

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های صنعتی و سنتی

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی دامنه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های صنعتی و سنتی و تأثیر روش‌های مختلف بر میزان فلور باکتریایی با توجه به فصول مختلف و زمان انجام آزمایش مورد مقایسه قرار گرفت. نمونه‌برداری در سه فصل پاییز، زمستان و بهار ۱۳۹۹-۱۳۹۸ از مناطق غالب صید گونه‌های مختلف موتو معمولی در منطقه خلیج فارس انجام گرفت. جهت تعیین مقدار هیستامین به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC و تعیین مقدار هیستامین در نمونه، از محاسبه میزان آلودگی نمونه مجهول با استفاده از منحنی کالیبراسیون و با احتساب ضریب رقت و با استفاده از روش استاندارد موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد ملی ایران، شماره ۹۵۹۴ انجام شد. نتایج نشان دادند که اگرچه دامنه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش صنعتی و سنتی بسیار به هم نزدیک بوده است ولی مقایسه روند تغییرات مربوط به میانگین‌ها نشان می‌دهد که سطح میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش سنتی به مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده است به طوری که مقایسه مربوط به میانگین‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف نشان داد که مابین این دو روش از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود داشته است ($P < 0.05$). نتایج حاکی از این است که صرف‌نظر از اثرات تیمار زمان در هریک از روش‌های خشک شدن ماهی، مابین فصول مورد مطالعه از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P > 0.05$). با توجه به بررسی‌های انجام‌شده نسبت فراوانی باکتری‌ها در فصول مختلف نسبت به زمان روند افزایشی داشته است که می‌تواند به دلیل این امر باشد که در طول فرایند نگهداری ماهی، باکتری‌های سرمادوست به عنوان باکتری‌های غالب فعالیت داشته‌اند. همچنین با توجه به نتایج مقایسه شده با دیگر موارد گزارش شده می‌توان نتیجه گرفت که غلظت هیستامین قابل اندازه‌گیری در فرآورده‌های ماهیان ممکن است با توجه به سرعت تولید هیستامین روش مورد استفاده فصل و میزان تجزیه آن‌ها در حین آماده‌سازی و خشک کردن متغیر باشد.

واژگان کلیدی: موتو ماهیان، هیستامین، خلیج فارس، فصل.

امین در ۱

افشین آخوندزاده بستی^۲

پیمان مهستی شتر بانی^{۳*}

سعید تمدنی جهرمی^۳

مهدی جبار زاده شیباده^۴

۱. دانشجوی دکترای بهداشت مواد غذایی، واحد بین‌الملل قشم، دانشگاه آزاد اسلامی، قشم، ایران.
۲. استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۳ و ۴. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
۵. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بین‌الملل قشم، قشم، ایران.

*مسئول مکاتبات:

pmahasti@yahoo.com

کد مقاله: ۱۴۰۰۱۰۸۵۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۴

این مقاله پژوهشی و برگرفته از رساله

دکتری است.

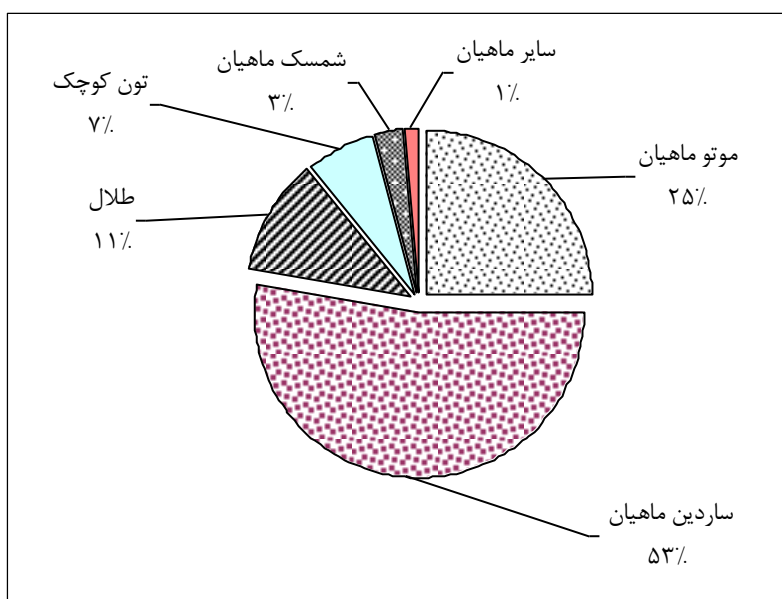
مقدمه

شناخت منابع آبزیانی که کمتر بهره‌برداری شده‌اند، می‌تواند کمک بزرگی در کاهش فشار صیادی روی منابع در حال برداشت باشد. از میان ذخایر متنوع آبزیان در خلیج فارس و دریای عمان، ماهیان سطح‌زی ریز به‌ویژه ساردین ماهیان و موتو ماهیان از اهمیت خاصی برخوردارند. بررسی‌های مهر و موم‌های اخیر نشان داده است که از بین گونه‌های ماهیان سطح‌زی ریز، ساردین سند و موتو

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های ... / درآ و همکاران

معمولی بیشترین سهم را در صید این ماهیان داشته‌اند. با بررسی روند صید و بهره‌برداری از این ذخایر در استان هرمزگان، می‌توان مرحله توسعه را برای این ذخایر تعریف نمود که بیانگر پتانسیل خوب از این ذخایر در این منطقه می‌باشد. به‌طوری‌که بر اساس مدل‌ها، میزان قابل‌برداشت از ذخایر ساردین ماهیان و موتو ماهیان ۶۵ هزار تن پیش‌بینی شده است، که از این بین ساردین ماهیان به‌طور متوسط ۴۳ درصد و موتو ماهیان به‌طور متوسط ۵۷ درصد از میزان قابل‌برداشت این ذخایر را به خود اختصاص داده‌اند. (FAO, 2014). از این میان، گروه ماهیان سطح‌زی ریز ساردین و آنچوی بیشترین سهم را در صید جهانی داشته‌اند، به‌طوری‌که در سال ۲۰۱۲ آنچوی پرو (*Engraulis ringens* Jenyns, 1842) با ۴/۷ میلیون تن رتبه اول صید و گونه‌های دیگری از ساردین و آنچوی در زمره ۲۳ گونه اول صید جهانی قرار دارند (FAO, 2014).

میزان صید در آب‌های جنوب ایران در سال ۱۳۹۳ برابر با ۵۳۵ هزار تن بوده است، در همین سال صید ماهیان سطح‌زی ریز در آب‌های ایران ۶۵ هزار تن گزارش شده است، استان هرمزگان با ۵۹ هزار تن، حدود ۹۲ درصد از صید ماهیان سطح‌زی ریز را به خود اختصاص داده است (دفتر برنامه‌ریزی و بودجه، ۱۳۹۴). ترکیب صید ماهیان سطح‌زی ریز در استان هرمزگان، ۶۲ درصد موتو ماهیان، ۳۵ درصد ساردین ماهیان و ۳ درصد نیز سهم سایر آبزیان می‌باشد، آب‌های جنوب جزیره قشم با ۷۶ درصد بالاترین میزان صید ماهیان سطح‌زی را به خود اختصاص داده، درحالی‌که بندرلنگه با ۱۳ درصد و بندر جاسک با ۱۱ درصد در رتبه‌های بعدی قرار دارند (عالی زاده و اولیایی، ۱۳۹۴).



شکل ۱: ترکیب صید ماهیان سطح‌زی ریز (درصد) سال ۲۰۱۳ در آب‌های خلیج فارس و دریای عمان. (FishstatJ, 2014؛ سالار پوری، ۱۳۸۵)

ساردین ماهیان و موتو ماهیان در چرخه غذایی تون ماهیان از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. در آب‌های استان‌های سیستان و بلوچستان و هرمزگان، حدود ۶۰ درصد از تغذیه هور را ساردین ماهیان و دیگر ماهیان ریز تشکیل می‌دهند (شوقی، ۱۳۷۱). ایجاد آمین‌های بیوژنیک در ماهی مستقیماً با میکروارگانیسم‌های دارای فعالیت دکاربوکسیلاز ارتباط دارد. این ترکیبات به‌طور کلی توسط اکسیدازهای موجود در دستگاه روده انسان سم‌زدایی می‌شوند، اما برخی شرایط مانند مصرف الکل، کمبود آنزیم یا استفاده از داروهای ضداسفردگی مونوآمینو اکسیداز می‌تواند مصرف آن‌ها توسط غذا

را خطرناک کند. به دلیل سمی بودن هیستامین، این آمین بیوژنیک منحصربه‌فرد است و دارای محدودیت‌های نظارتی برای محصولات شیلاتی است (Visciano *et al.*, 2020).

اگرچه هیستامین عملکردهای فیزیولوژیکی مهمی در بدن دارد، اما در صورت جذب در مقیاس بالا، می‌تواند خطرات مهلکی برای سلامتی ایجاد کند. مسمومیت با هیستامین، ممکن است پس از مصرف غذاهایی با محتوای هیستامین غیرمعمول بالا (به‌طور کلی بالاتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) رخ دهد (Comas *et al.*, 2020). میکروارگانیزم‌هایی که در روی مواد غذایی تکثیر می‌نمایند، تولید می‌شود مسئول تعدادی از بیماری‌های با منشأ غذایی هستند که از جمله این بیماری‌ها می‌توان به مسمومیت هیستامینی اشاره کرد. از جمله این ماهی‌ها می‌توان به ماهی ساردین، آنچوی، ماهی تن و سایر گونه‌های متعلق به خانواده‌های *Coryfenidae*, *Engraulidae*, *Clupeidae*, *Scombridae*, *Pomatomidae* و *Scombrosidae* اشاره کرد (Cicero *et al.*, 2020). این مسمومیت در اثر خوردن مواد غذایی حاوی مقادیر بالای هیستامین ایجاد می‌شود. مطالعات نشان داده که ماهیان خانواده اسکومبریده و اسکومبروسوسیده عمدتاً در شیوع موارد مسمومیت‌های هیستامینی دخالت دارند. هیستامین عمدتاً توسط یک دسته از باکتری‌هایی که حاوی آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز هستند تولید می‌شود. هیستامین عمدتاً توسط دسته باکتری‌های حاوی آنزیم، هیستیدین دکربوکسیلاز نظیر لاکتوباسیلوس‌ها و ویبریوها، برخی سویه‌های کلوستریدیوم‌ها، خانواده انتروباکتریاسه تولید می‌شود. میزان هیستامین تشکیل شده در ماهی بستگی به نوع ماهی، تفاوت‌های گونه‌ای، میزان هیستیدین موجود در عضلات آن‌ها، فلور میکروبی و سایر پارامترهای مؤثر بر روی رشد میکروب‌ها مانند دما و رطوبت دارد.

این مطالعه به منظور بررسی دامنه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های صنعتی و سنتی و تأثیر روش‌های مختلف بر میزان فلور باکتریایی با توجه به فصول مختلف و زمان انجام آزمایش مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه وارد شده به آزمایشگاه باید آسیاب شده و همگن گردید. یک گرم از نمونه همگن وزن و 10 میلی‌لیتر محلول پرکلریک اسید ۱ مولار به آن اضافه می‌شود. مخلوط نمونه به مدت 10 دقیقه با شیکر به هم زده، 10 دقیقه التراسونیک و به مدت 10 دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌گردد (۱۲۰۰ دور بر دقیقه). محلول رویی از فیلتر سرسرنگی عبور داده شده و بعد از تزریق استانداردهای کاری و نمونه QC، ۲۰ میکرو لیتر آن به دستگاه HPLC تزریق شد.

تعیین مقدار هیستامین در نمونه:

تعیین مقدار هیستامین در نمونه، از محاسبه میزان آلودگی نمونه مجهول با استفاده از منحنی کالیبراسیون و با احتساب ضریب رقت انجام گرفت. برای این منظور مقدار 20 میکرو لیتر از استانداردهای کاری هیستامین جهت رسم منحنی کالیبراسیون تزریق گردید. منحنی کالیبراسیون طوری رسم می‌گردد که روی محور طول‌ها (X) تغییرات مربوط به غلظت استانداردهای کاری بر حسب PPM و روی محور عرض‌ها (Y) تغییرات مربوط به سطح زیر پیک منحنی یا ارتفاع منحنی باشد. مقدار 20 میکرو لیتر از نمونه QC به دستگاه تزریق گردید. ابتدا محاسبات مربوط به بازیافت انجام شده و اطمینان حاصل شد که درصد بازیافت در محدوده قابل قبول قرار گرفته است.

تشخیص هیستامین از مقایسه زمان بازداری هیستامین در نمونه مجهول با زمان بازداری هیستامین در استانداردهای کاری یا نمونه QC انجام می‌شود.

تعیین مقدار هیستامین، از منحنی کالیبراسیون و با احتساب ضریب رقت، با استفاده از معادلات زیر اتمام می‌شود:

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های ... / در ا و همکاران

$$W_{smp} = \text{signalsmp} - b) / a \quad \text{رابطه ۱:}$$

W_{smp} = غلظت هیستامین موجود در " محلول تزریق شده " برحسب

a: شیب منحنی کالیبراسیون ppm

B: عرض از مبدأ منحنی کالیبراسیون

$Signalsmp$ = سطح زیر منحنی برای نمونه مجهول

بعد از محاسبه W_{smp} با استفاده از معادله 2 میزان آلودگی در نمونه محاسبه می‌شود.

$$C_{His} = \frac{W_{smp} \times V}{W_t} \quad \text{رابطه ۲:}$$

C_{His} : غلظت هیستامین در نمونه برحسب PPM

W_t : وزن نمونه (گرم)

W_{smp} = غلظت هیستامین موجود در محلول تزریق شده برحسب PPM

V = حجم حلال مصرفی برای استخراج برحسب میلی لیتر

R = درصد بازیافت (%Recovery)

درصد بازیافت را از رابطه ۳ محاسبه شد:

$100 \times (\text{میزان غلظت قابل انتظار} / \text{میزان غلظت به دست آمده}) = \text{درصد بازیافت (\%Recovery)}$	رابطه ۳:
---	----------

در صورتی که غلظت آنالیت از بزرگ‌ترین عدد منحنی کالیبراسیون بیشتر باشد، رقیق‌سازی با حلال استخراج انجام می‌شود تا غلظت در گستره خطی منحنی کالیبراسیون قرار گیرد.

مطابق با دستورالعمل موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد ملی ایران، شماره 4043، ماهی تون- اندازه‌گیری میزان هیستامین به روش فلوریمتری انجام شده است.

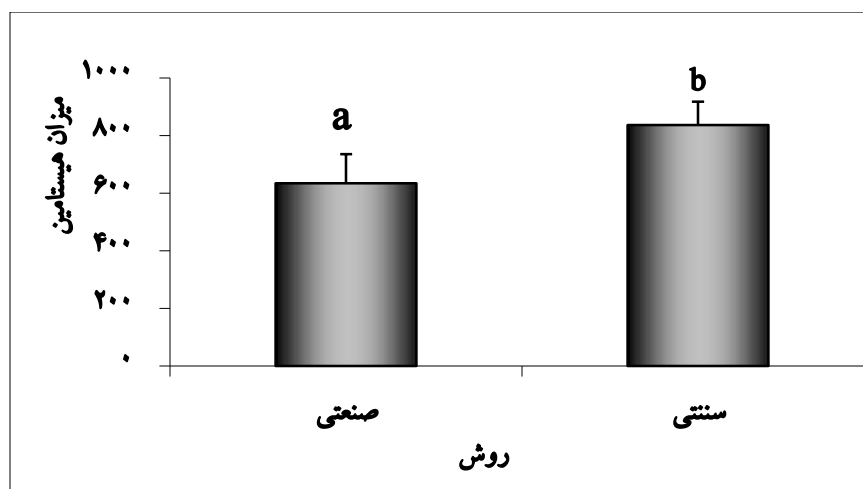
شمارش باکتری‌های سرمادوست (سایکروفیل) نیز با روش استاندارد Pour plate انجام گرفت. با این تفاوت که پلیت‌ها در دمای 7 درجه سلسیوس به مدت ۵ روز در گرمخانه یخچال دار قرار داده شدند (Fernandes, 2009).

به منظور شمارش کلیفرم‌های موجود، از محیط کشت ویولت رد بایل آگار (Merck, Germany) و روش Pour plate استفاده شد. در این روش، استاندارد رقت‌های متوالی تهیه شده، مقدار یک میلی لیتر در هر پلیت کشت داده شد و در 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت گرمخانه گذاری و نهایتاً شمارش گردید.

جهت ثبت داده‌های حاصل از پارامترهای مورد بررسی و رسم نمودارها از نرم افزار Excel و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای آماری SPSS نسخه ۱۸ استفاده گردید. در این تحقیق برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از دو آزمون کلموگرو-اسمیرنوف (Two-Sample Kolmogorov-Smirnov) و شفیرو ویلک (Shapiro-Wilk) استفاده گردید. برای انجام آنالیز واریانس چند طرفه و رگرسیون خطی جهت نزدیک شدن پراکندگی داده‌ها به توزیع نسبی نرمال سعی گردید که مقادیر انتهایی از مجموعه داده‌ها حذف گردد (Zhou et al., 2006)

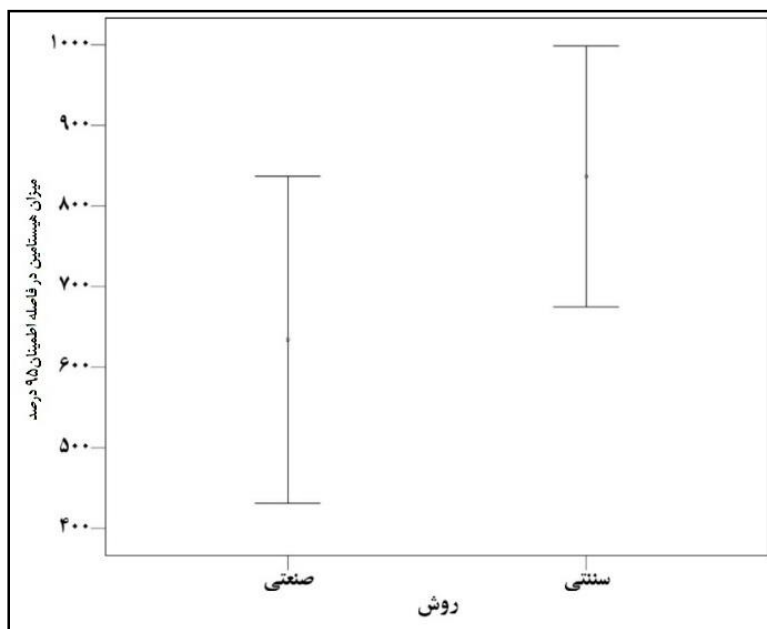
نتایج

بررسی و مقایسه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در ماهی به دو روش صنعتی و سنتی بررسی و مقایسه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در ماهی به دو روش صنعتی و سنتی در شکل ۲ و ۳ و جدول ۱، گزارش گردیده است. نتایج حاصل نشان داد که میانگین مقدار هیستامین اندازه‌گیری شده در نمونه‌های ماهی که به روش سنتی خشک‌شده‌اند به مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) در ماهی به دو روش صنعتی و سنتی

* حروف نامشابه نشانه معنی‌دار بودن است ($P < 0.05$).



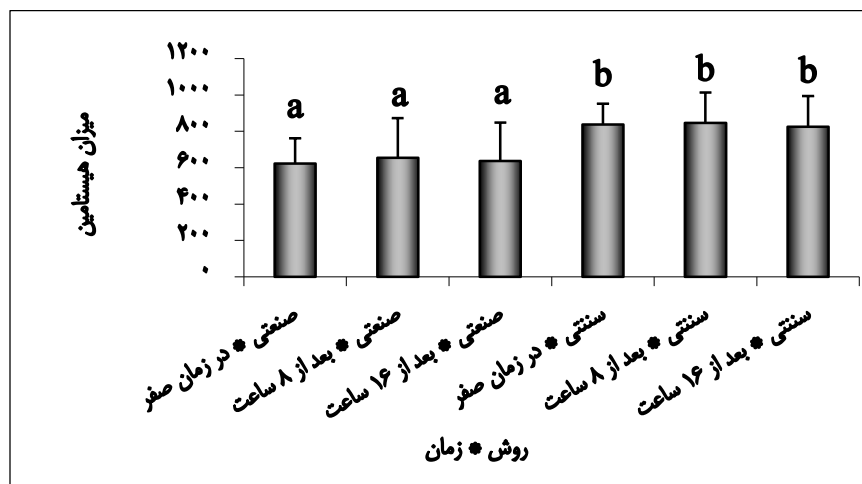
شکل ۳: مقایسه میانگین تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) در دو روش صنعتی و سنتی با فاصله اطمینان ۹۵ درصد.

جدول ۱: آماره‌های مربوط به مقایسه تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده در ماهی به دو روش صنعتی و سنتی.

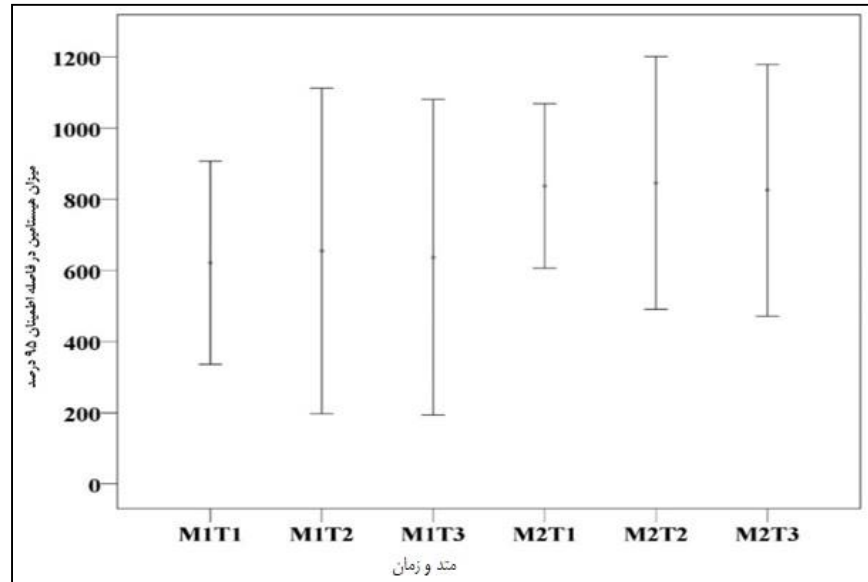
روش	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار	حداقل	حداکثر
صنعتی	۶۳۴/۰۸	۸۵۶/۰	۱۰۰/۸۸	ND	۱۹۸۵
سنتی	۸۳۶/۷۲	۶۸۸/۶۲	۸۱/۱۵	۱۵۰	۱۹۸۲

* در محاسبات آماری صفر جایگزین ND (غیرقابل تشخیص = ۳۰) گردیده است.

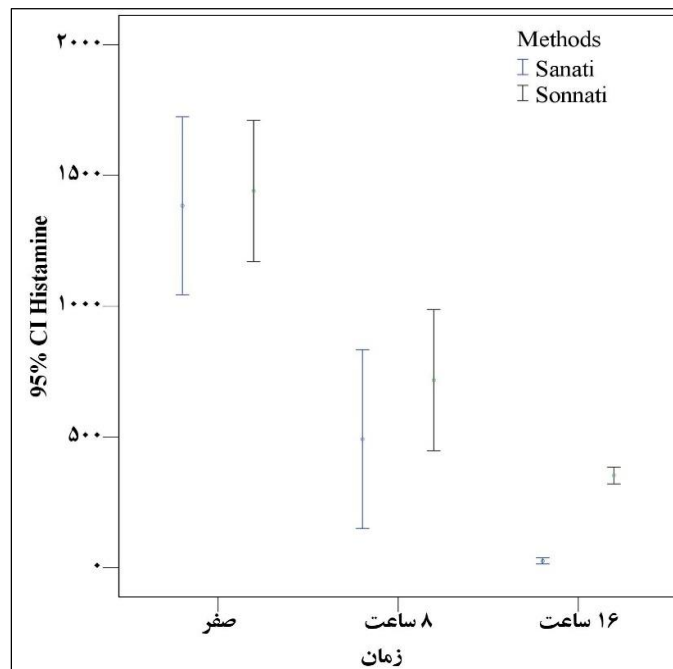
نتایج مربوط به تغییرات اثرات تیمار زمان (زمان صفر، پس از ۸ ساعت، پس از ۱۶ ساعت) بر روند تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی (صنعتی و سنتی) در شکل‌های ۴ الی ۷ و جدول ۲ ارائه گردیده است. بر اساس نتایج حاصل بیشترین میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش صنعتی در تیمار زمانی دوم (بعد از ۸ ساعت) و در روش سنتی در تیمار زمانی اول (در زمان صفر) به ثبت رسید (جدول ۲). نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کروسکال والیس نشان داد که در هر روش خشک شدن ماهی مابین تیمارهای زمانی اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است ($P < 0.05$). به‌طور کلی با بررسی و مقایسه میانگین‌های محاسبه در سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه روند تغییرات مربوط به میانگین‌ها در سه تیمار زمانی موردبررسی می‌توان گفت که سطح غلظتی میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش سنتی در تمامی زمان‌های مورد مطالعه به مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده است (شکل‌های ۴ الی ۷). نتایج آزمون کولموگروف – اسمیرنوف که در جدول ۵ آمده است نشان داد که در تیمار زمانی صفر مابین دو روش خشک شدن ماهی از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری وجود نداشته است ($P > 0.05$) در صورتی که در تیمارهای زمانی ۸ ساعت و ۱۶ ساعت مابین سطح هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی اختلاف معنی‌دار توده ($P < 0.05$) و سطح غلظتی آن در روش سنتی به مراتب بیشتر از صنعتی بوده است (جدول ۳).



شکل ۴: مقایسه تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده (Mean ± SE) در موتو ماهیان به دو روش صنعتی و سنتی در زمان‌های مختلف.

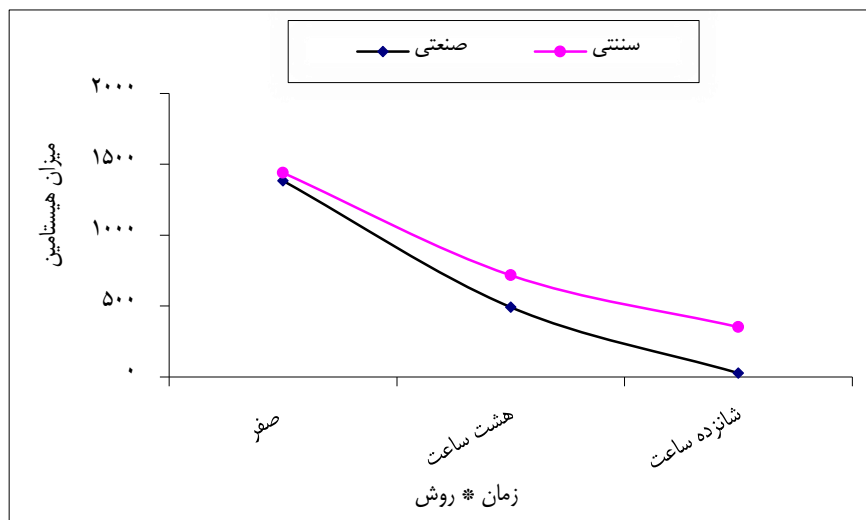


شکل ۵: مقایسه میانگین تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) در فاصله اطمینان ۹۵ درصد.



شکل ۶: نمودار اثرات زمان بر میزان ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی در سطح فاصله اطمینان ۹۵ درصد.

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های ... / درآ و همکاران



شکل ۷: مقایسه میانگین میزان تغییرات هیستامین ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی برحسب زمان.

جدول ۲: آماره‌های مربوط به مقایسه تغییرات هیستامین اندازه‌گیری شده در ماهی به دو روش صنعتی و سنتی در زمان‌های مختلف.

روش / زمان	میانگین	خطای معیار	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
صنعتی - زمان صفر (۱۱)	۶۲۲/۰۶ ^a	۱۴۰/۶۴۷	۸۴۳/۸۸۳	ND	۱۹۳۵
صنعتی - بعد از ۸ ساعت (۱۲)	۶۵۵/۱۷ ^a	۲۱۶/۷۲۶	۹۱۹/۴۹۳	ND	۱۹۸۵
صنعتی - شانزده ساعت (۱۳)	۶۳۷/۰۶ ^a	۲۱۰/۳۲۶	۸۹۲/۳۳۹	ND	۱۹۱۱
سنتی - در زمان صفر (۲۱)	۸۳۷/۵۸ ^b	۱۱۴/۰۰۳	۶۸۴/۰۱۹	۲۶۲	۱۹۸۲
سنتی - بعد از ۸ ساعت (۲۲)	۸۴۶/۰۶ ^b	۱۶۸/۳۳۳	۷۱۴/۱۷۵	۲۳۰	۱۹۷۲
سنتی - بعد از شانزده ساعت (۲۳)	۸۲۵/۶۷ ^b	۱۶۷/۸۱۴	۷۱۱/۹۷۳	۱۵۰	۱۹۴۶
تغییرات کل	۷۳۵/۴۰	۶۵/۳۷۰	۷۸۴/۴۳۷	ND	۱۹۸۵

* حروف نامشابه نشان معنی‌دار بودن در بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول ۳: نتایج آزمون کولموگروف-اسمیرنوف جهت مقایسه میزان هیستامین اندازه‌گیری مابین دو روش خشک شدن

ماهی در هریک از تیمارهای زمانی مورد مطالعه.

Test Statistics ^a : Two-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
مقایسه میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در هر تیمار زمانی مابین دو روش موردبررسی			
.۲۵۰	Absolute	Most Extreme Differences	در زمان صفر
.۲۵۰	Positive		
-.۱۶۷	Negative		
.۸۶۶	Kolmogorov-Smirnov Z		
.۴۴۱	Asymp. Sig. (2-tailed)		
.۷۵۰	Absolute	Most Extreme Differences	پس از ۸ ساعت
.۷۵۰	Positive		
-.۰۸۳	Negative		
۲.۵۹۸	Kolmogorov-Smirnov Z		
.۰۰۰	Asymp. Sig. (2-tailed)		
۱.۰۰۰	Absolute	Most Extreme Differences	پس از ۱۶ ساعت
۱.۰۰۰	Positive		
.۰۰۰	Negative		
۳.۴۶۴	Kolmogorov-Smirnov Z		
.۰۰۰	Asymp. Sig. (2-tailed)		
a. Grouping Variable: روش خشک شدن ماهی			

نتایج مربوط به آنالیز میکروبی (Psychrotrophic Count) که شمارش باکتریایی (Bacterial count) است نشان داد که میانگین ($\pm$) انحراف معیار) تغییرات میانگین فراوانی باکتری‌های شمارش شده در این تحقیق برابر با $270617/7 \pm 87323/9$ و حداقل و حداکثر آن معادل ۱۵ الی ۱۷۰۰۰۰۰ عدد در فصل بهار که به ترتیب در تیمارهای زمانی سوم (۱۶ ساعت) و اول (زمان صفر) به ثبت رسید. بررسی فراوانی نسبی تعداد باکتری‌های شمارش شده نشان داد که در طی دوره بررسی بیشترین درصد فراوانی مربوط به زمان صفر برابر با $68/3$ صدم درصد و کمترین آن مربوط به زمان دوم یعنی پس از ۸ ساعت که معادل $7/4$ صدم درصد بوده است. (جدول ۴).

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های ... / در و همکاران

جدول ۴: برخی از آماره‌های محاسبه شده مربوط به فراوانی باکتری‌های شمارش شده در ماهی خشک شده به روش

صنعتی.

فصل	زمان	فراوانی کل (*)	میانگین	انحراف معیار	معیار خطا	حداقل	حداکثر
بهار	صفر	۵۲۳۹۵۰۰ (۸۱/۹)	۴۳۶۶۲۵۰۰	۵۹۱۵۶۵۳۸	۱۷۰۷۷۰۲۲	۷۵۰۰	۱۷۰۰۰۰۰
	۸ ساعت	۵۶۴۴۶۶ (۸/۸)	۴۷۰۳۸۸۳	۵۷۴۷۰۴۷	۱۶۵۹۰۲۹	۶۵	۱۶۰۰۰۰
	۱۶ ساعت	۵۹۰۹۳۰ (۹/۳)	۹۸۴۸۸۳۳	۲۴۰۷۹۰۶۲	۹۸۳۰۲۳۶	۱۵	۵۹۰۰۰۰
	تغییرات	۶۳۹۴۸۹۶	۲۱۳۱۶۳۲۰	۴۲۲۸۳۸۰۸	۷۷۱۹۹۳۲	۱۵	۱۷۰۰۰۰۰
پاییز	صفر	۳۶۴۹ (۰/۳)	۳۰۴۰۸	۴۱۶۴۲	۱۲۰۲۱	۶۸	۱۵۰۰
	۸ ساعت	۱۷۵ (۰/۱)	۱۴۵۸۳	۱۱۰۱۸	۴۴۹۸	۸۲	۳۶۰
	۱۶ ساعت	۱۲۷۸۸۰۰ (۹۹/۶)	۲۱۳۱۳۳۳۳	۲۱۰۵۷۳۵۷	۸۵۹۶۶۳۰	۹۸۰۰	۵۳۰۰۰۰
	تغییرات	۱۲۸۳۳۲۴	۵۳۴۷۱۸۳	۱۳۶۰۳۷۴۹	۲۷۷۶۸۵۴	۶۸	۵۳۰۰۰۰
زمستان	صفر	۱۸۳۲ (۲۹/۲)	۱۵۲۶۷	۱۴۶۶۶	۴۲۳۴	۶۵	۵۸۰
	۸ ساعت	۲۴۰۱ (۳۸/۲)	۲۴۰۱۰	۱۵۰۹۴	۴۷۷۳	۸۲	۴۵۲
	۱۶ ساعت	۲۰۴۹ (۳۲/۶)	۱۷۰۷۵	۱۶۱۷۹	۴۶۷۰	۵۸	۵۲۰
	تغییرات	۶۲۸۲	۱۸۴۷۶	۱۵۳۲۴	۲۶۲۸	۵۸	۵۸۰
تابستان	صفر	۵۲۴۴۹۸۱ (۶۸/۳)	۱۴۵۶۹۳/۹۲	۳۹۱۸۰۸/۴۱	۶۵۳۰۱/۴۰	۶۵	۱۷۰۰۰۰۰
	۸ ساعت	۵۶۷۷۴۲ (۷/۴)	۲۰۲۷۶/۵۰	۴۳۶۱۹/۷۲	۸۲۴۳/۳۵	۶۵	۱۶۰۰۰۰
	۱۶ ساعت	۱۸۷۱۷۷۹ (۲۴/۴)	۷۷۹۹۰/۷۹	۱۷۴۰۰۴/۰۶	۳۵۵۱۸/۴۳	۱۵	۵۹۰۰۰۰
	تغییرات کل	۷۶۸۴۵۰۲	۹۸۷۳۲۳/	۷۲۷۰۶۱۷/	۲۸۸۴۷/۹۴	۱۵	۱۷۰۰۰۰۰

* درصد فراوانی نسبی

بحث و نتیجه‌گیری

بدن ماهی و سایر آبزیان، همانند تمامی جانداران دارای آب، پروتئین، ترکیبات نیتروژنه ی غیر پروتئینی، چربی، ویتامین‌ها، مواد معدنی به مقدار کمی هیدروکربن‌ها می‌باشند. میزان این ترکیبات و تغییرات آن‌ها در بدن ماهی می‌تواند به عنوان یک شاخص برای شرایط فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد (Ali, 2005). در این مطالعه هرچند که دامنه تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش صنعتی و سنتی بسیار به هم نزدیک بوده است ولی مقایسه روند تغییرات مربوط به میانگین‌ها که در شکل ۱ آمده است نشان می‌دهد که سطح میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش سنتی به مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده است به طوری که مقایسه مربوط به میانگین‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف نشان داد که مابین این دو روش از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود داشته است ($P < 0.05$). نتایج مربوط به میانگین‌های اصلاح شده در سطح احتمال ۹۹ درصد نیز حاکی از بالا بودن میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش سنتی نسبت به روش صنعتی بوده است (جدول ۳). به طور کلی حداقل و حداکثر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در این بررسی از حد غیرقابل تشخیص تا حداکثر ۱۹۸۵ در روش صنعتی تا ۱۵۰ الی ۱۹۸۲ در روش سنتی در نوسان بوده است. با فاصله ۹۵ درصد اطمینان حداقل و حداکثر میزان هیستامین به ثبت رسیده در روش‌های سنتی و صنعتی به ترتیب برابر با ۹۹۸/۵ - ۶۷۴/۹۰ - ۸۸۴/۴ - ۴۴۲/۴ بوده که با محدوده اندازه‌گیری شده این فاکتور در ماهی به مراتب کمتر بوده است. نتایج مربوط به میانه‌های محاسبه شده نشان داد که در روش سنتی مقدار محاسبه شده آن به مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده است (جدول ۳). به دلیل اهمیت سطح میزان هیستامین در ماهیان خوراکی و بالا بردن سلامت غذایی و افزایش دقت داده‌های اندازه‌گیری شده، حداقل

و حداکثر میزان هیستامین به ثبت رسیده در روش‌های سنتی و صنعتی به نظر می‌رسد که بهتر باشد که پس از سنجش میزان هیستامین میانگین و نوسان سطح آن در فاصله اطمینان ۹۵ گزارش گردد. در این مطالعه میانگین و محدوده تغییرات به‌دست آمده در فاصله اطمینان ۹۵ درصد در روش‌های سنتی و صنعتی به ترتیب برابر با $(81/54 \pm 803/19, 998/5 - 674/90)$ ، $(100/88 \pm 603/99, 844/4 - 442/1)$ بوده که مقدار آن به‌مراتب کمتر از میانگین و دامنه نوسانات اندازه‌گیری شده بوده است. در ارتباط با اثرات زمان بر روند تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی، به‌طور کلی با بررسی و مقایسه میانگین‌های محاسبه در سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه روند تغییرات مربوط به میانگین‌ها در سه تیمار زمانی موردبررسی می‌توان گفت که سطح غلظتی میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در روش سنتی در تمامی زمان‌های مورد مطالعه به‌مراتب بیشتر از روش صنعتی بوده است (شکل‌های ۴ الی ۷). نتایج آزمون کولموگروف - اسمیرنوف که در جدول ۳ آمده است نشان داد که در تیمار زمانی صفر مابین دو روش خشک شدن ماهی از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری وجود نداشته است ($P > 0.05$) در صورتی که در تیمارهای زمانی ۸ ساعت و ۱۶ ساعت مابین سطح هیستامین اندازه‌گیری شده در دو روش خشک شدن ماهی اختلاف معنی‌دار بوده ($P < 0.05$) و سطح غلظتی آن در روش سنتی به‌مراتب بیشتر از صنعتی بوده است. نتایج مربوط به اثرات متقابل دو تیمار زمان (فواصل زمانی سنجش هیستامین در ماهی) $\times$ روش (نحوه خشک شدن ماهی) بر اساس آزمون کروسکال والیس و آنالیز واریانس دوطرفه در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه گردیده است، نشان می‌دهد که مابین تیمارهای صنعتی در زمان صفر و سنتی در زمان صفر، صنعتی در زمان صفر و سنتی - بعد از شانزده ساعت، صنعتی - بعد از ۸ ساعت و سنتی - بعد از ۸ ساعت و صنعتی - بعد از شانزده ساعت، صنعتی - بعد از ۸ ساعت و سنتی - بعد از شانزده ساعت و سنتی - بعد از شانزده ساعت و صنعتی - بعد از ۸ ساعت و سنتی - بعد از شانزده ساعت وجود داشته است ($P < 0.05$). در همین ارتباط بایستی به این نتیجه نیز اشاره گردد که در هر روش انتخاب‌شده، مابین زمان‌های انتخابی از نظر میزان هیستامین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود داشته است ($P < 0.05$). لذا بررسی نتایج مربوط به اندرکنش‌های دو تیمار نشان می‌دهد که چون در تیمار زمانی اول مابین دو روش مورد مطالعه از نظر سطح میزان هیستامین اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌دار نبوده است لذا اثرات متقابل این دو تیمار نیز معنی‌دار نبوده است. لازم به ذکر است که سطح میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در هر یک از روش‌های مورد مطالعه با گذشت زمان از یک‌روند نزولی برخوردار بوده و این روند همان‌طور که بیان شد از نظر آماری معنی‌دار بوده است. به نظر می‌رسد که اثرات دما و تغییرات فصلی در این روند نزولی تأثیر بسزایی داشته باشد و اثرات آن بر روند تغییرات میزان هیستامین و اثرات متقابل آن بر روش خشک شدن موتو ماهیان قابل تأمل باشد. ازلم امیر و همکاران (۲۰۰۸) بر روی پنج گونه ماهی mackerel, horse mackerel، قزل‌آلای رنگین‌کمان و کپور نقره‌ای ضمن بررسی سطح هیستامین و برخی پارامترهای کیفی از نظر شیمیایی آن‌ها را در شرایط سرد شده مورد ارزیابی قرار داده‌اند آن‌ها در پایان نتیجه گرفتند که سطح هیستامین پس از ۱۵ روز پایین‌تر از محدوده‌ی پیشنهادی قرار داشته است که با شرایط این تحقیق مطابقت دارد. Cicero و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که سطح بالای هیستامین نشان‌دهنده شرایط بد نگهداری محصولات ماهی موردبررسی است که منجر به رشد میکروبی و تولید هیستامین می‌شود. کاملاً مشهور است که تجمع هیستامین اغلب تحت تأثیر ترکیب زمان و درجه حرارت ذخیره قرار می‌گیرد. متأسفانه در این گزارش آن‌ها قادر به ارزیابی واقعی دما از زمان جمع‌آوری و همچنین زمان و دمای ذخیره‌سازی برای ارزیابی همبستگی احتمالی با میزان هیستامین نبودند.

مطالعه انجام‌شده توسط آرنولد و همکاران ۱۹۸۰ بر روی باکتری‌های جدا شده از هوور مسقطی (Skipjack) فاسد و در ۱۲ شرایط محیطی مختلف نشان داد که بالاترین مقدار هیستامین در ۱۹ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد تولید شده و میزان آن بستگی به گونه باکتری و عوامل محیطی داشته است. همچنین مشخص گردید که هیستامین در صفر درجه تولید نگردیده و لذا نتیجه گرفته شده است که سرد کردن سریع گوشت ماهی تا درجه حرارت نزدیک انجماد ممکن است از تولید هیستامین ممانعت نماید. در درجه حرارت‌های فوق‌الذکر، گونه‌های پروتئوس ابتدا با سرعت زیادی شروع به تولید هیستامین نمودند که اکثر آن‌ها در نهایت تجزیه گردید. غلظت هیستامین در تست‌های میکروبی سرانجام در مقادیر ۱۵۰ تا ۲۰۰

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه‌گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش‌های ... / درآ و همکاران

میلی گرم درصد ثابت شد. آن‌ها بیان داشته‌اند که این تحقیق می‌تواند دلیلی بر این امر باشد که غلظت هیستامین قابل اندازه‌گیری در فرآورده‌های ماهیان، ممکن است متأثر از تعادل بین سرعت تولید هیستامین و تجزیه آن باشد. بررسی فراوانی نسبی تعداد باکتری‌های شمارش شده نشان داد که در طی دوره بررسی بیشترین درصد فراوانی مربوط به زمان صفر برابر با $68/3$ صدم درصد و کمترین آن مربوط به زمان دوم یعنی پس از ۸ ساعت که معادل $7/4$ صدم درصد بوده است. بررسی فراوانی نسبی تعداد باکتری‌های شمارش شده به تفکیک هر فصل نشان داد که بیشترین درصد فراوانی در فصل بهار مربوط به تیمار زمانی صفر ($81/9$ صدم درصد)، در فصل پاییز برابر با $99/6$ صدم درصد در تیمار زمانی سوم یعنی پس از ۱۶ ساعت و در فصل زمستان در تیمار زمانی دوم (پس از ۸ ساعت) که برابر با $38/2$ درصد بوده است. با توجه به بررسی‌های انجام شده نسبت فراوانی باکتری‌ها در فصول مختلف نسبت به زمان روند افزایشی داشته است (جدول ۴). افشارمنش، ۲۰۱۳ و همکاران مطالعه‌ای بروی تولید آمین‌های بیوژنیک در ماهی تون زرد باله طی نگهداری زیر یخ را انجام دادند. آن‌ها بیان می‌دارند که در طول فرایند نگهداری ماهی، تعداد باکتری‌ها افزایش یافته و باکتری‌های سرمادوست به‌عنوان باکتری‌های غالب نشان داده شده‌اند. حسینی، ۱۳۸۹ و همکاران در تحقیقی که بروی ماهی شوریده در زیر یخ انجام داده‌اند نیز بیان داشته‌اند که هرچند باکتری‌های مزوفیل و سرمادوست از روز اول تا پایان روز هجدهم رشد و تکثیر نموده‌اند اما بیشترین رشد باکتری‌ها مربوط به باکتری‌های سرمادوست بوده است. آزمایش‌های بکار رفته در ارتباط با ماهیان نگهداری شده در زیر یخ نشان داده است که غالباً باکتری‌های سرمادوست بیشترین رشد را به خود اختصاص می‌دهند (Gram and Dalgaard, 2002). همچنین Perez و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی سویه‌های باکتریایی در یک مطالعه مربوط به آنجوبه‌های نمک زد (*Engraulis anchoita*)، پنجاههفت جدایه میکروبی هالوفیلی در مقیاس متوسط و شدید از نظر فتوتیپ و ظرفیت تخریب هیستامین را مشخص نمودند که در این میان تنها ۷-۴ درصد جدایه‌ها قادر به تخریب هیستامین بودند. نتایج آزمون کروסקال والیس نشان داد که در هر یک که در فصل بهار فراوانی باکتری‌های شمارش شده در بین دو تیمارهای زمانی صفر و ۸ ساعت و صفر و ۱۶ ساعت و در فصل پاییز در بین تیمارهای صفر و ۱۶ ساعت و ۸ و ۱۶ ساعت اختلاف معنی‌داری از وجود داشته است ($P < 0.05$). این اطلاعات می‌تواند نتایج مناسبی را در ارتباط با بهره‌برداری بهینه از منابع موتو ماهیان در اختیار پژوهشگران و نیز بخش اجرا قرار دهد.

منابع

- حسینی، ا. ر.، نوری موگهی، م. ح.، نجف زاده ورزی، ح.، فضل آرا، ع.، رجب‌زاده قطرمی، ا. بیتا، س. و مرادیان، ح.، ۱۳۸۹. تعیین میزان تری متیل آمین و ارتباط آن با بار میکروبی در بافت عضله ماهی شوریده (*otolithes ruber*) نگهداری شده در یخ. مجله شیلات، ۴ (۱): ۵۶-۴۷.
- دفتر برنامه‌ریزی و بودجه، ۱۳۹۴. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۲-۱۳۹۳، سازمان شیلات ایران، معاونت برنامه‌ریزی و توسعه مدیریت، دفتر برنامه‌ریزی و بودجه. صفحه ۶۰.
- سالار پوری، ع.، ۱۳۸۵. بررسی برخی از خصوصیات زیستی ماهیان سطح زی ریز غالب در آب‌های ساحلی جزیره قشم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.
- شوقی، ح.، ۱۳۷۱. بررسی زیستی تون ماهیان. انتشارات ایستگاه تحقیقاتی آب‌های دور. صفحه ۸۰.
- عالی زاده، ا. و اولیایی، م.، ۱۳۹۴. گزارش آمار صید استان هرمزگان (سال ۱۳۹۳). اداره کل شیلات هرمزگان. صفحه ۸۹.

Afsharmanesh, S., Peighambari, Y., Shabanpure, B. and Hosseini A. R., 2013. Biogenic amines production and its relationship with psychrophilic bacteria load in whole yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) during ice storage. Basic Research journal of Food science and Technology. 1: 7-11.

Ali, M., Ighbal, F., salam, A., iram, S. and Ather, M., 2005. Comparative of body composition of study different fish fish species from brackish water pond. International journal of Environment science and technology, 2: 229-232

- Arnold, S. H., Price. R. I., and Brown. W. D., 1980.** Histamine Formation by bacteria isolated From Skipjack tuna, (*Katsuwonus Pelamis*); Bull.jap.soc.sci.Fish. Nissuishi, 46(8): 991-995.
- FAO., 1981.** Pelagic resources of the Gulf and the Gulf of Oman. Regional fishery survey and development project. 144P.
- Cicero, A., Cammilleri, G., Galluzzo, F. G., Calabrese, I., Pulvirenti, A., Giangrosso, G., Cicero, N., Cumbo, V., Vella, A., Macaluso, A. and Ferrantelli, V., 2020.** Histamine in fish products randomly collected in Southern Italy: a 6-year study. Journal of food protection, 83(2): pp.241-248.
- Comas-Basté, O., Sánchez-Pérez, S., Veciana-Nogués, M. T., Latorre-Moratalla, M. and Vidal-Carou, M. D. C., 2020.** Histamine intolerance: The current state of the art. Biomolecules, 10(8): p.1181.
- FAO., 2014.** The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Rome. 223P.
- Fernandes, R., 2009.** Microbiology Handbook-Dairy Products. 3rd ed. Leatherhead Publishing, a Division of Leatherhead Food International Ltd: Randalls Road, Leatherhead, UK, 173.
- Gram, L. and Dalgaard, P., 2002.** Fish spoilage bacteria-problems and solutions journal Environmental Biotechnology. 13: 262-266.
- Perez, S., Murialdo, S. E., Amezttoy, I. M., Zaritzky, N. E. and Yeannes, M. I., 2020.** New insights into halophilic prokaryotes isolated from salting-ripening anchovies (*Engraulis anchoita*) process focused on histamine-degrading strains. Extremophiles, 24(5), pp.787-796.
- Visciano, P., Schirone, M. and Paparella, A., 2020.** An Overview of Histamine and Other Biogenic Amines in Fish and Fish Products. Foods, 9(12), p.1795.
- Zhou, F., Yong L. and Huaicheng G., 2006.** Application of multivariate statistical methods to water quality assessment of the watercourses in Northwestern New Territories, Hong Kong. Environmental Monitoring and Assessment, 132(1-3):1-13.

بررسی میزان تغییرات میزان هیستامین اندازه گیری شده در موتو ماهیان خلیج فارس در دو روش خشک کردن این منابع به روش های ... / درا و همکاران