دو فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال سوم/ شماره ششم/ بهار و تابستان۹۴ / صفحات۴۸-۴۱

تأثیر کنسروسازی بر میزان تغییرات هیستامین بافت عضله روشن و تیره ماهی مسقطی (*Katsuwonus pelamis*)

احسان ستایش‌فر*[۱]، ابوالفضل عسکری ساری[۱]، ابراهیم رجب‌زاده[۲]

چکیده

با توجه به اهمیت ماهی و سایر فرآورده‌های دریایی به عنوان یک منبع پروتئینی با ارزش و قابل دسترس و با توجه به فسادپذیری سریع این محصولات، ۱۵ نمونه ماهی هوور مسقطی (*Katsuwonuspelamis*) که از بندرعباس صید گردیدند و همچنین ۱۵ عدد کنسرو نیز از این ماهیان تهیه گردید، به منظور اندازه‌گیری میزان هیستامین در عضله تیره و روشن ماهیان و همچنین در کنسرو ماهیان مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفتند. ابتدا ماهیان بیومتری شده و سپس عضلات تیره و روشن از یکدیگر جدا گردیدند. همچنین از محتوی داخل قوطی کنسرو نمونه برداری صورت گرفت.اندازه گیری میزان هیستامین به روش Schultz و با کمک دستگاه الکتروفوز انجام گردید. نتایج حاصله نشان داد که میانگین میزان هیستامین در نمونه های ماهی هوور در عضله تیره ۵۲/۴۶±۱۵٤/۳و در عضله روشن۴۷/۰۵±۱۲٤/٤میلی گرم در گرم و میزان هیستامین در کنسرو ماهی mg/g ۸۷/۵۹±۱٦۰/۵۲ می باشد($P<۰/۰۵$). مقادیر هیستامین در تمام نمونه ها، بالاتر از حداکثر میزان پذیرفته شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (۲۰ppm) بود.

کلید واژه: هیستامین، هوور مسقطی(*Katsuwonuspelamis*)، عضله تیره، عضله روشن.

۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران Askary-sary@yahoo.com

۲- گروه بیولوژی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریای خرمشهر، اهواز، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

امروزه با توجه به رشد روز افزون جمعیت جهان، مسأله تأمین غذای سالم و کافی یکی از مسائل و مشکلات بحرانی بسیاری از کشورهای جهان، بویژه کشورهای در حال توسعه می باشد. در این میان مواد غذایی با منشأ دریایی از ارزش غذایی بالایی برخوردار بوده و توجه روزافزون بشر نیز برای مصرف چنین محصولاتی افزوده شده است. پس از صید ماهی، شرایط نگهداری بر روی عرشه تأثیر زیادی بر روی کیفیت و مدت زمان ماندگاری آنها دارد بنابراین آگاهی کامل از چگونگی بروز این تغییرات به خصوص تغییرات بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی در ماهیان و سایر آبزیان در طی مراحل مختلف نگهداری جهت پیش بینی مدت زمان ماندگاری محصول و قابل مصرف بودن آن ضروری می باشد. در علم جدید بهداشت مواد غذایی، به منظور به دست آمدن نتیجه ای مناسب و قطعی در خصوص وضعیت و کیفیت یک محصول معمولاً بر اساس نمونه برداری از فرآورده ها و ارزیابی کیفی آنها با استفاده از تغییرات میکروبی، شیمیایی، فیزیکی و حسی اقدام می شود که نتایج آندر رد یا قبول محصول و پیش بینی مدت زمان ماندگاری فرآورده ها قابل اطمینان است (Fazlara, 2005). یکی از روش‌های شیمیایی مورد استفاده برای سنجش کیفیت ماهیان و سایر فرآورده های غذایی دریایی اندازه گیری میزان هیستامین می باشد که در اثر دکربوکسیلاسیون اسید آمینه هیستیدین به وسیله باکتری‌ها بوجود می آید (Kim et al., 2009). میزان هیستامین در یک ماهی به میزان هیستیدین آزاد در عضله ماهی و تعادل بین تولید هیستامین و تخریب آن به وسیله آلودگی میکروفلورا بستگی دارد (Lehane and Olley, 2000).ماهی به عنوان مواد غذایی خیلی فساد پذیر طبقه بندی می شود و زمان ماندگاری آن بسته به کیفیت اولیه و همچنین روش صید و به دنبال آن اعمال دستکاری های پس از صید نیز تأثیر زیادی بر کیفیت ماهی و زمان ماندگاری گونه های مختلف آنها دارد(Banja, 2002). مطالعات متعددی در زمینه تغییرات شاخص های شیمیایی و میکروبیولوژیکی کنترل کیفیت و تعیین مدت زمان ماندگاری آبزیان توسط Ruiz-Capillas and Moral (2001) بر ماهی هی. ماهی به دلیل داشتن درصد بالای اسید های چرب چند غیر اشباعی و جزء مواد غذایی سریع الفساد است و با نگهداری در شرایط نامناسب، فعالیتهای آنزیمی و میکروبی باعث بروز فساد و کاهش کیفیت گوشت ماهی می گردد، لذا کنترل کیفی آن، از اهمیت ویژه ای برخوردار است و قوانین و استاندارد های خاصی را می طلبد. کیفیت حسی و ارزش غذایی ماهی در نتیجه واکنش های شیمیایی (تغییرات پروتئین و چربی، تشکیل آمین های بیوژن و هیپوزانتین) و نیز فساد میکروبی بعد از مرگ کاهش پیدا می‌کند (Ozogul et al.,2006). تازگی ماهی مهمترین فاکتور کیفی برای مصرف کننده است که میزان یا درجه فساد را در ماهی یا محصولات آن زمان نگهداری آنها نشان می دهد. آمین های بیوژن که یکی از مهمترین شاخص ها برای ارزیابی کیفیت ماهی می باشند، ترکیبات آلی نیتروژنه بازی غیر فرار با وزن ملکولی کم هستند و از دکربوکسیلاسیون باکتریایی آمینو اسیدهای آزاد (با برداشتن گروه

Archive of SID

www.SID.ir

آلفاکربوکسیل آنها) ایجاد می شونددر میان ماهیان سطح زی مهاجر، تن ماهیان دارای اهمیت بسیار بالایی در زمینه های غذایی، صنعتی، تجاری و ارزآوری هستند. ماهی هوور علاوه بر اهمیت بوم شناختی در بین تن ماهیان استخوانی یکی از با ارزش ترین ماهیان تجاری خلیج فارس محسوب می شود. که در تولید کنسرو و مصرف به صورت تازه گسترش فراوانی در ایران دارد. عضلات ماهیان به ۲ صورت تیره و روشن وجود دارند که در عضلات تیره میزان چربی،پروتئین و ویتامین هاو...نسبت به عضلات روشن بالاتر می باشد. همچنین در پروسه تولید کنسرو و تغیرات باکتریایی و شیمیایی متفاوتی نسبت به عضله تازه اتفاق می افتد. به دلیل تفاوت ترکیب شیمیایی در عضلات تیره و روشن و تغییرات در پروسه کنسرو سازی میزان آمین های بیوژن متفاوتی به وجود می آید هدف این تحقیق مقایسه میزان هیستامین دو عضله تیره، روشن و کنسرو ماهیهوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*) آبهای خلیج فارس صید شده است مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- روش کار

ماهیان مورد نیاز جهت انجام این تحقیق ۹ نمونه ماهی هوور مسقطی(*Katsuwonus pelamis*) بود که از صیدگاه از بندر عباس صید گردید و همچنین ۱۵ عدد کنسرو از همان شرکت(پولک) از همان ماهیان تهیه شد و مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت.

پس از تهیه ۹ عدد ماهی هوور مسقطی از صیدگاه، نمونه ها کدگذاری و سپس بیومتری شدند. توزین نمونه‌ها به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم صورت گرفت، بیومتری نمونه‌ها نیز با یک خط کش ساده بیومتری انجام شد.در شرایط بهداشت بعد از خالی کردن امعاء و احشاء ماهیان شسته شده. از عضله‌ی دم، وسط بدن و قسمت بالا تنه، ۲۰ گرم نمونه از عضله تیره و روشن گرفته شد و داخل کیسه‌های پلاستیکی پلی اتیلنی در دار در فریزر با دمای(۲۰-) درجه سانتی گراد قرار گرفت. برای ارسال به آزمایشگاه در بسته بندی جعبه یونولیت حاوی یخ به صورت لایه های متناوبی از یخ و نمونه ماهی قرار داده شدند و همچنین ۹ عدد کنسرو تن ماهی پولک تهیه شد از همان آمادهو به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی در تهران انتقال داده شدند(کنسرو ماهیان ۲ ماه در قرنطینه باقی ماندند).

۳- مراحل انجام آزمایش

۳-۱- اندازه‌گیری هیستامین

طبق روش پیشنهادی Lieber و همکاران طی مراحل ذیل انجام شد (Lieber et al., 1978). میزان

Archive of SID

www.SID.ir

۱۰گرم نمونه آماده شده را به داخل یک مخلوط کن با سرعت بالا ریخته و ۵۰ میلی لیتر متانول روی آن اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط گردید. سپس آنرا به داخل ارلن مایر ۱۰۰ منتقل نمود و سطوح داخلی مخلوط کن با متانول شستشو داده شد و حاصل آن به ارلن مایر اضافه گردید. در داخل بن ماری ۶۰ درجهٔ سانتی گراد قرار داده شد. محلول حاصل را می توان برای مدت چندین هفته نگهداری نمود. ۵ میلی لیتر از محلول صاف شده با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و مقدار ۵ میلی لیتر از آن داخل لوله آزمایش ۱۵۰×۱۶ میلی متری ریخته شد. و یک قطره بنزآلدئید فاقد کلر و ۰/۲ میلی لیتر سود ۲۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از اضافه نمودن سود pH قلیائیت (۱۲/۵-۱۲/۴) بود. سپس مخلوط با شدت و ۲۵ بار تکان داده شد. پس از ۵ دقیقه که آن را به حال خود گذاشته، ۵ قطره مخلوط بوتانل-بنزن به آن اضافه شد و ۲۵ بار به شدت تکان داده شد و ۵ دقیقه به آن فرصت داده شد تا کاملاً جدا شود، امولسیون تشکیل شده را سانتریفوژ نموده تا مایع رویی شفاف به دست آید. از محلول فوق برای نمونه-گیری رو صفحات TLC استفاده شد.

۳-۲- الکتروفورز

طبق روش پیشنهادی Schultz و همکاران طی مراحل ذیل انجام شد (Schultz et al., 1976).صفحات TLC از نوع سیلیکا ژل ۶۰ آنگستروم مرک استفاده گردید. ابتدا با متانول فعال و لاین بندی شد، سپس نمونه گذاری انجام شد. برای نمونه‌گذاری روی صفحه از لوله‌های هماتوکریت استفاده شد. غلظت های هیستامین استاندارد ۰/۵ ، ۱ و ۲ میکروگرم در هر لاین صفحه قرار داده شد، فاز متحرک شامل متانول۹۵ درصد و آمونیاک۵ درصد هر دو از شرکت مرک تهیه شدند. سپس صفحه در تانک قرار داده شد(شکل۳-۴) پس از ۴۵ دقیقه صفحه خارج گردید. باندها با استفاده از رنگ نین هیدرین۰/۳ درصد رنگ آمیزی شده اند پس از خشک کردن صفحه، باندهای ایجاد شده با استاندارد مقایسه شدند و اسکن دانسیتومتری انجام شد و در مقایسه با سطح زیر منحنی استاندارد غلظت هر یک مشخص گردید.

۴- آزمون آماری

در این مطالعه داده ها به کمک نرم افزار آماری SPSS/16 در دو سطح آمار توصیفی و استنباطی تحلیل شدند. جهت مقایسه میانگین باقیمانده هیستامین در گونه های مختلف ماهیان مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و به منظور مقایسه دو به دو میانگین باقیمانده هیستامین در گونه های مورد مطالعه از آزمون T استفاده شد. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ دصد (α=۰/۰۵) خواهد بود. جهت نرمال بودن داده ها آزمون کولوموگراف- اسمیرنوف انجام شد و تمامی داده ها نرمال بودند.

Archive of SID

www.SID.ir

۵- نتایج

۵-۱- بررسی سطح معنی دار ی بین هیستامین موجود در عضله روشن و هیستامین موجود در کنسرو

بررسی بین میزان هیستامین موجود در عضله روشن و هیستامین موجود در کنسرو نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین هیستامین موجود در عضله روشن و هیستامین موجود در کنسرو است (۰/۰۵ >p). در جدول ۱ اعداد مربوط به سطح آماری میزان هیستامین در عضله روشن و هیستامین کنسرو ماهی هورو ومیزان میانگین هیستامین در عضله روشن و هیستامین کنسرو در نمودار شماره ۱ آمده است.

جدول۱ آنالیز واریانس بین هیستامین موجود در عضله روشن و هیستامین موجود در کنسرو(µg/g)

		میانگین	انحراف معیار	خطای معیار میانگین	فاصله اطمینان ۹۵٪		t	درجه آزادی	sig.
					کرانه بالا	کرانه پائین			
هیستامین	عضله روشن	۱۲۴/۴۰	۴۷/۰۵	۱۵/۶۸	۲۹/۸۲	-۱۰۲/۰۷	۱/۱۳	۴/۹۷	۰/۰۳۶
هیستامین	کنسرو	۱۶۰/۵۲	۸۷/۵۹	۲۲/۶۱					

نمودار ۱ میانگین هیستامین در عضله روشن و کنسرو ماهی هوور

۵-۲- آنالیز واریانس بین هیستامین موجود در عضله تیره و هیستامین موجود در کنسرو

بررسی بین هیستامین موجود در عضله تیره و هیستامین موجود در کنسرو نشان دهنده عدم وجود

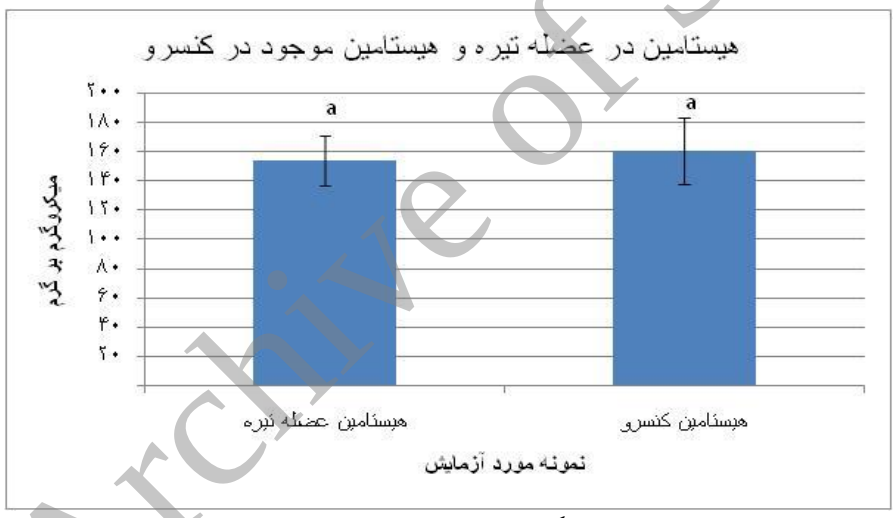
Archive of SID

www.SID.ir

اختلاف معنی دار بین هیستامین موجود در عضله تیره و هیستامین موجود در کنسرو است($p\geq$ ۰/۰۵). در جدول ۲ اعداد مربوط به سطح آماری میزان هیستامین در عضله تیره و هیستامین کنسرو ماهی هورو ومیزان میانگین هیستامین در عضله تیره و هیستامین کنسرو در نمودار شماره ۲ آمده است.

جدول ۲ آنالیز واریانس بین هیستامین موجود در عضله تیره و هیستامین موجود در کنسرو(µg/g)

	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار میانگین	فاصله اطمینان ۹۵٪		t	درجه آزادی	sig.
				کرانه بالا	کرانه پائین			
هیستامین عضله تیره	۱۵۴/۰۳	۵۳۲/۴۶	۱۷/۴۸	۶۰/۵۸	-۷۳/۵۶	۰/۲۰۱	۳/۲۹	۰/۰۸۳
هیستامین کنسرو	۱۶۰/۵۲	۸۷/۵۹	۲۲/۶۱					



نمودار ۲ میانگین هیستامین در عضله تیره و کنسرو ماهی هورو

۶- بحث و نتیجه گیری

هیستامین از طریق دکربوکسیلاز میکروبی هیستیدین در گونه‌های خاصی از ماهیان تولید می‌گردد. علیرغم غیر فعال بودن آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز نیز باکتری توانایی دارند به رشد و نمو خود ادامه دهد. بدین صورت در دمای یخچال این آنزیم به صورت پایدار باقی خواهد ماند و در صورت گرمادیدن ماهی به سرعت فعال شده وارد واکنش شود (Huss et al.,2003).

پس در نگهداری بلند مدت ماهی احتمال اینکه خطر در دمای پایین باشد نیز وجود خواهد داشت. ممکن است هیستامین درهنگام استفاده در خانه‌ها و رستوران‌ها، درسیستم توزیع ماهی و در کارخانه های فرآوری ماهی نیز تولید شود. ذخیره نامناسب ماهی خام در یک بازه زمانی کوتاه مدت باعث کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

کیفیت ماهی و تجمع هیستامین در بافت آن گردد (Hernandez-Herrero et al., 1999). احتمال وجود هیستامین مهمترین شاخص کیفی به عنوان اندیکاتور شیمیای فساد ماهی و به عنوان تهدیدی برای سلامت عمومی بدن در ماهی یا فرآورده های آن محسوب می‌شود. تولید هیستامین عمدتاً توسط باکتری هایی که حاوی آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز هستند صورت می گیرد بوسیله برخی از میکروارگانیسم های موجود در مواد غذایی دریایی، توکسین و متابولیت‌ها تولید می گردند که عامل ایجاد کننده بسیاری از بیماریهای می‌باشند که از قبیل آنها می توان به مسمومیت هیستامینی اشاره نمود. میزان هیستامین در عضله تیره بیشتر از عضله روشن است ($P<۰.۰۵$). عضله تیره پروتئین بیشتر نسبت به عضلات روشن دارد.به همین دلیل باکتریها از جمله *Morganella morgana* تجمع بیشتری در این عضله می یابند و با تبدیل هیستیدین به هیستامین باعث افزایش تجمع هیستامین در این عضلات می شوند.

۶-۱- مقایسه میزان هیستامین در عضله با تیره و روشن

نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که اگر چه همه‌ی نمونه‌های مورد مطالعه حاوی دارای مقادیری هیستامین هستند. همان طور که بیان شددر میزان کیفیت آبزی عواملی چون نوع آبزی و شرایط نگهداری آن مؤثر است و که تولید آمین‌های بیوژن با توجه به نتایج بررسی‌های برخی محققین می‌توان بیان کرد در هر حالت وابسته به عوامل بیوژنیک مخصوصا باکتری‌ها است، زیرا برخی از باکتری‌ها با داشتن آنزیم دکربوکسیلاز قادر به شکستن آمینو اسید آزاد خواهند بود و سبب تبدیل آن به آمین‌های بیوژنیک می-گردند. شرایط نگهداری می‌تواند محدودیت تولید در برخی آمین‌های بیوژن و محدودیت رشد در برخی باکتری‌ها شود. همچنین فعالیت باکتری‌ها در شرایط دمایی بالاتر(باکتری های مزوفیل) به تشکیل هیستامین کمک می‌کند.

۶-۲- مقایسه میزان هیستامین در عضلات ماهی با کنسرو ماهی

میزان غلظت هیستامین در کنسرو ماهی نسبت به عضلات ماهی بیشتر می باشد.($P<۰/۰۵$),به علت فرصت باکتری در پروسه تولید جهت فعالیت بیشتر تا قبل از پخت اولیه غلظت هیستامین به مرور زمان بالاتر می‌رود. علت بالابودن غلظت هیستامین در قوطی کنسرو می‌تواند به عضله ماهی موجود در کنسرو مرتبط باشد. بررسی سازمان غذا و داروی آمریکا نشان داد که میزان هیستامین موجود در تن ماهیان تازه صید شده همواره کمتر از ۱ppm بوده است واین میزان در سایر انواع ماهیان تجارتی تازه صید شده در حدود ۵ppm بوده و حداکثر آن به ۲۰ppm می باشد.

۶-۳- مقایسه میزان هیستامین در نمونه‌های مورد بررسی با استانداردهای جهانی

Archive of SID

www.SID.ir

میزان حد مجاز هیستامین در عضله ماهیان طبق استاندارد اعدادی از طرف سازمان غذا و دارو آمریکا FDAبرابر با ۲۰ppm می‌باشد. از طرفی حد مجاز اعدادی بر روی قوطی کنسرو از طرف این سازمان ۵۰ ppm می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق بالابودن غلظت هیستامین در عضلات تیره و روشن و کنسرو ماهی را نسبت به این استاندارد نشان می دهد. اداره غذا و دارو امریکا (FDA,1998) غلظت ۵g/۱۰۰mg هیستامین را به منظور اطمینان سلامتی فرآورده‌ها تأیید کرده است اما بالاتر از این میزان نامطلوب می‌باشد. میانگین غلظت هیستامین در ماهی توسط پیشنهادیه اتحادیه اروپا که نباید بیش از ۱۰g/۱۰۰mg باشد و میزان ۱۰میلی گرم هیستامین در ۱۰۰ گرم عضله ماهی بنظر می رسد که برای سلامت عمومی مناسب باشد(Lehane and Olley, 2000).

منابع

1.**Banja, B. (2002).** Shelf life trial on Cod (*Gadus morhua*) and Haddock (Melanogrammus aeglefinus) stored on ice around 0^{oC}. United Nations University (UNU) Fisheries Training programme Marine Research Institute (MRI), Reykjavik, Iceland. 292–324.

2. **Fazlara, A. (2005).** Hygienic principle in holding and distribution center of food Research and Agricultural Training Center of Iran, 120pp.

3. **FDA., (1998).** FDA and EPA guidance levels. In: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide, 2nd Edition, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, pp. 245–248, Appendix 5.

4.**Hernandez-Herrero, MM., Roig-Sagues, AX., Lopez-Sabater, EI., Rodriguez-Jerez, JJ., Mora-Ventura, MT. (1999).** Total volatile basic nitrogen and other physicochemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. Journal of Food Protection, 62: 167–174.

5.**Huss, HH.** (**1995**). Quality And Quality Changes In Freshwater Fish. FAO Fisheries Technical, Rome, 348pp.

6.**Kim, SH., Field, KG., Chang, DS., Wei, H., An, CI. (2001).** Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in pacific mackerel during storage. Journal Food Protection. 64 (10): 1556-1564.

7.**Lehane, L., Olley, J. (2000).** Histamine (Scombroid) Fish Poisoning. A review in a risk-assessment framework. National Office of Animal and Plant Health Canberra. Agricultural, Fisheries and Forestry of Australia. 145-155.

8.**Lieber, ER., Taylor, SL. (1978).** TLC screening methods for histamine in tuna fish.Journal of Chromatography, 153: 143-152.

9.**Ozogul, Y., Ozogul, F., Gokbulut**, **C.** (**2006).** Quality assessment of wild European Eel (*Anguilla Anguilla*) stored in ice. J. food Chemistry, 95(3): 458-465.

10.**Ruiz-Capillas, C., Moral, A. (2001**). Production of biogenic amines and their potential use as quality indices for Hake stored in ice. Journal of Food Science, 66: 1030-1032.

Archive of SID

www.SID.ir