

# بررسی میزان شیوع گونه‌های آفلاتوکسین زای *آسپرژیلوس* و باقیمانده آفلاتوکسین به روش الایزا در خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در استان‌های تهران و آذربایجان غربی

کیوان ابراهیمی محمدی<sup>۱</sup>، ودود رضویلر<sup>۲</sup>

## چکیده

در تحقیق حاضر تعداد ۹۶ نمونه خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، به روش تصادفی ساده و قشری، در طی دو فصل بهار و تابستان (پانزدهم هر ماه) سال ۱۳۸۶ با اهداف تعیین میزان شیوع گونه‌های آفلاتوکسین ساز *آسپرژیلوس* و باقیمانده آفلاتوکسین توتال در خوراک انبار شده مصرفی ماهیان در استخرهای پرورشی استان آذربایجان غربی بر حسب فصول (بهار و تابستان) به روش الایزا و بر حسب ppb و همچنین تعیین باقیمانده این سم در خوراک تولیدی ماهیان در کارخانجات تولیدی خوراک آذربایجان غربی و آذربایجان غربی بر حسب فصول و به روش فوق‌الذکر، جمع‌آوری شدند.

به منظور بررسی میزان شیوع گونه‌های *آسپرژیلوس*، بر اساس استاندارد ۹۹۷ مؤسسه استاندارد ایران، اقدام شد. جهت تعیین میزان باقیمانده آفلاتوکسین از روش الایزا و با بهره‌گیری از کیت «آگراکوانت» شرکت «Romer lab» استفاده شد.

نتایج به دست آمده نشان داد که فقط ۸.۳٪ نمونه‌ها به قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* آلوده بوده و *آ. پارازیتیکوس* عملاً جداسازی و مشاهده نگردید. بررسی‌ها نشان داد که میزان شیوع *آ. فلاووس* با فصل‌های نمونه برداری در سطح کمتر از ۰/۰۵ رابطه معنی‌داری ندارد و وجود و عدم وجود آن به تفکیک فصل و ماه یکسان می‌باشد. بررسی میانگین مقادیر آفلاتوکسین، نشان داد که مقادیر این عامل همگی پایین‌تر از سطوح مورد پذیرش تعیین شده توسط کمیته مشترک WHO و FAO می‌باشند. از طرفی میانگین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال در فصول بهار و تابستان در خوراک انباری مراکز مختلف پرورشی استان آذربایجان غربی و کارخانجات استان تهران، یکسان بوده و تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P < 0.05$ )، ولی بین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال کارخانه تولیدی استان آذربایجان غربی در فصول بهار و تابستان در سطح کمتر از ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری وجود دارد و میزان آن در بهار (۸/۶ ppb) بیشتر از تابستان (۶/۱ ppb) است.

نتایج کلی این آزمون بر حضور بسیار پایین غیرتأثیرگذار *آسپرژیلوس فلاووس* بر حضور مقادیر آفلاتوکسین توتال در خوراک ماهیان تأکید داشته و با توجه به پایین بودن مقادیر آفلاتوکسین کمتر از ۰/۲۰ ppb بر سلامت خوراک تولیدی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در استان‌های تهران و آذربایجان غربی (در بهار و تابستان ۱۳۸۶) دلالت می‌کند.

واژگان کلیدی: *آسپرژیلوس*، آفلاتوکسین، الایزا، خوراک ماهی قزل‌آلای

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۰

## A survey on prevalence rate of Aflatoxigenic species of *Aspergillus* and residues of aflatoxins by ELISA method in Rainbow Trout feeds in Tehran and West Azarbayjan provinces - Iran

Ebrahimi Mohammadi, K.<sup>1</sup>, Razavilar, V.<sup>2</sup>

1\*- Graduated of Food hygiene, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Keiwan1976@yahoo.com)

2- Professor of Food hygiene, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

In this research 96 samples of Rainbow Trout fish feed, during the seasons of spring and summer of 2007 (every fifteenth of the month) were randomized (by simple and stratified rondsoms) to determine:

1. The prevalence rate of aflatoxigenic species of *Aspergillus* in stored feed of cold-water cultural fish in West Azarbayjan cultural fish farms in both seasons (spring and summer);
2. The residues of total aflatoxin in stored feed of fish in cultural fish farms of West Azarbayjan in both seasons by ELISA method; and
3. The residues of that toxin in feed produced in aquatic feed factories in Tehran and West Azarbyjan provinces with the same method.

In order to study prevalence rate of toxigenic species of *Aspergillus*, standard No.997 of Iranian Standard Inistitute, were used. The produced colonies were examined microscopically. To determine the aflatoxins residues, ELISA method using Agra-Quant kit of Romer lab. company, were applied.

The results of this survey indicated that only 8.3% of the samples were infected by *A. flavus*. *A. parasiticus* was not observed. There were no significant differences between the prevalence rate of AFT and seasons/monthes, either ( $P < 0.05$ ).

Evaluating mean of aflatoxin rate showed that the rates of this variable are lower than the tolerance levels designated by the joint FAO/WHO expert committee. Furthermore, mean of total AFT residues rates of stored feed of various cultural center of West Azarbayjan and Tehran factories were comparable in spring and summer, and no significant differences were observed ( $P < 0.05$ ). But there were significant differences between the total aflatoxin rates in the feed of W. Azarbayjan factory and spring and summer ( $P < 0.05$ ), and AFT residues in spring (8.6 ppb) were higher than summer (6.1 ppb).

In conclusion, the finally results of this survey indicated that the lower rates of *Aspergillus* is not effective on the presence of total aflatoxin rates in trout feed. Due to low levels of aflatoxin rates (lower than 20 ppb), the produced feed of cold-cultural fishes, Rainbow Trout, in Tehran and West Azarbayjan provinces, in spring and summer of 2007, were safe and healthy both for fish and their consumers.

**Key Words:** *Aspergillus*, Aflatoxin, ELISA, Rainbow Trout feed

۱ - دانش آموخته دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (keiwan1976@yahoo.com)

۲ - استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

## مقدمه

آفلاتوکسیکوزیس که سلامت ماهیان را تحت تأثیر قرار داده در سال ۱۹۶۰ در ماهی قزل‌آلای پرورشی اتفاق افتاده است. این ماهی‌ها که با غذای پلت شده حاوی پنبه دانه آلوده به آفلاتوکسین تغذیه شده بودند، دچار تومور کبدی شده و نزدیک به ۸۵٪ تلف شدند (۱۹).

در گزارشات FAO منتشر شده در FAO web library، مقدار LD<sub>50</sub> برای هر کیلوگرم وزن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در حال حاضر ۰/۸ mg/kg عنوان شده است (۱۵).

در بررسی دیگر توسط T.K.Dutta و P.Das در هندوستان با عنوان جداسازی استرین‌های آفلاتوکسین‌زا و جداسازی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> از غذای دام، که بر روی ۲۵۶ نمونه غذای دام در شمال هندوستان انجام شده است، از ۱۹۸ نمونه، اسپریلیوس فلاووس با پتانسیل تولید آفلاتوکسین ۰/۷۶٪ و از ۱۵ نمونه آپارازیتیکوس با پتانسیل تولید آفلاتوکسین ۰/۸۶٪ جدا شده است. روش‌های جداسازی آفلاتوکسین در این تحقیق TLC و ELISA بوده است و میانگین مقادیر بدست آمده آفلاتوکسین حدود ۰/۰۳ ppm بوده است. در این مطالعه اختلاف فصلی شیوع و سطح سم در خوراک‌ها ثبت شده است، چنانچه مقدار آنها در طی بارندگی‌های موسمی و بعد از آن بالاتر رفته است (۱۱).

Khan, M. J و همکارانش در کنستانتره‌های معمولی دام، طیور و آبزیان بنگلادش با ۸ ترکیب اصلی آرد ذرت، کنجاله سویا، آرد گندم، سبوس گندم، پوسته برنج، روغن کنجد، روغن خردل و آرد ماهی، مقادیر Total AFT و AFB<sub>1</sub> را به ترتیب بین ۱۵/۱ ppb تا ۱۷۵/۳ ppb و ۱/۵۸ ppb تا ۱۲/۸ ppb اعلام نموده‌اند (۱۴).

در تحقیقی توسط Bintvihok, A. و همکارانش بر ۱۵۰ نمونه غذای میگوی جمع‌آوری شده از مناطق شرقی و جنوبی تایلند، در فاصله مارچ لغایت فوریه ۱۹۹۸، مقادیر آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> مورد آنالیز قرار گرفت و مقدار آلودگی به AFB<sub>1</sub> بین ۰/۰۰۳ ppb تا ۰/۶۵۱ ppb متفاوت بوده است و مقدار دیگر آفلاتوکسین‌ها بسیار پایین‌تر بوده است. در بررسی اثرات این

افزایش تولید و پرورش آبزیان به ویژه ماهی سردآبی قزل‌آلای رنگین کمان، منجر به افزایش فعالیت در مورد تولید مکانیزه و در تناژ بالای خوراک آنها در کشور شده است. توجه به این نکته حائز اهمیت است که امکان انتقال عوامل بیماری‌زا و سموم مختلف از طریق مصرف مواد غذایی آلوده به ماهی و در نهایت به مصرف کنندگان وجود دارد. بر اساس آمار FAO حداقل ۲۵٪ محصولات غذایی توسط قارچ‌ها و سموم ناشی از آنها آلوده می‌شوند (۱۳ و ۱۴). در این بین غذای ماهی قزل‌آلا که به صورت پلت‌های مخصوص با اندازه‌های مختلفی ارائه می‌شود، ترکیبی از مواد پروتئینه، کربوهیدراته و لیپیدی گیاهی و حیوانی، مواد معدنی، مینرال‌ها و ویتامین‌ها است و شرایط برای رشد قارچی را دارا می‌باشد (۸، ۱۳ و ۱۹). در این بین آفلاتوکسین‌ها که بیشتر توسط کپک‌های جنس اسپریلیوس (*Aspergillus*) و به ویژه گونه‌های *A. parasiticus* و *A. flavus* تولید می‌شود، به علت سمیت زیاد و مخاطراتی که برای مصرف‌کنندگان (دام و انسان) در بردارد، حائز اهمیت است. این سم سرطان‌زا و در واقع هپاتوکارسینوزن، موتازن، تراتوزن بوده و برای کبد، کلیه و اعصاب سمی است (۳ و ۱۴). همچنین آنتی اکسیدان‌های محلول در چربی نظیر ویتامین A و محلول در آب مثل ویتامین C که به ترتیب برای عملکرد مناسب سیستم ایمنی، عصبی و متابولیکی ضروریند، توسط این سموم تخریب می‌شوند. بدین سان مشکلاتی نظیر کاهش کارایی در تولید، کاهش وزن نهایی تولید، افزایش میزان غذای مورد استفاده به منظور جبران کاهش وزن، افزایش هزینه‌های درمانی و ایجاد مشکلات برای سلامت عمومی جامعه از پیامدهای اقتصادی و بهداشتی این مهم می‌باشد (۱۹).

در بین آفلاتوکسین‌ها، چهار گروه بزرگ شامل AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> و AFG<sub>2</sub> که به تواتر آفلاتوکسین‌ها نیز معروف هستند، از اهمیت بیشتری برخوردارند. چرا که برای همه موجودات از جمله انسان و آبزیان به ویژه قزل‌آلای رنگین کمان جوان بسیار سمی هستند (۳، ۶ و ۲۱). اولین شیوع گزارش شده مستند

روش تصادفی قشری استفاده گردید. در مجموع ۴۲ نمونه از مزارع دو منظوره و ذخیره آب کشاورزی، ۱۲ نمونه از استخرهای منفرد و ۶ نمونه از سدهای خاکی نمونه‌برداری گردید. نمونه‌گیری از انبار کارخانجات تولیدی به صورت رانندوم ساده انجام گرفت. به گونه‌ای که ۶ نمونه از آذربایجان غربی و ۳۰ نمونه از تهران اخذ گردید.

به منظور تعیین میزان شیوع اسپرژیلوس فلاووس و آ. پارازیتیکوس در خوراک ماهیان سردآبی، بر اساس استاندارد ۹۹۷ مؤسسه استاندارد ایران، در خصوص روش جستجو و شمارش قارچ‌ها (کپک‌ها و مخمرها)، اقدام شد. و از محیط‌های عمومی کشت Sabouraud- dextrose agar و Malt extract agar

(ساخت کارخانه Merck آلمان) به روش پور پلیت (Pour-plate Culture) استفاده شد. بر این اساس و به منظور مطالعه میکروسکوپی پرگنه‌های ایجاد شده و تشخیص جنس و گونه قارچ، از روش خرد کردن پرگنه‌ها (Teased mount) و رنگ آمیزی توسط لاکتوفنل کاتن بلو استفاده شد (۸).

جهت اندازه‌گیری باقیمانده آفلاتوکسین توتال در خوراک ماهیان سردآبی، از روش الیزا (ELISA) که به عنوان روشی شناخته شده، ساده‌تر و کاربردی و دقیق‌تر در مقایسه با دیگر روش‌های جداسازی آفلاتوکسین در مواد غذایی معرفی شده است، استفاده شد (۱۷). برای انجام کار از کیت ویژه آفلاتوکسین توتال Agra Quant® Total Aflatoxin Assay 4/40 (در محدوده ۴۰-۴ ppb) از شرکت اتریشی Romer labs® که توسط شرکت ایرانی «فرآیند دانش آرین» خریداری و وارد گردید، استفاده شد. دستگاه الیزا ریدر (ELISA Reader) مدل STAT FAX 2000 ساخت کشور آمریکا، مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج

در این تحقیق از شاخص‌های آمار توصیفی (میانگین، فراوانی، استاندارد ارور، نمودار و...) جهت تنظیم، تلخیص و به عرض

عامل بر رشد میگوها، مشخص شده که تغذیه با جیره آلوده به مقادیر ۲۰ ppb آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در طی ۱۰ روز مستمر، باعث کاهش وزن میگوها به میزان ۴۹ تا ۵۹ درصد وزن اولیه، می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که آلودگی به آفلاتوکسین می‌تواند منجر به آسیب‌های اقتصادی ناشی از کاهش رشد میگوها و کاهش تولید شود. لازم به ذکر است که آلودگی در سطح ۲۰ ppb یا کمتر، خطرات بسیار کمی برای سلامتی انسان داشته است (۹).

لازم به ذکر است که بر اساس مصوبه FDA، حد مجاز آفلاتوکسین در گوشت آبزیان و خوراک آنها ۲۰ ppb، عنوان شده است (۶ و ۷).

با توجه به اهمیت موضوع، این تحقیق قصد آن دارد که با در نظر گرفتن متغیر اصلی فصل، وضعیت جیره ماهیان را از لحاظ میزان شیوع گونه‌های آفلاتوکسین زای اسپرژیلوس و مقادیر باقیمانده آفلاتوکسین توتال بر حسب ppb و با استفاده از روش شناخته شده ELISA در این خوراک‌های نگهداری شده در انبار جیره و نیز در کارخانجات تولیدی در استان‌های تهران و آذربایجان غربی مورد ارزیابی قرار دهد، تا در صورت اثبات وجود بیش از حد مجاز، بتوان با انجام دیگر فعالیت‌های تحقیقی در خصوص نحوه استاندارد نمودن آن و رفع مشکلات احتمالی موجود، اقدام نموده و در جهت کاهش ضررهای اقتصادی و افزایش بهره‌وری و نیز کاهش خطر سلامت افراد جامعه گام برداشت.

## مواد و روش کار

تعداد ۹۶ نمونه خوراک ماهیان سردآبی به اوزان یک کیلوگرم در پانزدهم هر ماه در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۶ از انبار مزارع پرورشی ماهیان قزل‌آلای استان آذربایجان غربی و انبار کارخانجات تولید خوراک مذکور در استان‌های تهران و آذربایجان غربی به روش تصادفی نمونه‌گیری شد. با توجه به تنوع مراکز پرورشی در استان شامل ۱۰۳ (مزرعه دو منظوره و ذخیره آب کشاورزی، ۲۳ استخر منفرد و ۱۱ سد خاکی) از

میانگین مقدار آفلاتوکسین توتال در نمونه‌های مورد مطالعه، در مزارع دومنظوره و سد خاکی برابر  $6/25$  الی  $6/75$  ppb بوده و تفاوتی زیادی با هم ندارند، ولی با میانگین مزارع منفرد که برابر  $4/67$  ppb می‌باشد، دارای تفاوت ظاهری می‌باشند.

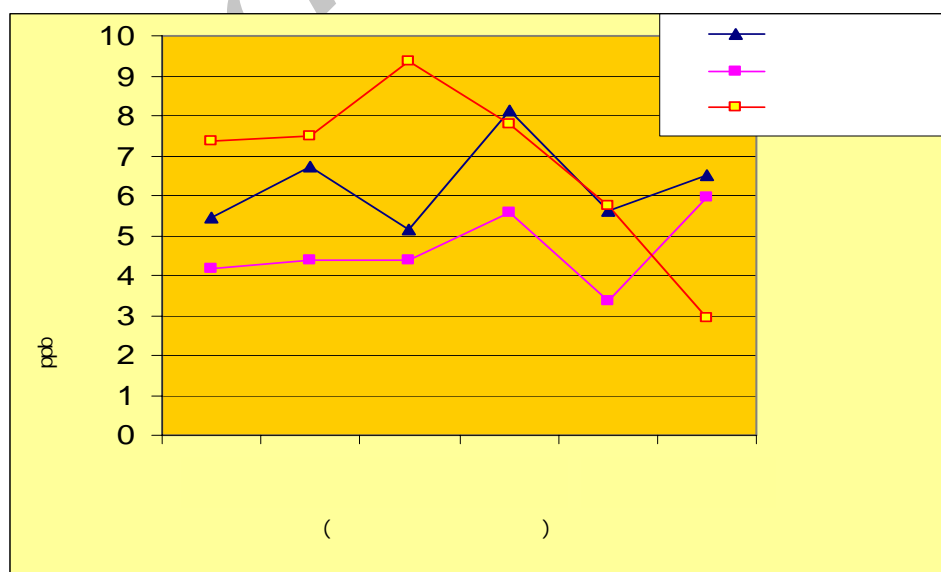
میانگین مقادیر آفلاتوکسین توتال نمونه‌های اخذ شده از سه تیپ مراکز پرورشی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (دومنظوره، منفرد و سدخاکی) استان آذربایجان غربی در دو فصل بهار و تابستان ۸۶، نشاندهنده بالا بودن مقادیر آفلاتوکسین توتال در استخرهای سدخاکی در طول دوره نمونه‌برداری نسبت به دیگر مراکز پرورشی است. مقادیر این عامل در مراکز پرورشی در سه ماهه نخست سال (بهار) و تیرماه در سطح بالاتری نسبت به دو ماه آخر تابستان است (نمودار ۱).

به منظور بررسی مقادیر آفلاتوکسین توتال در خوراک تولیدی کارخانجات استان‌های آذربایجان غربی و تهران، در فصول بهار و تابستان (فصول نمونه‌گیری) میانگین این مقادیر در ماه‌های مختلف مورد محاسبه قرار گرفته است. بیشترین مقدار میانگین دو نمونه آفلاتوکسین توتال در فصل بهار و اردیبهشت ماه با مقدار  $9/86$  ppb و در فصل تابستان و تیرماه با مقدار  $9/83$  ppb و همچنین کمترین مقدار نیز در فروردین ماه با مقدار  $7/90$  ppb دیده شد (نمودار ۲).

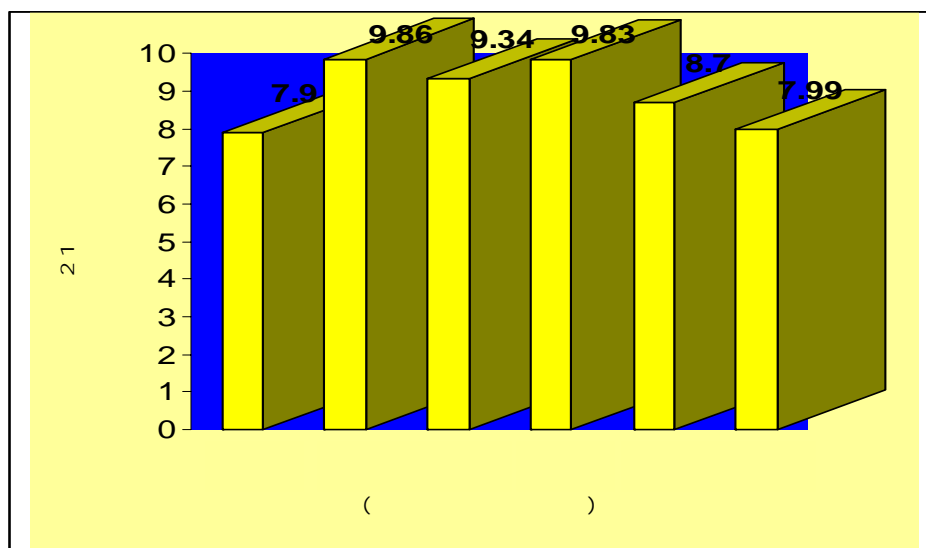
نمایش درآوردن داده‌ها در راستای تحلیل سؤالات پژوهش و نیز آزمون‌های معنی‌دار استنباطی تی - تست گروه‌های مستقل، کا- اسکویئر (Chi-Square) و ... با بهره‌گیری از بسته آماری یا نرم افزار spss Ver. 16 و Excel 2003 استفاده شده است.

در خصوص بررسی حضور عوامل قارچی موجود در نمونه‌های خوراک ماهی قزل‌آلا در دو استان آذربایجان غربی و تهران در فصول بهار و تابستان ۱۳۸۶ (در دو محیط کشت M.E.A. و S.D.A.)، از گونه‌های آفلاتوکسین‌زای *Asp. parasiticus* و *Asp. flavus*، فقط ۸ مورد آلودگی به آسپرژیلوس فلاووس مشاهده گردیده و هیچ آلودگی از آسپرژیلوس پارازیتیکوس مشاهده نشده است.

بنابراین در ۹۱/۷ درصد نمونه‌های مورد مطالعه عامل آسپرژیلوس فلاووس مشاهده نگردیده است و فقط در ۸/۳٪ نمونه‌ها این عامل مشاهده شده است. لازم به ذکر است که آسپرژیلوس پارازیتیکوس در هیچ کدام از نمونه‌ها یافت نشد. در خصوص بررسی حضور و مقادیر آفلاتوکسین توتال موجود در نمونه‌های خوراک ماهی قزل‌آلا در دو استان آذربایجان غربی و تهران در فصول بهار و تابستان ۱۳۸۶، موارد ذیل قابل بحث است:



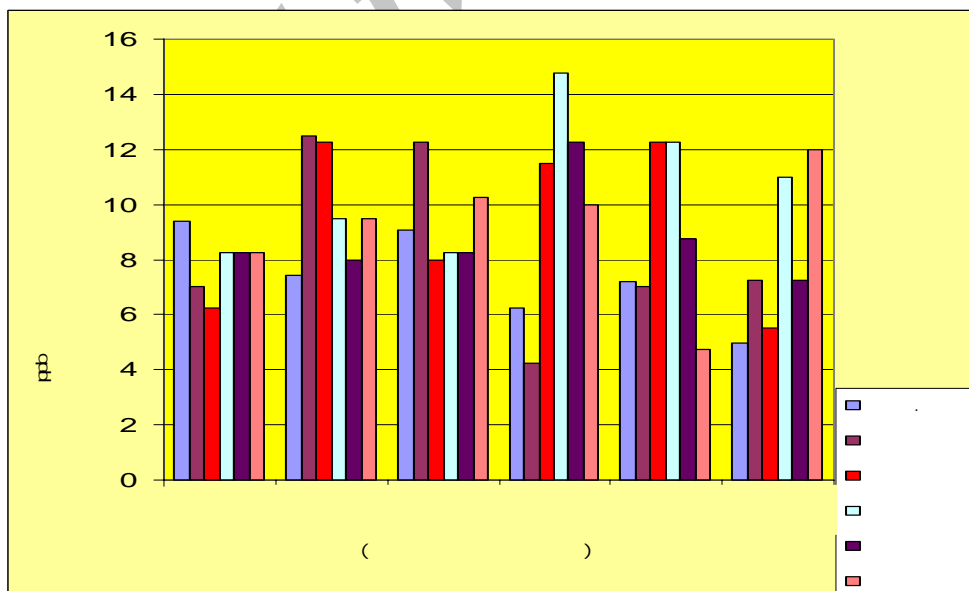
نمودار ۱- مقایسه میانگین مقادیر آفلاتوکسین توتال مراکز مختلف پرورشی در طول دو فصل بهار و تابستان به تفکیک ماه نمونه‌برداری



نمودار ۲ - مقایسه میانگین آفلاتوکسین توتال نمونه‌های خوراک کارخانجات تولیدی خوراک ماهیان سردآبی استان‌های آذربایجان غربی و تهران بر حسب ماه نمونه‌گیری (فصل)

در آن کارخانجات، مورد بررسی قرار گرفت. آنچه مشخص است بالا بودن مقادیر آفلاتوکسین توتال در کارخانجات تولید خوراک ماهیان در تهران نسبت به آذربایجان غربی در طول دوره نمونه‌برداری است (نمودار ۳).

میانگین مقادیر آفلاتوکسین توتال نمونه‌های اخذ شده از ۶ کارخانه تولید خوراک ماهیان سردآبی استان‌های آذربایجان غربی و تهران در دو فصل بهار و تابستان ۸۶ و همچنین بررسی میانگین مقادیر این عامل در طول دوره نمونه‌برداری



نمودار ۳ - مقایسه میانگین مقادیر آفلاتوکسین توتال کارخانجات مختلف تولید خوراک ماهیان سردآبی در طول دو فصل بهار و تابستان به تفکیک ماه نمونه‌برداری

## بحث

ترکیب مواد خام تشکیل دهنده خوراک ماهیان سردآبی (قزل‌آلای رنگین کمان) که بسته به دوره رشد ماهی به صورت پلت (pellet)) با اندازه‌های مختلف می‌باشد، مؤید این مهم است که این ماده غذایی می‌تواند در معرض آلودگی توسط عوامل قارچی توکسین ساز قرار گرفته یا مواد خام قبل از فراوری، دچار آلودگی شده و وارد زنجیره غذایی ماهی و مصرف‌کنندگان آن شود.

عمده این ترکیبات (بر اساس اعلام کارخانجات مربوط) عبارتند از: گندم، آرد گندم، گلوتن گندم، سبوس گندم، گلوتن ذرت، کنجاله تخم پنبه، کنجاله سویا، نشاسته، مخمر، پودر یونجه، پودر ماهی، سوپر پروتئین، پودر ضایعات کشتارگاه، روغن ماهی، روغن سویا، کنسانتره ماهی، پودر خون، ملاس، بایندر ژلاتینه، دی کلسیم فسفات، کربنات کلسیم، لستین، آنتی اکسیدان، نگهدارنده، رنگدانه، متیونین، لیزین هیدروکلراید، مکمل مینراله، ویتامین‌های E و C، ضد عفونی کننده‌های خوراک (نظیر Mycospin® Gold Px) و جاذب‌های مایکوتوکسین (مثل Mycosorb™).

در این بین مواد غذایی غلات و مواد پروتئینی جیره دو گروه اصلی مواد خام ترکیبات هستند که در معرض آلودگی قرار دارند. بر اساس بررسی‌های به عمل آمده توسط Phillips و همکارانش در سال ۱۹۹۴، با موضوع راهکارهای کاهش میزان آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی، مواد نشاسته ای و غلات که از نظر فیزیکی دارای رطوبت کمتر می‌باشند نسبت به مواد پروتئینی، برای رشد قارچی کمتر مستعد بوده و در ظاهر ممکن است سالم تر به نظر آیند. این در شرایطی است که محصول نهایی فراوری شده به صورت پلت هستند که به واسطه پایین بودن رطوبت آنها (حدود ۹٪) کمتر مستعد به رشد قارچ مولد آفلاتوکسین می‌باشند. البته در شکل پودری، مواد جاذب الرطوبه بوده و مستعد به آلودگی قارچی و متابولیت آنها می‌باشند (مواد خام مصرفی بیشتر در این

در ادامه، جهت بررسی رابطه بین میزان شیوع عامل آسپرژیلوس فلاووس با فصل، با توجه به اسمی بودن داده‌ها از آزمون خی دو یا کا- اسکویر مستقل استفاده شد. با توجه به  $\text{sig.}=0.46$ ، میزان شیوع آسپرژیلوس با فصل رابطه معنی‌داری از لحاظ آماری ندارد.

جهت مقایسه باقیمانده آفلاتوکسین توتال در خوراک مصرفی انبار شده ماهیان مراکز مختلف پرورشی استان آذربایجان غربی و خوراک تولیدی کارخانجات دو استان، بر حسب فصل، از آزمون معنی‌داری تی استیودنت گروه‌های مستقل استفاده شده است.

با نگاهی به  $\text{sig.}=305\%$  جدول تی - تست گروه‌های مستقل (غیر وابسته) و رعایت شرط همگنی واریانس‌ها بر اساس مقدار F در آزمون لون با  $\text{sig.}=605\%$ ، نتیجه می‌گیریم میانگین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال در فصل بهار با تابستان یکسان بوده و تفاوت معنی‌داری در این راستا مشاهده نمی‌گردد.

همچنین بر اساس تست مذکور و داده‌های به دست آمده در مورد خوراک تولیدی ماهیان سردآبی کارخانجات استان تهران،  $\text{Sig.}=785\%$  نشانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال در فصل بهار با تابستان می‌باشد. یعنی اینکه وجود این عامل بر اساس فصل یکسان بوده و تغییری در این زمینه موجود نمی‌باشد.

در خصوص کارخانه تولیدی خوراک ماهیان استان آذربایجان غربی،  $\text{Sig.}=48\%$  مؤید این واقعیت است که بین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال این کارخانه در فصل بهار و تابستان تفاوت معنی‌داری در سطح کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری وجود دارد. به تعبیری دیگر میزان شیوع عامل آفلاتوکسین توتال در کارخانه استان آذربایجان غربی در فصل بهار بیشتر از فصل تابستان می‌باشد و می‌توان ادعا نمود که فصل در میزان شیوع عامل تأثیرگذار می‌باشد.

و ماه‌های سال در مطالعه حاضر و بر اساس خروجی‌های SPSS، همگی پایین تر از سطوح پذیرش مشخص شده توسط اداره کل غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA)، کمیته اقتصادی اروپا (EEC) و کمیته مشترک WHO و FAO می‌باشد. (میانگین میزان آفلاتوکسین توتال در تمامی یافته‌ها از ۱۱ ppb کمتر بود) و لذا می‌توان خوراک‌های تولیدی کارخانجات این دو استان و آنچه که در آن دوره زمانی (بهار و تابستان ۸۶) مورد مصرف پرورش دهندگان ماهیان سردآبی بوده است، را سالم معرفی نمود.

در این راستا عملیاتی که بر مواد خام مورد استفاده در کارخانجات تولیدی انجام می‌شود نظیر پاک کردن و جداسازی، آسیاب کردن خشک و مرطوب، استفاده از مواد آنتی میکروبیال و جاذب‌های میکوتوکسین خود می‌تواند بر کاهش بار آلودگی قارچی و کاهش درصد کل آفلاتوکسین توتال موجود در محصول نهایی مؤثر باشد.

در منابع مختلف به این مهم اشاره شده است که جداسازی و تمیز کردن یکی از راهکارهای اولیه حذف خطر آلودگی میکوتوکسینی در مواد غذایی به خصوص ذرت، بادام زمینی و سیب است. در مطالعه‌ای توسط کول در سال ۱۹۸۹ مشخص شده که شناورسازی و استفاده از چگالی در جداسازی دانه‌های ذرت آلوده در کاهش غلظت آفلاتوکسین سهم به سزایی داشته است (۱۱). همچنین بر پایه گزارش Phillips و همکارانش در سال ۱۹۹۴ روش شناورسازی، میزان متوسط آفلاتوکسین را از ۳۰۱ ppb به ۲۰ ppb کاهش داده است (۱۸). جداکردن بخش‌های پوسیده و آلوده‌ای که با چشم غیر مسلح دیده می‌شوند، خود تأثیر بسیار زیادی بر کاهش آلودگی دارد. (۳)

عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین میزان باقیمانده آفلاتوکسین توتال در فصول بهار با تابستان در انبارهای خوراک مراکز مختلف پرورشی ماهیان سردآبی و کارخانجات استان تهران، می‌تواند به تنوع محصولات خام

حالت پودری به بازار عرضه می‌شوند و این زمینه آلودگی قبل از فراوری را در آن‌ها بیشتر به وجود می‌آورد. (۱۷). همانطور که اشاره شد، در ۹۱/۷ درصد نمونه‌های مورد مطالعه اسپریلیوس فلاووس مشاهده نگردیده است و فقط در ۸/۳ درصد نمونه‌ها این عامل مشاهده شده است. این نتیجه می‌تواند مؤید این واقعیت باشد که با توجه به درصد بسیار کم عامل اسپریلیوس فلاووس در نمونه‌های اخذ شده در خوراک ماهیان سردآبی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی، تأثیر مستقیم این عامل بر حضور آفلاتوکسین‌های جداسازی شده، بسیار کم رنگ بوده و تا حدی می‌توان آن را نادیده گرفت. به عبارتی دیگر می‌توان حضور آفلاتوکسین را مرتبط به حضور این ماده در مواد اولیه خام مورد استفاده جهت تولید خوراک مذکور، مرتبط دانست. می‌توان ادعا نمود که بخش اعظم آفلاتوکسین (با وجود اینکه مقدار آن از حد مورد پذیرش آفلاتوکسین نیز پایین تر است)، در خود مواد خام مصرفی، قبل از فراوری وجود داشته است و احتمال استفاده از محصولات آلوده به توکسین با توجه به نوع ترکیبات مورد استفاده در تهیه خوراک ماهیان وجود دارد. در طی بررسی‌های به عمل آمده توسط توتونچیان در فاصله سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۱ در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی، ضمن اشاره به افزایش و سیر صعودی (۴) برابر افزایش) ارسال نمونه‌های غذایی مورد استفاده دام و طیور به آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت در دو استان که نشان از توجه بیشتر تولیدکنندگان و دامداران به این مهم است، اشاره شده است که بیشترین میزان آلودگی در مورد ترکیبات پروتئینی نظیر پودر گوشت، پودر ماهی و کنسانتره دیده شده است و در این بین آلودگی دیگر ترکیبات همچون ملاس، تفاله چغندر، کنجاله تخم پنبه، سویا و ذرت نیز دیده شده است که دامنه‌ای مابین ۱۰ تا ۳۵ را دربرگرفته است.

بر اساس آزمون تی تک گروهی یافته‌های حاصل از مقادیر آفلاتوکسین توتال به تفکیک نوع مزارع، کارخانجات، فصل

آفلاتوکسین‌ها، طیف درجه حرارت مناسب حدود ۲۵ الی ۳۲ درجه سلسیوس می‌باشد. اگرچه درجه حرارت‌های کمتر از ۵۵ درجه فارینهایت برای مدت دو روز نیز می‌تواند باعث تولید آفلاتوکسین شود. آفلاتوکسین در غلات در درجه رطوبت حدود ۱۲ الی ۲۸ درصد تولید می‌شود (۱۳). با توجه به این مهم لازم است که شرایط انبارهای نگهداری مواد غذایی مصرفی در تولید خوراک ماهیان طوری تحت کنترل حرارتی و رطوبتی باشد، که در شرایط فوق‌الذکر قرار نگیرد.

استفاده از روش‌های فیزیکی نظیر جداسازی اجزای آسیب دیده از طرق مختلف نظیر شناورسازی، فیلتراسیون و استفاده از صافی مناسب، آسیاب نمودن خشک و مرطوب و گاه روش‌هایی نظیر پرتوافکنی و استفاده از نور خورشید، به عنوان ارزان‌ترین روش‌ها در کاهش بار آلودگی مورد استقبال قرار گرفته است. همچنین استفاده از افزودنی‌هایی همچون ترکیبات آنتی میکروبیال جهت ممانعت از رشد عوامل قارچی در انبارها و در ترکیب خوراک تولیدی، استفاده از مواد جاذب مایکوتوکسین نظیر Mycosorb<sup>TM</sup> با ویژگی‌های مطلوب مواد شیمیایی افزودنی، می‌تواند تأثیرگذار باشد (۴).

### فهرست منابع

- ۱- سیمای شیلات استان آذربایجان غربی (۱۳۸۳)، انتشارات روابط عمومی اداره کل شیلات استان آذربایجان غربی،: ۷-۱.
- ۲- رضویلر. و. (۱۳۸۱): میکروب‌های بیماریزا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران،: ۵۲-۴۶ و ۲۱۷-۱۹۷.
- ۳- علوی، س.ا. (۱۳۸۴): مایکوتوکسین‌ها در کشاورزی و امنیت غذایی، (ترجمه)، تألیف: کوشال کی، س. و دیپاک ب.، جلد اول، انتشارات نشر علوم کشاورزی کاربرد،: ۳۸۶-۳۸۰.
- ۴- علوی، س.ا. (۱۳۸۴): مایکوتوکسین‌ها در کشاورزی و امنیت غذایی، (ترجمه)، تألیف: کوشال کی، س. و دیپاک ب.، جلد دوم، انتشارات نشر علوم کشاورزی کاربرد،: ۶۷۳-۶۴۴.

مورد استفاده در تهیه این خوراک در کارخانجات و همچنین تنوع سفارشات از شرکت‌های مختلف تولید خوراک ماهیان در استان‌های مختلف، مرتبط باشد. به عبارتی همه مراکز پرورشی استان از یک کارخانه سفارش خوراک نمی‌دهند و گاه عدم کیفیت مقطعی در تولید کارخانه‌ای، و با توجه به این مسئله که همیشه امکان سفارش محصول قبل از اتمام خوراک در انبارها وجود دارد و نیاز به انبارداری طولانی مدت نمی‌باشد (به استناد نظر صاحبان و مدیران مراکز پرورشی)، آن‌ها به خرید و سفارش محصول از کارخانه‌ای دیگر وا می‌دارد. این در شرایطی است که نوع مواد خام کارخانجات تولیدکننده با توجه به موقعیت مکانی و شرایط اقلیمی متفاوت کارخانه، و گاه تفاوت در فرمولاسیون محصول، متفاوت از همدیگر است.

ولی میزان شیوع عامل آفلاتوکسین توتال در کارخانه استان آذربایجان غربی در فصل بهار بیشتر از فصل تابستان می‌باشد و می‌توان ادعا نمود که فصل در میزان شیوع عامل تأثیرگذار بوده است. دلیل تفاوت در این ارتباط در کارخانه خوراک آذربایجان غربی با کارخانجات تهران را می‌توان در این دانست که این تک کارخانه در طول دوره تولید خود از منابع یکسانی استفاده نموده اند که این منابع نیز به تبع فصل از نظر بار آلودگی قارچی و حضور آفلاتوکسین، دچار تغییرات شده است. وجود دما و رطوبت مناسب در فصل بهار در منطقه از طرفی، و از طرف دیگر با توجه به اینکه بیشتر ترکیبات غذایی مستعد آلودگی من جمله ترکیبات پروتئینی (پودر گوشت، پودر خون، پودر ضایعات کشتارگاه، بخش زیادی از غلات و مواد نشاسته‌ای) از خود استان تأمین می‌شود، می‌تواند معنی‌داری ارتباط بین فصل را با میزان حضور آفلاتوکسین، توجیه کند.

بر اساس مطالعات Quine و همکارانش در سال ۱۹۹۴، درحالت کلی برای تولید این سموم نیاز به رطوبت بالاتر از ۱۵ درصد و درجه حرارت حداقل ۲۵ درجه می‌باشد (۱۹). بر اساس مطالعات Gary در سال ۱۹۹۶، برای تشکیل



- 16- Nicholas W. Turner, Sreenath Subrahmanyam and Sergey A. Piletsky (2009): Analytical method for determination of mycotoxins. *Analytica Chimica Acta Journal*. 632 (2),:168-180.
- 17- Phillips T.D., Clement B.A. and Park D.L. (1994): Approaches to reduction of aflatoxin in foods and feeds. In: Eaton D.L., Groopman J.D. eds. *The Toxicology of aflatoxins, Human Health, Veterinary and Agricultural Significance*. San Diego; Academic Press,: 383.
- 18- Quine, P.J.; Carter, M.E.; Morkey, B.K. & Carter, G.R. (1994): *Clinical veterinary microbiology*, 4<sup>th</sup> Edn. W.B. Sanders Company, London,: 421-436.
- 19- Royes, Juli-Anne B. & Yanong, Roy. E. (2002): Molds in fish feeds and aflatoxicosis. From Florida University web site. ([www.floridauniversity.com](http://www.floridauniversity.com))
- 20- Saad, N. (2005): Aflatoxin: occurrence and health risks. From Poisonous plants international database. Cornell university web site. ([www.cornelluniversity.com](http://www.cornelluniversity.com)).
- ۵- مرتضوی، احمد و طباطبایی، فریده (۱۳۷۰)، توکسین‌های قارچی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد،: ۱۶-۵، ۱۰۸-۳۱ و ۱۱۵-۱۵۶.
- ۶- مرتضوی، س.ع.، کاشانی نژاد. م و ضیاء الحق، س.(۱۳۸۴): میکروبیولوژی مواد غذایی، (ترجمه)، تألیف: فریزیر، و. و وستهوف، د.، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد،: ۵۴-۳۳.
- ۷- مرتضوی، س.ع.، معتمدزادگان.ع، اعلمی. م و گوهری اردبیلی. ا. (۱۳۸۲): میکروبیولوژی غذایی مدرن، (ترجمه)، تألیف: جیمز، ام جی، جلد دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد،: ۵۹۲-۵۷۱.
- ۸- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۲): روش جستجو و شمارش قارچ‌ها (کپک‌ها و مخمرها) به روش شمارش پرگنه در ۲۵ درجه سلسیوس،: ۱۰-۹۹۷.
- 9- Bintvihok, A., Ponpornpiti, A., Tangtrongpiros, J., Panichkriangkrai, W., Rattanapanee, R., Doi, K. and Kumagi, S. (2003): Aflatoxin contamination in shrimp feed and effects of aflatoxin addition to feed on shrimp production. *Journal of food Protection*, 66(5): 882-885.
- 10- Cole R.J. (1989): Technology of aflatoxin decontamination. In: Natori S., Hashimoto K., Ueno Y., eds. *Mycotoxins and Phycotoxins* 88. Amsterdam; Elsevier Scientific,: 177.
- 11- Dutta T.K. and Das P. (2001): Isolation of aflatoxigenic strains of *Aspergillus* and detection of aflatoxin B<sub>1</sub> from feed in India. *Mycopathologia Journal*. Springer Netherland. 151(1): 29-33.
- 12- Gary, D.O. (1996): *Toxicology*, 1<sup>th</sup> Edition, Williams and Wilkins, London,: 409-436.
- 13- Humpherys, D. J. (1988): *Veterinary toxicology*, 3<sup>th</sup> Edn. Baillere Tindall, London,: 283- 313.
- 14- Khan, M.J., Renata, U.C., Christine, I. and Bohm, J.(2001): Occurrence of aflatoxins in some common concentrate feeds in bangladesh. *Journal of Bangladesh Veterinarian*. 18(2): 130-135.
- 15- FAO web site: [www.fao.org](http://www.fao.org) , aflatoxins and aflatoxicosis. (Received data : 2005.05.25)