بررسی کارآیی برخی از روشهای شیمیایی کنترل کیفیت بویژه اندازه گیری هیستامین در مقایسه با شمارش باکتری های سرما دوست در هوور مسقطی و سارم خلیج فارس

مهندس مهرنوش حیدری[1] دکتر افشین آخوندزاده[2*] دکتر مسعود رضائی[3] دکتر هدایت حسینی[4] دکتر علیرضا صفاریان[2]

دریافت مقاله : ۱۳ آبان ماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی : ۱۶ آبان ماه ۱۳۸۳

هدف: یافتن روش مناسب و دقیق در کنترل کیفیت بهداشتی برخی گونه های دریایی متداول از جمله هوور مسقطی و سارم در مقایسه با آزمون TC.

طرح: مطالعه مقایسه ای.

حیوانات: تعداد ۲۰ نمونه ماهی استخوانی دریایی از گونه‌های هوور مسقطی (*Katsuwonus pelamis*) و سارم (*Scomberoides commersonianus*) که به صورت منجمد از سردخانه تهیه گردیدند.

روش: نمونه های تهیه شده با حفظ شرایط یکسان در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی منتقل گردیدند و با استفاده از روشهای ارائه شده توسط AOAC, APHA و FDA پس از شمارش کلی باکتری های هوازی و اندازه‌گیری ازت فرارتام (ماکروکجلدال) به منظور انجام آزمونهای تری متیل آمین و هیستامین (TLC) به آزمایشگاه مرکزی کنترل کیفی غذا و دارو، انتقال یافتند.

تجزیه و تحلیل آماری: با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و انجام آزمون دقیق فیشر و آزمون کاپا انجام شد.

نتایج: ارتباط معنی داری (از نظر استاندارد پذیرش و عدم پذیرش) بین فاکتورهای مورد نظر و شمارش کلی باکتری های هوازی در مجموع ۲۰ گونه مطالعه شده مشاهده نگردید ($P>0/05$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج آماری حاصل از این تحقیق در مقایسه فاکتورهای هیستامین، تری متیل آمین و ازت فرار با آزمون میکروبی شمارش کلی باکتری های هوازی سرما دوست که مؤید عدم وجود همبستگی و ارتباط معنی دار بین آنها می‌باشد می‌توان اظهار داشت که هیچ کدام از این روشها به تنهایی، گویای خوبی از فساد یا پذیرش و عدم پذیرش نمونه های مورد مطالعه نیستند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۴، ۳۹۰-۳۸۵.

واژه های کلیدی: کنترل کیفیت، شمارش کلی باکتری های سرمادوست، روشهای شیمیایی، ماهی هوور مسقطی، ماهی سارم.

افزایش جمعیت و کمبود مواد غذایی بخصوص منابع پروتئین با کیفیت بالا "High Quality Protein" سبب گردیده تا در چند دهه اخیر توجه خاصی به منابع خوراکی دریایی مبذول گردیده و مطالعات بیشتری در زمینه انواع آبزیان و استفاده از آنها صورت پذیرد. در این مورد، نه تنها موضوع تهیه غذا به‌اندازه کافی دارای اهمیت است بلکه فراهم آوردن غذای سالم از جنبه های بهداشتی و شیمیایی نیز مدنظر می باشد و این امر اهمیت کنترل کیفی مواد غذایی را در مراحل مختلف تهیه، تولید و مصرف روشن می نماید (۲).

Study on capability of some quality control chemical Methods in comparison with total psychtrophic bacterial count in some species of frozen bony fish.

Heydari, M.[1], Akhondzadeh, A.[2], Rezaei, M.[3], Hoseini, H.[4], Saffarian, A.R.[2]

[1]Graduated from the Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modarres University, Noor – Iran. [2]Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. [3]Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modarres University, Noor – Iran. [4]Central laboratory of Food and Drug Quality Control, Tehran – Iran.

Objective: To find the precise and suitable method in hygienic quality control of some commercial marine species such as Skipjack tuna and Talang queenfish.

Design: Comparative study.

Animals: A total number of 20 frozen bony marine fish, i.e. Skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) and Talang queenfish (*Scomberoides commersonianus*) which obtaind frizely.

Procedures: The prepared samples transported to the food hygiene laboratory and after aerobic psychrotrophic bacterial total count (TC) and macro kjeldal determination of total volatile nitrogen (TVN) by APHA, FDA and AOAC methods, they were removed and transmitted to the central laboratory of food and drug quality control for evaluation of Trimethylamine (TMA) and histamine.

Statistical analysis: Using SPSS statistical program including Kappa and Fisher's exact tests.

Results: No significant correlation observed between the consideration factors and total count in all 20 studied species ($P>0.05$).

Conclusion: According to the results of this study in comparing histamine, trimethylamine and total volatile nitrogen with total count that indicates no significant correlation, it seems that none of these methods can be supposed as a precise quality control index, lonely. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 59,4:385-390 ,2004.***

Key words: Quality control, Bacterial total count, Chemical methods, Talang queenfish, Skipjack tuna.

Corresponding author's email: aakhond@chamran.ut.ac.ir

۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس نور،نور - ایران .
۲) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران -ایران.
۳) گروه آموزشی شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس نور ، نور-ایران.
۴) آزمایشگاه مرکزی کنترل کیفیت غذا و دارو، تهران- ایران.
*) نویسنده مسؤول aakhond@chamran.ut.ac.ir

تغییرات بعد از صید در ماهی: از جمله نخستین تغییراتی که پس از صید در بدن ماهی بروز می‌نماید سفت یا سخت شدن عضلات است که به آن جمود پس از مرگ یا Rigor-mortis گویند و از نخستین فرآیندهای اتولیتیک که در عضله ماهی رخ می‌دهد می توان به تغییرات کربوهیدرات‌ها و نوکلئوتیدها اشاره داشت که با گذشت زمان، تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) به سرعت متوقف می‌گردد (۱۴،۱۵).

همزمان با تغییرات آنزیمی بتدریج باکتری هایی که به طور طبیعی روی پوست و روده ماهی وجود دارند هم فعال شده و شروع به تکثیر می نمایند. تکثیر و فعالیت باکتری ها و آنزیم های باکتریایی سرآغاز دیگر تغییراتی است که نتیجه آن بروز علائم فساد باکتریایی در ماهی خواهد بود (۱۴).

هنگامی‌که از فساد فرآورده های دریایی صحبت می شود باید توجه داشت که عوامل فساد در این فرآورده ها عمدتاً باکتری های سرما دوست (Psychtrophic bacteria) هستند. این باکتری ها قادرند در صفر درجه یا بیشتر فعالیت نموده و تکثیر نمایند که افزایش تعداد باکتری های ماهی سرما دوست معمولاً با تغییرات کیفی شیمیایی همراه است. البته قابل ذکر است که عوامل غیر باکتریایی از جمله آنزیم های بافتی در برخی شرایط مانند انجماد در این تغییرات کیفی شیمیایی مؤثر می باشند (۱۴).

ازت فرارتام (TVN) و اهمیت آن در ارزیابی کیفیت ماهی: اندازه گیری ازت فرارتام از قدیمیترین روشهای شیمیایی ارزیابی تازگی ماهی است که از اوایل سال ۱۹۳۰ مورد استفاده قرار گرفته است اما با توجه به ضعفهایی که در این روش وجود دارد نمی تواند به عنوان معیاری جامع در تعیین کیفیت بهداشتی آبزیان مورد استفاده قرار گیرد. اختلافات فاحش میزان این فاکتور بر اساس گونه و همچنین شرایط تقطیر خصوصاً میزان حرارت و قلیائیت تجزیه بازهای فرار را به شدت تحت تأثیر قرار داده به طوری که برخی ترکیبات ازت دار عصاره عضله ماهی تحت شرایط بازی جدید و در درجه حرارت بالا تجزیه شده و آمونیاک تولید می‌کنند، در نتیجه بر میزان بازهای فرار در نمونه افزوده شده و ارزیابی دقیق کیفی ماهی را با مشکل مواجه می سازد (۱۰،۲۳).

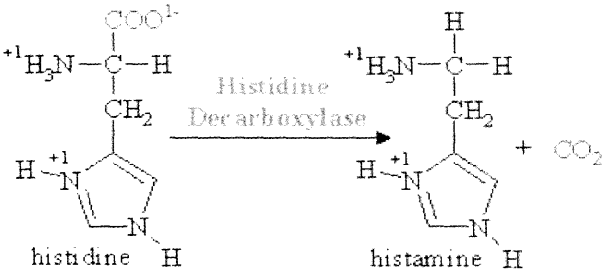
تری متیل آمین (TMA) و اهمیت آن در ارزیابی کیفیت ماهی: یکی دیگر از روشهای شیمیایی معمول که برای تعیین کیفیت ماهی انجام می‌گیرد اندازه گیری TMA است. TMA از اجزای بازی فراری است که در بدن ماهی تازه به مقدار محدودی وجود دارد ولی به دنبال صید و در طول نگهداری در اثر فعالیت بعضی از باکتری ها از احیاء تری متیل آمین اکساید (TMAO) به مقدار بیشتری ساخته می‌شود به طوری که تعیین مقدار آن می تواند نشانه ای از فعالیت باکتری ها و یا نشانه ای از پیشرفت فساد به حساب آید (۱۰).

اکسید تری متیل آمین همچنین می تواند در اثر فعالیت آنزیم های بافتی که در برخی ماهیان (Gadoid) خصوصاً در کلیه و عضله وجود دارند به دی متیل آمین (DMA) و فرم آلدئید (HCHO) تبدیل گردد که این فعالیت آنزیمی عامل مهمی در کاهش کیفیت ماهی منجمد به شمار می‌آید (۲۰).

$$TMAO \rightarrow TMA \rightarrow DMA \rightarrow HCHO$$

هیستامین و اهمیت آن در ارزیابی کیفیت ماهی: آمین های بیوژن در غذاها توسط دکربوکسیلاسیون آنزیم های باکتریایی از اسیدهای آمینه آزاد تولید می‌گردند. این ترکیبات از اهمیت خاصی در زمینه مسمومیت غذایی و همچنین شاخصهای شیمیایی فساد برخوردار هستند (۲۴).

هیستامین از مهمترین آمین های بیوژن است که اصولاً توسط دکربوکسیلاسیون باکتریایی اسید آمینه هیستیدین در شرایط نگهداری ماهی (بویژه تن ماهیان و شبه تن ماهیان) در درجات حرارتی بالای ۸ درجه سانتیگراد تولید می‌گردد (۳).



متأسفانه در کشور ما با توجه به گستردگی منابع دریایی و امکان استفاده وسیع مردم از این منابع تحقیق چندانی در زمینه کنترل کیفی ماهی صورت نگرفته است، لذا در این تحقیق که می تواند زمینه ساز مطالعات بیشتر برای ارائه راهکارهای دقیقتر و مطمئنتر تعیین کیفیت این منابع غذایی با ارزش باشد، سارم و هوور مسقطی، دو گونه مهم و تجاری در صنایع کنسروسازی و بازار فروش که به ترتیب از خانواده گیش ماهیان (*Carangidae*) و تن ماهیان (*Scombridae*) می‌باشند مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد وروش کار

در این تحقیق، تعداد ۲۰ ماهی استخوانی دریایی منجمد از دو گونه هوور مسقطی وسارم که از گونه های متداول در کارخانجات کنسروسازی و بازارهای عمده فروش هستند جمع آوری و پس از حمل در کنار یخ به شرح زیر مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند:

آزمون میکروبی: طبق روش American Public Health Association (APHA) رقتهای سریال از نمونه های مورد مطالعه تهیه گردید و به طور سطحی بر روی آگار مغذی کشت داده شدند. سپس به مدت ۳ روز در گرمخانه ۲۵ درجه سانتیگراد باقی ماندند، آنگاه پلیت های مذکور طبق قوانین شمارش مورد شمارش باکتریایی قرار گرفتند.

آزمونهای شیمیایی: الف) اندازه گیری ازت فرارتام: مطابق روش AOAC سال ۱۹۹۵ به بالن تقطیر ماکروکجدال، ۱۰ گرم از نمونه ماهی، ۲ گرم اکسیدمنیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر و چند عدد پرل شیشه‌ای اضافه کرده و در یک ارلن مایر که به عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سردکننده دستگاه تقطیر قرار گرفت ۲ سانتیمتر مکعب از محلول اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره از معرف متیل قرمز اضافه شد و محلول تقطیر شده را به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتراسیون کرده و برای محاسبه مقدار مصرف اسیدسولفوریک در ۱۴ ضرب شد تا مقدار ازت فرار برحسب میلیگرم در ۱۰۰

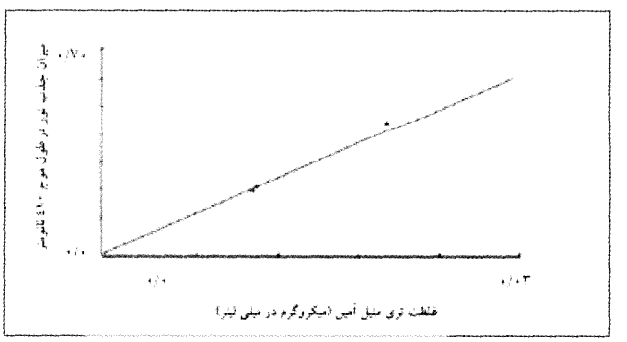
گرم ماهی محاسبه شود با توجه به این که هر میلی لیتر اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۰۱۴ گرم و یا ۱/۴ میلیگرم ازت می باشد (۸).

ب) اندازه گیری تری متیل آمین(TMA): بر اساس روش AOAC سال ۱۹۹۵ بعد از تهیه عصاره از عضله ماهی، یک میلی لیتر از این عصاره با پیپت برداشته و به دکانتورها اضافه شد و با آب مقطر به ۴ میلی لیتر رسید، به عصاره فوق یک میلی لیتر فرمالدئید ۲۰ درصد، ۱۰ میلی لیتر تولوئن و ۳ میلی لیتر محلول کربنات پتاسیم اضافه گردید و به مدت یک دقیقه دکانتورها تکان داده شدند تا دو فاز در آنها تشکیل گردد. به منظور تهیه استانداردها به ترتیب ۱، ۲ و ۳ میلی لیتر از محلول استاندارد TMA، با آب به ۴ میلی لیتر رسانده شد. شاهد (Blank) حاوی ۴ میلی لیتر آب مقطر بود. پس از جدا شدن فازها، ۹-۷ میلی لیتر تولوئن به لوله آزمایش حاوی Na_2SO_4 بدون آب منتقل گردید تا تولوئن خشک گردد. سپس ۵ میلی لیتر محلول اسید پیکریک به آن اضافه گردید و با چرخش آرامی کاملاً ترکیب شدند آنگاه با دستگاه اسپکترو فتومتر تغییر رنگ ایجاد شده مقابل لوله شاهد (Blank) در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت شد. با تعیین میزان جذب نور در نمونه مجهول و با استفاده از منحنی ۱ (قابل توضیح است که با استفاده از استاندارد تری متیل آمین تهیه شده از شرکت مرک و اسپکترو فتومتر طول موج ۴۱۰ نانومتر، منحنی جذب نوری استاندارد تهیه شد) و رابطه زیر میزان TMA در هر ۱۰۰ گرم عضله ماهی محاسبه گردید (۴).

mgTMA- N/100gr نمونه (بر پایه یک میلی لیتر) = (A /A')× (mgTM

۳۰۰ × محلول استاندارد مصرف شده ml × (محلول استاندارد N / ml-

در هنگام محاسبه، نزدیکترین مقدار استاندارد به A نمونه به عنوان A' به کار می رود.



منحنی۱- نمودار استاندارد تهیه شده جهت تعیین مقدار تری متیل آمین

ج) اندازه گیری هیستامین: اندازه گیری هیستامین به روش Thin Layer Chromatogrphy (TLC) طبق روش Jackson and Moaffat در سال ۱۹۸۶ انجام شد بعد از نشانه گذاری و فعال سازی پلیت سیلیکاژل با کمک اکراتوکسین ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه به دقت لکه گذاری شد. با توجه به استاندارد تعیین شده هیستامین از طرف اداره غذا و دارو به میزان ۱۰-۵ میلیگرم در هر ۱۰۰ گرم بافت ماهی استانداردهای ۲/۵ میکرولیتر (معادل ۵ میلیگرم در ۱۰۰ گرم) و ۵ میکرولیتر (۱۰ میلیگرم در ۱۰۰ گرم) هیستامین در ابتدا و انتهای پلیت لکه گذاری شدند. سپس پلیت، داخل تانک تهیه شده قرار گرفت و پس از گسترش کامل لکه ها از تانک شیشه ای خارج و با نین هیدرین کاملاً رنگ آمیزی شد. محل و شکل لکه های استاندارد، ملاک مقایسه جهت ارزیابی نیمه کمی هیستامین در نمونه ها گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و انجام آزمون دقیق فیشر و آزمون کاپا ارتباط بین فاکتورهای بررسی شده در تعیین کیفیت بهداشتی نمونه ها از دیدگاه استاندارد بودن یا نبودن نمونه ها صورت پذیرفت.

نتایج

مقادیر اندازه گیری شده شمارش کلی باکتری های هوازی سرما دوست در ۲۰ نمونه مورد نظر بین $۳/۶ \times ۱۰^{۳}$ تا ۶×۱۰^{۸} باکتری درهرگرم، میزان TVN اندازه گیری شده از ۱۹/۶ تا ۴۲ میلیگرم ازت فرار تام در هر ۱۰۰ گرم عضله ماهی، میزان TMA اندازه گیری شده از ۱/۱ تا ۲/۸ میلیگرم در هر ۱۰۰ گرم عضله ماهی و میزان هیستامین بین کمتر از ۵ تا بیشتر از ۱۰ میلیگرم در هر ۱۰۰ گرم نمونه متغیر بود.

جدول۱- توزیع فراوانی ماهیان استخوانی منجمد مطالعه شده بر اساس TVN و TC و تعیین ارتباط بین این دو فاکتور بر اساس آزمونهای فیشر و کاپا

TVN / TC	حد مجاز (استاندارد)	حد غیر مجاز	جمع	آزمون فیشر (Fisher's exact test) P- Value	آزمون کاپا (Kappa) Value	P- Value
حد مجاز (استاندارد)	۷	۲	۹	۰/۵۷	۰/۱۲	۰/۴۱
حد غیر مجاز	۱۰	۱	۱۱			
جمع	۱۷	۳	۲۰			

جدول۲- توزیع فراوانی ماهیان استخوانی منجمد مطالعه شده بر اساس TMA و TC و تعیین ارتباط بین این دو فاکتور بر اساس آزمونهای فیشر و کاپا

TMA / TC	حد مجاز (استاندارد)	حد غیر مجاز	جمع	آزمون فیشر (Fisher's exact test) P- Value[1]	آزمون کاپا (Kappa) Value	P- Value[1]
حد مجاز (استاندارد)	۹	-	۹	-	-	-
حد غیر مجاز	۱۱	-	۱۱			
جمع	۲۰	-	۲۰			

۱- به دلیل مقادیر ناچیز TMA که حاکی از قابلیت پذیرش (در حد استاندارد) بودن تمامی نمو نه های مورد مطا لعه از نظر این فاکتور می باشد، امکان محاسبه مقادیر P، به علت حذف ستون دادهای غیر مجاز وجود ندا رد.

جدول۳- توزیع فراوانی ماهیان استخوانی منجمد مطالعه شده بر اساس HIS و TC و تعیین ارتباط بین این دو فاکتور بر اساس آزمونهای فیشر و کاپا

HIS / TC	حد مجاز (استاندارد)	حد غیر مجاز	جمع	آزمون فیشر (Fisher's exact test) P- Value	آزمون کاپا (Kappa) Value	P- Value
حد مجاز (استاندارد)	۸	۱	۹	۰/۱۶	۰/۳۳	۰/۰۹
حد غیر مجاز	۶	۵	۱۱			
جمع	۱۴	۶	۲۰			

با درنظرگرفتن حد استاندارد 5×10^5 باکتری درهرگرم ماهی برای شمارش کلی باکتری های هوازی سرما دوست و میزان حد مجاز ۳۰ میلیگرم ازت فرار تام و ۱۰ میلیگرم تری متیل آمین و میزان ppm۱۰۰-۵۰ (۱۰-۵ میلیگرم درهر ۱۰۰ گرم) حداکثر میزان استاندارد اداره غذا و دارو برای هیستامین، جداول ۱ الی ۳ تشکیل گردید که از تلاقی ستونهای مربوط به هر فاکتور توزیع فراوانی نمونه های مطالعه شده بر اساس قابلیت یا عدم قابلیت مصرف و رابطه هرکدام از فاکتورها با شمارش میکروبی قابل بررسی می باشد.

بر اساس جداول مذکور و با توجه به مقادیر محاسبه شده P، ارتباط معنی داری (از نظر استاندارد پذیرش و عدم پذیرش) بین فاکتورهای مورد نظر در مجموع گونه های مطالعه شده مشاهده نگردید ($P>0/05$).

بحث و نتیجه گیری

اندازه گیری ترکیبات ازته غیر پروتئینی از جمله تری متیل آمین، هیستامین و ازت فرار تام به عنوان شاخصهای کیفی فساد ماهیان در مطالعات بسیاری از محققان بیان شده است (۲۱، ۶، ۵).

همچنان که بیان گردید در بررسی انجام شده در این تحقیق با وجود اهمیت TVN، TMA و هیستامین اندازه گیری شده در ارزیابی کیفیت ماهیان هیچ گونه ارتباط معنی داری ما بین این فاکتورها و TC محاسبه شده در تعیین کیفیت بهداشتی این نمونه ها، مشاهده نگردید ($P>0/05$).

مطالعات نشان می دهد که اگرچه نتایج شمارش کلی باکتریایی بیانگر کیفیت بهداشتی محصول (ماهی و فرآورده های دریایی) می باشد ولی همیشه به تنهایی بیانگر مدت زمان نگهداری (Shelf life)، خصوصیات ارگانولپتیکی و فساد ماهی بویژه در محصولات منجمد نمی باشد. در ضمن در موارد تجاری که احتیاج به تعیین سریع کیفیت ماهی داریم روش آنالیز میکروبی جوابگو نبوده لذا به کارگیری روشهای شیمیایی مناسب به عنوان یک روش جایگزین و یا همراه لازم می باشد (۱۲، ۱۱). از طرف دیگر در مورد برخی از فاکتورهای شیمیایی متداول به کارگیری شده در تعیین کیفیت ماهی (تری متیل آمین و ازت فرار تام) چنین بیان شده است که صد در صد متأثر از فعالیت فلور باکتریایی ماهی نبوده و عوامل مختلف بویژه نوع و گونه ماهی و در موارد بعدی محل پرورش، زمان صید و غیره در تولید آنها مؤثر می باشد. برای مثال در مورد میزان ازت فرار تام نوع ماهی در آن بسیار مؤثر بوده و همچنین فعالیتهای آنزیمی بافتی (از قبیل دآمیناسیون آدنوزین مونو فسفات یا هیستامین و تولید آمونیاک) بویژه در شرایط نگهداری به صورت منجمد (که از فعالیت باکتریایی کاسته می شود) در ایجاد آن نقش دارد و در این شرایط به طور کامل متأثر از فعالیت باکتریایی نمی باشد (۲۲، ۱۹، ۱۴، ۱۳، ۹،۱۲) که با نتایج ما در این تحقیق همخوانی داشت. برخی از گونه های ماهیان پلاژیک به طور طبیعی دارای مقادیر پایین تری متیل آمین اکساید در عضلات خود می باشند، در نتیجه تجزیه باکتریایی آن به تری متیل آمین نیز ناچیز بوده و لذا اندازه گیری تری متیل آمین در این گونه از ماهیان در تعیین کیفیت و مدت زمان نگهداری ماهی از اهمیت چندانی بر خوردار نمی باشد (۱۴). از آنجایی که ماهیان مورد مطالعه در تحقیق ما نیز از دسته ماهیان پلاژیک می باشند لذا احتمالاً یکی از دلایل عدم ارتباط معنی دار بین شمارش کلی باکتریایی و میزان تری متیل آمین در این تحقیق می تواند مقادیر پایین تری متیل آمین اکساید در عضلات آنها باشد. از طرف دیگر مقادیر ناچیز اندازه گیری شده تری متیل آمین در مطالعه حاضر بر روی ۲۰ نمونه منجمد، که با مطالعه Ben و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز همخوانی دارد، می تواند به علت کاهش و یا توقف فعالیت باکتریایی در طول انجماد و شرایط نگهداری در انجماد محصول باشد. بنابراین تولید باکتریایی TMA از TMAO در این شرایط بسیار ناچیز است و در نتیجه TMA را شاخص بهتری برای ماهیان در مراحل قبل از انجماد می دانند (۵،۱۶،۱۷). بررسیهای انجام شده نشان می دهد که در مورد برخی از انواع ماهیان از قبیل تن ماهیان و شبه تن ماهیان، فعالیت فلور طبیعی باکتریایی آنها در شرایط نگهداری نامناسب ماهی در ایجاد هیستامین حتی در مقادیر بسیار بالاتر از حد استاندارد (۵ میلیگرم در صد گرم عضله) مؤثر بوده است. لذا در این گونه از ماهیان تنها توجه به فاکتور های ذکر شده در بالا از قبیل شمارش کلی باکتریایی (که می تواند در حد استاندارد باشد در حالی که میزان هیستامین تولید شده توسط آنها بالای استاندارد تعیین شده باشد) می تواند گمراه کننده باشد. در این گونه ماهیان بویژه در انواع منجمد این ماهیان (با عنایت به این مطلب که در اثر انجماد احتمال کاهش یک لوگ در تعداد باکتری ها نیز وجود دارد) اندازه گیری هیستامین با اهمیت می باشد (۱۲، ۱۱). در مطالعه انجام شده در تحقیق ما نیز ارتباط معنی داری بین شمارش کلی باکتریایی و میزان هیستامین از نظر استانداردهای قابل قبول در نمونه های منجمد مورد مطالعه مشاهده نشد.

در مطالعه انجام شده توسط Ruiz-Capillas و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی ماهی Hake نگهداری شده در یخ، ارتباط معنی داری بین فاکتورهای شیمیایی TVN، TMA با کیفیت باکتریایی در طی مدت زمان نگهداری محصول در یخ پیدا نکردند (۱۸). در مطالعات Shakila و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی تغییرات هیستامین و آمین های فرار (تری متیل آمین و ازت فرار تام) روی ۶ گونه ماهی از جمله مکرل و ساردین با شرایط نگهداری در دمای محیط (۲±۳۲ درجه سانتیگراد) به دست آمد و بیان گردید که اگرچه تغییرات TMA نسبت به TVN ارتباط نزدیکتری را با تغییرات حسی نشان می دهد اما در مجموع هیچ گونه ارتباط معنی داری بین این پارامترها و تغییرات ارگانولپتیکی قابل مشاهده نمی باشد و گزارش گردید که در گونه های مکرل و ساردین مشکلات مسمومیت هیستامین می تواند با وجود پذیرش ارگانولپتیکی نمونه تولید گردد. در این مطالعه میزان هیستامین در ماهیان متعلق به یک گونه با توجه به مناطق مختلف صید آنها، تغییرات وسیعی را نشان داد که این اختلافات را وابسته به تفاوت در ترکیب شیمیایی ماهی، فلور میکروبی فساد، دما و شرایط نگهداری عنوان نمودند (۲۱).

در بررسی انجام شده دیگری توسط Sotelo و همکاران در سال ۱۹۹۵، تغییرات فاکتورهای شیمیایی و باکتریایی در ماهی Hake منجمد، نگهداری

شده در ۵-، ۱۲- و ۲۰- درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. آنها فعالیت و تجزیه باکتریایی اندکی را در ۵- درجه سانتیگراد گزارش نمودند. از طرفی بیشترین تغییرات TVN مربوط به فعالیت آنزیمی بافتی و آن هم در ۵- درجه سانتیگراد بود. تشکیل TVN در ۱۲- درجه سانتیگراد اندک و در ۲۰- سانتیگراد بسیار اندک بود. در این مطالعه فعا لیت آنزیمی باکتریایی و تشکیل TMA در حد بسیار ناچیز در ۵- درجه سانتیگراد مشاهده شد و در ۱۲- و ۲۰- درجه سانتیگراد هیچ گونه تغییری در TMA مشاهده نشد. چنین بیان شد که اندازه گیری TMA در ماهی منجمد بیشتر به عنوان یک معیار وضعیت بهداشتی محصول قبل از انجماد می باشد و به تنهایی مشخص کننده شرایط انجماد و نحوه نگهداری محصول منجمد نمی باشد. همچنین بیان شد که اندازه گیری فاکتور TVN، در تعیین کیفیت محصول منجمد نگهداری شده در ۵- درجه سانتیگراد مفید می باشد. در این مطالعه هیچ گونه ارتباط معنی داری بین شمارش کلی باکتریایی با TVN و TMA در محصول منجمد مشاهده نشد(۲۲) که با نتایج ما همخوانی داشت. همچنین با توجه به مطالعه‌ای در سال ۱۳۷۸، بین روشهای اندازه گیری TVN و شمارش کلی باکتری های هوازی سرمادوست در تعیین کیفیت برخی ماهیان استخوانی منجمد، هیچ گونه ارتباط معنی داری مشاهده نگردید (P=۰/۲۷۱)، (۱).

در رابطه با فاکتور هیستامین، با توجه به این که میزان فعالیتهای باکتریایی که با ترشح آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز در تولید هیستامین مؤثرند، در طول انجماد تا حدود زیادی کاهش می یابد(۷)لذا با توجه به اینکه فعالیتهای آنزیمی داخلی در تبدیل این مقادیر بالای هیستیدین به هیستامین مؤثر می باشند احتمال می رود مقادیر تولیدی این آمین بیوژن یعنی هیستامین با این فعالیتها در ارتباط بوده و لذا نمی توان ارتباط و همبستگی معنی داری را بین این فاکتور و شمارش کلی میکروبی، در مجموع ۲۰ گونه مورد مطالعه انتظار داشت.

نتایج تحقیقات مختلف بیانگر آن است که با توجه به تنوع عوامل تأثیر گذارنده هنوز یک روش جامع همه شمول و مطمئن جهت تعیین کیفیت ماهی و محصولات دریایی ارائه نشده است (۱۸، ۱۴). لذا در کنار آزمایشات میکروبی انجام یک یا چند آزمون شیمیایی، متناسب با نوع محصول (ماهی) جهت اظهار نظر نهایی برروی کیفیت محصول (بویژه منجمد) بسیار مفید و مؤثر می باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری جناب آقای دکتر عباسی جهت تهیه نمونه های ماهی از سردخانه بهمن، صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

References

۱. آخوندزاده، ا.، بکایی، س.، قناتی، ک. (۱۳۷۸): بررسی مقایسه ای دو روش اندازه گیری ازت فرارتام و شمارش کلی باکتری های هوازی در تعیین کیفیت برخی از ماهیان استخوانی منجمد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۲، دوره ۵۴: صفحه: ۱۸-۱۵.

۲. آذری تاکامی، قباد.(۱۳۶۳): اصول تکثیر و پرورش ماهی، انتشارات روابط عمومی وزارت کشاورزی، صفحه: ۳-۱.

3. Ababouch, L., Afilal, M.N., Benabdeljelil, H., and Busta, F.F. (1991): Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine *(Sardina pilchardus)* stored at ambient temperature and in ice. *J. Food Sci. Techno. 26(3):297-306.*

4. AOAC. (1995): Association of Official Analytical Chemists, 15th (ed), Washington DC, Chapter 35, PP: 7-9.

5. Ben-Gigirey, B., De Sousa, J.M., Villa, T.G. and Barras-velazqez, J. (1999): Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related to frozen storage. *J. Food Sci. 64:20-24.*

6. Calaresu, G., Mancuso, R., Alamani, Mm.C. and Luca, G., (1991): The assessment of freshness of commercial frozen fish products. *Bolleetinodel-Chimici-Igienist, 35: PP: 51-58.*

7. Capillas, C.R. and Moral, A. (2001): Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for Hake (*Merluccius merluccius, L.*) stored in ice, *J. Food Sci. 66,(7):1030-1032.*

8. Cunnia, P., (1995): Official Methods Analysis of AOAC International. Vol. 2, Ch. 39, PP: 5-6.

9. FDA. Food and Drug Administration. (1996): Decomposition and histamine in raw, frozen tuna and mahi-mahi canned tuna; and related species. Compliance Policy Guides 7108.240, sec.525-540.

10. Gouide, E. and Peteres, J.A. (1971): On testing the freshness of frozen fish. ed, Eyre, S. fishing News(Book) Ltd, London, PP:15-18.

11. Gram, Lone. (1992): Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *Inter. J. Food Microbiol. 16: 25-39.*

12. Gram, Lone and Huss, H. H. (1996): Microbiological spoilage of fish and fish products . *Inter . J. Food Microbiol. 33: 121-137.*

13. Hans, H., (1991): Development and use of the HACCP concept in fish processing , *Inter. J. Food Microbiol.*

15:33-44.

14. Huss, H.H. (1988): Fresh Fish Quality and Changes. *FAO Fisheries series No 29, PP: 20-24, 43-52 and 61-67.*

15. Joseph, J., Rudra, S., Surendran, P.L. and Copakumar, K. (1985): Harvest and Post Harvest Technology of Fish. Chochin Publication , India, PP: 371- 376,379-380,395-403,514-518.

16. Mills, A. (1975): Measuring changes that occur during frozen storage of fish. *J. Food Technol.10:483-796.*

17. Moaffat, A.C. and Jackson, J.V. (1986): Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2nd ed. PP: 167-169, 659-660.

18. Ruiz-Capillas, C. and Moral, A. (2001): Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Res. Inter. 34: 441-447.*

19. Sakaguchi, M., Murata, M. and Kawai, A. (1984): Changes in free amino acids contents in juvenile mackerel (*Scomber japonicus*) muscle during ice storage. Bull. Japanese Soci. Scientific Fisheries 50, PP: 323-329.

20. Sakaguchi, M., (1990): "Sensory and Non-sensory Methods for Measuring Freshness of fish and fish Products". in.Motohiro (ed). Science of Processing Marine Food Products.vol .1. Japan.

21. Shakila, R. J., Vijayalakshmi, K. and Jeyasekaran, G. (2003): Changes in histamine and volatile amines in six commercially important species of fish of the Thoothukkudi coast of Tamil Nadu, India stored at ambient temperature. *J. Food Chem. 82(3): 347-352.*

22. Sotelo, C. G., Gallardo, J. M., Pineiro, C. and Peroz-Martin, R. (1995): Trimethyamine oxide and derived compounds' changes during frozen storage of hake *(Merluccius merluccius). Food Chem. 53: 61-65.*

23. Sumner, J.and Mango, O.F. (1985): Tropical fish keep longer in ice than circumstantial and definitive approaches. FAO Fisheries Report, No.317.

24. Taylor, S.L. and Sumner, S.S. (1986): Determination of histamine, putrecine and cadaverine. In: Kramer DE, Liston J editors.Sea food quality determination. Proceedings of an international symposium. Elsevier Science Publishers,PP:235-245.