکسین B2a و G2a به منظور افزایش خاصیت فلوراسانس را دارا است .

شناسـایی انواع آفلاتوکسین ها از طریق مقایسه زمان با سم استاندارد مربوطه و تعیین مقدار آنها با اسـتفاده از منحنی کالیبراسـیون که حداقل با ۵ غلظت از اسـتانداردهای مختلف به‌طوری که بتواند محدوده آلودگی را پوشش دهد ، و با احتساب ضریب رقت ، انجام می پذیرد .

ب- اسـاس اعتبار بخشـی به روش آزمـون (Method Validation) که در اعتبار بخشـی به یک روش آزمون اثبات سه حالت زیر توأماً الزامی است.

جدول ۱- سطوح آلودگی برای انواع سموم $B_1 B_2 G_1 G_2$

نوع سم	سطح آلودگی				
	۱	۲	۳	۴	۵
B۱	۲/۵	۵	۱۰	۱۵	۲۰
B۲	۱	۲	۴	۶	۸
G۱	۲/۵	۵	۱۰	۱۵	۲۰
G۲	۱	۲	۴	۶	۸

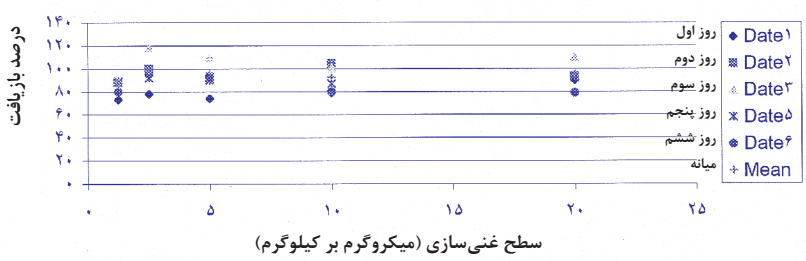
شاخص پذیرش صحت روش آزمون قرار گرفتن درصد بازیافت مطابق جدول ۲ می‌باشد.

۱- خطی بودن پاسخ

بـه این منظـور نمونه‌ها در ۵ غلظت مختلف غنی سـازی شـده[۳] سـپس مطابق روش اولیـه آزمایش مـورد آزمون قرار گرفتـه و بعد از انجـام آزمون و محاسـبه نتایج ،منحنی کالیبراسـیون ترسـیم و ضریب همبسـتگی R۲ محاسبه گردیده اسـت . نمونه های مختلف ، در سطوح مختلف و در سـموم مختلف همواره ضریب همبستگی بزرگتر از ۰/۹۹۷ را نشـان داده اسـت . (R۲>۰/۹۹۷).

۲- اثبات صحت روش آزمون صحت

نمـودار ۱- صحـت (درصد بازیافـت) میزان آفلاتوکسـین B۱ در



Archive of SID

جدول ۲- رابطه میان غلظت و محدودهٔ قابل قبول بازیافت

انواع ماده غذایی	غلظت مورد نظر بر حسب ug/kg	درصد بازیافت قابل قبول
	>۱	۵۰-۱۲۰
	>۱-۱۰	۸۰-۱۲۰
	>۱۰ >۱۰۰	۷۰-۱۱۰
	>۱۰۰	۸۰-۱۱۰

جهت اثبات صحت روش آزمون از روش های مختلفی می توان استفاده نمود. در این پروژه از غنی سازی نمونه شاهد (افزایش دستی استاندارد به نمونه بدون آلودگی) استفاده شده است.

نمونه شاهد با حجم مشخصی از سم آفلاتوکسین مخلوط با غلظت B_1G_1=۱۰۰۰ ng/mL و B_2G_2=۴۰۰ ng/mL در ۵ سطح مختلف و در ۶ روز مختلف کاری آلوده شده و مورد آزمون قرار گرفته است . سطوح آلودگی برای انواع مختلف در جدول ۱ آمده است .

جدول ۳- ارتباط انحراف معیار نسبی با سطح آلودگی و محدودهٔ پذیرش

غلظت بر حسب (ug/kg)	RSDR	RSDR
۱	۴۵/۳	۳۰
۲	۴۰/۸	۲۷
۴	۳۶/۷	۲۴
۵	۳۵/۵	۷۱
۱۰	۳۲	۲۳
۲۰	۲۸/۸	۱۹
۵۰	۲۵/۱	۱۶,۵

شاخص پذیرش صحت روش آزمون قرار گرفتن در صد بازیافت مطابق جدول ۲ می‌باشد.

اثبات دقت روش آزمون (RSD R) precision)

اثبات دقت روش آزمون از طریق محاسبه تکرار پذیری و تجدید پذیری انجام پذیرفته است . به این منظور سطوح مختلف آلودگی در ۶ روز کاری هر کدام به تنهایی مورد ارزیابی قرار گرفته اند . بطوریکه با محاسبه میانگین ، انحراف از استاندارد و انحراف معیار نسبی از استاندارد و مقایسه آن با جدول ۳ ، دقت روش آزمون تأئید گردیده است .

اندازه گیری بر روی نمونه‌های میگوی مزارع پرورشی

نتایج حاصله از آزمون ۴۷ نمونه نشان می‌دهد که تنها در یک مورد میگوی پرورشی ایران آلوده به آفلاتوکسین های B_1 ,B_2 به میزان ۱/۷۱ و ۰/۲۱ بوده است . نتایج در نمودارهای ۱ تا ۵ ارائه می‌گردد.

بحث نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق بر خلاف سایر مطالعات انجام شده توسط دو گروه تایلندی در سالهای ۲۰۰۲ و ۲۰۰۳ می باشد (۸) . نتایج این مطالعات حاکی از این است که تغذیه میگو با مواد غذایی، منشاء آلودگی بیش از ۲۵۰ ppm با آفلاتوکسین ها هیچگونه باقیمانده در عضلات میگو بجا نمی گذارد، در حالیکه در این تحقیق در یک نمونه، آلودگی تقریبی ۱/۷۱ را شناسایی گردید . این اولین باری است که این چنین میزان باقیمانده در کشور گزارش می شود . گرچه میزان های کمتر از ۲ ppm حتی با مقررات سختگیرانه همچون اتحادیه اروپا میزان بالایی نمی باشد (حد مجاز آفلاتوکسین B_1 ,Total). در آفلاتوکسین ها در اتحادیه اروپا ۲ppb و ۴ است ولیکن نشان داده شده است که آفلاتوکسین می تواند به عضلات میگو نفوذ نماید. لذا کنترل غذای میگو به‌عنوان منشاء اصلی آلودگی در میگوی پرورشی منجمد امری حیاتی است . آلودگی قارچی مایکوتوکسین ها می‌تواند به میزان زیادی از میگوی خشک شده جدا شود . اگر چه اطلاعاتی در خصوص آلودگی میگوی خشک در دست نمی باشد، این تعیین آلودگیهای عمدتاً ناشی از عدم انبارداری مطلوب و حمل و نقل در شرایط نامناسب است . غذای آلوده بیشترین نقش را در آلودگی میگوهای پرورشی به آفلاتوکسین‌ها را دارند(۶).

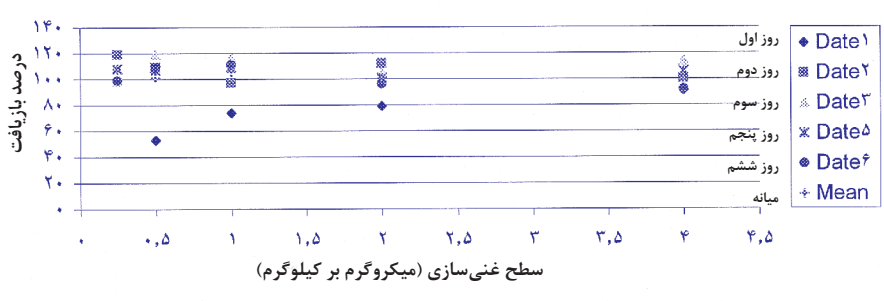
با توجه به دو گزارش منتشر شده توسط متخصصین تایلندی مبنی برعدم مشاهده آلودگی در میگوهایی که با غذای ppm ۲۵۰ آلودگی تغذیه شده‌اند و نتایج حاصله از این پروژه می توان نتایج زیر را ارزیابی نمود.

بررسی روش آزمون به‌کار گرفته شده در انجام مقاله منتشر شده در تایلند : آیا روش بکار گرفته شده کارآیی لازم را برای اندازه گیری در مقادیر پایین را داشته است ؟ آیا روش دارای خطای منفی نبوده و از حساسیت و اختصاصیت مناسب برخوردار بوده است(۶).

چنانچه نتایج مقاله قابل استفاده باشد ، می توان به این نتیجه رسید که مشاهده آلودگی آنهم به میزان ng/g ۱/۷به معنی تغذیه میگو به غذای آلوده تر از حد ng/g ۲۵۰بوده است .

چنانچه بتوان این ارتباط بین غذای آلوده و باقی مانده سموم را در عضله به اثبات رساند پیشنهاد کنترل مستمر غذای میگو در الویت ها اجرایی قرار گیرد.

نمودار ۲- صحت (درصد بازیافت) میزان آفلاتوکسین B۲ در میگو



Archive of SID

چنانچه این ارتباط بین غذای آلوده و باقیمانده آن در عضله به اثبات نرسد باید به دنبال منابع دیگر آلودگی باشیم .

پیشنهادات

انجام دو پروژه تحقیقاتی در خصوص ارزیابی غذای میگو از نظر آلودگی به آفلاتوکسین تعیین مقدار آلودگی غذا و ارتباط آن با میزان باقیمانده اثبات اعتبار روش های آزمون در کلیه پروژه های تحقیقاتی به منظور قابلیت استناد به نتایج پروژه.

پاورقی‌ها

1- Natural toxins.
2- Natural occurance.
3- Fortification.

منابع مورد استفاده

۱- حسینیان سرشکی – نازنین. ۱۳۸۰. پایان نامه دوره کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بررسی فلور قارچی میگوی سفید هندی ، آبادان، دانشگاه شهید بهشتی (صفحات ۱الی ۲۳).

۲- سالنامه آماری سازمان خواربار و کشاورزی جهانی . ۱۳۸۲. دفتر FAO تهران.

۳- سالنامه آماری شیلات ایران . ۱۳۸۲. معاونت اداری – برنامه ریزی (دفتر طرح و توسعه).

۴- مجموعه پیش نویس استانداردهای مورد بررسی در دویست وهشتاد و یکمین اجلاس کمیته ملی استاندارد خوراک و فرآورده های کشاورزی انتشار سال ۱۳۷۹ ، ۲۳-۲۶ و ۲۴ و ۲۰-۱

۵- ودود رضویلر. ۱۳۷۸ ، میکروبهای بیماری زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت های غذایی ، انتشارات دانشگاه تهران.

6-Bintivilhok A. Phonpoonpisit A, Tangtrrong pirosj, Panichkriang krai W, Rattanapanee R, Doik , kumugais , 2003 Aflatoxin containation in shrimp feed and effectsof aflatoxin addition food on shrimp production food .

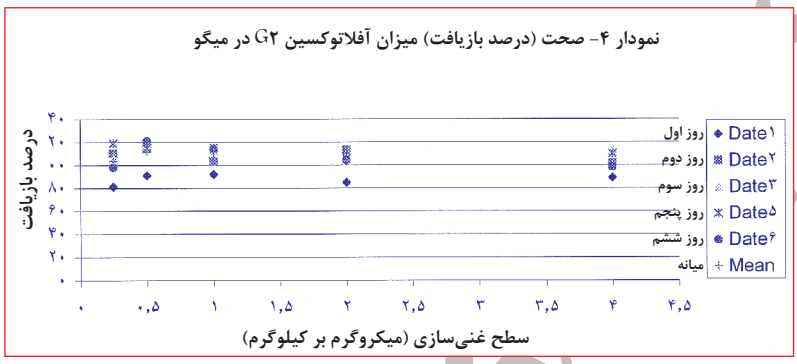
7-Hafez SI Abdel , Sboreit AA. 1985. Mycotoxins producing fungi and mycoflora of air dust from Taif , Saudi Arabia – My copath, logic 9212: 6571

8-Smits , TeoT , SimTF – 1985 Anote on the Screening of dried shrimps , shrimp paste and ground nut kennels for aflatoxin – producing Aspergillus flavus – JAPP 1 Bacteriel . 59 (1) : 29/34

9-Prior MG. 1979 Evaluation of brine shrimp (Artemiasalina) larvoe as a bionssay for mycotoxins in animal feed stuffs – 1 Comp Med –4 (4) : 352-5

نمودار ۳- صحت (درصد بازیافت) میزان آفلاتوکسین G۱ در میگو

نمودار ۴- صحت (درصد بازیافت) میزان آفلاتوکسین G۲ در میگو



نمودار ۵- صحت (درصد بازیافت) میزان آفلاتوکسین در میگو