

بررسی میزان هیستامین در ماهیان تن مصرفی کارخانه های کنسروسازی استان قزوین

رضا نوریان^{۱*}، رزاق محمودی^۲

۱- کارشناس ارشد، آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی و باقیمانده های داوریی دامپزشکی استان قزوین

۲- استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۳)

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی مقادیر هیستامین در نمونه های ماهیان تن مصرفی در کارخانه های کنسروسازی با روش ELISA انجام شد. بدین منظور تعداد ۳ کارخانه کنسروسازی موجود در استان به عنوان ۳ مورد بررسی قرار گرفتند. که در مجموع از سردخانه های آنها با توجه به ظرفیت موجود تعداد ۹۶ نمونه در تاریخ های متفاوت انتخاب و مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که تمامی نمونه های مورد مطالعه دارای هیستامین بوده و دامنه مقادیر آن در بین کارخانه های مورد بررسی متفاوت بود، بطوریکه این محدوده در کارخانه (A) ۱۴۴/۱۵ - ۱۴/۲۶، کارخانه (B) ۱۲۷/۷۵ - ۱۹/۴۷ کارخانه (C) ۷۵/۴۶ - ۳۰/۷۹ میلی گرم بر کیلوگرم بود. همچنین یافته ها نشان داد که ۱۱/۷۶ درصد، ۳/۵۷ درصد و صفر درصد نمونه های مربوط به کارخانه های A, B, C به ترتیب دارای مقادیر هیستامین بالاتر از حد مجاز بودند. در مجموع تقریباً ۵/۱۱ درصد نمونه ها آلودگی بالاتر از حد استاندارد را نشان دادند.

کلید واژگان: هیستامین، الیزا، تن، قزوین

* مسئول مکاتبات: mahmodi@tabrizu.ac.ir

۱- مقدمه

سموم تولیدی توسط میکروارگانیسمهای با منشأ دریایی و یا میکروارگانیسم هایی که در روی مواد غذایی تکثیر می نمایند، مسئول بسیاری از بیماریهای با منشأ غذایی از جمله مسمومیت هیستامینی بوده که در اثر خوردن مواد غذایی حاوی مقادیر بالای هیستامین ایجاد می شود [۱]. هیستامین یکی از آمین های بیولوژیک است که به عنوان عامل ضد تغذیه ای طبیعی مطرح و سبب بروز مسمومیت ناشی از مصرف غذا در انسان می شود [۲،۱]. مطالعات نشان داده که ماهیان خانواده اسکومبریده^۱ و اسکومبروسوسیده^۲ عمدتاً در شیوع موارد مسمومیت های هیستامینی دخالت دارند. هیستامین عمدتاً توسط یک دسته از باکتری هایی که حاوی آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز هستند تولید می شود. در ماهیان تن و ماکرل به دلیل اینکه میزان هیستیدین عضلاتشان بالا است، این ماده به عنوان سوبسترا به وسیله آنزیم دکربوکسیلاز باکتریایی مورد عمل قرار گرفته و در نتیجه پس از صید به مرور زمان هیستامین در بدن ماهی افزایش و تجمع می یابد [۳]. حال اگر چنین ماهیانی مورد مصرف قرار بگیرند پس از مدت زمان کوتاهی علائم مسمومیت در فرد ظاهر می گردد. بنابراین در صورتی که میزان هیستامین موجود در بافتهای عضلانی ماهی خام از حد ۱۰۰ mg/kg در مورد نمونه های منفرد و mg/kg ۲۰۰ در مورد نمونه های چند تایی تجاوز نماید ماهی و یا فرآورده های مربوطه غیر قابل مصرف اعلام می گردد [۴،۵،۶]. اولین مورد بیماری در سال ۱۸۲۸ در ژاپن گزارش گردید، بر اساس آمار ارائه شده در کشورهای مختلف، فرآورده های دریایی به ویژه کنسرو و تن ماهی همواره یکی از مهمترین دلایل بروز این مسمومیت بوده است [۷]. به علت روند رو به رشد مصرف فرآورده های دریایی در کشور ما به خصوص ماهی تن که بیشتر به صورت کنسرو عرضه می شود، یافتن شاخصی جهت

کنترل کیفیت ماهی خام و کنسرو آن و نیز کاهش مسمومیت حاصل از آن مد نظر است. در این تحقیق میزان هیستامین موجود در نمونه های ماهیان تن مصرفی کارخانه های کنسروی سازی استان قزوین با استفاده از روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش کار

در مطالعه حاضر تعداد ۹۶ نمونه ماهی تن آماده مصرف (منجمد شده) از ۳ کارخانه مختلف (A,B,C) در سطح استان قزوین نمونه برداری و جهت تعیین مقادیر هیستامین به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی و باقیمانده های دارویی دامپزشکی استان قزوین (با رعایت شرایط مناسب جهت انتقال نمونه های آزمایشگاهی) ارسال گردید.

نمونه برداری با رعایت اصول نمونه برداری و از بهر های مختلف کارخانه های مورد بررسی انجام شد. در این تحقیق برای اندازه گیری میزان هیستامین از کیت الایزا مخصوص آنالیز کمی هیستامین استفاده شد

(RIDA@QUICK HISTAMIN,
R-biopharm, Germany, Art No: R1603)

۲-۱- اصول آزمایش

اساس کیت مورد استفاده برای ارزیابی مقادیر هیستامین بر پایه روش رنگ سنجی بود. بطوریکه بعد از همگن کردن و یکنواخت سازی نمونه، عمل تصفیه و خالص سازی هیستامین از سایر ناخالصیها توسط یک ستون تبادل یونی صورت گرفت. بعد از اینکه هیستامین موجود در نمونه کاملاً استخراج گردید، نتیجه تغییر رنگ توسط یک دستگاه فتومتر در طول موج ۴۵۰ نانومتر تعیین می گردد. میزان جذب خوانده شده با غلظت هیستامین در نمونه نسبت مستقیمی داشت.

۲-۲- مرحله آماده سازی نمونه

در ابتدا ۵۰ گرم از نمونه ماهی تن را با ۵۰ ml آب مقطر هموژنیزه نموده و سپس ۱ میلی لیتر از مخلوط هموژنیزه

1. Scombridae
2. Scomberosocidae

هیستامین نمونه های ماهیان تن کارخانه C دارای بیشترین مقدار ($47/21 \text{ mg/kg}$) و نمونه های ماهیان کارخانه B دارای کمترین میزان ($41/41 \text{ mg/kg}$) بود (جدول شماره ۱). همچنین یافته های مطالعه حاضر نشان داد که نمونه های کارخانه A ($11/76 \%$) دارای بیشترین موارد هیستامین بالاتر از حد مجاز و نمونه های کارخانه C فاقد نمونه واجد هیستامین بالاتر از حد مجاز بود (جدول شماره ۲).

۴- بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر در جهت ارزیابی مقادیر هیستامین تعداد ۹۶ نمونه ماهی تن متعلق به ۳ کارخانه کنسروسازی در استان قزوین صورت پذیرفت. نمونه های هر کارخانه از بهر های متفاوت تهیه و تمامی آنها دارای تاریخ انقضا بودند. به منظور تعیین مقدار هیستامین در نمونه ماهیان تن موجود در سردخانه کارخانه های مورد مطالعه، از روش الیزا مطابق با اطلاعات کیت استفاده گردید. مسمومیت با هیستامین انتشار جهانی داشته و عمدتاً در این رابطه میزان شیوع در کشورهای نظیر ژاپن، آمریکا و انگلستان بالاتر از کشورهای دیگر بوده است. که این مسئله بیشتر به دلیل مصرف بالای انواع خاصی از ماهیان و همچنین گزارش بهتر موارد بیماری توسط این کشورها است [۱]. موارد شیوع مسمومیت هیستامینی از کشورهای نظیر کانادا، نیوزلند، آلمان، فرانسه، نروژ، سریلانکا، چک، اسلواکی، سوئد، استرالیا، اندونزی، تایوان و آفریقای جنوبی گزارش گردیده که تاییدی بر انتشار جهانی مسمومیت هیستامینی است [۱۰، ۹].

در مطالعه ای که توسط گاجسکا و همکاران (۱۹۹۱) بر روی مقادیر هیستامین ماهی و فرآورده های آن صورت گرفت، آنها نشان دادند که میزان هیستامین ۸۰-۰ میلی گرم در کیلوگرم در ماهی خام و ۱۶۰-۰ میلی گرم در کیلوگرم در فرآورده های ماهی بود [۱۱].

شده به درون یک لوله آزمایش شیشه ای حاوی ۳ ml از محلول ایزوپروپانول خالص منتقل گردید. محلول را کاملاً بهم زده و سپس به مدت ۳ دقیقه با دور 2000 rpm در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتیگراد سانتریفوژ گردید. ۱ ml از مایع رویی جهت استفاده در مرحله تصفیه و خالص سازی برداشت شد [۸].

۲-۳- مرحله تصفیه و خالص سازی

ابتداء ستونهای تبادل یونی را با ۲ ml بافر شستشوی رقیق شده، شستشو داده سپس ۱ ml از مایع سانتریفوژ شده مرحله قبل را به درون ستون ریخته تا به آرامی از درون ستون خارج شود. ستون را با ۱ ایزوپروپانول 70% شستشو داده سپس مجدداً ستون ۲ مرتبه، هر بار با ۳ ml بافر شستشوی رقیق شده شستشو داده شد. تمامی محلول حاصل از شستشوی ستون را دور ریخته و از یک لوله جدید جهت جمع آوری هیستامین در انتهای ستون استفاده شد.

۵۰/۰ ml از محلول بافر رقیق کننده elution buffer با دقت به درون ستون ریخته و اجازه داده شد تا به آرامی از درون ستون جریان یابد، سپس مجدداً ۵۰/۰ ml دیگر از محلول بافر بدرون ستون ریخته شد. در نهایت محلول تصفیه شده را با همزن کاملاً مخلوط کرده، از این محلول ۲۰۰ μl برای هر گوده در مرحله رنگ سنجی استفاده شد. در نهایت جذب نوری در فاصله حداکثر ۱۰ دقیقه بلافاصله بعد از آماده سازی و در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد.

۳- نتایج

نتایج حاصله نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه های ماهیان مورد مطالعه حاوی هیستامین بودند. میزان هیستامین نمونه ها در محدوده ۱۴۴/۱۵-۱۴/۲۶ میلی گرم در کیلوگرم بود. بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه ۵/۱۱٪ از کل نمونه ها حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز (100 mg/kg) بودند (جدول شماره ۲). میانگین مقادیر

در مطالعه دیگر بر روی ۸۰ نمونه کنسرو ماهی تن و ۲۰ نمونه کنسرو ماهی کیلکا نتایج نشان داد که میزان هیستامین نمونه های کنسرو ماهی تن در محدوده ۱۷۸-۱۰ میلی گرم در کیلوگرم بود، همچنین این میزان در مورد نمونه های کیلکا ۴۷-۵ میلی گرم در کیلوگرم گزارش شد. تمام مقادیر بدست آمده برای کنسرو ماهی

کیلکا زیر حد مجاز ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم قرار داشت، در حالی که در نمونه های کنسرو تن ۴۱/۲۵ درصد نمونه های مورد مطالعه حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز پذیرفته شده بودند، که در مقایسه با مقادیر هیستامین ارزیابی شده در ماهیان تن در مطالعه ما از رقم بالاتری برخوردار بوده است [۸].

جدول ۱ میانگین، حداکثر و حداقل غلظت هیستامین (برحسب میلی گرم در کیلو گرم) در ۳ کارخانه مختلف

کارخانه	تعداد نمونه	میانگین	کمینه	پیشینه
A	۲۶	$46/37 \pm 1/32$	۱۴/۲۶	۱۴۴/۱۵
B	۵۵	$47/21 \pm 1/12$	۱۹/۴۷	۱۲۷/۸۵
C	۱۵	$41/41 \pm 0/94$	۳۰/۷۹	۷۵/۴۶
نتیجه کلی	۹۶	$44/99 \pm 0/32$	۱۴/۲۶	۱۴۴/۱۵

جدول ۲ نسبت درصد ماهیان تن دارای غلظت کمتر از ۵۰ و بین ۵۰-۱۰۰ و بالای ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم

کارخانه	تعداد نمونه	درصد نمونه های دارای مقادیر هیستامین کمتر از ۵۰ ppm	درصد نمونه های دارای مقادیر هیستامین بین ۵۰-۱۰۰ ppm	درصد نمونه های دارای مقادیر هیستامین بالای ۱۰۰ ppm
A	۲۶	۷۰/۶۰	۱۷/۶۴	۱۱/۷۶
B	۵۵	۷۸/۵۸	۱۷/۸۵	۳/۵۷
C	۱۵	۷۱/۴۳	۲۸/۵۷	۰
نتیجه کلی	۹۶	۷۳/۵۲	۲۱/۳۵	۵/۱۱

بر اساس یافته های مطالعه حاضر هیستامین در تمامی نمونه های ماهیان تن در محدوده ۱۴۴/۱۵-۱۴/۲۶ میلی گرم در کیلوگرم بود اندازه گیری شد، در مجموع نمونه های ماهیان تن بررسی شده، ۵/۱۱٪ نمونه ها دارای هیستامین بالاتر از حد مجاز (۱۰۰ ppm) بودند. همچنین میانگین مقادیر هیستامین در نمونه های ماهیان تن کارخانجات مورد مطالعه از اختلاف آماری معنی داری بر

خوردار بود، به گونه ای که میانگین مقادیر هیستامین نمونه های ماهیان تن کارخانه C دارای بیشترین مقدار (۴۷/۲۱ mg/kg) و نمونه های ماهیان کارخانه B دارای کمترین میزان (۴۱/۴۱ mg/kg) بود (جدول شماره ۱). همچنین یافته های مطالعه حاضر نشان داد که نمونه های کارخانه A (۱۱/۷۶٪) دارای بیشترین موارد هیستامین

- [2] Rahimi, E., Nayeypour, F. and Alian, F. 2012; Determination of Histamine in Canned Tuna Fish Using ELISA Method. American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences 4 (2): 64-66.
- [3] Marouni, N. 2000; Histamine poisoning. Standard journal. 96: 45-47.
- [4] Anonymous, A. 1998; Fish poisoning is new to landlocked New Mexico. Food Protect Rep. March, pp.4-5.
- [5] Arnold, S.H., Brown, W.D. 1978; Histamine toxicity fish products. Food Res. 34: 113-154.
- [6] FDA, 2004; FDA and EPA guidance levels. In: Fish and fishery products hazards and controls guide, Scombrotoxin (Histamine) formation. Chapter 27.
- [7] Arnold, S.H., Price, R.J. Brown, W.D. 1980; Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. Bull. Jpn. Soc.Sci. 46: 991-995.
- [8] Kamkar, A., Khaniki, J., Bahonar, Al. 2012; A study on the occurrence of histamine in canned fish tuna marketed in Tehran, Pajouhesh & Sazandegi, 79: 102-107.
- [9] Barker. Y., McKenzie, A., 1997; Review of HACCP and HACCP- based food control system. In: Martin R.E. Collette, R.L., Salvine, J.W.(Eds). Fish inspection, quality control and HACCP: A global focus, proceedings of the conference held 19-24 May 1996, Arlington, VA, Technomic, Lancaster, Basel, pp.73-81.
- [10] Chin, K.W., Garriga, M., 1989; the histamine content of oriental foods. Food Chem. Toxicol. 27(25)283-287.
- [11] Gajewska, R., 1991; Contents of histamine and tyramine in selected food products. Industry Alimentaria. 35(353)1184-1188.

بالتر از حد مجاز و نمونه های کارخانه C فاقد نمونه واجد هیستامین بالاتر از حد مجاز بود (جدول شماره ۲). با توجه به نتایج بدست آمده و اطلاعات موجود به نظر می آید که تحقیقات بیشتری در جهت مشخص شدن مکانیسم مسمومیت هیستامینی و تعیین نقش تقویت کننده ها باید صورت گیرد. همچنین نیاز است که تحقیقات بیشتری به منظور بهبود روش های کنترل کیفیت در تولید کنسرو ماهی، روش های نگهداری و حفظ زنجیره سرد در انتقال ماهیان تن به کارخانجات انجام شود. با توجه به اینکه روش های مختلفی برای تعیین میزان هیستامین در جهان به کار می رود به منظور وجود یک روش استاندارد و مورد تایید سازمان های بین المللی لازم است مطالعاتی در جهت مقایسه این روشها با یکدیگر از نظر دقت، زمان و هزینه صورت پذیرد [۲]. استفاده از هیستامین به عنوان شاخصی جهت تشخیص فساد میکروبی در ماهی حاوی هیستیدین بسیار مفید بوده و در بسیاری از کشورها حد مجاز هیستامین در ماهی و فرآورده های آن تعیین شده است. به همین منظور یکی از مهمترین پیشنهادها می تواند وارد کردن اندازه گیری میزان هیستامین در استاندارد ایران باشد و کارخانه های تولید کنسرو ماهی تن ملزم به فراهم آوردن امکانات لازم برای اندازه گیری میزان هیستامین در ماهی خام و کنسروی باشند.

۵- منابع

- [1] Seyfollahi, M. 1997; Histamine poisoning. Standard journal. 56: 8-15.

Evaluation of histamine content in tuna and sardine fish used in cannery factories from Qazvin province

Norian, R.¹, Mahmoudi, R.^{2*}

1. MS. Food Quality control and Drug Residues, Veterinary Laboratory, Qazvin, Iran.

2. Assistance professor, Department of Food Hygiene and Aquatics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

(Received: 89/11/16 Accepted: 91/2/3)

This study was conducted to evaluate of the histamine levels in tuna samples by ELISA method used in cannery factories. For this purpose, three cannery factories (A, B and C) in Qazvin province were studied. Total of 96 samples were collected and examined. The results showed that all samples had histamine and the range of histamine value was different in all samples of three cannery factories. The range of histamine in the factories were 14.26-144.15, 19.47-127.75 and 30.79-75.46; respectively (A, B and C). Also based on results, histamine levels 76.11 %, 57.3 % samples (related to A and B respectively) were above the Standard level, While samples with histamine content above standard limit not detected on the cannery factory C. Ultimately, 5.11 % of samples showed the histamine levels higher than the standard limit.

Key words: Histamine, Tuna, ELISA, Qazvin

* Corresponding author E-Mail Address: norian.reza@yahoo.com