

بررسی وجود مالاشیت گرین در گوشت ماهیان پرورشی، قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) در مناطق شمال، جنوب، هراز و شهرکرد

فرزانه السادات متفقی^{۱*}، ایرج جوادی^۱، سید کمال الدین علامه^۲

farzaneh.motafeghi@gmail.com

۱- گروه سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاداسلامی واحد شهرضا، اصفهان، ایران
۲- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان،
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶

چکیده

مالاشیت گرین (MG) ضد عفونی کننده قوی جهت درمان حملات قارچی در ماهیان است و برای انسان بسیار خطرناک می باشد. در مطالعه حاضر، کیفیت گوشت ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و کپور (*Cyprinus carpio*) از نظر حضور و یا عدم حضور مالاشیت گرین در آن مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۸ تیمار با میانگین وزن ۰/۵ kg و ۱، مورد آزمایش قرار گرفتند که هر تیمار شامل ۴ بار تکرار و هر تکرار شامل ۵ نمونه ماهی بوده است. ماهی قزل آلائی رنگین کمان از ۲ منطقه هراز و شهرکرد و ماهی کپور از ۲ منطقه شمال و جنوب تهیه شدند. نمونه ها از زیر باله پشتی جدا و میزان MG در گوشت ماهیها با روش ELISA اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان MG در گوشت ماهی قزل آلائی رنگین کمان منطقه هراز، با وزن ۰/۵ kg برابر ۰/۳۹۱-۰/۱۳۹ mg/kg و وزن ۱ kg، ۰/۴۷۷-۰/۳۶۷ mg/kg می باشد. میزان MG در گوشت ماهی قزل آلائی رنگین کمان منطقه شهرکرد، با وزن ۰/۵ kg برابر ۰/۶۸۰-۰/۴۶۸ mg/kg و در وزن ۱ kg، ۰/۵۲۹-۰/۲۸۱ mg/kg اندازه گیری گردید. میزان MG در گوشت ماهی کپور منطقه شمال، با وزن ۰/۵ kg برابر ۰/۳۳۸-۰/۳۳۰ mg/kg و در وزن ۱ kg، ۰/۴۸۴-۰/۳۲۹ mg/kg بدست آمد. میزان MG در گوشت ماهی کپور منطقه جنوب وزن ۰/۵ kg برابر ۰/۴۱۴-۰/۳۱۸ mg/kg و در وزن ۱ kg، ۰/۳۳۴-۰/۲۹۸ mg/kg اندازه گیری گردید. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل گردید و نشان داد که تفاوت معنی داری بین میزان MG در ماهی قزل آلائی در اوزان ۰/۵ kg و ۱ هر منطقه وجود ندارد، ولی ماهی ۰/۵ kg هراز با ماهی ۰/۵ kg شهرکرد تفاوت معنی داری نشان دادند ($p < 0.05$) و تفاوت معنی داری در میزان MG موجود در گوشت ماهی ۱ kg دو منطقه هراز و شهرکرد مشاهده نشد ($p > 0.05$)، همچنین میزان MG در ماهیان کپور در وزن های ۰/۵ و ۱ کیلوگرمی در هر دو منطقه شمال و جنوب تفاوت معنی داری ندارند ($p > 0.05$)

لغات کلیدی: مالاشیت گرین، ماهی قزل آلائی رنگین کمان، ماهی کپور

*نویسنده مسئول

مقدمه

طی سال های گذشته از مالاشریت گرین به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده موثر به منظور کنترل و درمان حملات قارچی، عفونت های تک یاخته ای و انگلی در ماهیان پرورشی (گرمابی و سردآبی) استفاده شده است و نقش مهمی در کنترل بیماریهای پوستی دارد (Hidayah, et al., 2013; Yousheng et al., 2015). مالاشریت گرین برای ماهی نیز بسیار سمی بوده و غلظت کشنده و درمانی آن بسیار به هم نزدیک است و پیشرفت مسمومیت بسیار سریع و گسترده می باشد (Sudova et al., 2007).

شاید عمده ترین و عینی ترین اثر مالاشریت گرین در ماهیان و آبی پروری، اثرات این ماده در مهار آنزیم تنفسی تیول دار میتوکندری باشد که به همین علت از آن به عنوان یک سم تنفسی یاد می گردد که باعث بروز اختلالات تنفسی و خفگی در ماهیان می باشد. این ماده قادر است بسیاری از آنزیم های بدن انسان و حیوانات آزمایشگاهی نظیر گلوکوتایون ترانسفراز، تیروئید پراکسیداز انسانی و را نیز مهار کند (پیغان و همکاران، ۱۳۸۵). مالاشریت گرین پس از جذب در بافت های بدن ماهی به لکومالاشریت گرین احیا می شود که یک ماده ی چربی دوست می باشد و دارای خاصیت ماندگاری طولانی در بافت ها بوده (بیش از ۱۰ ماه) و بیشتر خواص سمی آن را به این متابولیت احیا شده نسبت می دهند (Hidayah, et al., 2013; Gurmit et al., 2011; Yousheng et al., 2015).

استفاده از مالاشریت گرین به ویژه فرم کاهش یافته ی آن خطر بالقوه ایی را برای سلامتی انسان ایجاد می کند زیرا این ماده سرطان زا و جهش زا است. (Hidayah et al., 2013) این ماده همچنین می تواند موجب اختلالاتی نظیر شکستگی و به هم چسبیدگی کروموزوم ها شود (کوشا و همکاران، ۱۳۹۴).

سمیت مالاشریت گرین به پارامتر های مختلفی بستگی دارد از جمله ، مقدار pH ، مدت زمان در معرض قرار گرفتن ماهی در برابر مالاشریت گرین، افزایش دما و غلظت مالاشریت گرین (Subova et al., 2007).

بنابر دلایل گزارش شده، مصرف مالاشریت گرین مورد تایید اداره نظارت بر دارو و غذای آمریکا (FDA) قرار نگرفته است و مصرف آن از سال ۱۹۹۱ در اغلب نقاط دنیا ممنوع اعلام شده است (صدیقی و همکاران ۱۳۹۴ Dong et al., 2013; Hidayah et al., 2014).

به همین دلیل یکی از اهداف انجام این آزمایش بررسی سلامت گوشت ماهیان پرورشی و توصیه به منظور جایگزینی مواد غیر سمی کم خطر به جای مالاشریت گرین می باشد.

مواد و روش کار

روش تهیه نمونه

در مرداد ماه ۹۶ از بازار ماهی فروشان تهران، ماهیان قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن نیم کیلوگرم، که از شهر هراز تامین می شدند، تهیه شد. در شهر اصفهان از بازار مرکزی ماهیان قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزن یک کیلوگرم که از مزارع شهرکرد تامین می شدند، تهیه شدند. از بازار ماهی فروشان شهر قم ماهیان کپور که از مزارع شمال و جنوب ایران تامین می شدند، خریداری شد. سپس، میزان ۲۰ گرم از گوشت زیر باله پشتی ماهیان مختلف برداشته و مجموعاً ۸ تیمار آماده کرده، که هر تیمار شامل ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۵ ماهی بوده است و نمونه ها به ظرف نگهداری منتقل گردید و به آزمایشگاه منتقل شدند.

آماده سازی نمونه

نمونه های مربوط به هر تکرار (۴ قطعه) را در داخل مخلوط کن ریخته شد و آسیاب گردید، تا مخلوط یکنواختی بدست آید. از مخلوط حاصل، ۲ گرم برداشته شد و به همراه ۲ میلی لیتر آب به یک لوله حاوی ۴ میلی لیتر محلول NaCl دو مولار و محلول PBS اضافه گردید و سپس به مدت یک دقیقه ورتکس گردید. در مرحله بعد، ۲ میلی لیتر محلول HCl یک مولار اضافه شد و به مدت یک دقیقه ورتکس گردید. پس از آن، در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در این مرحله دو لایه تشکیل

شد که از محلول زیر لایه چربی ۴ میلی لیتر برداشته و در داخل لوله آزمایش ریخته و ۵ میلی لیتر دی کلرو متان به آن اضافه گردید. محلول حاصل را به مدت یک دقیقه تکان داده شد، سپس با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. لایه بالایی خارج شد و ۳ میلی لیتر از فاز دی کلرو متان برداشته شد و در لوله شیشه ای ۱۰ میلی لیتری ریخته شد و در ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا تبخیر صورت گیرد. باقیمانده ی رسوب در ۲۵ میکرولیتر اتانول ۱۰۰٪ حل شد و ورتکس گردید. سپس، ۵۷۵ میکرولیتر از بافر نمونه رقیق شده، اضافه شد و در آخرین مرحله به مدت ۳ دقیقه ورتکس انجام گردید. در پایان، برای انجام آزمون الایزا ۵۰ میکرولیتر از محلول مذکور استفاده شد. کلیه مراحل یاد شده، برای نمونه های گوشت ماهی قزل آالی رنگین کمان انجام گردید. (Gurmit *et al.*, 2011)

روش انجام آزمون ELISA

آزمون الایزا توسط دستگاه الایزا ریدر (مارک بایوهیت آمریکا مدل ELX ۸۰۰) و با استفاده از کیت ۹۶ خانه ایی ساخت شرکت EuroProxima B.V- code (5161MG/LMG1p.) انجام شده است.

برای انجام آزمون الایزا ابتدا ۱۰۰ μ l از sample dilution buffer را در خانه های A1/A2 و blank و ۵۰ μ l از sample dilution buffer را در خانه های B1 / B2 و ۵۰ μ l از محلول های استاندارد در خانه های C1,2 تا H1,2 و ۵۰ μ l از محلول نمونه ها را در خانه ها پپیت شد و بعد از آن ۲۵ μ l از کنژوگه (مالاویت گرین HPR) در تمامی خانه ها به جز A1 و A2 و ۲۵ μ l از آنتی بادی تهیه شده در تمامی خانه ها به جز A1 و A2 اضافه کرده، سپس روی پلیت را پوشانده برای چند ثانیه تکان دهید. بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در یخچال ۴ درجه سانتی گراد انکوباسیون شد. بعد از ۳۰ دقیقه کیت را خارج کرده و سپس ۳ مرتبه با Rinsing B شستشو شد. ۱۰۰ μ l از سوبسترا را در هر خانه اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد) انکوباسیون کرده و در مرحله ی آخر ۱ μ l

محاسبه نتایج

جذب نوری استاندارد ها و نمونه ها را به کمک دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ nm صورت گرفت. با استفاده از میانگین جذب نوری استاندارد ها و غلظت معلوم آنها نموداری نقطه در نقطه رسم گردید. به این صورت که جذب نوری استاندارد ها را روی محور عمودی و غلظت آنها را روی محور افقی برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد به دست آمد . نقاط به دست آمده را به یکدیگر وصل شد تا منحنی استاندارد رسم شود. میانگین جذب نوری برای هر نمونه به دست آمد و روی محور عمودی محل آن را مشخص گردید. نقطه مذکور توسط خطی به منحنی وصل شد به طوریکه خط بر محور عمودی کاملاً عمود بود و بعد از محل تلاقی خط و منحنی، خطی عمود بر محور افقی رسم گردید. نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان داد .

آنالیز آماری

داده های به دست آمده ابتدا در نرم افزار اکسل ویرایش و سپس با استفاده از نرم افزار آماری SAS(Statistical Analysis System) تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین ها از طریق آزمون های LSD و دانکن در سطح اطمینان $p < 0.05$ انجام شد (SAS.,1990).

نتایج

جدول ۱ کمترین و بیشترین مقدار مالاویت گرین در نمونه های گوشت ماهی قزل آالی رنگین کمان با توجه به وزن و محل نمونه برداری را نشان می دهد. کمترین و بیشترین میزان مالاویت گرین اندازه گیری شده از ماهیان منطقه هراز برابر ۰/۱۳ میلی گرم در کیلوگرم مربوط به نمونه های نیم کیلوگرمی و ۰/۴۷ میلی گرم در کیلوگرم مربوط به نمونه های یک کیلوگرمی بوده است.

جدول ۲: کمترین و بیشترین میزان مالاشریت گرین (میلی گرم در کیلوگرم) اندازه گیری شده در گوشت ماهی کپور

Table 2: Minmum and Maximum amount of MG(mg/kg) in Carp.

ردیف	نوع ماهی	منطقه پرورش	وزن ماهی (کیلوگرم)	میزان جذب (mg/kg)
۱	کپور	شمال	۱	۰/۳۲۹ - ۰/۴۸۴
۲	کپور	شمال	۰/۵	۰/۳۳۰ - ۰/۳۹۳
۳	کپور	جنوب	۱	۰/۲۹۸ - ۰/۳۳۴
۴	کپور	جنوب	۰/۵	۰/۳۱۸ - ۰/۴۱۴

جدول ۳ نتایج مربوط به مقایسه آماری بین تیمارهای مختلف را نشان می دهد. بر این اساس، میزان مالاشریت گرین در نمونه های گوشت ماهی قزل آلی رنگین کمان در اوزان نیم و یک کیلوگرمی منطقه هراز تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. همین نتیجه برای منطقه شهرکرد مشاهده شد. مقایسه غلظت مالاشریت گرین بین تمام نمونه های دو منطقه هراز و شهرکرد و دو وزن نیم و یک کیلوگرمی نشان داد که فقط تیمار نیم کیلوگرمی منطقه هراز با یک کیلوگرمی منطقه شهرکرد تفاوت معنی دار داشتند ($p < 0.05$) و در سایر مقایسات تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۳: مقایسه میزان مالاشریت گرین (میلی گرم در کیلوگرم) در گوشت ماهیان قزل آلی رنگین کمان با میانگین وزن نیم و یک کیلوگرمی و در دو منطقه هراز و شهرکرد

Table 3: Comparison of MG (mg/kg) in Rainbow trout meat with an average weight of 1 ,0.5 kg in two region Haraz and Shahrekord

شماره تیمار	نوع تیمار	میزان مالاشریت گرین* (mg/kg)
۱	قزل آلا نیم کیلوگرمی هراز	۰/۳۰۱ ± ۰/۰۸۷ ^b
۲	قزل آلا نیم کیلوگرمی شهرکرد	۰/۵۴۲ ± ۰/۱۱۹ ^a
۳	قزل آلا یک کیلوگرمی هراز	۰/۴۰۸ ± ۰/۰۵۹ ^{ab}
۴	قزل آلا یک کیلوگرمی شهرکرد	۰/۳۹۲ ± ۰/۱۲۶ ^{ab}

*اعدادی که حرف مشابه دارند یعنی تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند ($p > 0.05$)

این مقادیر برای نمونه های منطقه شهرکرد (کمترین و بیشترین) بترتیب برابر ۰/۲۸ (از نمونه های یک کیلوگرمی) و ۰/۶۸ (از نمونه های نیم کیلوگرمی) میلی گرم در کیلوگرم اندازه گیری گردید. مقایسه بین تمام تیمارها نشان داد که کمترین میزان مالاشریت گرین به قزل آلی رنگین کمان نیم کیلوگرمی منطقه هراز و بالاترین غلظت به ماهی نیم کیلوگرمی منطقه شهرکرد اختصاص دارد.

جدول ۱: کمترین و بیشترین میزان مالاشریت گرین (میلی گرم در کیلوگرم) اندازه گیری شده در گوشت ماهی قزل

آلی رنگین کمان

Table 1: Minmum and Maximum amount of MG (mg/kg) measured in Rainbow trout.

تیمار	نوع ماهی	منطقه پرورش	وزن ماهی (کیلوگرم)	میزان جذب (mg/kg)
۱	قزل آلا	هراز	۱	۰/۳۶۷ - ۰/۴۷۷
۲	قزل آلا	هراز	۰/۵	۰/۱۳۹ - ۰/۳۹۱
۳	قزل آلا	شهرکرد	۱	۰/۲۸۱ - ۰/۵۲۹
۴	قزل آلا	شهرکرد	۰/۵	۰/۴۶۸ - ۰/۶۸۰

جدول ۲ کمترین و بیشترین مقدار مالاشریت گرین در نمونه های گوشت ماهی کپور با توجه به وزن و محل نمونه برداری را نشان می دهد. کمترین و بیشترین میزان مالاشریت گرین اندازه گیری شده از ماهیان منطقه شمال برابر ۰/۳۲ میلی گرم در کیلوگرم و ۰/۴۸ میلی گرم در کیلوگرم مربوط به نمونه های یک کیلوگرمی بوده است. این مقادیر برای نمونه های منطقه جنوب (کمترین و بیشترین) به ترتیب برابر ۰/۲۹ (از نمونه های یک کیلوگرمی) و ۰/۴۱ (از نمونه های نیم کیلوگرمی) میلی گرم در کیلوگرم اندازه گیری گردید. مقایسه بین تمام تیمارها نشان داد که کمترین میزان مالاشریت گرین به کپور یک کیلوگرمی منطقه جنوب و بالاترین غلظت به ماهی یک کیلوگرمی منطقه شمال اختصاص دارد.

کرد (با بیشترین غلظت مالاشیت گرین در گوشت) بود. همچنین گوشت ماهیان کپور با میانگین وزن نیم کیلوگرمی از منطقه شمال، میزان مالاشیت گرین کمتری نسبت به نمونه های با میانگین وزن یک کیلوگرمی همان منطقه دارا بودند، ولی در ماهیان منطقه جنوب مشاهده شد که نمونه های با میانگین وزن نیم کیلوگرمی مقادیر بالاتری از غلظت مالاشیت گرین در گوشت را نشان دادند. براین اساس، مقایسه آماری نیز بیانگر عدم تفاوت معنی دار بین تیمارهای یک کیلوگرمی منطقه جنوب (با کمترین میزان مالاشیت گرین در گوشت) با یک کیلوگرمی منطقه شمال (با بیشترین غلظت مالاشیت گرین در گوشت) بود. بنابراین، وزن نمی تواند عامل تعیین کننده ای از نظر غلظت مالاشیت گرین در گوشت ماهی باشد و عوامل مختلفی می تواند هم بر تجمع آن در بافت های ماهی و هم بر میزان سمیت و تبدیل آن به لکومالاشیت تاثیر گذارد. گزارش شده است، زمانی که مالاشیت گرین وارد بافت عضلانی ماهی می شود، حدود ۹۰ درصد آن به صورت لکومالاشیت انباشته می گردد و تا مدت زمان زیادی در عضله باقی می ماند. در این راستا، عواملی از قبیل غلظت مالاشیت گرین در آب، مدت زمان در معرض قرار گرفتن ماهی با این ماده، مواد آلی موجود در آب، یون ها، دما و مقدار pH تاثیرگذار می باشند (Subova et al., 2007).

همچنین، صادقی و همکاران (۱۳۹۳) نتیجه بررسی وجود باقیمانده مالاشیت گرین در گوشت ماهی قزل آلی رنگین کمان را مثبت و میزان آن را از ۰/۴۵۹-۱۱/۹۸۵ میلی گرم در کیلوگرم گزارش کردند. خدابخشی و همکاران (۱۳۹۳)، مقدار مالاشیت گرین تجمع یافته در بافت ماهی قزل آلی رنگین کمان را ۰/۳-۱/۶ میلی گرم در کیلوگرم گزارش نمودند و علت چنین نتیجه ای را مصرف گسترده ی این ترکیب توسط صاحبان مزارع پرورش ماهی دانسته اند. در مطالعه حاضر هم، چون در وزن یکسان از ماهیان قزل آلی رنگین کمان در مناطق هراز و شهرکرد، و ماهی کپور در مناطق شمال و جنوب غلظت های متفاوتی از ذخیره مالاشیت گرین در گوشت مشاهده شده است، به نظر می رسد مناطق پرورش ماهی به دلیل دارا

جدول ۴ نتایج مربوط به مقایسه آماری بین تیمارهای مختلف را نشان می دهد. بر این اساس، میزان مالاشیت گرین در نمونه های گوشت ماهی کپور در اوزان نیم و یک کیلوگرمی منطقه شمال تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. همین نتیجه برای منطقه جنوب مشاهده شد.

جدول ۴: مقایسه میزان مالاشیت گرین (میلی گرم در کیلوگرم) در گوشت ماهیان کپور در دو وزن نیم و یک کیلوگرمی و در دو منطقه شمال و جنوب ایران

Table4: Comparison of MG (mg/kg) in Carp meat with an average weight of 1, 0.5 kg in two region North and South of Iran

شماره تیمار	نوع تیمار	میزان مالاشیت گرین* (mg/kg)
۱	کپور نیم کیلویی شمال	۰/۳۷۰ ^b
۲	کپور نیم کیلویی جنوب	۰/۳۷۳ ^b
۳	کپور یک کیلویی شمال	۰/۴۰۴ ^{ab}
۴	کپور یک کیلویی جنوب	۰/۳۲۲ ^b

* اعدادی که حرف مشابه دارند یعنی تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند ($p > 0.05$)

بحث

به طور کلی، نتایج نشان داد که تمام نمونه های ماهی قزل آلی رنگین کمان در دو منطقه هراز و شهرکرد و نمونه های ماهی کپور در دو منطقه شمال و جنوب با میانگین وزن نیم و یک کیلوگرمی آلوده به مالاشیت گرین می باشند و تنها در میزان انباشتگی این ماده در گوشت تفاوت دارند. گوشت ماهیان قزل آلی رنگین کمان با میانگین وزن نیم کیلوگرمی از منطقه هراز، میزان مالاشیت گرین کمتری نسبت به نمونه هایی با میانگین وزن یک کیلوگرمی همان منطقه دارا بودند، ولی در ماهیان منطقه شهرکرد مشاهده شد که نمونه های با میانگین وزن نیم کیلوگرمی مقادیر بالاتری از غلظت مالاشیت گرین در گوشت را نشان دادند. براین اساس، مقایسه آماری نیز بیانگر تفاوت معنی دار بین تیمارهای با میانگین وزن نیم کیلوگرمی منطقه هراز (با کمترین میزان مالاشیت گرین در گوشت) با نیم کیلوگرمی منطقه شهر

پرورش، کیفیت آب استخرهای پرورشی، اندازه گیری دمای آب، pH و اندازه گیری غلظت مالاشیت گرین در گوشت ماهی قزل آلی رنگین کمان و کپور در اوزان مختلف در دستور کار قرار گیرد. همچنین، جایگزین کردن مواد گیاهی و یا مواد شیمیایی کم خطر با مالاشیت گرین می تواند راه حل مناسبی محسوب گردد.

نتایج بدست آمده از این آزمایش حاکی از آن است که کلیه ماهیان مورد بررسی به مالاشیت گرین آلوده بوده اند، با توجه به این که مصرف مالاشیت گرین تهدیدی برای سلامتی انسان محسوب می گردد، پیشنهاد می شود علاوه بر ارتقای مدیریت بهداشت مزارع پرورش ماهی از مواد جایگزین از قبیل گیاه آویشن، اسانس اکالیپتوس، گیاه بلوط، آلویتا، اسید هیومیک، سولفات مس، پرمنگنات پتاسیم، پراکسید هیدورژن استفاده گردد.

منابع

باقری، م.، فروزان، م.، طالبی، م.، کرمی، م.، منصوری، پ.، ۱۳۹۶. مقایسه پارامترهای رودخانه های صمصامی و دیناران با استاندارد های کیفی آب برای پرورش ماهی. مجله علمی شیلات ایران. ۲۶(۴). ۲۵-۳۵

بیغان، ر.، مصباح، م.، راسخ، ع.، محمدی، م.، ۱۳۸۵. بررسی اثر حمام تخم ها با مالاشیت گرین در ایجاد ناهنجاری و تغییرات ظاهری در لارو های ماهی کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله علوم دانشگاه شهید چمران اهواز. شماره ۵۱. قسمت ب. ۴۵-۵۸

خدابخشی، ع.، امین، م.، وحید دستجردی، م.، قاسمیان، م. و ابراهیمی، ا. ۱۳۹۳. تعیین مقدار مالاشیت سبز در پساب خروجی و بافت ماهیان مزارع پرورش ماهی استان چهارمحال و بختیاری. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۱۶(۴). ۱۸۹-۱۹۶

سلطانی، م.، اسفندیاری، م.، خضرائی نیا، س. و سجادی میر، م. ۱۳۸۸. ارزیابی اثرات اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان تفریح تخم قزل آلی رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) و درصد بقاء لارو آن در مقایسه با آب اکسیژنه و

بودن کیفیت آب و هوایی مختلف و یا عواملی از قبیل سلامت بچه ماهی در شروع پرورش و نیز میزان مدیریت بهداشت در دوران تکثیر از نظر آلودگی به قارچ و احتمالا مصرف بیش از اندازه مالاشیت گرین جهت قارچ زدایی تاثیر داشته باشند. کیفیت آب رودخانه های پرورش ماهی هم یکی از دلایل مهمی قابل توجه است همانطور که در مطالعه ای که باقری و همکارانش (۱۳۹۶) بر کیفیت آب رودخانه های پرورش ماهی انجام دادند دریافتند که، میزان مالاشیت گرین در ایستگاه های مختلف رودخانه ایی متغییر بوده و مقدار آن در برخی ایستگاهها از حد مجاز فراتر بوده است.

به طور کلی می توان گفت، در تیمارهایی که میزان مالاشیت گرین اندازه گیری شده بیشتر بوده است، بیانگر وجود آلودگی قارچی بیشتر و مصرف بیشتر این ماده توسط تولید کننده بوده است. مصرف مالاشیت گرین می تواند در زمان تکثیر و تولید بچه ماهی و یا طی دوران تولید ماهی پروری و یا حتی در هر دو مرحله اتفاق افتد. علاوه براین، استفاده مکرر از این ماده و یا مصرف بیش از حد متعارف، میزان انباشتگی مالاشیت گرین در بافت های مختلف ماهی را تحت تاثیر قرار می دهد (Srivastava et al., 2004). به هر حال، با توجه به غیر مجاز بودن مصرف مالاشیت گرین برای ماهیان پرورشی، وجود آن در گوشت ماهی برای سلامتی انسان بسیار تهدید آمیز خواهد بود. به دلیل خطرناک بودن مصرف مالاشیت گرین، برخی مطالعات به منظور یافتن جایگزین مناسب برای این ماده انجام شده است. در این راستا، سلطانی و همکاران (۱۳۸۸) از آب اکسیژنه و آویشن، محمد پور و همکاران (۱۳۹۱) از سان اگز، کیخا و همکاران (۱۳۹۴) از عصاره سماق به جای مالاشیت گرین استفاده کردند و جایگزین مناسبی برای مالاشیت گرین پیشنهاد نمودند.

این نکته بسیار حایز اهمیت که نظارتی کامل و هدفمند بر روی مصرف و استفاده از این ماده سمی و خطرناک انجام شود تا از صدمات و خسارات جبران ناپذیر آن جلوگیری به عمل آورد و گام موثری در پیشگیری از شیوع بیماری های خطرناک و ناعلاج برداشته شود. بنابراین پیشنهاد می شود توجه به بهداشت مزارع تکثیر و

- Chemical* 62(34): 8752–8758.
DOI: 10.1021/jf5019824
- Gurmit, S., Terence, K., Jean-Marc, G., Michael, A., Beth, B., Huet, A.H., Caroline, Ch., Philippe, D. and Benrejeb Godefro, S., 2011.** Design and characterization of a direct ELISA for the detection and quantification of leucomalachite green - *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess-* 28(6): 731–739.
DOI: 10.1080/19440049.2011.567360
- Hidayah, N., Abu Bakar, F., Mahyudin, N.A., Faridah, S., Nur-Azura, M.S. and Zaman, M.Z., 2013.** Detection of malachite green and leuco-malachite green in fishery industry. *International Food Research Journal*. 20(4): 1511-1519
- SAS. 1990.** STAT Users Guide, Release 6.03. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Srivastava, S., Sinha, R. and Roy, D., 2004.** Toxicological effects of malachite green. *Aquatic Toxicology*. 66(3):319-29.
DOI:10.1016/j.aquatox.2003.09.008
- Sudova, E., Machova, J., Svobodova, Z. and Vesely ,T. 2007.** Negative effects of malachite green and possibilities of its replacement in the treatment of fish egg and fish: a review. *Veterinarni Medicina* .52/2007(12): 527-53.
- Yousheng ,J., Li ,C., Kun ,H., Wenjuan ,Y., Xianle ,Y. and Liqun ,L.2015.** Development of a Fast ELISA for the Specific Detection of both Leucomalachite Green and Malachite Green. *Journal of Ocean University of China*. Vol. 14, Iss. 2: 340-344. DOI:10.1007/s11802-015-2407-5
- مالاشیت گرین . مجله تحقیقات دامپزشکی. ۶۳(۲): ۱۳۴-۱۲۷.
- صادقی، ب.، فلاح مهرجردی، ع. و ساعی دهکردی، س. ۱۳۹۳. بررسی باقیمانده مالاشیت گرین در ماهی قزل آلاهی پرورشی استان همدان . پایان نامه، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری . دانشگاه شهرکرد . دانشکده دامپزشکی
- صدیقی، آ.، سوداگر، م.، هاشمی، م. ، حسینی ص.، ۱۳۹۴. مقایسه اثر ضد قارچی نانو ذره اکسید روی ZnO با مالاشیت گرین بر قارچ ساپروولگنیا. مجله بهره برداری و پرورش آبزیان، ۴ (۱). ۲۹-۳۸
- کوشا م، فرهادیان ا، درافشان س ، محبوبی صوفیانی ن. ۱۳۹۴ . بررسی سینتیک و ماهیت جذب مالاشیت گرین توسط ریز جلبک های سبز - مجله آب و فاضلاب - شماره ۳. ۳۷-۵۰
- کیخا، س.، قرائی، ا.، میردادهرجانی، ج.، غفاری، م.، راهداری، ع. ۱۳۹۴. بررسی اثر ضد قارچی عصاره متانولی میوه سماق طی دوره انکوباسیون تخم ماهی سفیدک سیستان (*Schizothorax zarudnyi*) . مجله تحقیقات دامپزشکی ۷۰(۲). ۱۳۱-۱۳۷
- محمد پور، م.، گندمکار، ح.، راستیان نسب، ا.، کاظمی، ا.، مهدوی ج. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه ایی اثر سن اگز و سبز مالاشیت در پیشگیری و درمان آلودگی قارچی تخم قزل آلاهی رنگین کمان *Onchorhynchus mykiss*. مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی . ۴ (۱) . واژه نامه ۱. صفحه ۱۴۱
- Dong, J.X. , Chao X.u, Hong Wang, Zhi-Li Xiao, Shirley J. Gee, Zhen-Feng Li, Feng Wang, Wei-Jian Wu, Yu-Dong Shen, Jin-Yi Yang, Yuan-Ming Sun and Bruce D. Hammock, 2014.** Enhanced sensitive immuno assay: noncompetitive phage anti-immune complex assay for the determination of malachite green and leucomalachite green - *J Agric Food*

Investigation of Malachite green existence in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common Carp (*Cyprinus carpio*) flesh in the area of North and South of Iran, Haraz and Shahr e Kord

Motafeghi, F.S.^{1*}; Javadi, I.¹; Allameh, S.K.²,

*farzaneh.motafeghi@gmail.com

1- Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Islamic Azad University, Shahreza, Isfahan, Iran

2-Animal Science Research Department, Isfahan Agriculture and Natural Resources and Education Center, AREEO, P.O.Box: 81785-199, Isfahan, Iran

Abstract

Malachite green is a very effective disinfectant that usually uses for fungal invasive and parasite treatments in fish, but is very dangerous for human health. The present study evaluated the existence of Malachite green in rainbow trout and common Carp, flesh. Eight treatments which included two mean weights (0.5 and 1 kg) at the four of (Haraz, Shahrekord, north of Iran and south of Iran) with triplicates were used. The fish flesh samples were taken from under dorsal fin. Malachite green was measured by ELISA method after sample preparation. Results showed that malachite green amounts in Rainbow trout of Shahrekord samples were 0.139 – 0.391 mg/kg and 0.367 – 0.477 mg/kg for 0.5 kg fish and 0.367 – 0.477 mg/kg for 1 kg fish. These amounts in Haraz zone fish were 0.468 – 0.680 and 0.281 – 0.529 mg/kg for 0.5 and 1 kg fish, respectively. There was no significant difference in Malachite green concentrations between 0.5 and 1 kg weights in each zone, but significant difference was observed between 0.5 kg fish from Haraz and 1 kg fish form Shahrekord zone ($p < 0.05$). Also, no significant difference was observed for 1 kg fish weights in Haraz and Shahrekord ($p > 0.05$). The Malachite green amounts in Carp North of Iran samples were 0.32-0.48 mg/kg and 0.330-0.393 mg/kg for 0.5 kg fish and 0.329-0.484 mg/kg for 1 kg fish. These amounts in south of Iran zone fish were 0.29-0.41 and 0.318-0.414 mg/kg for 0.5 and 0.298 -0.334 for 1 kg fish, respectively. There was no significant difference in malachite green concentrations between 0.5 and 1 kg weights in each zone ($p > 0.05$).

Keywords: Malachite green, Rainbow trout, Common carp

*Corresponding author