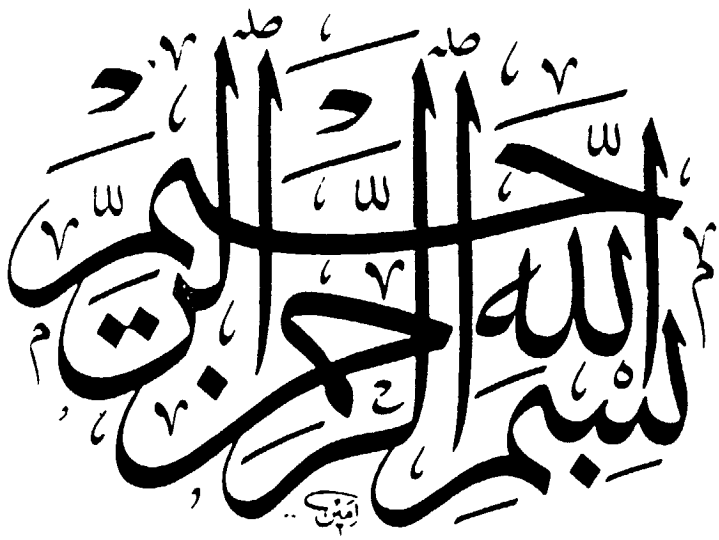
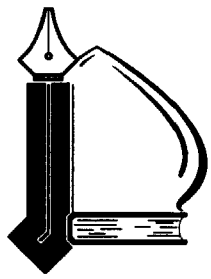


٢٥١٧٠

۱۳۷۸ /۲/ ۳۰
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تقدیم مدارک
۲۵۱۷۰



دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد (معادل)

رشته علوم و صنایع غذایی

موضوع :

ارائه یک روش سریع اندازه‌گیری هیستامین در ماهی و فرآورده‌های آن

استاد راهنما

آقای دکتر هاشم پورآذرنگ

استاد مشاور

آقای دکتر سیدعلی مرتضوی

نگارش

علی شریف

شهریور ۱۳۷۵

۲۵/۷۰
۵۵۵۲/2

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر(عج) جلسه دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای علی شریف در

رشته علوم و صنایع غذایی

با عنوان :

«ارایه یک روش سریع اندازه گیری هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن»

با حضور استاد راهنما و هیات داوران در محل دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در روز سه‌شنبه ۷۵/۶/۲۷ تشکیل و با موفقیت دفاع گردید.

نمره ..... با امتیاز ..... دریافت نمود.

هیات داوران :

استاد راهنما: آقای دکتر هاشم‌پورآذرنگ

استاد مشاور: آقای دکتر سیدعلی مرتضوی

استاد مدعو : سرکار خانم دکتر فخری شهیدی

تقدیم به :

همه معلمانم :

و به اولین و مهربانترین آنها پدر و مادر عزیزم
که با وجود تمام مشکلات راه تحصیل را برایم هموار ساختند

تقدیم به :

همسر و فرزندان عزیزم که با صبر و شکیبایی
مشکلات دوران تحصیلم را تحمل نمودند.

بنام ایزد یکتا

خداوند یکتا را سپاس می‌گویم که انسان را اندیشه عطا فرمود تا در طبیعت پیرامون خویش بنگرد و آن را شکوفا کرده و در جهت سعادت بشری گام بردارد. شکوفایی و باروری اندیشه‌ها در زمینه تحقیق در گروکار همگانی است. در انجام این پژوهش در تمام مراحل مختلف اعم از طرح، بررسی، اجرا، تجزیه و تحلیل و بحث و تفسیر نتایج از رهنمودهای ارزشمند استاد ارجمند جناب آقای دکتر هاشم‌پورآذرنگ (استاد راهنما) برخوردار بوده‌ام بدینوسیله از راهنمایی‌های ارزنده و زحمات ایشان تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

مطالعه دقیق پایان‌نامه توسط جناب آقای دکتر سیدعلی مرتضوی استاد مشاور و ارائه راهنمایی‌های سازنده در خور سپاس و ستایش است.

در ضمن از شرکت فرآورده‌های غذایی آقایان مهندس آستارایی مدیریت محترم و مهندس جلالیان وکلیهٔ نیروها وکارگران واحد تولید کنسرو ماهی که در این کار مرا یاری کرده‌اند سپاسگزارم.

از برادران کبیری و پرسنل گروه صنایع غذایی، واحد سمعی و بصری دانشکده بویژه آقای دهقان و بینائی و مسئولین اتاق کامپیوتری و واحد امور آزمایشگاهها، صمیمانه تشکر می‌نمایم.

علی شریف

فهرست منابع

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- مسمومیت‌های ماهی‌های آلوده..... ۵

۲-۱-۱- مسمومیت باکتریای ۵

۲-۱-۲- مسمومیت با آلاینده‌ها..... ۵

۲-۱-۳- مسمومیت بیولوژیکی ۶

۲-۱-۴- مسمومیت اسکومبروتوکسین..... ۶

۲-۲-۱- علایم مسمومیت و نحوه بروز آن ۶

۲-۲-۲- بررسی اجمالی هیستامین در مواد غذایی ۹

۲-۲-۳- هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن..... ۹

۲-۳-۱- شیمی هیستامین ۱۰

۲-۳-۲- اثرات فیزیولوژیک هیستامین ۱۱

۲-۳-۳- عوامل ایجادکننده مسمومیت ۱۵

۲-۴-۱- مکانیسم تشکیل هیستامین..... ۱۷

۲-۴-۲- مقدار کمی هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن ۲۰

۲-۴-۲-۱- حمل و نقل و نگهداری ماهی..... ۲۱

۲-۴-۲-۲-کنسروکردن ۲۲

عنوان | صفحه

۲-۴-۲-۳- خشک کردن ۲۴

۲-۴-۲-۴- نمک‌سود کردن و نمک سود - خشک کردن ۲۵

۲-۴-۲-۵- دود دادن ۲۶

۲-۵- شناسایی و تعیین مقدار کمی هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن ۲۷

۲-۵-۱- روش سنجش حیاتی (بیواسی) ۲۷

۲-۵-۲- سنجش فلوریمتریک ۲۸

۲-۵-۳- سنجش ایزوتوپی - آنزیمی ۲۹

۲-۵-۴- سنجش با H.P.L.C ۲۹

۲-۵-۵- سنجش به روش کروماتوگرافی ۳۱

۲-۵-۶- سنجش کمی هیستامین با روش اسپکتروفتومتری ۳۲

۲-۶- اهداف در تحقیق فوق ۳۳

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱- مواد مورد نیاز ۳۵

۳-۲- دستگاهها و لوازم مورد نیاز ۳۵

۳-۳- روش‌ها ۳۶

۳-۳-۱- روش اسپکتروفتومتری ۳۶

۳-۳-۲- تهیه عصاره ۳۹

۲-۳-۳- جداسازی ترکیبات مزاحم ۳۹

۳-۳-۴- تشکیل کمپلکس رنگی دی آزوئه ۴۱

۳-۳-۵- تهیه منحنی کالیبراسیون استاندارد ۴۶

۳-۳-۶- روش گازکروماتوگرافی ۵۱

۳-۳-۷- ارزیابی ثبات هیستامین ۵۳

عنوان | صفحه

۳-۳-۸- کنسرو کردن ماهی ۵۵

۳-۳-۹- نمک‌سود کردن و خشک کردن ماهی ۵۵

۳-۳-۱۰- خشک کردن ۵۶

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱ انتخاب و ارزیابی روش‌های اندازه‌گیری هیستامین ۵۸

۴-۱-۱- روش اسپکتروفتومتری مرئی ۵۹

۴-۱-۲- روش گاز کروماتوگرافی ۶۳

۴-۲- تعیین مقدار هیستامین در فراورده‌های ماهی ۶۵

۴-۳- اثرات حرارت و افزودنی‌های غذائی بر میزان هیستامین در کنسروهای ماهی ۶۷

۴-۳-۱- پایداری هیستامین در حرارت‌های طولانی مدت ۶۸

۴-۳-۲- پایداری هیستامین به حرارت در حضور افزودنیهای غذایی ۶۹

۴-۳-۳- ثبات هیستامین در طی حرارت دادن طولانی و درحضور گوشت ماهی ۷۲

۴-۴- تغییرات مقدار هیستامین در طی نمک‌سود کردن، خشک کردن و نگهداری بعدی ماهی ۷۳

فصل پنجم: نتیجه‌گیری

۵-۱- نتیجه‌گیری ۸۲

فصل ششم : پیشنهادات

۶-۱- پیشنهادات ۸۵

فصل هفتم : منابع و مآخذ

منابع ۸۷

فصل هشتم : ضمایم

ضمایم ۹۵

فهرست جداول

عنوان | صفحه

جدول ۳ـ۲ـ جذب محلول‌های استاندارد ۴۹

جدول ۳ـ۳ـ جذب محلول‌های استاندارد هیستامین بعد از شستشو بارزین..... ۵۰

جدول ۳ـ۴ـ فراوانی میزان آلودگی هیستامین ماهی هور (تن) در کارخانجات کنسروماهی..... ۵۱

جدول ۳ـ۱ـ اعداد مربوط به تعین جذب ماکزیمم ۴۳

جدول شماره ۴ـ۱ـ اثرات نور بر محلول‌های استاندارد هیستامین (نگهداری به مدت ۱۲ روز) ۶۲

جدول ۴ـ۲ـ مقدار هیستامین در ماهی کنسروی ۶۵

جدول ۴ـ۳ـ آنالیز نمونه‌های ماهی نمک‌سود شده و ماهی‌های نمک‌سود شده / خشک شده..... ۶۶

جدول ۴ـ۴ـ درصد افت در هیستامین در اثر حرارت ۱۲۱°C به مدت ۱۸۰ دقیقه..... ۶۹

جدول شماره ۴ـ۵ـ درصد افت هیستامین در فرایند حرارتی ۱۲۱°C به‌مدت ۱۸۰ دقیقه ۷۱

در حضور D-(+)گلوکز

جدول ۴ـ۶ـ درصد افت هیستامین در فرایند حرارتی ۱۲۱°C به مدت ۱۸۰ دقیقه..... ۷۱

در حضور افزودنی‌های غذایی ۱-گلوکز ۲- ریبوز ۳- اسیداسکوربیک

جدول ۴ـ۷ـ غلظتهای هیستامین در گوشت ماهی تن (Batch I) در حالت نمک‌سود شده..... ۷۴

(۴۸ ساعت در ۲°C ± ۳۰) و خشک شده (۹۶ ساعت در ۱°C ± ۴۸)

جدول ۴ـ۸ـ غلظت‌های هیستامین در گوشت ماهی کامل و تمیز شده (BatchII)..... ۷۴

در حالت نمک‌سود شده (۴۸ ساعت در ۳°C ± ۲۰)

جدول ۴ـ۹ـ غلظت هیستامین در گوشت ماهی کامل و تمیز شده (BatchIII) ۷۵

در حالت نمک‌سود شده (۴۸ ساعت در ۳°C ± ۲۰)

عنوان | صفحه

جدول ۴ـ۱۰ـ غلظت هیستامین در گوشت ماهی کامل و تمیز شده (Batch IV) ۷۵
در حالت نمک‌سود شده (۴۸ ساعت در ۳°C ± ۲۰) و خشک شده (۱۲۰ ساعت در ۱°C ± ۳۰)
جدول شماره ۴ـ۱۱ـ غلظت هیستامین در گوشت ماهی کامل، تمیز شده نمک‌زده/خشک شده..... ۷۵
(BatchIV) طی نگهداری در ۳°C ± ۲۰

فهرست تصاویر

شکل ۳ـ۱ـ دستگاه U.V و PH متر ۳۷

شکل ۳ـ۲ـ ماهی - برش - آماده‌سازی ۳۸

شکل ۳ـ۳ـ خط تولید ۴۰

شکل ۳ـ۴ـ اتوکلاو کردن (مراحل حرارت دادن طولانی) ۴۲

شکل ۳ـ۵ـ منحنی‌های جذب ماکزیمم ۴۴

شکل ۳ـ۶ـ منحنی استاندارد شماره I ۴۵

شکل ۳ـ۷ـ منحنی استاندارد II ۴۷

شکل ۳ـ۸ـ کروماتوگرام GC هیستامین در اثر استخراج با پروپانل ۵۲

شکل ۳ـ۹ـ فلوچارت عمل‌آوری ماهی تن جنوب (هور) ۵۴

شکل ۴ـ۱ـ تغییرات غلظت هیستامین در مدت نمک‌سود کردن ماهی در ۲۰°C ۷۷

شکل ۴ـ۲ـ تغییرات هیستامین در مدت نمک‌سود شده/خشک شده ۸۰

چکیده

هیستامین که در اثر دکربوکسیلاسیون باکتریائی هیستیدین در ماهیان پلاژیک تولید می‌شود، باعث ایجاد مسمومیت اسکومبرتوکسین می‌گردد.

این تحقیق به‌منظور بررسی و انتخاب یک روش ساده، مطمئن (صحت و دقت زیاد) جهت اندازه‌گیری هیستامین و تعیین تأثیر فراوری بر روی سطح هیستامین در ماهی و فرآورده‌های آن انجام شد.

در این رابطه سه روش اندازه‌گیری هیستامین در نمونه‌های ماهی مورد ارزیابی قرار گرفتند نتایج حاصله نشان داد که روش کلریمتری (شامل ترکیب کردن هیستامین و تولید رنگ آزو) یک روش ساده و مطمئن بوده و برای اندازه‌گیری هیستامین در تعداد زیادی نمونه کنسرو ماهی و یا ماهی نمک سود شده و خشک مناسب می‌باشد.

روش گاز کروماترگرافی و H.P.L.C برای اندازه‌گیری هیستامین (بواسطه گران بودن دستگاه و نیاز به تجهیزات پیچیده) و مقدار بالای هیستامین در ماهی و فرآورده‌های آن مناسب نیست.

ثبات محلول‌های استاندارد هیستامین در PH های مختلف با حرارت دادن آنها در ۱۲۱°C به‌مدت ۱۸۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت این عمل باعث گردید که مقدار هیستامین کمتر از ۵٪ کاهش یابد.

ترکیبات مختلفی (گلوکز، ریبوز، اسیدآسکوربیک) که قادر به واکنش با هیستامین هستند، به محلول‌های استاندارد هیستامین افزوده شدند و امکان کاهش مقدار هیستامین در کنسروهای ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که حرارت دادن محلول‌ها باعث شد که مقدار هیستامین کمتر از ۱۰٪ کاهش یابد و در محلول‌های دارای گلوکز و ریبوز رنگ قهوه‌ای شدیدی بوجود آمد تأثیر حرارت بر روی هیستامین (۱۱۶°C به مدت ۹۰ دقیقه) در حضور گوشت ماهی نیز مطالعه گردید. در این رابطه نتایج گوناگونی به‌دست آمد که میانگین کاهش هیستامین حدود ۱۶٪ بود. وقتی این آزمایش با اضافه کردن گلوکز تکرار گردید مقدار افت هیستامین بیشتر شده و به حدود ۳۶٪ رسید.

تأثیر نمک‌سود کردن و خشکانیدن و نگهداری آنها بر روی مقدار هیستامین در ماهی تن نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این خصوص مشخص شد که این نوع فراوری هم در ماهی کامل و هم ماهی تمیز شده افزایش می‌یابد. اما مقدار افزایش سطح برای ماهی‌های کامل بیشتر بود. لازم به توضیح است که این آزمایش‌ها در شرایطی انجام گرفت که رشد باکتریائی متوقف شده بود (استریل) این نتایج حاکی از این است که مکانیسم دیگری در تولید هیستامین دخالت دارد.

فصل اول

مقدمه

مقدمه

ماهی برای اکثر مردم جهان منبع پروتئینی مهمی به شمار می‌رود و در بیشتر کشورهای دنیا یکی از اجزاء اصلی جیره‌های غذایی مرسوم را تشکیل می‌دهد (۱).

اگرچه خوردن ماهی به خودی خود اثرات سوئی ندارد، اما گاهی اوقات مصرف آن موجب بروز مسمومیت می‌گردد. شکل‌های متعددی از مسموم شدن بوسیله ماهی گزارش شده است که یکی از شایع‌ترین آنها مسمومیت اسکومبروتوکسین [1] است (۳ و ۴).

وضعیتی مشابه آلرژی در اثر مسمومیت با ماهی اسکومبراید و سایر ماهیهای پلاژیک [2] ایجاد می‌شود. علائم عمده این نوع مسمومیت مشابه مسمومیت با هیستامین می‌باشد بطوریکه در بسیاری از کشورها بروز مسمومیت اسکومبروتوکسین را به مقادیر بالای هیستامین نسبت داده‌اند (۵).

برخی از محققین عنوان نموده‌اند که علاوه بر هیستامین ترکیبات دیگری نیز در بروز مسمومیت اسکومبروتوکسین مؤثر می‌باشند. زیرا وقتی هیستامین مستقیماً خورده شود علائم مسمومیت اسکومبروتوکسین ظاهر نمی‌شود، با این وجود همگان بر این مطلب اتفاق نظر دارند که مقدار هیستامین موجود در ماهی شاخص مناسبی برای پتانسیل آن در ایجاد مسمومیت اسکومبروتوکسین است عموماً مشاهده شده که ماهیان دارای هیستامین با غلظت پائین سبب مسمومیت‌های آلرژی‌زا نمی‌شوند (۴).

با توجه به این نکته که میزان تولید کنسروماهی در طی سالهای ۷۵-۱۳۶۵ به میزان ۳ برابر و مصرف ماهی ۴ برابر در کشور ما افزایش یافته است (۱) اهمیت موضوع را بیشتر می‌کند و ذکر این نکته که هیستامین با مقدار «۲۰^{mg} درصد» بیانگر فساد ماهی و فرآورده‌های آن محسوب می‌شود و در حدود «۵۰ میلی‌گرم درصد» نشان دهندهٔ مسمومیت‌زائی در ماهی خام و ماهی تن کنسرو شده می‌باشد (۲) ضمن اینکه در حال حاضر میزان هیستامین فرآورده‌های غذایی به عنوان یک شاخص کنترل کیفیت در ایران اندازه گیری نمی‌شود. مشخص می‌گردد که باید به این مسئله نگرش خاصی داشت.

بطور کلی مسمومیت حاصل از هیستامین در موارد خفیف باعث عوارض مشابه آلرژی می‌گردد که بدون بررسی‌های دقیق و تعیین مقدار هیستامین قابل تفکیک از آن نمی‌باشد (۳). عوارض شدید آن

---

1. Scombrotoxin
2. Pelagic