

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی

عنوان

اندازه‌گیری میزان تغییرات TVN و برخی آمین‌های بیوژن و ارتباط آن‌ها با شمارش کلی
باکتری‌های هوازی ساکروفیل و مزوفیل در ماهی شیربت نگهداری شده در یخ

نگارش

سارا افتخاریان

دکتر علی فضل‌آرا

استاد (دانشیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)
راهنما

دکتر مهرزاد مصباح

استاد (استادیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)
راهنما

دکتر حسین نجف‌زاده

مشاور (استادیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)

دکتر سیاوش مکتبی

داور (استادیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)

دکتر مجتبی علیشاهی

داور (استادیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)

دکتر مسعود رضا صیفی

ناظر تحصیلات (استاد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز)

تکمیلی

مهر ماه ۱۳۸۸

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دوره دکتری حرفه ای

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی)

بدینوسیله گواهی می شود پایان نامه خانم **سارا افتخاریان** دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی به شماره دانشجویی **۸۱۵۸۰۲** تحت عنوان :

اندازه گیری میزان تغییرات TVN و برخی آمین های بیوژن و ارتباط آن ها با شمارش کلی باکتری های هوازی ساکروفیل و مزوفیل در ماهی شیربت نگهداری شده در یخ

جهت اخذ درجه دکترای دامپزشکی در تاریخ **۸۸ / ۷ / ۲۸** توسط هیات داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با **درجه عالی** تصویب گردید.

امضاء	مرتبه علمی	
.....	دانشیار	۱- اعضای هیات داوران الف- استاد راهنمای اول: دکتر علی فضل آرا
.....	استادیار	ب- استاد راهنمای دوم: دکتر مهرزاد مصباح
.....	استادیار	ج- استاد مشاور: دکتر حسین نجف زاده
.....	استادیار	د- داور اول : دکتر سیاوش مکتبی
.....	استادیار	د- داور دوم : دکتر مجتبی علیشاهی
.....	استاد	و- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه (استاد ناظر) : دکتر مسعودرضا صیفی
.....	دانشیار	۲- مدیر گروه علوم درمانگاهی: دکتر فریدون صابری افشار
.....	استادیار	۳- معاون پژوهشی و نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده : دکتر حسین نجف زاده ورزی
.....	استادیار	۴- مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه : دکتر عبدالرحیم هوشمند

تقدیم روح پاک مادرم
او که سیاهی رنج دیده اش، قبله نمازم
تن رنجورش، کعبه طوافم

کلامش، آرامش روانم و وجودش برایم عین محبت بود

تقدیم به
روح سبز پدر

و

مادر بزرگ عزیزم

به پاس محبت های بیکران و زحمات

بی دریغشان.

پیشکش بہ سہیل و سایہ عزیزم

کہ زندگیم بابودنشان بہ نوای شادی و دلگرمی مزیں است

تقدیم بہ

امیرآشنا، مرضیہ ارجمند نژاد، مہسا اسدی، مرسدہ حسین بروجرودی، عاطفہ صباح،

مریم عزتی کیوی، فاطمہ علینرادہ، مجید غفاری، سپیدہ قاسمیان، مرضیہ کفایت، سجدہ

کحالی، حکیمہ کاوزن، مہسامیرزایی، زہرا نوروزی و کلیہ دوستانم در ورودی ہای ۸۰،

۸۱ و ۸۲ کہ زیباترین و بہاری ترین فصل خاطرات زندگیم را بر قلم نگاشتند.

نهایت سپاس و قدردانی از اساتید محترم

جناب آقای دکتر علی فضل آرا که زیبایی و آرایش برگ برگ این نوشته از

دستان توانای ایشان وام گرفته است.

جناب آقای دکتر مهرزاد مصباح که همکاری بسیاری به منظور سهل نمودن

انجام این پایان نامه باینجناب داشتند و باره‌نمایی‌های خود مشکلات را بر من

هموار نمودند.

جناب آقای دکتر حسین نجف زاده که ببارش لطیف دانش خود بخط به خط

دوران تحصیل را با طراوت نمودند.

و بالتقدیر و شکر از

استاد ارجمند جناب آقای دکتر سیاوش کلتبی که با قبول داوری این پایان نامه مرام همون
الطاف خود نمودند.

استاد ارجمند جناب آقای دکتر مجتبی علیشاهی که قبول زحمت نمودند و داوری این پایان
نامه را بر عهده گرفتند.

استاد ارجمند جناب آقای دکتر مسعود رضا صیفی که به عنوان ناظر تحصیلات تکمیلی نظارت
بر حسن اجرای جلسه دفاعیه را بر عهده داشتند.
باساسکزاری از

جناب آقای نوری و سرکار خانم کیانی، خانم اصفهانی و خانم ارزانی که در انجام مراحل مختلف این
پایان نامه مرایاری دادند.

چکیده پایان نامه

نام خانوادگی: افتخاریان	نام: سارا
عنوان پایان نامه: اندازه گیری میزان تغییرات TVN و برخی آمین های بیوژن و ارتباط آنها با شمارش کلی باکتری های هوازی ساکروفیل و مزوفیل در ماهی شیربت نگهداری شده در یخ	
استاد راهنما: دکتر علی فضل آرا - دکتر مهرزاد مصباح	
درجه تحصیلی: دکتری عمومی	رشته: دامپزشکی
گرایش: دامپزشکی	
دانشگاه: شهید چمران	
دانشکده: دامپزشکی	
تاریخ فارغ التحصیلی:	تعداد صفحه: ۱۱۸
کلید واژه ها: ماهی شیربت، آمین های بیوژن، TVN	
<p>در مطالعه حاضر برخی از شاخص های کیفی شیمیایی (TVN و آمین های بیوژنیک) و شاخص های میکروبی در ماهی شیربت طی روزهای (۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸) در طول مدت نگهداری در یخ بررسی شد. نتایج نشان می دهد که مقدار باکتری به تدریج افزایش پیدا کرد و این افزایش همبستگی بسیار زیادی با مدت نگهداری ماهی داشت. مقدار آمین های بیوژنیک (هیستامین، تیرامین و پوترسین) به تدریج در عضله ماهی با افزایش زمان نگهداری افزایش پیدا کرد. هیچ آمین بیوژنی در روز اول قابل شناسایی نبود. پوترسین از روز سوم، تیرامین از روز ششم و هیستامین از روز نهم زمان نگهداری با HPLC قابل نگهداری بودند. پوترسین بیشترین همبستگی را با زمان نگهداری داشت $r=0/9$. تیرامین نیز بیشترین همبستگی را با بار باکتریایی (مزوفیل $r=0/93$ و ساکروفیل $r=0/95$) داشت. TVN کمترین ارتباط را با بار باکتریایی و آمین های بیوژن داشت بنابراین TVN نمی تواند یک شاخص کیفی برای ماهی شیربت باشد.</p>	

فهرست مطالب

۱	فصل اول: مقدمه و هدف
۵	فصل دوم: مروری بر منابع
۶	۱-۱- طبقه بندی و خصوصیات گونه ای ماهی شیربت
۱۰	۱-۱-۱- نام علمی و اکولوژی
۱۱	۱-۱-۲- خصوصیات ماهی شیربت
۱۳	۲-۱- فساد مواد غذایی
۱۳	۱-۲-۱- تعریف فساد
۱۴	۲-۲-۱- خصوصیات ماهی تازه
۱۴	۳-۲-۱- ویژگی های ماهی فاسد
۱۵	۳-۱- عوامل مؤثر بر فساد ماهی
۱۵	۱-۳-۱- نوع ماهی
۱۵	۲-۳-۱- درجه حرارت
۱۶	۳-۳-۱- شرایط ماهی زمان صید
۱۶	۴-۳-۱- نوع و مقدار آلودگی گوشت ماهی به باکتری
۱۶	۴-۱- تغییرات ماهی پس از صید
۱۷	۱-۴-۱- ترشح مواد لزج
۱۷	۲-۴-۱- جمود نعشی
۱۷	۳-۴-۱- خود هضمی

- ۱-۴-۴-۱- اکسیداسیون چربی ها ۱۸
- ۱-۴-۵-۱- فساد باکتریایی ۱۸
- ۱-۴-۵-۱- میکروارگانیزم های مولد فساد ۱۹
- ۱-۴-۶-۱- فساد شیمیایی ۱۹
- ۱-۴-۶-۱- آمین های بیوژنیک ۲۰
- ۱-۴-۶-۱-۱- ساختار شیمیایی آمین های بیوژنیک ۲۱
- ۱-۵-۱- روش های ارزیابی کیفیت ماهی ۲۲
- ۱-۵-۱-۱- روش حسی ۲۲
- ۱-۵-۲-۱- روش های غیر حسی ۲۳
- ۱-۵-۲-۱-۱- روش میکروبیولوژی ۲۳
- ۱-۵-۲-۲-۱- روش های شیمیایی ۲۳
- ۱-۵-۲-۳-۱- روش های فیزیکی ۲۳
- ۱-۵-۲-۳-۱- اندازه گیری ظرفیت فیزیکی آب (WHC) ۲۳
- ۱-۵-۲-۳-۲- اندازه گیر پتانسیل اکسیداسیون- احیا (Eh) ۲۴
- ۱-۵-۲-۳-۳- اندازه گیری تغییرات خواص دی الکتریک بدن ماهی ۲۴
- ۱-۵-۲-۴-۱- ازت فرار تام ۲۴
- ۱-۶-۱- مزایای استفاده از یخ ۲۶
- ۱-۷-۱- کروماتوگرافی با عملکرد بالا (HPLC) ۲۷
- ۱-۷-۱-۱- بخش های مختلف دستگاه HPLC ۲۸

۲۸	۱-۱-۷-۱- سیستم توزیع حلال
۲۹	۱-۱-۷-۲- سوپاپ تزریق
۲۹	۱-۱-۷-۳- فاز ثابت
۳۰	۱-۱-۷-۴- فاز متحرک
۳۱	۱-۱-۷-۵- ستون
۳۱	۱-۱-۷-۶- آشکارساز
۳۱	۱-۷- دستگاه کنترل و پردازشگر داده‌ها
۳۳	فصل سوم: روش کار
۳۴	۱-۲- تهیه نمونه ماهی
۳۵	۱-۲-۲- آزمون میکروبی به روش مرجع
۳۵	۱-۲-۲-۱- مواد لازم
۳۵	۱-۲-۲-۲- تهیه سرم فیزیولوژی
۳۶	۱-۲-۲-۳- تهیه محیط کشت
۳۶	۱-۲-۲-۴- روش کشت
۳۸	۱-۲-۳- اندازه‌گیری ازت فرار تام
۳۹	۱-۲-۴- اندازه‌گیری آمین‌ها
۳۹	۱-۲-۴-۱- کالیبراسیون دستگاه HPLC
۴۰	۱-۲-۴-۱-۱- نمونه خالی
۴۰	۱-۲-۴-۲- استخراج

۴۲ مشتق‌سازی ۳-۱-۴-۲
۴۲ HPLC با آنالیز دستگاهی با ۴-۱-۴-۲
۴۳ تجزیه و تحلیل آماری ۵-۲
۴۴ فصل چهارم: نتایج
۴۵ ۱-۴ نتایج
۴۵ ۱-۱-۴ نتایج آزمایش میکروبی
۵۳ ۲-۱-۴ نتایج آزمون شیمیایی
۵۳ ۱-۲-۱-۴ نتایج آزمون اندازه‌گیری TVN
۵۵ ۲-۲-۱-۴ نتایج اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن
۶۶ ۳-۱-۴ ارتباط بار میکروبی (مزوفیل و ساکروفیل) با شاخص‌های شیمیایی (آمین‌های بیوژن و TVN)
۷۱ فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری
۷۲ ۱-۵ نتایج حاصل از شاخص‌های میکروبیولوژی
۸۰ ۲-۵ نتایج حاصل از شاخص‌های بیوشیمیایی
۸۰ ۱-۲-۵ نتایج حاصل از آزمون TVN
۸۶ ۱-۱-۲-۵ نتایج ارتباط بار باکتریایی با TVB-N
۸۷ ۲-۲-۵ نتایج اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن
۹۱ ۱-۲-۲-۵ ارتباط آمین‌های بیوژن با بار باکتریایی
۱۰۳ نتیجه‌گیری
۱۰۵ پیشنهادات

فهرست جداول

- جدول (۱-۱) رده‌بندی ماهی شیربُت..... ۱۳
- جدول (۱-۴) تغییرات میانگین بار میکروبی ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۴۶
- جدول (۲-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار TVN در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۵۳
- جدول (۳-۴) ضریب همبستگی بار باکتریایی ، ازت فرار تام و زمان نگهداری ۵۵
- جدول (۴-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار مقادیر آمین‌های بیوژن در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۵۶
- جدول (۵-۴) ضریب همبستگی بین آمین‌های بیوژن، بار باکتریایی، ازت فرار تام و زمان نگهداری ۵۷

فهرست نمودارها

- نمودار (۱-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار بار باکتریایی مزوفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۴۷
- نمودار (۲-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار بار باکتریایی ساکروفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۴۸
- نمودار (۳-۴) مقایسه میانگین و خطای معیار بار باکتریایی مزوفیل و ساکروفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۴۹
- نمودار (۴-۴) پراکنش بار میکروبی مزوفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۵۰
- نمودار (۵-۴) پراکنش بار میکروبی ساکروفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز.... ۵۱
- نمودار (۶-۴) پراکنش میانگین بار میکروبی مزوفیل و ساکروفیل در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۵۲
- نمودار (۷-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار ازت فرار تام (TVN) در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ ۵۴
- نمودار (۸-۴) مقایسه تغییرات میانگین و خطای معیار غلظت های محاسبه شده برای آمین های بیوژن در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۵۷
- نمودار (۹-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار غلظت آمین بیوژن پوترسین، در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۵۸
- نمودار (۱۰-۴) پراکنش آمین بیوژن پوترسین در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۵۹
- نمودار (۱۱-۴) تغییرات میانگین و خطای معیار غلظت آمین بیوژن تیرامین در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۶۰
- نمودار (۱۲-۴) پراکنش آمین بیوژن تیرامین در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز ۶۱

نمودار (۴-۱۳) تغییرات میانگین و خطای معیار غلظت آمین بیوژن هیستامین در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۶۲

نمودار (۴-۱۴) پراکنش آمین بیوژن هیستامین در ماهی شیربُت نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز..... ۶۲

نمودار (۴-۱۵) پراکنش میانگین آمین های بیوژن پوترسین و تیرامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۳

نمودار (۴-۱۶) پراکنش میانگین آمین های بیوژن هیستامین با تیرامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۴

نمودار (۴-۱۷) پراکنش میانگین آمین های بیوژن هیستامین با پوترسین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۵

نمودار (۴-۱۸) پراکنش تراکم باکتریایی مزوفیل و آمین بیوژن پوترسین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۷

نمودار (۴-۱۹) پراکنش تراکم باکتریایی ساکروفیل و آمین بیوژن پوترسین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۷

نمودار (۴-۲۰) پراکنش تراکم باکتریایی مزوفیل و آمین بیوژن تیرامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۸

نمودار (۴-۲۱) پراکنش تراکم باکتریایی ساکروفیل و آمین بیوژن تیرامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۶۹

نمودار (۴-۲۲) پراکنش تراکم باکتریایی مزوفیل و آمین بیوژن هیستامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۷۰

نمودار (۴-۲۳) پراکنش تراکم باکتریایی ساکروفیل و آمین بیوژن هیستامین در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی شیربُت در یخ ۷۰

فصل اول

مقدمه و هدف

با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان، تأمین غذای سالم، کافی و بهداشتی از معضلات کشورهای جهان بویژه کشورهای در حال توسعه می‌باشد. امروزه به دلیل ارزش غذایی بسیار بالای مواد غذایی دریایی و اهمیت آن‌ها در تأمین پروتئین حیوانی و نیز پیشگیری از ناراحتی‌های قلبی و عروقی به دلیل غنی بودن آن‌ها از اسیدهای چرب غیر اشباع و قیمت مناسب این مواد، پیشرفت زیادی در تکنولوژی تولید فرآورده‌های غذایی صورت گرفته است.

جهت شناخت دقیق ماده خام اولیه و تغییرات آن در طول صید، جابجایی، آماده سازی، فرآوری و استفاده بهینه از مواد غذایی دریایی در صنعت آبزیان، آشنایی با میکروبیولوژی، بیوشیمیایی و شیمی مواد غذایی و سایر اصول تکنولوژی و نگهداری و بسته بندی مواد بسیار مهم می‌باشد.

چون گوشت ماهی و سایر آبزیان به عنوان یک ماده خام، یک سیستم پروتئینی کاملاً ارگانیزه می‌باشد که در طول مراحل صید، نگهداری و فن آوری دستخوش تغییرات می‌شوند استفاده از روش‌های میکروبیولوژی و بیوشیمیایی جهت ارزیابی کیفیت محصول حائز اهمیت است.

بافت عضلانی در ماهی به عنوان مهم‌ترین جز ساختمانی آن از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. این بافت بسیار حساس بوده و با قرار گرفتن ماهی در شرایط گرمایی نامناسب، بویژه حرارت بالاتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد به دلیل تولید آمین‌های بیوژن و نیز افزایش بار باکتریایی آن تغییر می‌نماید. لذا آگاهی از چگونگی بروز این تغییرات در ماهیان و سایر آبزیان در طی مراحل مختلف نگهداری جهت پیش بینی مدت زمان ماندگاری محصول و قابل مصرف بودن آن ضروری است.

جهت به تأخیر انداختن روند فساد استفاده از روش‌های مناسب برای جابجایی ماهی بعد از صید نظیر قرار دادن آن در یخ و یا آب سرد و نیز انجماد سریع، نقش بسزایی در کنترل تشکیل ترکیبات مضر در جریان فساد دارند.

جهت سنجش و ارزیابی کیفیت ماهی از روش‌های بیوشیمیایی، حسی، میکروبیولوژی و فیزیکی استفاده می‌شود. در روش‌های شیمیایی سنجش فاکتورهایی که عمدتاً منشا داخلی دارند و یا از متابولیت‌های حاصل از واکنش‌های فوق بر روی پروتئین‌ها و چربی‌ها ایجاد می‌شود (نظیر آمین‌های بیوژن و ازت فرار آزاد) که از بهترین فاکتورهای کیفی محسوب می‌شود استفاده می‌گردد.

اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن به عنوان یک فاکتور بسیار با ارزش در ارزیابی کیفیت ماهی و روند فساد به کار می‌رود. پوترسین، هیستامین و تیرامین از مهمترین آمین‌های بیوژن می‌باشند که به ترتیب حاصل دکربوکسیلاسیون اورنتین، هیستیدین و تیروزین هستند.

از آنجا که اکثر ماهیانی که عارضه مسمومیت هیستامین و دیگر آمین‌های بیوژن را ایجاد می‌کنند اغلب از آب‌های گرم صید می‌شوند لذا سردسازی محصول پس از صید بسیار حائز اهمیت است. با وجود اینکه بسیاری از باکتری‌های مولد هیستامین مزوفیلیک هستند نباید وجود باکتری‌های مولد هیستامین ساکروفیل (سرمادوست) را نادیده گرفت.

بر طبق مطالعات به عمل آمده میزان آمین‌های بیوژن در ماهیانی که در دماهای پائین بویژه صفر درجه سانتی‌گراد و پائین‌تر نگهداری می‌شوند بسیار ناچیز می‌باشد.

با توجه به گستردگی بسیار زیاد سواحل جنوب کشور و امکان استفاده مردم از این منابع دریایی و همچنین ارزش غذایی محصولات دریایی در این تحقیق به ارائه راهکارهایی دقیق‌تر در تعیین کیفیت این ماده غذایی پرداخته‌ایم.

با توجه به فراوانی ماهی شیربُت (که از خانواده کپور ماهیان است) در سواحل جنوبی و نیز علاقه مردم به مصرف این ماهی به دلیل طعم مطلوب آن در این تحقیق اختصاصاً به بررسی روش‌های مختلف ارزیابی کیفیت ماهی شیربُت پرداخته شده است.

هدف از این تحقیق اندازه‌گیری بار میکروبی اعم از مزوفیل و ساکروفیل در طی زمان نگهداری ماهی در یخ می‌باشد. علاوه بر این میزان TVN و آمین‌های بیوژن شامل هیستامین، پوترسین و تیرامین اندازه‌گیری و بررسی شد.

از اندیس‌های فوق به منظور تعیین میزان فساد بر اساس نتایج آزمون‌های بعمل آمده در

تعیین مدت و زمان نگهداری ماهی مذکور در کنار یخ استفاده گردید.