CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Aquatic Commons
magiran.com

استخراج و اندازه گیری میزان سم Paralytic Shellfish Poison (PSP) در صدف دریایی خوراکی

حمید رضا شاهمحمدی
h_r_shahmo@yahoo.com
موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۵

چکیده

سم حیاتی Paralytic Shellfish Poison (PSP) که شامل ساکسی توکسین (Saxitoxin) و مشتقات آن می‌باشد به کمک اسید کلریدریک از نوعی دو کفه‌ای خوراکی اسکالوپ صید شده در مناطق ساحلی استان Iwate ژاپن در ۱۹۹۸ استخراج گردید. سمیت این نمونه‌ها به روش آزمایش موشی Mouse Bioassay و HPLC مطابق استاندارد ۱۹۹۰ AOAC در آزمایشگاه بیوشیمی دریایی دانشگاه کیتاساتو اندازه‌گیری شد. تزریق سم استخراجی پس از چند مرحله رقیق‌سازی بر روی موشهای نر استاندارد ۱۹ تا ۲۰ گرمی نژاد ♂ddy strain انجام و زمان مرگ موشها فهرست گردیده و سمیت نمونه‌های سه صیدگاه بترتیب ۳۳/۸۰، ۳۸/۴۰ و ۳۱/۲۰ MU/g یا (۷۷۷، ۸۸۳ و ۷۱۸ µg STX/100g) تعیین شد که در مقایسه با حداکثر مجاز ۸۰µg STX/100g بترتیب ۹/۷، ۱۱ و ۹ برابر است. نوع سم از طریق مقایسه منحنی HPLCبا منحنی سم ساکسی توکسین استاندارد قطعی گردید.

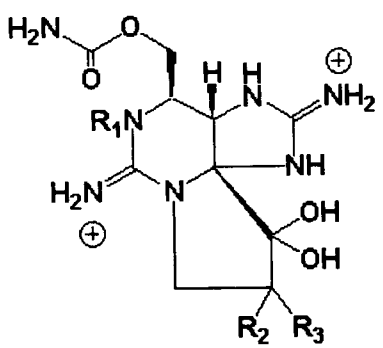
لغات کلیدی: PSP، ساکسی توکسین، اسکالوپ

مقدمه

سموم حیاتی (Biotoxines) از طریق تجمع فیتو پلانکتونهای سمی در بدن نرمتنان صدفدار که معمولاً از طریق فیلتر کردن آب دریا تغذیه می‌کنند، بطور مستقیم و در ماهیها از طریق چرخه غذایی حاصل می‌گردد و انواع شناسایی شده تا این تاریخ عبارتست از (Huss *et al.*, 2004): Tetrodotoxin، در ماهی بادکنکی (Pufferfish) ؛ Ciguatera، ناشی از جلبکهای دریایی که در بیش از ۴۰۰ نوع ماهی گرمسیری از جمله سرخو ایجاد می‌گردد، PSP (Paralytic Shellfish Poison): سم فلج‌کنندهٔ ناشی از صدفداران؛ DSP (Diarrhetic Shellfish Poison): سم اسهال آور ناشی از صدفداران؛ NSP (Neurotoxis Shellfish Poison): سم بوجود آورندهٔ اختلالات عصبی ناشی از صدفداران و ASP (Amnesic Shellfish Poison): سم عامل ایجاد فراموشی ناشی از صدفداران.

بیش از ۲۰ نوع سم PSP (Paralytic Shellfish Poison) شناسایی گردیده است که عمدتاً سم ساکسی‌توکسین Saxitoxin (STX) و مشتقات آن می باشند (شکل ۱) (FDA, 2004).

magiran.com



STX	R_1	R_2	R_3
STX	H	H	H
GTX-II	H	H	OSO_3^-
GTX-III	H	OSO_3^-	H
NeoSTX	OH	H	H
GTX-I	OH	H	OSO_3^-
GTX-IV	OH	OSO_3^-	H

شکل ۱: فرمول ساختمانی سم ساکسی‌توکسین و مشتقات آن

این سم محلول در آب و مقاوم به اسید و حرارت است و لذا می‌تواند از خورده شدن سوپ، بدون گوشت آبزی نیز ایجاد مسمومیت نموده و اعصاب را مختل و فلج نماید. متأسفانه پیشگیری و شناسایی آبزیان آلوده به سموم حیاتی براحتی میسر نیست و از ظاهر آن تشخیص داده نمی‌شود و اغلب پختن، خشک کردن، انجماد و نمک سود کردن هم آنها را بطور کامل از بین نمی‌برد، لذا آزمایش موش متداول‌ترین و HPLC دومین راه تشخیص است (Huss, 1994).

مسمومیت انسانی ناشی از PSP در سراسر جهان ۲۰۰۰ مورد در سال گزارش گردیده که ۱۵ درصد مرگ و میر داشته است (ANZFA, 2001).

وجود PSP علاوه بر صدفها در سایر جانداران دریایی از جمله ماهیها نیز گزارش شده است. با این تفاوت که در این صورت مسمومیت ممکن است موجب مرگ ماهی شود. ماهی ستاره، جمع‌آوری شده در استان هیروشیمای ژاپن در سال ۱۹۹۶ حاوی ۸ MU/g سم در بدن و ۲۸/۸ MU/g در احشاء بوده است (Asakawa *et al.*, 1997). ماهی پافر دریایی در فیلیپین حاوی مقدار قابل توجهی PSP همراه سم تترودو توکسین (TTX) در سال ۲۰۰۰ بود که سم از کبد، گوشت و پوست ماهی جدا گردید (Sato *et al.*, 2000). ماهی ماکرل در کانادا (Castonguay *et al.*, 1997) و نیز ماهی پافر آب شیرین در تایلند از جمله موارد گزارش شده از مسمومیت با PSP هستند (Sato *et al.*, 1997).

هر دو سم PSP و DSP همچنان در ژاپن مسئله‌ساز هستند. هر چند از زمان اجرای سامانه کنترل و نظارت بر سموم نرمتنان در سال ۱۹۷۹ هیچ مسمومیت انسانی ناشی از محصولات عرضه شده در بازار گزارش نگردیده است، اما محققین شیلاتی بصورت دوره‌ای پلانکتونهای مناطق اصلی صید نرمتنان را تحت آزمایش PSP و DSP قرار می‌دهند (Yamamoto & Yamasaki, 1996).

از صدفهای پرورش یافته در مناطق شکوفایی پلانکتونی نیز نمونه‌برداری و به روش موشی آزمایش می‌شوند. وقتی غلظت سم در صدفها بیش از حد مجاز ۴ MU/g برای PSP و ۰/۰۵ MU/g برای DSP باشد، برداشت محصول طبق قانون غیر مجاز اعلام می‌شود و منطقه صید تا زمانیکه آزمایشهای تعیین سم، سه بار پیاپی در سه هفته نمونه‌برداری منفی اعلام نگردد، برای صید بسته خواهد بود (Yamamoto & Yamasaki, 1996).

به دلیل تفاوت‌های زیاد روشها و نتایج حاصل از آزمایشگاههای کنترل سموم حیاتی دریایی در اتحادیه اروپایی، کمیسیون اروپا اقدام به ثبت تعدادی از آزمایشگاهها بعنوان آزمایشگاه مرجع ملی (NRLs) و یک آزمایشگاه مرجع اصلی (CRL) به منظور ایجاد یک شبکه تبادل اطلاعات در خصوص روشهای آنالیز، با هدف استانداردسازی مشخصات نمود.

PSP و DSP دو عامل اصلی ایجاد مسمومیت ناشی از صدفداران در اتحادیه اروپا می‌باشند و تنها مواردی هستند که همراه TTX و CTXs مقررات آن تدوین شده است.

به رغم آنکه تلاشهای زیادی برای جایگزینی روش موشی بعمل آمده اما هنوز آزمایش موشی تنها راه کنترل بهداشتی محسوب می‌شود. روش آزمایش موشی برای PSP مطابق استاندارد "۱۹۹۰ AOAC" متداول‌ترین روش اندازه‌گیری PSP است (Fernandez *et al.*, 1996).

magiran.com

استفاده از کیت‌های آنزیمی (ELISA) Enzyme-linked Immunosorbent Assay نیز برای اندازه‌گیری PSP به منظور جایگزینی روش آزمایش موشی امتحان گردید و نتیجه‌گیری شد که این کیتها نمی‌توانند جایگزین روش موشی برای تعیین سموم نرمتنان شوند (Kasuga *et al.*, 1996).

کاهش سمیت PSP در دو کفه‌ای Oyster از طریق استریلیزاسیون در اتوکلاو و جوشاندن بررسی شد. سم نمونه به هر دو روش آزمایش موشی و HPLC قبل و بعد از عملیات اندازه‌گیری گردید. در نتیجه نشان داده شد اتوکلاو در مقایسه با جوشاندن معمولی با سرعت بیشتر سم را کاهش می‌دهد و این موضوع وقتی موثرتر است که pH نمونه‌ها با NaOH به ۷/۵ رسانده شود. اما در pH = ۳ سمیت به کندی افزایش یا کاهش می‌یابد. استفاده از سدیم بی‌کربنات (NaHCO3) برای افزایش pH، موثرترین ماده برای کاهش سم از طریق اتوکلاو تشخیص داده شد. با این روش در مدت ۵ دقیقه میزان سمیت به کمتر از 5MU/g رسید. اما بدون استفاده از این مواد و تنظیم pH حرارت دهی و اتوکلاو برای از بین بردن و کاهش سمیت موثر نبوده است (Yamaguchi *et al.*, 2001).

بطور کلی، هدف از این تحقیق بررسی وضعیت و میزان آلودگی صدفهای مناطق ساحلی منطقه مورد اشاره به سم PSP و مقایسه آن با استانداردهای جهانی بوده است.

مواد و روش کار

سم PSP از دوکفه‌ای اسکالوپ صید شده در سه نقطه از مناطق ساحلی در استان ایواته ژاپن در سال ۱۹۹۸ استخراج و قدرت سمیت آن به روش آزمایش موش (Mouse Bioassay for PSP toxines) تعیین گردید.

این روش براساس استاندارد ۱۹۹۰ AOAC (IOC of UNESCO 1995a) که پس از آن تاریخ فقط اصلاحات جزئی در آن اعمال گردیده دارای ۴ مرحله زیر بود:

مرحله اول : استاندارد سازی

مرحله دوم : استخراج و آماده سازی نمونه

مرحله سوم : آزمایش موشی

مرحله چهارم : محاسبات تعیین میزان سم

در مورد این آزمایش بترتیب ۳۵۰، ۴۰۰ و ۴۶۰ گرم گوشت اسکالوپ از هر یک از صیدگاههای مختلف منطقه تحت عنوان نمونه‌های یک تا سه استفاده گردید که هر نمونه بترتیب شامل ۵، ۶ و ۷ صدف حدود ۱۰۰ گرمی بود. پس از گرفتن آب نمونه‌ها در الک، در همزن مخلوط شده و ۱۰۰ گرم از هر نمونه در بشر ۲۰۰ میلی‌لیتر ریخته شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال اضافه و با همزن شیشه‌ای همزده شد و بمدت یکساعت اجازه داده شد تا سم در اسید حل گردد. pH با کاغذ تورنسل اندازه‌گیری شد که برابر ۴ بود. بنابراین نیاز به تنظیم pH نبود.

سپس برای آنکه ۵ دقیقه در دمای جوش باشد جمعاً ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم گذاشته شد تا مرحله گرم شدن تا شروع جوش نیز در نظر گرفته شود. سپس حجم آن به کمک اسید کلریدریک به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد به طریق فیلتراسیون ساده با کاغذ فیلتر مواد جامد از مایع تفکیک شده و سم در داخل اسید (فاز مایع) جداسازی گردید.

در مرحله سوم برای آزمایش موش (Mouse Assay) موشهای نر ۱۹ تا ۲۰ گرمی استاندارد نژاد "ddy strain♂" با ضریب تبدیل "CF = 0.23" استفاده شد. ابتدا یک میلی‌لیتر از محلول تهیه شده در عضله زیر شکم، مایل به راست تزریق I.P انجام گردید. موش اول در یک دقیقه و ۵۶ ثانیه مرد که خارج از زمان مناسب ۵ تا ۷ دقیقه است. بنابراین محلول اولیه دارای قدرت سم بالایی است و باید رقیقتر شود. از اینرو ابتدا محلول، ۵ برابر رقیق‌سازی شد. یعنی ۲ میلی‌لیتر محلول اولیه با ۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و دوباره تزریق شد. زمان مرگ مجدداً کمتر از ۵ دقیقه بود. این بار محلول اولیه را ۱۰ برابر رقیق کرده و تزریق روی موشها انجام گردید. برای هر نمونه، تزریق روی ۵ تا ۸ موش انجام شد و در نهایت زمانهای بدست آمده با کرنومتر مخصوص اندازه‌گیری و بترتیب از کمترین زمان به بیشترین زمان مطابق جدول ۱ تنظیم گردید.

برای اطمینان از نوع سم از روش کروماتوگرافی نیز استفاده شد. در این آزمایشگاه ۳ دستگاه HPLC (High Performance Liquid Chromatography) که به تجهیزات جانبی مورد نیاز برای سه نوع سم STX و GTX و C-Toxin تجهیز شده بود، وجود داشت. ابتدا مقدار کمی سم STX استاندارد FDA، یک میلی گرم در ۲۰ درصد الکل که در اختیار بود به دستگاه تزریق و منحنی مربوطه به حافظه دستگاه سپرده شد و بعد نمونه‌های بدست آمده مطابق توضیحات بعدی به دستگاه تزریق و منحنی حاصله با منحنی STX استاندارد مقایسه گردید (IOC of UNESCO 1995b).

magiran.com

نتایج

مطابق جدول ۱، میانه زمان مرگ هر نمونه بترتیب برابر با ۵:۴۱ = ۲ / (۵:۴۰+۵:۴۲)، ۵:۰۱ و ۶:۱۰ دقیقه می‌باشد که واحد موشی معادل آنها براساس جدول Sommer (IOC of UNESCO 1995a) بترتیب برابر با ۱/۶۹، ۱/۹۲ و ۱/۵۶ واحد موشی (MU) خواهد بود. از آنجا که محلول اصلی ۱۰ برابر رقیق شده و از طرفی ۱۰۰ گرم گوشت اسکالوپ به حجم ۲۰۰ سی‌سی رسانده شده بود نتایج بصورت زیر بدست آمد:

$$1.69\ \text{MU/ml} \times 10 \times \frac{200ml}{100gr} = 33.80 \frac{MU}{gr}$$

$$1.92\ \text{MU/ml} \times 10 \times \frac{200ml}{100gr} = 38.40\ \frac{MU}{gr}$$

$$1.56\ \text{MU/ml} \times 10 \times \frac{200ml}{100gr} = 31.20\ \frac{MU}{gr}$$

طبق تعریف یک واحد موشی عبارتست از میزان سم PSP که بتواند یک موش ۲۰ گرمی نر را در ۱۵ دقیقه از پای درآورد. در محدوده اجرایی ضریب تبدیل موشهای آمریکایی ۰/۲۰ میکروگرم و ضریب تبدیل موشهای "ddy strain♂" ژاپنی ۰/۲۳ میکروگرم محاسبه شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

جدول ۱: نتایج اندازه‌گیری زمان مرگ موشها پس از تزریق سم (دقیقه: ثانیه) در صیدگاههای مختلف

شماره موش / شماره صیدگاه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
۱	۴:۴۰	۴:۵۱	۵:۲۵	۵:۴۰	۵:۴۲	۵:۵۰	۸:۳۱	۹:۳۱
۲	۴:۴۵	۴:۵۰	۵:۰۱	۵:۳۰	۶:۴۰	–	–	–
۳	۵:۰۱	۵:۱۰	۵:۴۰	۶:۱۰	۷:۲۵	۹:۳۵	۹:۴۰	–

استفاده از این ضرایب به رغم اغماض نسبی در دقت آنها عملاً مورد استفاده آزمایشگاههای دنیا است.

CF = µg STX/ MU

CF× MU = µg STX

0.20 × 1 MU (USA) = µg STX

0.23 × 1 MU (Japan) = µg STX

ضریب تبدیل برای موشهای نژاد مذکور ژاپن ۰/۲۳ برای ساکسی توکسین است لذا:

0.23 ×33.80 MU/g = 7.77 µg STX /g

7.77× 100 =777 µg STX /100g

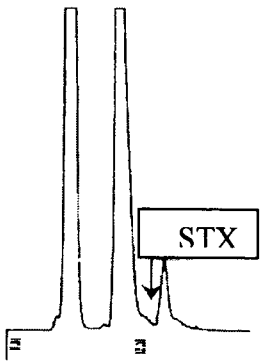
به همین ترتیب برای بقیه صیدگاه‌ها محاسبه و نتایج در جدول ۲ ثبت گردید.

جدول ۲ : نتایج تعیین میزان سمیت نمونه صدفهای صید شده از ۳ صیدگاه

شماره صیدگاه	۱	۲	۳
تعداد صدف	۵	۶	۷
زمان مرگ میانه (ثانیه : دقیقه)	۵:۴۱	۵:۰۱	۶:۱۰
میزان سمیت به واحد MU/ml	۱/۶۹	۱/۹۲	۱/۵۶
میزان سمیت به واحد MU/g	۳۳/۸۰	۳۸/۴۰	۳۱/۲۰
میزان سمیت به واحد µg STX /g	۷/۷۷	۸/۸۳	۷/۱۸
میزان سمیت به µg STX /100g	۷۷۷	۸۸۳	۷۱۸
نسبت به میزان مجاز	۹/۷	۱۱/۰	۹/۰

magiran.com

از سوی دیگر برای اطمینان از نوع سم، نمونه استخراج شده و نمونه سم استاندارد به دستگاه HPLC تزریق و منحنی ساکسی توکسین در HPLC رسم گردید که با منحنی ساکسی توکسین استاندارد که قبلاً به حافظه رایانه سپرده شده بود، مطابقت داشت و لذا نوع سم STX تایید گردید (نمودار ۱).



نمودار ۱ : منحنی سم ساکسی‌توکسین در دستگاه HPLC

بحث

نتایج حاصل از استخراج و آنالیز سم نمونه‌ها در هر سه صیدگاه حاکی از مسمومیت شدید آنها به سم PSP است. حداقل میزان سم PSP که مسمومیت متوسط برای انسان ایجاد کند بین ۱۲۰ تا ۳۰۴ میکروگرم STX برای هر نفر است و مسمومیت جدی در محدوده ۴۵۶ تا ۵۷۶ میکروگرم برای هر نفر مشاهده می شود (FAO, 2004).

میزان مجاز در اغلب کشورها از جمله امریکا، کانادا، اتحادیه اروپا، ژاپن و استرالیا ۸۰µg STXeq/100g و در اتریش نصف آن یعنی ۴۰µg STXeq/100gr به روش آزمایش موشی است (IOC, 1995c).

لذا ملاحظه می‌شود میزان سمیت نمونه‌ها در صیدگاه اول ۹/۷ برابر، صیدگاه دوم ۱۱ برابر و صیدگاه سوم ۹ برابر میزان مجاز و مصرف آنها شدیداً خطرناک و در محدودهٔ مرگ‌آور می‌باشد.

این میزان چندین برابر بیشتر از گزارش Oikawa است که در آن تعدادی از نرمتنان و خرچنگها در محدوده Onahama در ژاپن در فصل شکوفایی دینوفلاژله‌های سمی جمع‌آوری و مورد بازرسی از نظر PSP قرار گرفتند. میزان سم در *Telmessus acutidens* که در سال ۱۹۹۹ جمع‌آوری شده بود ۳۰ و ۸۰ MU/g و میزان سم در *M. galloprovincialies* بروش آزمایش موشی ۹/۶ MU/g بدست آمد.

میزان سم PSP در خرچنگ بوسیله HPLC-FLD و ESI-MS تعیین شد. این اولین بار مشاهده سم در *Telmessus acutidens* بوده است. در سال ۲۰۰۰ نیز سم PSP هم در خرچنگها و هم صدفها مشخص شد اما میزان آن نسبت به سال ۱۹۹۹ بسیار کمتر بود (Oikawa *et al.*, 2002).

هر چند در کشور ژاپن میزان مجاز سم PSP برای عرضه محصولات دریایی در بازار ۴MU/g می‌باشد اما شرکتهای تولیدی برای اطمینان از عدم برگشت محصولات از طرف بازرسین دولتی یا خریداران رقم ۳ MU/g را رعایت می‌کنند.

لازم به ذکر است که از خانوادهٔ PSP، سموم استاندارد cSTX ,neoSTX ,dc-STX ,GNTX1-4 ,GNTX2/3 و GNTX5 از سال ۲۰۰۳ بصورت تجاری تولید شده است اما تولید انحصاری و گران بودن آن، همچنان موجب محدودیت امکان دسترسی به سم ساکسی‌توکسین استاندارد است (Huss *et al.*, 2004)، لذا استفاده از هر دو روش HPLC و آزمایش موشی به لحاظ دقت ارقام و قابلیت مقایسه نتایج همچنان با اغماض نسبی همراه است. از طرفی تلاشهای انجام شده برای جایگزینی روش آزمایش موشی در سطح جهانی هنوز به نتیجه نرسیده است.

پدیدهٔ کشند قرمز (Red tide) ناشی از دینوفلاژله‌های سمی برای اولین بار در سال ۱۹۷۵ در خلیج Owase ژاپن گزارش گردید که منجر به سمی شدن از نوع PSP برای صدفهای منطقه شد. بعد از این تاریخ، پدیدهٔ مذکور در سایر نقاط دریایی ژاپن نیز مشاهده گردید. در آوریل سال ۱۹۹۲ و ۱۹۹۳ هم آلودگی صدفهای اویستر به سم PSP در خلیج هیروشیما جایی که قبلاً هرگز چنین گزارشی وجود نداشت، مشاهده شد. در تحقیق حاضر نیز آلودگی منطقه ساحلی استان ایواته که برای چندمین بار از سال ۱۹۷۶ تکرار می‌گردد، مشخص شده است. دلایل افزایش سمیت در پلانکتونهای این منطقه از سواحل ژاپن و به تبع آن افزایش سمیت صدفهای خوراکی نیز هنوز روشن نیست. اما تداوم بررسیهای مشابه همراه با ثبت تغییرات اکولوژیک در دوره‌های طولانی‌تر در نقاط مختلف جهان در آینده می‌تواند نتیجه بخش باشد. از سوی دیگر جایگزینی روشهای شیمیایی بجای روش آزمون موش برای

magiran.com

حذف استفاده از موجودات زنده و نیز دستیابی به روشهای دقیقتر همچنان باید تداوم یابد.

تشکر و قدردانی

از راهنمایی و مساعدتهای مسئولین آزمایشگاه بیوشیمی دریایی دانشگاه کیتاساتو و خصوصاً آقایان دکتر ساتو و پروفسور کوداما اساتید ارجمند این دانشگاه که امکانات لازم برای انجام این بررسی را در اختیار اینجانب قرار دادند، کمال سپاسگزاری را دارم.

منابع

ANZFA (Australia New Zealand Food Authority) , 2001. Shellfish Toxins in food. http://www.anzfa.gov.au.

Asakawa, M.; Nishimura, F.; Miyazawa, K. and Noguchi, T. , 1997. Occurrence of paralytic shellfish poison in the starfish *Asterias amurensis* in Kure Bay, Hiroshima Prefecture. Japan. Toxicon. Vol. 35, No. 7, pp.1081-1087.

Castonguay, M.; Levasseur, J.; Beaulieu, L.; Grégoire, F.; Michaud, S.; Bonneau, E. and Bates, S.S. , 1997. Accumulation of PSP toxins in Atlantic mackerel: seasonal and ontogenic variations. Journal of Fish Biol. Vol. 50, pp.1203-1213.

FAO (Food and Agriculture Organization of the UN) , 2004. Marine Biotoxines. Technical paper 80, Chapter 8.1. http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=//docrep/007/y5486e/y5486e09.htm.

FDA (U.S. Food & Drug Administration) , 2004. Food borne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook center for food safety & applied nutrition. http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap37.html.

Fernandez, M.L; Miguez, A.; Cacho, E. and Martinez, A. , 1996. Sanitary control of marine biotoxins in the European Union. National References Laboratories Network. Harmful and Toxic Algal Blooms. pp.11-14.

Huss, H.H. , 1994. Assurance of seafood quality. FAO fisheries technical paper 334, pp.28-32.

Huss, H.H.; Ababouch, L. and Gram, L. , 2004. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO fisheries technical paper 444, pp.70-76.

IOC (Intergovernmental Oceanographic Commission) of UNESCO , 1995a. Manual on harmful marine micro algae. pp.81-83.

IOC (Intergovernmental Oceanographic Commission) of UNESCO , 1995b. Manual on harmful marine micro algae. pp.220-223

IOC (Intergovernmental Oceanographic Commission) of UNESCO , 1995c. Manual on harmful marine micro algae. 440P.

Kasuga, F.; Hara-Kudo, Y. and Machii, K. , 1996. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit for paralytic shellfish poisoning toxins. Journal of the Food Hygienic Society of Japan. Vol. 37, No. 6, pp.407-410.

Oikawa, H.; Fujita, T.; Satomi, M.; Suzuki, T.; Kotani, Y. and Yano, Y. , 2002. Acumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in the edible shore crab *Telmessus acutidens*. Toxicon. Vol. 40, No. 11, pp.1593-1599.

Sato, S.; Ogata, T.; Borja, V.; Gonzales, C.; Fukuyo, Y. and Kodama, M. , 2000. Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. Toxicon, Vol. 38, pp.1101-1109.

magiran.com

Reduction in toxicity of PSP-infested oysters during retorting process. Bulletin of the Faculty of Fisheries, Nagasaki University. Nagasaki. Vol. 82, pp.99-104.

Yamamoto, M. and Yamasaki, M. , 1996. Japanese monitoring system on shellfish toxins. Harmful and toxic algal blooms. pp.19-22.

Sato, S.; Kodama, M.; Ogata, T.; Saitanu, K.; Furuya, M.; Hirayama, K. and Kakinuma, K. , 1997. Saxitoxin as a toxic principle of a freshwater puffer, *Tetraodon fangi*, in Thailand. Toxicon. Vol. 35, No. 1, pp.137-140.

Yamaguchi, Y.; Momosaki, Y.; Takatani, T.; Arakawa, O. and Noguchi, T. , 2001.

magiran.com

Extraction and determination of PSP (Saxitoxin and derivatives) from scallop

Shahmohammadi H.R.

h_r_shahmo@yahoo.com

Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: June 2006 Accepted: January 2007

Keywords: Biotoxin, PSP, Shellfish Poison, Saxitoxin, Scallop

Abstract

Paralytic Shellfish Poison (Saxitoxin and derivatives) was extracted by HCL method from frozen scallops. The samples were collected from coastal areas of Iwate prefecture- Japan. Toxicity of the samples was determined with mouse bioassay method. Intra-peritoneal injection was done to ddy strain ♂19-21 grams male mouse, and death time was listed. In conclusion, 33.80, 38.40, 31.20 MU/g (or 777, 883, 718 STX/100gr) were obtained respectively as the toxicity of the samples of three different sampling areas. The toxicity for the areas was 9.7, 11 and 9 times more than standard level (80STX/100g) and very dangerous for human consumption. The kind of toxin was determined by comparing HPLC graph of sample with standard saxitoxin HPLC graph.