



## کد مقاله: Foodconf-1008

# بررسی میزان هیستامین، بازهای نیتروژنه فرار و شاخص تیوباربتوریک اسید در کنسرو ماهی تون وارداتی به کشور

مصطفی غفاری<sup>۱</sup>، علی طاهری<sup>۲\*</sup>، مراد محمد محمودزهی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ۲- دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی،

دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ۳- دانش آموخته فرآوری محصولات شیلاتی، پردیس دانشگاه دریانوردی و

علوم دریایی چابهار

\*[taherienator@gmail.com](mailto:taherienator@gmail.com)

### چکیده

مصرف ماهیان فاسد به ویژه تون ماهیان باعث ایجاد مسمومیت‌های غذایی می‌گردد و سلامت جامعه را به مخاطره می‌اندازد. از این رو اندازه‌گیری هیستامین در کنسرو ماهی برای تعیین میزان کیفیت و سالم بودن آن حائز اهمیت است. از سویی دیگر بررسی میزان بازهای ازته فرار کل و تیوباربتوریک اسید در کنسرو ماهی نیز از دیگر فاکتورهای مؤثر بر کیفیت کنسرو است. هدف از این تحقیق اندازه‌گیری میزان هیستامین، بازهای ازته فرار کل، تیوباربتوریک اسید در کنسروهای ماهی تون وارداتی به ایران می‌باشد. از کنسروهای وارداتی ماهی تون به ایران ۲۸۰ کنسرو از ۴ مارک تجارتي به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون توکی استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد میزان هیستامین در کنسرو الف  $16/33 \pm 1/44$  پی پی ام ( $P < 0/05$ )، میزان تیوباربتوریک اسید در کنسرو الف و ب  $0/1 \pm 0/01$  میلی‌گرم مالون دی آلدهید بر کیلوگرم و میزان بازهای ازته فرار در کنسرو ب  $7 \pm 0/01$  میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه از بقیه کنسروها به مراتب بیشتر بود ( $P \geq 0/05$ ). نتایج نشان دهنده سلامت ۴ برند کنسروهای وارداتی به ایران در این مطالعه بود.

**کلمات کلیدی:** هیستامین، بازهای ازته فرار، تیوباربتوریک اسید، کنسرو ماهی تون وارداتی.

### مقدمه

جهت سنجش و ارزیابی کیفیت ماهی از روش‌های بیوشیمیایی، حسی، میکروبیولوژی و فیزیکی استفاده می‌شود. توکسین‌هایی که بوسیله برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در مواد غذایی دریایی تولید می‌شوند، عامل ایجاد کننده تعدادی از بیماری‌های غذازاد مانند هیستامین می‌باشند. مسمومیت با هیستامین یکی از رایج‌ترین بیماری‌های غذازاد می‌باشد [۱]. این مسمومیت با مصرف ماهیان خانواده تون ماهیان فاسد شده ای که حاوی مقادیر بالای هیستامین هستند ایجاد می‌شود. هیستامین موجود در ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده این خانواده در اثر فعالیت برخی از باکتری‌ها ایجاد می‌شود [۲]. سازمان غذا و داروی آمریکا، حد مجاز هیستامین در کنسروهای ماهی را ۵۰ پی پی ام تعیین کرده است. آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز در برخی از گونه‌های انتروباکتریاسه، الکتوباسیلوس ها، پسودوموناس ها و ویبریوها یافت می‌شود؛ اما انتروباکتریاسه نقش مهمی را در تولید آن ایفاء می‌کنند [۳]. از سویی تغییرات چربی یکی از عوامل مهم افت کیفیت فرآورده‌های دریایی محسوب می‌شود. پراکسیدها به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی شکسته شده و ترکیبات ثانویه را به وجود می‌آورند. طی اکسیداسیون چربی،



مالون آلدهید در اثر تجزیه اسیدهای چرب چند غیراشباع تشکیل می‌شود. این ماده معمولاً به عنوان شاخصی در روند اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود [۴]. طی نگه داری غذاهای دریایی بازهای فرار نیز تشکیل می‌شود که با اندازه‌گیری آن می‌توان به کیفیت غذای دریایی پی برد. حد قابل قبول بازهای نیتروژنه فرار برای مواد خام محصولات کنسروی کمتر از ۲۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه عنوان کرده‌اند [۵]. در کشور ایران حجم قابل توجهی کنسرو ماهی تون از کشورهای آسیایی وارد می‌گردد که بررسی شرایط کیفی آن بسیار حائز اهمیت می‌باشد. لذا در تحقیق حاضر وضعیت هیستامین و ازت تام فرار و میزان تیوباربیوریتیک اسید چهار کنسرو ماهی تون وارداتی به کشور مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش کار

تعداد ۲۸۰ نمونه کنسرو تون ماهی با ۴ علائم تجاری متفاوت وارداتی به کشور که تاریخ تولید آن‌ها منقضی نشده و فاقد نقص بودند انتخاب گردید. به علت حفظ منافع، نام کارخانه تولید کننده با حروف الفبای اختصاری به صورت الف، ب، ج و د مشخص شده است. جهت اندازه‌گیری ازت تام فرار مقدار مشخصی از نمونه هموژن شده با اسید تری کلرواستیک دو دقیقه مخلوط شد و به بالن دستگاه تقطیر منتقل شد. ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ سی سی سود به آن اضافه و تقطیر شد. ماده حاصل تقطیر جمع آوری و با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر شد [۶]. مقدار ازت آزاد از رابطه (۱) بدست آمد:

$$TVB-N = 1/4 \times 100 \times \text{مقدار مصرفی اسید } 0/1 \text{ برای نمونه} = \text{میلی گرم بازهای فرار}$$

برای اندازه‌گیری تیوباربیوریتیک اسید یک گرم روغن در تترا کلرید کربن حل شده و به آن ۵۰ میلی‌گرم معرف تیوباربیوریتیک اسید اضافه گردید. سپس سانتریفیوژ شد و قسمت آبی در حمام آب جوش قرار گرفت و میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. تیوباربیوریتیک اسید طبق فرمول (۲) اندازه‌گیری شد [۶]:

$$TBA = 50 \times (A_s - A_b) / 200$$

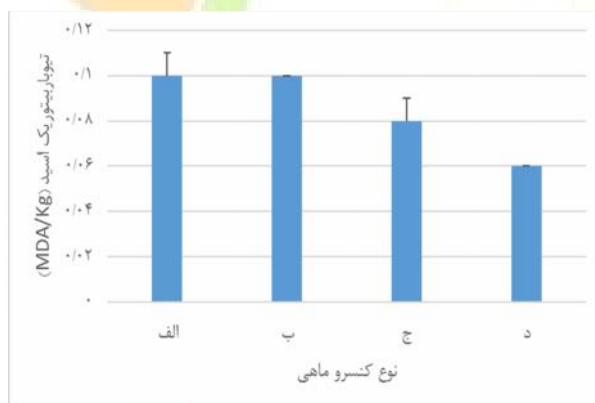
$$A_s = \text{میزان جذب نمونه در طول موج } 530, A_b = \text{میزان جذب شاهد در طول موج } 530$$

برای اندازه‌گیری میزان هیستامین، از کیت نئوژن الیزای رقابتی استفاده شد. ۲۵ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد، کنترل و نمونه‌های آسیله شده در گوده‌های پلیت ۱۲ خانه ریخته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از پادتن آنتی هیستامین به هر گوده اضافه و به مدت ۴۰ دقیقه در اتاق قرار داده شد. سپس گوده‌ها را با ۲۵۰ میکرولیتر بافر دو بار شستشو داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول‌های کنژوگه به مدت ۲۰ دقیقه، سوبسترای کروموژن به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی و محلول متوقف کننده ۱۰ دقیقه بعد اضافه شد و جذب در ۴۵۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر الیزا مدل ۳۲۰۰ (ارنست) خوانده شد [۷]. برای تجزیه تحلیل آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. ابتدا نرمالیتی داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. آزمون واریانس یک طرفه برای بررسی وجود اختلاف‌های کلی بین گروه‌های مورد نظر استفاده شد. به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده گردید.

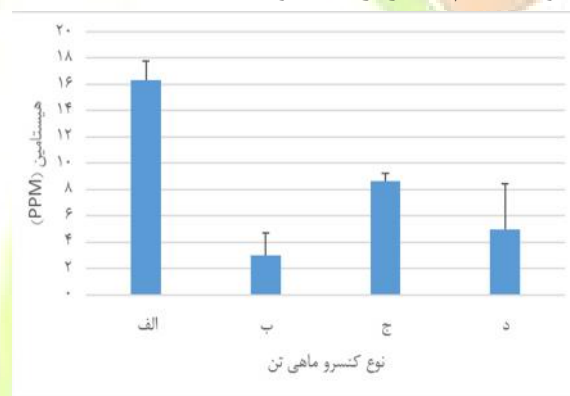


## نتایج

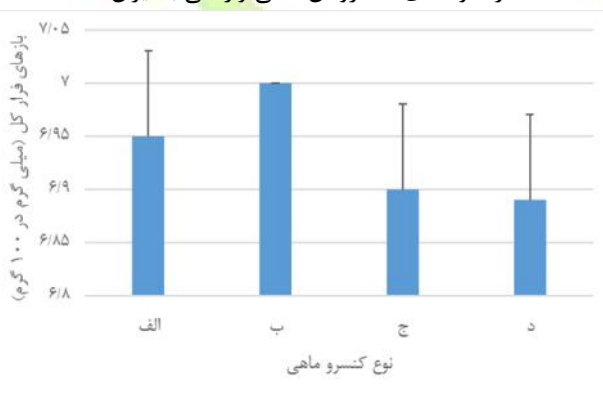
در شکل ۱ تغییرات میزان هیستامین در نمونه‌های کنسرو ماهی تون وارداتی مشاهده می‌شود. میزان هیستامین در کنسروهای مختلف متفاوت بود ( $p < 0.05$ ). بر اساس نتایج به دست آمده میزان هیستامین موجود در کنسرو الف از بقیه بیشتر بود و کمترین میزان هیستامین در کنسرو ب مشاهده شد. مشاهدات موجود نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین میزان هیستامین چهار نمونه کنسرو تون وارداتی به ایران می‌باشد ( $p < 0.05$ ). در شکل ۲ تغییرات میزان تیوباربتوریک اسید تیمارهای مختلف مشاهده می‌شود. نتایج نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود. در کل دوره بالاترین میزان متوسط تیوباربتوریک اسید مربوط به نمونه کنسرو الف و ب و کمترین آن متعلق به نمونه کنسرو د بود. در شکل ۳ تغییرات بازهای از ته فرار تیمارهای مختلف مشاهده می‌شود. میزان بازهای از ته فرار در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p < 0.05$ ). در کل میزان متوسط بازهای از ته فرار در نمونه با اسم بالاتر از بقیه بود.



شکل ۲- مقادیر اندازه‌گیری شده مربوط به میزان تیوباربتوریک اسید در نمونه‌های کنسرو تن ماهی وارداتی به ایران.



شکل ۱- مقادیر اندازه‌گیری شده مربوط به هیستامین در نمونه‌های کنسرو تن ماهی وارداتی به ایران



شکل ۳- مقادیر اندازه‌گیری شده مربوط به میزان بازهای از ته فرار در نمونه‌های کنسرو تن ماهی وارداتی به ایران.

## بحث

در مطالعه حاضر میزان تیوباربتوریک تیمارهای مختلف نشان داد که اثر تیمار بر اندیس اسید تیوباربتوریک در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نمی‌باشد. پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربتوریک اسید برای کیفیت مطلوب ماهی ۵ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه است. در حالی که تا ۸ میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه هم قابل مصرف است [۸]. در مطالعه حاضر مشاهده



گردید که میزان مالون آلدهید در بیشترین مقدار خود از حد مجاز بالاتر نرفته است. نتایج مقادیر هیستامین موجود در چهار نمونه در این مطالعه زیر ۵۰ پی پی ام بود. میزان هیستامین نباید بیش از ۵۰ پی پی ام باشد. در کنسروهای مورد مطالعه میزان هیستامین بسیار پایین تر از حد آستانه بود. میزان مجاز هیستامین موجود در کنسرو تون ماهیان در ایران ۲۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه است که در مطالعه حاضر مقادیر به دست آمده کمتر از آن بود. در مطالعه ای روی انواع فرآورده‌های غذایی مشاهده شد که میزان هیستامین و تیرامین موجود ارقام پائینی را نشان داد [۹]. مطالعه بر روی نمونه‌های از کنسروهای ماهی تن و ساردین از ۱۰ کارخانه نشان داد که میزان هیستامین در نمونه‌های مورد مطالعه از ۱۰/۵ تا ۰/۱۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بوده و همه مقادیر به دست آمده زیر حد مجاز تعیین شده توسط کشور یوگسلاوی (۲۰ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم) نمونه بود [۱۰]. Yesudhason و همکاران (۲۰۱۳) روی بررسی هیستامین در ۲۹۰ کنسرو ماهی تون در عمان کار کردند [۱۱]. ۷۸/۹ در صد کنسروها حاوی هیستامین بودند و میانگین حاوی حدود ۳/۱ میلی گرم بر کیلوگرم هیستامین داشتند و حداکثر میزان هیستامین ۲۲/۹ میلی گرم در کیلوگرم بود. آن‌ها عنوان کردند بهترین راه کم کردن هیستامین سرد کردن سریع ماهی بلافاصله پس از صید و دقت در دستکاری و جابجایی ماهی است. در سال ۲۰۱۶ نیز Evangelista و همکاران ۹۲ کنسرو ماهی تون در برزیل را مورد ارزیابی قرار دادند. ۴۱ قوطی حاوی هیستیدین بودند و متوسط هیستامین ۸۳/۷۳ میلی گرم در کیلوگرم بود [۱۲]. کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) به عنوان یکی از شاخص‌های تشخیص تازگی ماهی دامنه وسیعی از ترکیبات فرار نظیر آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین و تری متیل آمین را شامل می‌شود که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند [۱۳]. میزان TVB-N به میزان بار باکتریایی و در نتیجه فعالیت باکتریایی و آنزیمی وابسته است. حد مجاز قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار در گوشت ماهی ۲۵ میلی گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم می‌باشد [۱۴]. همانطور که نتایج نشان داد مقادیر این شاخص برای تیمارهای ج، د و الف ۶/۹ و برای ب ۷ میلی گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم بود. تفاوت معنی‌داری بین مقادیر مربوط به TVB-N در نمونه‌های کنسرو مورد مطالعه مشاهده نشد.

### نتیجه گیری

بطور کلی نتایج تحقیق حاضر ویژگی‌های کیفی کنسروهای تولیدی وارداتی به ایران را از نظر استاندارد مورد تایید قرار می‌دهد. با توجه به اینکه هر ساله میزان قابل توجهی کنسرو ماهی به کشور ایران وارد می‌شود لذا می‌توان به بررسی فاکتورهای کیفی آن‌ها پرداخته و برای حفظ سلامت جامعه از این قبیل تحقیقات بهره جست.

### منابع

- [1]- Oduzhani P. and Angip S. 2005, Scombroid (Histamine) Poisoning. Ataturk University of Agriculture Fishery Products, Section 25240.
- [2]- Etkind P., Wilson M. E., Gallagher K. and Cournoyer J. 1987, Blufish-associated Scombroid poisoning. An example of the expanding spectrum of food poisoning from sea food. J. Am. Medical Associat, Vol. 258, pp 3409-3410.



- [3]- Lehane L., Olley J. 2000, Histamine fish poisoning revisited. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 58, pp 1-37.
- [4]- Shahidi F. and Zhong Y. 2005, *Lipid oxidation: measurement methods* (6<sup>th</sup> Ed.). Memorial university of Newfoundland, Canada, pp 357-385.
- [5]- Connell J.J. 1990, *Control of Fish Quality*. Published by Fishing News Book. 3<sup>rd</sup> edition, pp 122-150.
- [6]- AOAC. 2012, Official method 977.13. *Official methods of analysis of AOAC International* (19<sup>th</sup> ed.), Rockville, MD: AOAC International.
- [7]- Rahimi E., Nayeypour F. and Alian F. 2012, Determination of Histamine in Canned Tuna Fish Using ELISA Method. *Am. Eurasia. J. Toxicol. Sci.*, Vol. 4(2), pp 64-66.
- [8]- Sallam K. I. 2007, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, Vol. 18, pp 566-575.
- [9]- Gajewska R. 1991, Contents of histamine and tyramine in selected food products. *Indust. Alimentary.*, Vol. 35(353), pp 1184-1188.
- [10]- Veresbaranji A., Kelemen D. and Curcic R. 1997, Fluorimetric determination of histamine amounts of canned fish. *Technologija. Mesa.*, Vol. 38(5), pp 216-217.
- [11]- Yesudhasan P., Al-Zidjali M., Al-Zidjali A., Al-Busaidi M., Al-Waili A., Al-Mazrooei N. and Al-Habsi S. 2013, Histamine levels in commercially important fresh and processed fish of Oman with reference to international standards, *Food Chem.*, Vol. 140, pp 777-783.
- [12]- Evangelista W. P., Silva T. M., Guidi L. R., Tette P. A. S., Byrro R. M. D., Santiago-Silva P., Fernandes C. and Gloria M. B. A. 2016, Quality assurance of histamine analysis in fresh and canned fish. *Food Chem.*, Vol. 211, pp 100-106.
- [13]- Rodriguez A., Carriles N., Cruz J. M., Aubourg S. P. 2008, Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5° C). *LWT-Food Sci. Technol.*, Vol. 41(9), pp 1726-1732.
- [14]- Gimenez B., Roncales P., Beltran J. A. 2002, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J. Sci. Food Agricult.*, Vol. 84, pp 1154-1159.

کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در  
 صنایع غذایی و تغذیه سالم