

مطالعه میزان اکراتوکسین A در خوراک ماهی قزل آلاي رنگين کمان (*Oncorhynchus mykiss*) توليد شده در استان چهارمحال و بختياري به روش الايزا

فيروز فدايي فرد^{۱*}، حميد کورنگي^۲، ابراهيم رحيمي^۳، مهدي رئيسي^۱، راحله پيرزاده^۴

۱- دانشگاه آزاد اسلامي، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکي، دانشيار گروه بهداشت و بيماري‌هاي آبزيان، شهرکرد، ايران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامي، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکي، دانش آموخته دامپزشکي، شهرکرد، ايران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامي، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکي، دانشيار گروه بهداشت مواد غذايي، شهرکرد، ايران.

۴- دانشگاه پیام نور اصفهان، مربي گروه صنايع غذايي، اصفهان، ايران.

*نويسنده مسؤل مکاتبات: Fadaeifard@gmail.com

(دريافت مقاله: ۹۱/۴/۱۳ پذيرش نهايي: ۹۲/۴/۵)

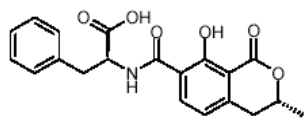
چکيده

اکراتوکسین‌ها از مهمترین میکوتوکسین‌های موجود در برخی از خوراکی‌های 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 ۴ کارخانه تولیدکننده عمده خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نمونه‌برداری به عمل آمد. در هر کارخانه از ۴ اندازه مختلف غذايي و آرد گندم (مجموعاً ۵ نمونه) نمونه‌گیری شد. از هر نمونه سه تکرار گرفته شد. اندازه‌گیری اکراتوکسین A با روش الايزا 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 ۴ 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: قزل‌آلای رنگین‌کمان، اکراتوکسین A، الايزا، غذای ماهی

مقدمه

رژیم غذایی ایجاد می‌شود. حضور اکرآتوکسین در مواد غذایی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مثل ذرت، دانه‌های قهوه، کاکائو و لوبیای سویا در نتیجه آلودگی آنها توسط گونه‌های اسپرژیلوس می‌باشند. اکرآتوکسین A نه تنها 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 ناقص الخلقه‌زایی و سرطان‌زایی نیز دیده شده است (Zaied et al., 2009). همچنین سم مذکور سبب ایجاد تغییرات دژنراتیو در سلول‌های پارانشیم کبدی، از جمله تورم هسته‌ای و سیتوپلاسمی و نکروز لوله‌های پروگزیمال کلیوی می‌شود (Doster et al., 2004).

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



شکل ۱- ساختار شیمیایی اکرآتوکسین A (Storen et al., 1982)

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

سموم قارچی یا میکوتوکسین‌ها 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 میکوتوکسین که توسط حدود ۱۲۰ نوع قارچ ترشح می‌شوند، در طبیعت شناخته شده است. قارچ‌های تولید کننده سم شامل اسپرژیلوس، فوزاریوم، پنی سیلیوم، آلترناریا و کلاویسپس هستند که در بین آنها سموم قارچی آفلاتوکسین‌ها و اکرآتوکسین‌ها 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). اکرآتوکسین A یا Phenylalancarbonyl-Carboxyl-5-Choloro-8-g/mol (شکل ۱)، با وزن مولکولی ۴۰۳/۸۱۳، یک ماده محلول در چربی با قابلیت دفع بالا بوده و در بافت‌های چربی تجمع می‌یابد. این سم از معروف‌ترین میکوتوکسین‌هایی است که به وسیله برخی از گونه‌های قارچی از جمله اسپرژیلوس اکرآتوکسین در مناطق گرمسیری و پنی سیلیوم و رکوزوم و پنی سیلیوم پالیتانز در انبارهای معمولی با دمای محیط (۲۰ تا 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 میکوتوکسین‌های نفروتوکسیک مثل اکرآتوکسین در

مایکوتوکسین‌ها است (El-Sayed et al., 2009). همچنین اثر اکراتوکسین A و دی اکسی نیوالنون بر عملکرد رشد و ایمنی شناختی 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، ۴ و 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 میلی گرم 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 ۴ کارخانه تولید کننده عمده غذای ماهی در استان چهارمحال و بختیاری را شناسایی و از غذای هر

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 اسپرژیلوس 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

کدام در ۴ اندازه آغازین (SFT)، رشد (FFT)، پرواری (GFT) و مولدین (BFT) در ۳ تکرار نمونه برداری شد. با توجه به اینکه در تولید کنسانتره ماهی پرورشی از آرد گندم نیز استفاده می شود 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 کنسانتره های هر کارخانه نیز به طور جداگانه نمونه برداری و برای تعیین میزان سم مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه ها پس از اخذ ابتدا آسیاب شد و از سه نقطه آن حدود ۱۰۰ گرم که به شکل پودر مرطوب و چسبنده ای درآمده بود داخل کیسه های 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 متوقف کننده، بافر استخراج، محلول سوبسترا، محلول کنژوگه (Ochratoxin A-HRPO) و محلول استاندارد (Anti-Ochratoxin A) می باشد. بر اساس توصیه کارخانه سازنده محدوده ردیابی کیت برابر با ۰/۶۲۵ نانوگرم در هر گرم، میزان حساسیت آن ۳۵ پیکوگرم در هر میلی لیتر و متوسط بازیافت آن ۸۶ درصد می باشد.

ابتدا ۳ گرم از هر نمونه به دقت توزین شده و به لوله آزمایش منتقل گردید. سپس به هر کدام از لوله های محتوی نمونه ۵ میلی لیتر 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 میلی لیتر دی کلرومتان به هر لوله آزمایش اضافه و به مدت ۵ دقیقه لوله ها تکان داده شدند. لوله ها به دستگاه سانتریفوژ (مدل Centric 322A، ساخت اسلونی) انتقال و در مدت ۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ گردید که نهایتاً ۳ فاز در محتوی لوله های سانتریفوژ شده تشکیل گردید. بطوریکه فاز زیرین شفاف و شامل دی کلرومتان، فاز وسطی نمونه های 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 لایه رویی (اسید فسفریک) آنرا دور ریخته و لایه زیرین و وسطی را مخلوط کرده و با استفاده از کاغذ صافی، صاف شد. به مایع شفاف زیر نمونه صاف شده، ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراج و ۲ میلی لیتر آن-هگزان اضافه شده و یک دقیقه تکان داده شد. سپس در دور ۲۵۰۰xg به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، هر لوله آزمایش محتوی ۳ لایه مجزای شفاف بود. لایه رویی n-هگزان بوده که آنرا با استفاده از سمپلر برداشته و دور می ریزیم. لایه زیرین و وسطی را مخلوط کرده و برای انجام تست الایزا استفاده می کنیم. سپس بر اساس راهنمای کیت الایزا اکراتوکسین A نمونه های آماده شده به میکروپلیت ۹۶ خانه (۱۲ ردیف در ۸ ستون) منتقل گردید بطوری که در مرحله اول برای چاهک های A1 و B1 فقط از محلول بافر به میزان ۱۰۰ میکرولیتر و برای سایر چاهک ها ۵۰ میکرولیتر محلول بافر، ۵۰ میکرولیتر نمونه، ۲۵ میکرولیتر محلول کنژوگه و ۲۵ میکرولیتر محلول

روش دانکن استفاده شد. در ضمن برای کلیه آزمون‌ها از نرم افزار SPSS 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 ا به صورت مقایسه‌ای و در بین اندازه‌های مختلف غذایی مشاهده نمود.

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 الیزا ریدر در طول موج ۶۳۰ 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

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر سم اکراتوکسین A (میکروگرم در کیلوگرم) در آرد گندم و اندازه‌های مختلف خوراک ماهی در ۴ کارخانه مختلف

نمونه کارخانه	آرد گندم	غذای آغازین (۰/۲ تا ۱/۹ میلی 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	۰/۶۷± ۰/۲۵ ^a	۰/۶۷± ۰/۲۵ ^a	۰/۵۳± ۰/۲۵ ^a
F	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ ^b	۰/۴۰± ۰/۰۱ ^a	۰/۴۰± ۰/۰۱ ^a	۰/۳۳± ۰/۱۵ ^a	۰/۴۶± ۰/۱۵ ^a
K	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ ^a	۰/۹۳± ۰/۳۵ ^a	۰/۵۰± ۰/۱۰ ^a	۰/۳۶± ۰/۰۵ ^a	۰/۷۰± ۰/۴۱ ^a
R	۱۰/۳۳± ۰/۷۵ ^b	۰/۴۶± ۰/۰۵ ^a	۰/۶۶± ۰/۳۷ ^a	۰/۷۰± ۰/۳۰ ^a	۰/۴۳± ۰/۵۷ ^a

* در هر ستون میانگین‌های با حروف غیرمشابه تفاوت معنی‌دار دارند ($p < 0/05$).

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 ($p < 0/05$) 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 ۴ کارخانه استان چهارمحال و بختیاری کمتر از حد مجاز تعریف شده (۵ میکروگرم در کیلوگرم غذا) بود ولی مقدار آن

با توجه به جدول ۱ در مقایسه میزان سم اکراتوکسین A در آرد گندم و اندازه‌های مختلف غذای تولید شده در ۴ کارخانه همانطور که مشاهده می‌شود مقادیر بدست آمده به غیر از آرد تفاوت معنی‌داری در سطح آماری ($p < 0/05$) 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 نهاد نیز اقدام شد که در جدول ۱ مقایسه میزان سم اکراتوکسین در آرد گندم موجود در کارخانه‌های مختلف نیز مشاهده می‌گردد. در مقایسه

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

بحث و نتیجه‌گیری

ماهیان قزل آلابی 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 مسائلی 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 بین‌المللی را می‌طلبد.

تحقیق حاضر با هدف ردیابی سم اکراتوکسین A در خوراک ماهی قزل آلابی رنگین کمان سعی بر اندازه‌گیری و تشخیص میزان حضور سم فوق در غذای مصرفی این ماهیان داشته است. در حال حاضر ماهی قزل آلابی 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 آلابی رنگین کمان در استان چهارمحال و بختیاری انتخاب شد. اکراتوکسین A از معروف‌ترین مایکوتوکسین‌هایی است که به وسیله برخی از گونه‌های قارچی از جمله *آسپرژیلوس اکراسئوس* در مناسق 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 در این جدول مشاهده می‌شود علاوه بر اینکه اختلاف آماری معنی‌داری در سطح اعتماد ($p < 0.05$) 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

سلول‌های پارانشیم کبدی از جمله تورم هسته‌ای و سیتوپلاسمی و نکروز توبول‌های پروگزیمال کلیوی می‌گردد (Doster et al., 2004). اکرآتوکسین A در سخت 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 آرای 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.

با نتایج بدست آمده از سایر محققین مشابه بوده و مؤید تولید سم اکرآتوکسین A در غلات می‌باشد (Juan et al., 2006; Zaid 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 آرای رنگین کمان است. نوسانات کمیتی سم در انواع غذا می‌تواند مقادیر اولیه آن در آرد، شرایط انبارداری، نحوه و زمان نگهداری غذا و شرایط فرآوری خوراک مرتبط باشد. پائین بودن میزان سم اکرآتوکسین A در غذای ماهی منجر به تأمین غذای سالم و نهایتاً ایجاد امنیت غذایی برای مصرف‌کننده نهایی یعنی انسان می‌شود. با توجه به اهمیت بهداشتی سم اکرآتوکسین A در مصرف آبزیان و همچنین انسان، ضروری است که نسبت به رعایت برخی اصول و مقررات بهداشتی اعم از رعایت اصول فرآوری و ساخت 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 اکرآتوکسین 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، اکرآتوکسین A و B باعث ایجاد تغییرات دژنراتیو

منابع

- استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۲۵ (۱۳۸۰). غذای انسان و حیوان، میکوتوکسین‌ها، 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 فروشگاه‌های 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، پنجگی، محمدحسین، مرتضایی، غلامرضا، شجاعی، فریبرز و خوش‌گذران، صادق (۱۳۸۶). میزان شیوع اکراتوکسین A در برنج عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران در سال ۸۶، مجله تغذیه و علوم غذایی، دوره ۲، صفحه ۵۳ تا ۵۶.
- Aldred, D., Cairns-Fuller, V. and Magan, M. (2008). Environmental Factors Affect Efficacy of some Essential Oils and Resveratrol to Control Growth and Ochratoxin A Production by *Penicillium Verrucosum* and *Aspergillus Westerdiijkiae* 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. *International Journal of Food Microbiology*, 126: 83-85.
- Leong, Y.H., Ismail, N., Latif, A.A. and Ahmad, R. (2010). Short Communication: Aflatoxin Occurrence in Nuts and Commercial 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.

-
- Masoud, W. and Kaltoft, C.H. (2006). The Effect of Yeasts Involved in the Fermentation of Coffea Arabica in East 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.

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)

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