مطالعه میزان اکراتوکسین A درخوراک ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری به روش الایزا

فیروز فدایی فرد*[۱]، حمید کورنگی[۲]، ابراهیم رحیمی[۳]، مهدی رئیسی[۱]، راحله پیرزاده [۴]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، دانشیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، شهرکرد، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، دانش آموخته دامپزشکی، شهرکرد، ایران.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، شهرکرد، ایران.
۴- دانشگاه پیام نور اصفهان، مربی گروه صنایع غذایی، اصفهان، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: Fadaeifard@gmail.com
(دریافت مقاله: ۹۱/۴/۱۳ پذیرش نهایی: ۹۲/۴/۵)

Archive of SID

چکیده

اکراتوکسین‌ها از مهمترین مایکوتوکسین‌های موجود در برخی از خوراک‌های دامی است. در این میان اکراتوکسین A از جمله سمومی است که دارای اثرات آسیب‌شناختی بالایی در انسان و حیوانات می‌باشد. هدف از انجام تحقیق حاضر تعیین میزان اکراتوکسین A موجود در غذای مصرفی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری بود. برای این منظور از غذای ٤ کارخانهٔ تولیدکننده عمده خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نمونه‌برداری به عمل آمد. در هرکارخانه از ٤ اندازه مختلف غذایی و آرد گندم (مجموعاً ۵ نمونه) نمونه‌گیری شد. از هر نمونه سه تکرار گرفته شد. اندازه‌گیری اکراتوکسین A با روش الایزا و با استفاده از کیت مربوطه انجام گردید. میزان سم اکراتوکسین A در تمامی نمونه‌های خوراک ماهی پایین‌تر از حد مجاز و در ۷۵ درصد نمونه‌های آرد گندم بالاتر از حد مجاز تعیین شده (۵ میکروگرم در کیلوگرم) بود. در مقایسه بین میانگین اکراتوکسین موجود در خوراک ماهی با اندازه‌های مختلف در ٤ کارخانه مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$) اما بین میانگین آن در آرد گندم موجود در کارخانجات مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده شد ($p<0/05$). در مجموع نتایج تحقیق نشان داد خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری از نظر میزان اکراتوکسین A در حد قابل قبول می‌باشد.

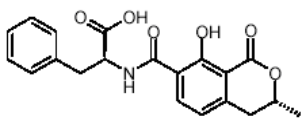
واژه‌های کلیدی: قزل آلای رنگین کمان، اکراتوکسین A، الایزا، غذای ماهی

www.SID.ir

مقدمه

سموم قارچی یا مایکوتوکسین‌ها ترکیبات سبک وزنی هستند که توسط برخی از قارچ‌های ساپروفیت به عنوان متابولیت ثانویه تولید می‌شوند و با قرارگرفتن بر روی غذای دام و یا گیاهان برای انسان و حیوانات اهلی بسیار خطرناک هستند. این سموم ساختار شیمیایی پیچیده‌تری نسبت به سموم باکتریایی دارند. تا کنون ۸۰ تا ۹۰ نوع مایکوتوکسین که توسط حدود ۱۲۰ نوع قارچ ترشح می‌شوند، در طبیعت شناخته شده است. قارچ‌های تولید کننده سم شامل آسپرژیلوس، فوزاریوم، پنی سیلیوم، آلترناریا و کلاویسپس هستند که در بین آنها سموم قارچی آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین‌ها خطرناک‌تر از بقیه بوده و اثرات زیانباری در حیوانات پرورشی از جمله ماهیان دارند که می‌توان به کاهش ایمنی بدن، کاهش رشد و تولید، افزایش ضریب تبدیل مواد غذایی و تلفات آبزیان اشاره نمود (Leong et al., 2010; Magan and Olsen, 2004). اکراتوکسین A یا Phenylalancarbonyl-Carboxyl-5-Choloro-8-7-L-β–Hydroxy (شکل۱)، با وزن مولکولی g/mol ۴۰۳/۸۱۳، یک ماده محلول در چربی با قابلیت دفع بالا بوده و در بافت‌های چربی تجمع می‌یابد. این سم از معروف‌ترین مایکوتوکسین‌هایی است که به وسیلهٔ برخی از گونه‌های قارچی از جمله *آسپرژیلوس اکراسئوس* در مناطق گرمسیری و *پنی سیلیوم ورکوزوم* و *پنی سیلیوم پالیتانز* در انبارهای معمولی با دمای محیط (۲۰تا ۲۵ درجه سلسیوس) و رطوبت نسبی (۴۰ تا ۷۰ درصد) تولید می‌شود (Masoud and Kaltoft, 2006). بیماری تضعیف‌کننده در انسان بنام بالکان اندمیک نفروپاتی شناخته شده است که با حضور مقادیر کم از مایکوتوکسین‌های نفروتوکسیک مثل اکراتوکسین در رژیم غذایی ایجاد می‌شود. حضور اکراتوکسین در مواد غذایی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مثل ذرت، دانه‌های قهوه، کاکائو و لوبیای سویا در نتیجه آلودگی آنها توسط گونه‌های آسپرژیلوس می‌باشند. اکراتوکسین A نه‌تنها یک نفروتوکسین حاد است بلکه ممکن است موجب ایجاد سرطان کلیه نیز شود (Basic et al., 2007). گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر منفی این سم بر سیستم ایمنی، ایجاد بیماری‌های کبدی، تأثیر ناقص‌الخلقه‌زایی و سرطان‌زایی نیز دیده شده است (Zaied et al., 2009). همچنین سم مذکور سبب ایجاد تغیرات دژنراتیو در سلول‌های پارانشیم کبدی، از جمله تورم هسته‌ای و سیتوپلاسمی و نکروز لوله‌های پروگزیمال کلیوی می‌شود (Doster et al., 2004).

بنا بر گزارش کمیتهٔ مشترک سازمان بهداشت جهانی و سازمان خواروبار جهانی، هر فرد روزانه می‌تواند حداکثر ۱۴ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود از اکراتوکسین A را تحمل کند و بیش از آن منجر به بروز بیماری‌های کلیوی می‌شود (Alvarez et al., 2004).



شکل۱- ساختار شیمیایی اکراتوکسین A (Storen et al.,1982)

بهترین راه جلوگیری از تولید اکراتوکسین در مواد غذایی انسان و دام، پیشگیری از تولید آن در مراحل کاشت تا برداشت دانه‌ها است بطوریکه در انتخاب واریتهٔ مقاوم برای کاشت، به حداقل رساندن حضور حشرات و سایر آفات در مراحل کاشت تا برداشت و

www.SID.ir

مدیریت صحیح انبارداری از جمله دما و رطوبت را بایستی مد نظر قرار داد (Magnoli et al., 2007). بیشترین میزان تولید اکراتوکسین A در دماهای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس صورت گرفته و در گرم‌خانه‌گذاری ۷ روزه، سرعت تولید اکراتوکسین A به مراتب بیشتر از سایر دوره‌ها است. استفاده از انواع نگه‌دارنده‌ها نیز در کنترل سم مؤثر است بطوریکه مطالعات نشان داده که هیدروکسی آنیزول بوتیله شده (BHA) به میزان ۲۰ mmol/L قادر به توقف تولید سم اکراتوکسین A توسط گونه‌های *آسپرژیلوس نایجر* می‌شود لذا یکی از پیشنهادات عملی کنترل این سم استفاده از ترکیب فوق می‌باشد (Barberis et al., 2009). استفاده از اسانس‌های موجود در دارچین و نیز اسانس پرچم میخک (Clove) نیز تا حدی از افزایش سم در محصولات جلوگیری می‌کند. همچنین استفاده از ترکیبی به نام CEPA (2- Chloro Ethylphosphonic Acid) در کاهش میزان سم مؤثر ارزیابی شده است (Aldred et al., 2008).

با استفاده از روش HPLC سم اکراتوکسین A در غلات عرضه شده در فروشگاه‌های تهران مورد بررسی قرار گرفت (Mahtabani et al., 2010). همچنین با بکارگیری از همین آزمایش ردیابی سم در نمونه‌های برنج داخلی و خارجی صورت پذیرفت (Hadian et al., 2007). اثرات سمی اکراتوکسین A در ماهی باس دریایی (Sea bass) نیز مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات رفتاری این ماهی در درجه اول به صورت تظاهرات عصبی و تنفسی مشاهده شد. این ماهی از گونه‌های بسیار حساس به سم اکراتوکسین A بوده و مورد بسیار مناسبی برای تحقیق در مورد مایکوتوکسین‌ها است (El-Sayed et al., 2009). همچنین اثر اکراتوکسین A و دی اکسی نیوالنون برعملکرد رشد و ایمنی‌شناختی میگوی ببری سیاه و سفید مورد ارزیابی قرار گرفت. بطوری که نتایج نشان داد که سموم فوق به غیر از اثر بر پارامترهای ایمنی فیزیولوژی میگو، تأثیر منفی چندانی بر میزان تولید این سخت پوست ندارند (Supamattaya and Sukrakanchana, 2005). در مطالعه‌ای دیگر اثر اکراتوکسین A را بر ضریب تبدیل غذایی، هماتولوژی، بقا و هیستوپاتولوژی کبد و کلیه گربه ماهی در یک رژیم غذایی ۸ هفته‌ای بررسی شد. ماهیان با مقادیر ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ٤ و یا ۸ میلی گرم بر کیلوگرم اکراتوکسین A تغذیه شدند. آزمایشات هیستوپاتولوژیک کبد و کلیه نشان داد که بروز و شدت مراکز ملانوماکروفاژی در بافت هپاتوپانکراس و کلیه در گربه ماهی‌ها با رژیم حاوی ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکراتوکسین A یا بالاتر افزایش یافته است (Manning et al., 2003).

طبق گزارش اتحادیه اروپا حداکثر میزان اکراتوکسین A در غلات فرآوری نشده برابر با ۵ و در محصولات مشتق شده از این محصولات ۳ میکروگرم بر کیلوگرم می‌تواند باشد (European Union, 2006). حداکثر مقدار مجاز اکراتوکسین A طبق استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۲۵ در گندم و جو هر کدام ۵ میکروگرم بر کیلوگرم اعلام شده است (Iranian National Standard, 2001).

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی نمونه

ابتدا ٤ کارخانهٔ تولید کننده عمده غذای ماهی در استان چهارمحال و بختیاری را شناسایی و از غذای هر

Archive of SID
www.SID.ir

کدام در ٤ اندازه آغازین (SFT)، رشد (FFT)، پروواری (GFT) و مولدین (BFT) در۳ تکرار نمونه‌برداری شد. با توجه به اینکه در تولید کنسانتره ماهی پرورشی از آرد گندم نیز استفاده می‌شود و بنابر اطلاعات و گزارشات بدست آمده از سایر محققین احتمال آلودگی غلات (مثل آرد گندم) نیز بالاست، لذا از آرد گندم مورد استفاده در کنسانتره‌های هر کارخانه نیز به طور جداگانه نمونه‌برداری و برای تعیین میزان سم مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌ها پس از اخذ ابتدا آسیاب شد و از سه نقطه آن حدود ۱۰۰ گرم که به شکل پودر مرطوب و چسبنده‌ای درآمده بود داخل کیسه‌های نایلونی مقاوم در برابر رطوبت و در مکانی خشک و خنک قرار داده و تا زمان انجام آزمون نگه‌داری شدند.

انجام آزمون الایزا

جهت انجام آزمایش الایزا با استفاده از دستگاه الایزا ریدر مدل (STAT FAX2100-UK) و بر اساس دستورالعمل کیت مورد استفاده (Europroxima-Netherland) اقدام گردید. این کیت حاوی ۷ محلول بافر (Ochratoxin A ELA)، بافر شستشو، محلول متوقف‌کننده، بافر استخراج، محلول سوبسترا، محلول کنژوگه (Ochratoxin A-HRPO)و محلول استاندارد (Anti-Ochratoxin A) می‌باشد. بر اساس توصیه کارخانه سازنده محدوده ردیابی کیت برابر با ۰/٦۲۵ نانوگرم در هر گرم، میزان حساسیت آن ۳۵ پیکو گرم در هر میلی‌لیتر و متوسط بازیافت آن ۸٦ درصد می‌باشد.

ابتدا ۳ گرم از هر نمونه به دقت توزین شده و به لولهٔ آزمایش منتقل گردید. سپس به هر کدام از لوله‌های محتوی نمونه ۵ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۰/۵ مولار اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شدند تا اسید فسفریک در تمام نمونه نفوذ کند. سپس ۵ میلی‌لیتر دی کلرومتان به هر لولهٔ آزمایش اضافه و به مدت ۵ دقیقه لوله‌ها تکان داده شدند. لوله‌ها به دستگاه سانتریفوژ (مدل Centric 322A، ساخت اسلونی) انتقال و در مدت ۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفیوژ گردید که نهایتاً ۳ فاز در محتوی لوله‌های سانتریفوژ شده تشکیل گردید. بطوریکه فاز زیرین شفاف و شامل دی کلرومتان، فاز وسطی نمونه‌های جامد غذای ماهی و فاز رویی اسید فسفریک است. فاز رویی را دور ریخته و ۲ فاز زیرین و وسط را مخلوط نموده و پس از تکان دادن مجدداً سانتریفوژ (۲۵۰۰xg) گردید. در دور دوم سانتریفوژ در صورت وجود لایهٔ رویی (اسید فسفریک) آنرا دور ریخته و لایهٔ زیرین و وسطی رامخلوط کرده و با استفاده از کاغذ صافی، صاف شد. به مایع شفاف زیر نمونه صاف شده، ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج و ۲ میلی‌لیتر ان- هگزان اضافه شده و یک دقیقه تکان داده شد. سپس در دور ۲۵۰۰xg به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفوژ، هر لولهٔ آزمایش محتوی ۳ لایهٔ مجزای شفاف بود. لایهٔ رویی n- هگزان بوده که آنرا با استفاده از سمپلر برداشته و دور می‌ریزیم. لایهٔ زیرین و وسطی را مخلوط کرده و برای انجام تست الایزا استفاده می‌کنیم. سپس بر اساس راهنمای کیت الایزای اکراتوکسین A نمونه‌های آماده شده به میکروپلیت ۹٦ خانه (۱۲ ردیف در ۸ ستون) منتقل گردید بطوری که در مرحله اول برای چاهک‌های A1 و B1 فقط از محلول بافر به میزان ۱۰۰ میکرولیتر و برای سایر چاهک‌ها ۵۰ میکرولیترمحلول بافر، ۵۰ میکرولیتر نمونه، ۲۵ میکرولیتر محلول کنژوگه و ۲۵ میکرولیتر محلول

Archive of SID
www.SID.ir

آنتی‌بادی (مجموعاً ۲۰۰ میکرولیتر) افزوده شد و در مرحله بعدی پس از انکوباسیون میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت و شستشوی کلیه چاهک‌ها به تمام آنها ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا و ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده اضافه شده و در آخر با انتقال به دستگاه الایزا ریدر در طول موج ٦٣٠ نانومتر میزان جذب نوری آنها سنجیده و نتیجه قرائت گردید.

آزمون آماری

جهت بررسی میزان سم از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و مقایسه بین میانگین داده‌ها از روش دانکن استفاده شد. در ضمن برای کلیه آزمون‌ها از نرم افزارSPSS ورژن ۱۷ استفاده گردید.

یافته‌ها

پس از اندازه‌گیری مقادیر اکراتوکسین A در بین غذای با اندازه‌های مختلف کارخانجات تولیدکننده غذای ماهی، نتایج آن در بین گروه‌های مختلف مورد مقایسه قرار گرفت. که می‌توان نتایج آن را در جدول ۱به صورت مقایسه‌ای و در بین اندازه‌های مختلف غذایی مشاهده نمود.

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر سم اکراتوکسین A (میکروگرم در کیلوگرم) در آرد گندم و اندازه‌های مختلف خوراک ماهی در۴ کارخانه مختلف

نمونه کارخانه	آرد گندم	غذای آغازین (۰/۲ تا ۱/۹میلی متر)	غذای رشد (۲/۵ تا ۳ میلی متر)	غذای پرواری (۳/۵ تا ۶ میلی متر)	غذای مولدین (۸ میلی متر)
B	۲/۳۳± ۱/۰۵ [a]	۰/۵۳± ۰/۱۵ [a]	۰/٦٧± ۰/۲۵ [a]	۰/٦٧± ۰/۲۵ [a]	۰/۵۳± ۰/۲۵ [a]
F	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ [b]	۰/٤۰± ۰/۰۱ [a]	۰/٤۰± ۰/۰۱ [a]	۰/۳۳± ۰/۱۵ [a]	۰/٤٦± ۰/۱۵ [a]
K	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ [a]	۰/۹۳± ۰/۳۵ [a]	۰/۵۰± ۰/۱۰ [a]	۰/۳٦± ۰/۰۵ [a]	۰/۷۰± ۰/٤۱ [a]
R	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ [b]	۰/٤٦± ۰/۰۵ [a]	۰/٦٦± ۰/۳۷ [a]	۰/۷۰± ۰/۳۰ [a]	۰/٤۳± ۰/۵۷ [a]

* در هر ستون میانگین‌های با حروف غیرمشابه تفاوت معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵).

با توجه به جدول ۱ در مقایسه میزان سم اکراتوکسین A درآرد گندم و اندازه‌های مختلف غذای تولید شده در ٤ کارخانه همانطور که مشاهده می‌شود مقادیر بدست آمده به غیر از آرد تفاوت معنی‌داری در سطح آماری (p<۰/۰۵) با هم ندارند. از آنجائیکه بیشترین موارد جداسازی سم اکراتوکسین A از غلات بوده است و آرد گندم نیز یکی از موارد مورد مصرف در تهیه پلت‌های غذایی ماهیان به شمار می‌رود لذا نسبت به اندازه‌گیری سم در این نهاده نیز اقدام شد که در جدول ۱ مقایسه میزان سم اکراتوکسین در آرد گندم موجود در کارخانه‌های مختلف نیز مشاهده می‌گردد. در مقایسه میانگین آلودگی غذاهای مختلف به سم اکراتوکسین A فقط بین خوراک k1 و سایر غذاها اختلاف قابل توجهی مشاهده می‌شود و در بقیه اندازه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح (p<۰/۰۵) دیده نمی‌شود. با عنایت به نتایج به دست آمده و مقایسه آن با استانداردهای داخل کشور (استاندارد ملی ایران) و خارج کشور (اتحادیه اروپا) مقادیر اکراتوکسین A موجود در نمونه‌های خوراک ماهی با اندازه‌های مختلف تولید شده در ٤ کارخانه استان چهارمحال و بختیاری کمتر از حد مجاز تعریف شده (۵ میکروگرم در کیلوگرم غذا) بود ولی مقدار آن

Archive of SID
www.SID.ir

در نمونه‌های آرد گندم موجود در کارخانجات K، F و R بالاتر از حد مجاز بوده است.

بحث و نتیجه‌گیری

ماهیان قزل آلای رنگین کمان در استخرهای پرورشی به شیوه‌های مختلف تغذیه می‌شوند رایج‌ترین شکل غذایی که در اکثر مناطق دنیا از آن استفاده می‌شود غذای کنسانتره است که در اندازه‌های مختلف و با توجه به اندازه ماهی مورد تغذیه قرار می‌گیرد، این غذاها بین ۱۳ تا ۱۷ درصد رطوبت داشته و دوره ماندگاری آنها دو تا سه ماه پس از تولید است (Gall and Crandell, 1992). امروزه تأمین امنیت غذایی یکی از مهمترین مسایلی است که بشر نسبت به آن توجه خاص داشته و به جرأت می‌توان گفت که مهمترین دغدغه ذهنی در قرن حاضر تهیه و تأمین غذای سالم است که البته به منظور دستیابی به این امر مهم تلاش جمعی و رعایت کلیه قوانین محلی، ملی و بین المللی را می‌طلبد.

تحقیق حاضر با هدف ردیابی سم اکراتوکسین A در خوراک ماهی قزل آلای رنگین کمان سعی بر اندازه‌گیری و تشخیص میزان حضور سم فوق در غذای مصرفی این ماهیان داشته است. در حال حاضر ماهی قزل آلای رنگین کمان در صدر بالاترین تولید ماهیان پرورشی داخل کشور و همچنین از نظر مصرف نیز در رقابت با سایر ماهیان پرورشی و صید شده از منابع آب‌های داخلی و دریایی قرار دارد. لذا نظر به افزایش مصرف آن در بین مردم و به نسبت افزایش روزمره تولید خوراک این ماهی در کارخانجات تولیدکننده خوراک آبزیان در کشور تصمیم بر ردیابی و اندازه‌گیری اکراتوکسین A در غذای تولید شده گردید تا بتوان با مقایسه نتایج به دست آمده از سایر منابع و همچنین ارزیابی آن با مقادیر استاندارد در خصوص وضعیت کیفیت خوراک تولیدی به بحث پرداخت. از این رو غذا و آرد گندم چهار کارخانه تولید کننده خوراک ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان چهارمحال و بختیاری انتخاب شد. اکراتوکسین A ازمعروف‌ترین مایکوتوکسین‌هایی است که به‌وسیله برخی از گونه‌های قارچی از جمله *آسپرژیلوس اکراسئوس* در مناصق گرمسیری و *پنی سیلیوم ورکوزوم* و *پنی سیلیوم پالیتانز* در انبارهای معمولی با دمای محیط تولید می‌شود (Masoud and Kaltoft, 2006).

با توجه به جدول ۱ اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان سم در انواع غذاهای هر کارخانه وجود ندارد و البته میزان سم موجود در هر غذا (با میزان کمتر از یک میکروگرم در هر کیلوگرم) کمتر از حداکثر میزان توصیه شده توسط اتحادیه اروپا و سازمان استاندارد ایران (۵ میکروگرم در هر کیلوگرم) است همچنین در مقادیر سم موجود در انواع غذاها به غیر از غذای K اختلاف آماری معنی‌داری بین بقیه غذاها دیده نمی‌شود که نتیجه کلی آن پائین بودن میزان آلودگی غذاهای تولیدی این کارخانه‌ها و نداشتن منع مصرف برای ماهیان است ولی همانطور که دراین جدول مشاهده می‌شود علاوه بر اینکه اختلاف آماری معنی‌داری در سطح اعتماد ($p<۰/۰۵$) بین آرد کارخانه B با بقیه به چشم می‌خورد میزان سم موجود در سه مورد نیز بالاتر از مقادیر استاندارد (بیش از ۵ میکروگرم در کیلوگرم غذا) به دست آمده است که نشان از آلودگی منابع اولیه گندم یا آلودگی ثانویه آن در طول فرآوری بوده است این نتیجه

Archive of SID
www.SID.ir

با نتایج بدست آمده از سایر محققین مشابه بوده و مؤید تولید سم اکراتوکسین A در غلات می‌باشد (Juan et al., 2006; Zaied et al., 2008). نتایج به دست آمده از مقادیر سم موجود در انواع غذا و آرد کارخانجات مختلف نشان از بالا بودن سم در آرد گندم و کاهش آن در خوراک تولیدی می‌باشد که یقیناً دلیل این کاهش در خوراک تولیدی، مصرف کم آرد در فرمولاسیون غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان است. نوسانات کمیتی سم در انواع غذا می‌تواند مقادیر اولیه آن درآرد، شرایط انبارداری، نحوه و زمان نگه‌داری غذا و شرایط فرآوری خوراک مرتبط باشد. پائین بودن میزان سم اکراتوکسین A در غذای ماهی منجر به تأمین غذای سالم و نهایتاً ایجاد امنیت غذایی برای مصرف کننده نهایی یعنی انسان می‌شود. با توجه به اهمیت بهداشتی سم اکراتوکسین A در مصرف آبزیان و همچنین انسان، ضروری است که نسبت به رعایت برخی اصول و مقررات بهداشتی اعم ازرعایت اصول فرآوری وساخت غذا، توجه به میزان رطوبت و دمای محیط و نظارت بر کیفیت نهاده‌های اولیه اهتمام لازم به عمل آورده شود چرا که اثرات پاتولوژیک این سم در انسان و آبزیان مخاطرات جدی به همراه دارد. بطوری که در گربه ماهیان تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۸ میلی‌گرم برکیلوگرم اکراتوکسین A بعد از ۲ هفته کاهش وزن، تغییر ضریب تبدیل غذایی، کاهش هماتوکریت و کاهش بقا و تجمع مراکز ملانوماکروفاژی در بافت هپاتوپانکراس و کلیه در گربه ماهیان مشاهده شد (Manning et al., 2003). در ماهیانی مثل قزل آلا، اکراتوکسین A و B باعث ایجاد تغییرات دژنراتیو سلول‌های پارانشیم کبدی از جمله تورم هسته‌ای و سیتوپلاسمی و نکروز توبول‌های پروگزیمال کلیوی می‌گردد (Doster et al., 2004). اکراتوکسین Aدرسخت پوستانی مثل میگوی ببری سیاه و سفید نیز ارزیابی شده و محققین دریافتند سم مذکور قابلیت اغتشاش در فعالیت‌های ایمونوفیزیولوژیک این آبزیان را داشته ولی تأثیری بر میزان رشد یا ایجاد تلفات ندارد (Supamattaya and Sukrakanchana, 2005). با عنایت به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر و همچنین مطالعات سایر محققین لزوم رعایت نکات بهداشتی و فنی تولید و فرآوری خوراک آبزیان وجود دارد تا بتوان غذایی سالم و با کیفیت بالا به مزارع پرورش ماهی عرضه داشت.

امروزه با افزایش تولید آبزیان پرورشی بالاخص قزل آلای رنگین کمان در کشور و به موازات آن افزایش تولید خوراک این ماهی بحث تأمین امنیت غذایی و تولید غذای سالم که تضمین‌کننده تولید ماهی سالم باشد نیز مطرح است یقیناً آخرین مصرف‌کننده این منبع پروتئینی انسان است که تمام مخاطرات ایجاد شده توسط سم فوق به نوعی می‌تواند سلامت این گروه را به خطر بیفکند. در مطالعه حاضر نتایج نشان از پائین بودن میزان سم در خوراک و کمی بالاتر بودن در آرد گندم دارد لذا در زمینه سیستم‌های تولید، نگه‌داری و فرآوری گندم و آرد بایستی توجه بیشتری به عمل آورده شود ولی با توجه به پائین بودن میزان آرد در فرمولاسیون غذا مقدار کلی سم در خوراک تهیه شده از حد اکثر میزان اشاره شده توسط اتحادیه اروپا کمتر بوده و خطری مصرف‌کنندگان بعدی را تهدید نمی‌کند.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

- استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۲۵ (۱۳۸۰). غذای انسان و حیوان، مایکوتوکسین‌ها، چاپ اول.
- ماه‌تابانی، آیدین.، بیات، منصور.، حسینی، سیدابراهیم.، امین افشار، مهدی و توکلی، حمیدرضا (۱۳۸۹). ارزیابی اکراتوکسین A و آفلاتوکسین‌های (B1,B2,G1,G2) در غلات عرضه شده در فرشگاه‌های شهر تهران با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، مجله حکیم، شماره ۱، صفحه ۱۰ تا ۱۵.
- هادیان، زهرا.، یزدان پناه، حسن.، عزیزی، محمدحسین.، سیداحمدیان، فریبا.، کوشکی، محمدرضا.، پنجکی، محمدحسین.، مرتضایی، غلامرضا.، شجاعی، فریبرز و خوش‌گذران، صادق (۱۳۸٦). میزان شیوع اکراتوکسین A در برنج عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران در سال ۸٦، مجله تغذیه و علوم غذایی، دوره ۲، صفحه ۵۳ تا ۵٦.

- Aldred, D., Cairns-Fuller, V. and Magan, M. (2008). Environmental Factors Affect Efficacy of some Essentioal Oils and Resveratrol to Control Growth and Ochratoxin A Production by *Penicillium Verrucosum* and *Aspergillus Westerdijikiae* on Wheat Grain. Journal of Stored Products Research, 44:341-346.
- Barberis, C., Astoreca, A., Asili, R., Fernandez-Juri, M.G., Chulze, S., Magnoli, C. and Dalcero, A. (2009). In vitro control of growth and ochratoxin A production by butylated hydroxyanisole in *Aspergillus* section *Nigri* species. Food Control, 20(8): 709-715.
- Basic-Jukic, N., Hrsak-Puljic, I., Kes, P., Bubic-Filipi, L., Pasini, J., Hudolin, T., Kastelan, Z., Reiner, Z., Kordic, M., Brunetta, B. and Juric, I. (2007). "Renal transplantation in patients with Balkan endemic nephropathy". Transplantation Proceedings, 39 (5): 1432–1435.
- Doster, R.C., Sinnhuber, R.O. and Wales, J.H. (2004). Acute intraperitoneal toxicity of Ochratoxins A and B in rainbow trout (Salmo gairdneri). Food and Cosmetics Toxicology, 10: 85-92.
- El-Sayed, Y.S., Khalil, R.H. and Saad, T.T. (2009*).* Acute Toxicity of Ochratoxin-A in Marine Water Reared Seabass *(Dicentrarchus Larbax L.).* Chemosphere, 75: 878–882.
- Gall, G.A.E. and Crandell, P.A. (1992). The rainbow trout. Aquaculture, 100: 1-10.
- Hadian, Z., Yazdanpanah, H., Azizi, M.H., Ahmadian, F., Kooshki, M., Panjki, M.H., Mortazaei, G., Shojaei, F. and Khoshgozaran, S. (2007). incidence of Ochratoxin A in rice marketed in Tehran shops ,Journal of Iranian Nutrition and Food Sciences,2:53-56[In Farsi].
- Iranian National Standard-No5925. (2001). Human and animal food, Mycotoxins. 1st Edition[In Farsi].
- Juan, C., Zinedine, A., Idrissi, L. and Manes, j. (2006). Ochratoxin A in rice on the Moroccan retail market. Inernational Journal of Food Microbiology, 126: 83-85.
- Leong, Y.H., Ismail, N,, Latif, A.A. and Ahmad, R. (2010). Short Communication: Aflatocin Occurrence in Nuts and Commertial Nutty Products in Malaysia. Food Control, 21: 334-338.
- Magan, N. and Olsen, M. (2004). Mycotoxins in Food Detection and Control. 1st Edition, CRC Press Boca Raton Boston New York Washington, DC.
- Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, M.L., Fernandez-Juri, M.G., Barberis, C. and Dalcero, M. (2007). Ochratoxin A and *Aspergillus niger* in Peanut Seeds at Different Months of Storage in Cordoba Argentina. Journal of Food Microbiology, 119: 213-218.
- Mahtabani, A., Bayat, M., Hosseini, S.A., Anin afshar, M. and Tavakolli, H. (2010). Evaluation of ochratoxin A and aflatoxins (B1,B2,G1,G2) in cereals marketed in Tehran shops by high performance liquid chromatography, Journal of Hakim, 1: 10-15[In Farsi].
- Manning, B.B., Ulloa, R.M., Li, M., Robinson, E.H. and Rottinghaus, G.E. (2003). Ochratoxin A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesions of hepatopancreatic tissue. Aquaculture, 219: 739-750.

Archive of SID
www.SID.ir

- Masoud, W. and Kaltoft, C.H. (2006). The Effect of Yeasts Involved in the Fermentation of Coffea Arabica in Easr Africa on Growth and Ochratoxin A (OTA) Production by Aspergillus Ochraceus. Journal of Food Microbiology, 106: 229-234.
- Official Journal of the European Union (2006). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting levels for certain contaminants in food stuffs.
- Storen, O., Holm, H. and Stormer, F.C. (1982). Metabolism of Ochratoxin A by Rats, The American Society for Microbiology, 44: 785-789.
- Supamattaya, K. and Sukrakanchana, N. (2005). Effect of Ochratoxin A and Deoxynivalenol on Growth Performance and Immuno Physiological Parameters in Blacktiger Shrimp (Penaeus Monodon), The Songklanakarin Journal of Science and Technology, 29(1): 91-99.
- Zaied, C., Abid, S., Zorgui, L., Bouaziz, C., Chouchane, S., Jomaa, M. and Bacha, H. (2009). Natural Occurrence of Ochratoxin A in Tunisian Cereals. Food Control, 20: 218-222.

Archive of SID

www.SID.ir

Determination of Ochratoxin A in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* feed in Chaharmahal Va Bakhtiary province by ELISA assay

Fadaeifard, F.[*1], Koorangi, H.[2], Rahimi, E.[3], Raiisy, M.[1], Pirzadeh, R.[4]

1- Associate professor of Aquatic animal Health and disease Departement, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2- Graduated of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3- Associate professor of Food Hygiene Department, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
4- Instructor of Food Science and Technology Department, University of Payamenoor, Isfahan branch**,** Isfahan. Iran
[*]Corresponding author email: Fadaeifard@gmail.com
(Received: 2012/7/3 Accepted: 2013/6/26)

Archive of SID

Abstract

Ochratoxins are considered as the significant mycotoxins found in animal feeds. Amongst, Ochratoxin A has high pathological consequences on the humans and animals. The aim of present study was to determine the amount of Ochratoxin A in rainbow trout feed produced in Chaharmahal Va Bakhtiary province. For this, four major producers of trout feed were chosen and four different sizes of feed together with one wheat flour sample were obtained from each factory. The samples were transferred to Food Analysis Lab of Shahre-Kord Islamic Azad University. The samples were obtained in three replicates and a total of 60 samples were analyzed for the presence of Ochratoxin A. The analysis was performed by ELISA assay. Results revealed that the quantity of Ochratoxin A in all feed samples were lower than determined contamination level established by Iranian National Standard and EU commission (5µg/kg). However, the contamination levels in all wheat flour samples were higher than defined standard. The amount of Ochratoxin A in samples obtained from various producers was not statistically significant ($p<0.05$). It was concluded that the overall quality of trout feed produced in Chaharmahal Va Bakhtiary province were satisfactory.

Key words: Rainbow trout, Ochratoxin A, ELISA, Fish feed

www.SID.ir