مجلة جامعة بني وليد للعلوم الإنسانية والتطبيقية
تصدر عن جامعة بني وليد – ليبيا
Website: https://jhas-bwu.com/index.php/bwjhas/index
المجلد التاسع، العدد الثاني 2024

تقدير مستوى الهستامين تحت ظروف مختلفة من درجة الحرارة في سمك التونة الزعنفة الزرقاء

أ.إمحمد عثمان فيدان[1]*، ، أ.سليمان مصطفى الأطيرش[2]،
أ.فرج عبد الله كشبة[3]، أ.عواطف محمود الفيتوري [4].
[1] قسم الأحياء، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا.
[3,2] قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة مصراتة، ليبيا.
[4] قسم الإنتاج الحيواني، المعهد العالي والمتوسط للتقنيات الزراعية الغيران، طرابلس، ليبيا.
i.fiedan@agr.misuratau.edu.ly

Estimation of histamine level under different temperature conditions in Thunnus thynnus.

Imhemed O. Fiedan[1*] , Suliman M. Latarish[2] ,
Faraj A. kashba[3] , Awatef M. Elfituri[4]
Zoology Division, Biology department, Faculty of Science, University of Misurata- Libya.[1]
Animal production department, Faculty of agriculture, University of Misurata- Libya.[3,2]
Animal production department- High and intermediate institute of Agricultural Technology. Gheran-Tripoli -Libya.[4]

تاريخ الاستلام:12-05-2024 تاريخ القبول: 26-05-2024 تاريخ النشر: 16-06-2024

الملخص:

يعد وجود الأمينات الحيوية في الأطعمة مؤشرًا كيميائيًا على تلف الأغذية. من بين الأمينات الحيوية، الهستامين هو الأكثر مشاركة في التسمم الغذائي، لتقييم نسب الهستامين في سمك التونة ، في هذه الدراسة، تم جمع 24 عينة من أربع أسماك التونة (لكل مجموعة تم أخذ أربع عينات من الظهر **D** و أربع عينات من البطن **E**) تم العينات في ثلاث ظروف مختلفة من درجات الحرارة، تم تخزين عينات التونة الطازجة (غير الملوثة) عند درجات حرارة 0^0 و6^0 و20^0 درجة مئوية، (**A**،**B**، **C**) لمدة 24، 72، 124 ساعة على التوالي، تم جمعها من السوق المحلي قصر أحمد في مصراتة– ليبيا، وتم تحليل الهستامين وقيمة الرقم الهيدروجيني. تم تحديد الهستامين في جميع العينات عن طريق إجراء (**ELISA**) والرقم الهيدروجيني عن طريق **pH meter**. من خلال النتائج كان مستوى الهستامين في المجموعة **A < 50. ppm/100g**، سواء كانا في منطقة الظهر أو منطقة البطن **E**اَعلى بكثير من الحدود المسموح بها من قبل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية (**10 ppm/100g**). وفي المجموعة **B-D** وجد أن متوسط مستوى الهستامين (**SD±**) هو 11.0275 ± 66845. 0 كانت ضمن الحدود

المسموح من قبل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية. بينما متوسط مستوا الهستامين (±**SD**) في المجموعة **B** هو 20.240± 1.205 أعلى من معايير المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية، أما متوسط نتائج المجموعة **C-D** للهستامين (±**SD**) هي 3.9750 ±33151. والمجموعة **C-E** هي 6.5625 ± 26056. فهي أقل من معايير المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية. قيم الرقم الهيدروجيني للعينات كانت ضمن معايير المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية (6.8). متوسط قيم الرقم الهيدروجيني (±**SE**) للعينات لـ **A** و**B** و**C** تم تحديد القراءة لتكون 6.0775 ±.058، 5.8925±.046، 5.5550 ± 0.058، على التوالي.

يمكن أن نستنتج أن الدرجة لحفظ الأسماك الطازج هي 0^0 درجة مئوية، تبدأ في ازدياد نسب مستويات الهستامين أثناء التخزين عند 6^0 درجة مئوية وأعلا، استنادًا إلى المؤشرات. تؤكد هذه النتائج أهمية تطبيق ممارسات النظافة الجيدة واحترام سلسلة التبريد.

الكلمات الدالة: مستوى الهستامين ، سمك التونة "الزعنفة الزرقاء "، درجة حرارة التخزين ، الاس الهيدروجين ، التخزين.

Abstract

The presence of bioamines in food is a chemical indicator of food damage. Among the bioamines, histamine is most involved in food poisoning. And to evaluate the ratios of histamine in Thunnus thynnus, In this study, 24 samples of 4 Thunnus thynnus were collected (for each group, 4 samples were taken from the back D and 4 samples from the abdomen E) Samples were collected in three different temperature conditions and stored fresh (uncontaminated) Thunnus thynnus at temperatures of 0 °, 6 ° and 200 °C, (A, B, C) for 24, 72, 124 hours respectively. All samples collected from the local market of Qasr Ahmed in Misrata- Libya, and the histamine and the pH value were analyzed. Histamine was identified in all samples by the ELISA procedure and pH by pH meter. By the results, the histamine level in group A was 50.0 ppm/100g<, whether they were in the back or abdominal area, they are more above the limits allowed by the Libyan National Centre for Standardizations and Metrology (ppm/100g 10). In group B-D, the average histamine (±SD) level was found to be 11.0275±66845. 0 was within the limits allowed by the Libyan National Centre for Standardizations and Metrology.

While the average histamine level (±SD) in Group B-is 20.240± 1.205 is higher than the criteria of the Libyan National Centre for Standardizations and Metrology, the average results of the C-D group for histamine (±SD) are 3.9750 ±33151. The C-E group is 6.5625 ±26056. They are below the standards of the Libyan National Centre for Standardizations and Metrology. The pH values for samples were within the standards of the Libyan National Centre for Standardizations and Metrology (6.8). Average pH values (±SE) for samples for A B & C the reading was determined to be 6.0775 ±.058, 5.8925±.046, 5.5550 ± 0.058, respectively.

We can conclude that the degree to preserve fresh fish is 0°C. Based on the indicators, the ratios of histamine levels start to increase at storage of 6°C and above. These results emphasize the importance of applying good hygiene practices and respecting the cold chain.

Keywords: Histamine level, bluefin tuna, storage temperature, pH, storage.

المقدمة:

اهتمام البشرية بالأغذية من حيث القيمة الغذائية ودورها الأساسي في بناء جسم الكائن الحي، حيث يعتبر الغذاء بنية معقدة يتكون من ("بروتينات، كربوهيدرات، دهون، معادن، فيتامينات، إنزيمات ... وغيرها") وهذا ما يجعل التركيبة الكيميائية للأغذية ضرورية للإنسان للبقاء على قيد الحياة. ويعتبر الغذاء مصدر من مصادر الأمراض التي تصيب الإنسان عن طريق تعرضه إلى التلوث بصور مختلفة كيميائيا وفيزيائيا واشعاعيا وميكروبية (البكتيريا، الاعفان، الخمائر، الفيروسات، الطفيليات)، وذلك خلال جميع مراحل الإنتاج (التصنيع والإعداد والتخزين والنقل والتداول) وحتى مراحل التقديم للمستهلك على طاولة الطعام، ويترتب على ذلك حماية المستهلك من الإصابة بالتسمم الغذائي، سواء كان التسمم ميكروبي أو كيميائية **فهد.، 2011**.

يمكن أن يتسبب تناول بعض أنواع الأسماك في حدوث مرض مفاجئ بعد فترة قصيرة جدا من تناولها. ولهذا المرض أعراض مميزة تتلخص في احمرار الوجه والكتفين والغثيان أو القيء، حرقة في الفم والصداع الشديد، وقد يصاحب هذا كله الإسهال. ونظراً لأن هذه الأعراض تتشابه مع بعض أنواع الحساسية للمواد الغذائية، وقد أدت نتائج الأبحاث والدراسات في مجال هذا التسمم إلى استبعاد الحساسية، فهذا المرض مرتبط بتناول أنواع معينة من الأسماك دون غيرها، كالتونا والماكريل والسردين والرنجة، وقد تبين أنه قد سبق للمصابين تناول لحوم هذه الأسماك دون حصول أعراض مرضية لديهم، وأنهم يمكن أن يتناولون الأسماك نفسها بعد شفائهم دون حدوث الأعراض مجدداً. فلو كان الأمر حساسية لتسببت أنواع أكثر من الأسماك في حدوثه ولكن دائما الحصول عند الأشخاص الذين لديهم حساسية ضد الأسماك (**Hilmer–Frank,& Yoshinaga.,2008**).

الهستامين (Histamine) عبارة عن مادة نشطة بيولوجيًا، ومن الممكن إيجادها في مجموعة كبيرة ومتنوعة من الكائنات الحية، حيث يتشكل الهيستامين عن طريق نزع مجموعة الكربوكسيل من الحمض الأميني المعروف باسم الهستدين ((Histidineبواسطة إنزيم الهستدين ديكاربوكسيلاز، يمكن لبعض البكتيريا إنتاج الهيستامين باستخدام إنزيم الهستدين ديكاربوكسيلاز. يعتبر الفساد الميكروبي وبالإضافة لنشاط الإنزيمي المصاحب له العامل الرئيس لفساد الأسماك، توجد أعداد كبيرة من البكتريا بصورة طبيعية في الطبقة المخاطية السطحية وعلى الخياشيم وفي الأمعاء إلى أن هذه البكتيريا لا تكون ضارة للأسماك الحية السليمة صحياً ذات الجهاز المناعي الطبيعي الذي يمنع البكتيريا من تعدي حدود أعداد معينة ولكن بعد موت الأسماك تبدأ البكتريا والإنزيمات التي تفرزها في غزو الأنسجة بدءاً من الخياشيم ثم تتحرك في الأوعية الدموية أو تغزو الجلد مباشرة ثم من خلال الأغشية المبطنة للتجويف المعوي وقد تدخل إلى اللحم من خلال إي خدش أو جرح فيه **الطائي.، 1987**.

يعد التسمم بالهيستامين الأكثر شيوعاً والناتج عن تناول المأكولات البحرية والأسماك حيث إنه عادة ما يظهر على شكل رد فعل تحسسي وتحدث هذه الحالة عندما لا يتم تجهيز، تداول وحفظ الأسماك في درجات حرارة مناسبة مما يؤثر ذلك سلباً على جودة المنتجات السمكية المختلفة **احميده & هاجر.، 2023**. البكتيريا المسؤولة عن تحويل الهستدين إلى الهستامين من العائلة المعوية Enterobacteriaceae مثل Klebsiella و Morganella و Hafnia

وهي موجودة إما في الخياشيم أو تجويف الأمعاء أو من خلال عمليات النقل والمعاملات الرديئة **Kim *et al.*, 2003**. يتم تكون الهيستامين في الأسماك من قبل بعض الكائنات الدقيقة القادرة على إنتاج إنزيم (HDC) Histidine decarboxylase وهذا الأنزيم التي تنتجه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام على حد سواء يحفز تحويل الهستدين الحر إلى هستامين والموجود بشكل طبيعي في مستويات عالية في عضلات بعض الأسماك **Björnsdóttir-Butler & Green., 2010.**

فترة الحضانة عادة ما تكون قصيرة، وتظهر الأعراض من عشر دقائق الى عدة ساعات وأحيانا عدة أيام، على هيئة حرقان في الفم، تورم واحمرار في الوجه والرقبة مع إحساس بالسخونة وعدم ارتياح ويليه صداع شديد مع الشعور بنبضات القلب مع ظهور بعض الاعراض الاخرى على شكل دوار وإغماء، حساسية تورم جلدي، حرقان الفم والحلق، نبض سريع وضعيف، غثيان، دوار وقيء، آلام في البطن وهبوط شديد في الضغط **عدنان.،1998**. تناول الهيستامين من 25 إلى 50 مليجرام يؤدي إلى صداع بينما من 50 إلى 150 مليجرام يؤدي الى تورم وهيجان تظهر الأعراض حسب الكمية المأخوذة من الهيستامين، حيث ان حدوث مثل هذه التسممات بالهيستامين معظمها حدثت في اليابان، الولايات المتحدة وانجلترا وبدرجة أقل في عدد من الدول الأخرى **عبد الحميد.، 1998**.الأسماك من الأغذية سريعة الفساد، وهي من الأسباب الأولى لحدوث التسمم الغذائي في كثير من البلدان، ويرجع ذلك غالبا إلى الطريق الخاطئة في تداول وعرض الأسماك في الأسواق مما يعرضها الى التلوث. ومن أهم أسباب سرعة فساد الأسماك هو عدم الالتزام بدرجات الحرارة المنخفضة (التبريد) أثناء التداول، لذلك يجب عرض الأسماك مبردة أو مثلجة لتثبيط نمو وتكاثر الميكروبات بالخص ميكروبات التسمم الغذائي. ويحدث التسمم الغذائي من الأسماك نتيجة تناول أسماك فاسدة أو بدأت تتحلل نتيجة لزيادة البكتريا خاصة الأنواع التي تفرز سموما. ويرجع السبب الرئيسي والأكبر في استهلاك اسماك من عائلة سكومبرويد مثل التونة، الماكريل، الرنجة، البونيتو... وكذلك بعض الأنواع الغير تابعة لهذه العائلة وهي أسماك السردين **شوكت محمد.، 2008**. تعتبر أسماك الإسكومبرويد وأسماك التونة الأخرى الطازج خالية بشكل أساسي من الهستامين ;**Geiger *et al.*, 1944; Geiger, 1948; Hardy & Smith, 1976 Fernandez-Salguero & Mackie, 1979.**

مشكلة البحث:

تتمثل مشكلة البحث في سوء التعامل او التداول مع سمك التونة بالسوق الليبي من ناحية التخزين والنقل والعرض من قبل الصياد والبائع والمستهلك.

أهمية البحث:

نظرا لزيادة إقبال السوق المحلي لاستهلاك المنتجات البحرية (الأسماك) لا حضنا الزيادة المفرطة لدى العديد من الاشخاص الاصابة بالحساسية اثناء تناول الأسماك وبالأخص سمك التونة، مما جعلنا نركز على دور الهستامين المسبب لهذا النوع من الحساسية محاولة منا في إيجاد المسبب الرئيسي وراء الحساسية والتي يمكن تفاديها باتباع الارشادات الصحية لتداول الأغذية.

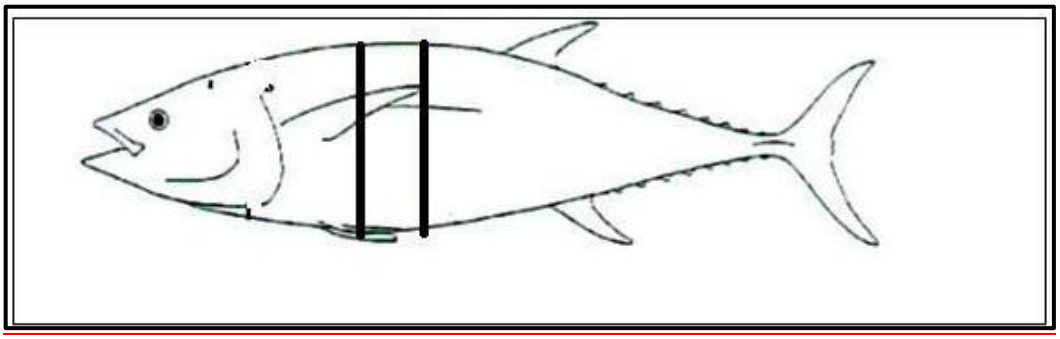
الهدف من البحث:

يهدف هذا البحث بتسليط الضوء على توعية الصيادين والتجار والمستهلكين، باتباع الطرق والأساليب الصحيحة في عملية حفظ ونقل سمك التونة كذاك عملية العرض لمنتجات الأسماك وفقاً لمعايير السلامة الغذائية.

مواد وطرق العمل Materials and methods

تجميع العينات:

خلال موسم صيد أسماك التونة ذات الزعنفة الزرقاء تم تجميع عينات عشوائية صباحاً من سوق الأسماك بقصر أحمد، كانت التونة غير منزوع الأحشاء والرأس، تم أخذ العينات من أربع أسماك مختلفة ومن كل سمكة تم اخذ العينات على شكل قطاع عرضي من المنتصف حسب ما موضح **بالشكل (1)**، ثم وضعه في أكياس بلاستيك معقمة وتم وضعها في حافظة بها ثلج مجروش ونقلت مباشرتاً إلى معمل علم الحيوان كلية العلوم جامعة مصراتة لاستخدامها في التجربة، كان متوسط حجم أسماك التونة 500 كجم، والطول 105سم.



شكل (1) يوضح موقع أخذ القطاع من سمكة التونة "بين الخطين السود"

طريقة العمل:

في شهر مايو 2023، باستخدام مشرط حاد تم تقسيم القطاع الى نصفين (منطقة الظهر، ومنطقة البطن) تم أخذ العينات من كل منطقة تم وضع القطع الفردية (التي يبلغ سمكها حوالي 10 إلى 13 سم، ووزنها من 3 إلى 4 جم بما في ذلك الجلد) في أكياس معقمة منفصلة، كل منها يحمل رمز خاص كما في **الشكل (2)**، تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات، مجموعة A خزنت في درجة حرارة الغرفة وكان متوسطها 20° لمدة 24 ساعة، بعدها نقلت إلى الفريز، والمجموعة الثانية B خزنت في الثلاجة في درجة حرارة 6° لمدة 72 ساعة وبعدها نقلت إلى الفريز، والمجموعة الثالثة C خزنت في الفريزر عند درجة 0° مئوية لمدة 124 ساعة وكان عدد العينات في كل معاملة من معاملات درجة حرارة 8 عينات (لكل مجموعة تم أخذ أربع عينات من الظهر D و أربع عينات من البطن E).

صباح يوم الثلاثاء الموافق 30 من شهر مايو جمعت العينات بحافظة تحتوي على ثلج ونقلت إلى مركز الرقابة على الأغذية والأدوية فرع مصراتة، لإجراء التحاليل اللازمة وقياس قيمة pH بواسطة جهاز pH meter عن طريق غرس بروب في اللحم ثم أخذ القراءة ونسبة الهيستامين بواسطة جهاز – بتقنية ELISA، **المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية 2020.**

شكل (2) يوضح حجم السمكة وحجم وشكل العينات وتوزيع العينات.

تجهيز وتحليل العينات:

1 - قياسات الأس الهيدروجيني للتونة:

تم فك تجميد العينات سمك التونة التي سحبت من السوق، كما تم قياس الأس الهيدروجيني لعينات سمك التونة باستخدام مقياس الأس الهيدروجيني (Weilheim) SET 315 / i،ألمانيا)، كما وصفه **Mohan, *et.al*2013** **الشكل(3)** تمت إزالة السوائل من لحم التونة باستخدام ورق الترشيح ثم تم غرس بروب جهاز pH meter في العينة من أجل تسجيل القراءة pH .

الشكل (3). جهاز قياس الأس الهيدروجيني.

قياسات الهيستامين للتونة:

تم فك تجميد العينات سمك التونة التي سحبت من السوق. استعملت طريقة التحاليل للعينات وفق الدليل الوارد مع جهاز التحليل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية 2020، حيث أخذ 1 غرام من كل عينة في أنبوبة اختبار "بعد عملية طحن العينة" بواسطة الميزان الحساس أخذ 9 مل ماء مقطر ووضع مع العينة في أنبوبة اختبار 10مل وتم تغطيتها. وضعت أنبوبة الاختبار في جهاز الرجاج لمزج المكونات جيدا لمدة تتراوح بين 3-5 دقائق. ووضعت أنابيب الاختبار في جهاز Sentarfyug لمدة 5 دقائق بمعدل سرعة 3500 لفة/دقيقة لفصل طبقة الدهن من العينة. جهاز التخفيف الأول بسحب 1مل من محلول العينة الأصلية تحت طبقة الدهن بواسطة Pipette ووضعت في أنبوبة اختبار ثانية ثم أضيف إليها 9 مل ماء مقطر. أما التخفيف الثاني فسحب 200 ميكرو ليتر من التخفيف السابق ووضع في أنبوبة اختبار الثالثة وأضيف إليها 9.8 مل ماء مقطر. رجت الأنبوبة جيدا وخزنت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 درجة مئوية. تم إخراج العينات من الثلاجة قبل البدء في الحقن بحوالي ساعة، جهزت العينات وفق الطريقة الواردة مع الجهاز:

الشكل (4): صورة جهاز ELISA و Histamine 96 kit

1–يتم أخذ من عينات التونة CRM ما يصل إلى 100 ميكرو لتر لكل منهما باستخدام Micropipette وضعت على ويل Histamine 96 kit كما في **الشكل (4)**.

2–تمت إضافة 200 ميكرو لتر من خليط التفاعل إلى كل ويل.

3–رجت العينة لمدة دقيقة واحدة ثم لفت بمنديل ملفوف لمدة دقيقة واحدة، وتم تحضينها لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة تحت ظروف مظلمة.

4-تم أخذ القراءة على قارئ ELISA بطول 450 نانومتر. قيست كمية الهيستامين للعينات بثلاث مكررات، وتم التعبير عن النتائج المتحصل عليها بالمتوسطات مع الانحراف المعياري (± SD). استخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير الأنواع المختلفة في الصفات المدروسة، قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات عند مستوى معنوية $P\text{-value} \leq 0.005$ ، باستعمال برنامج **(SPSS اصدار 25)** وكذلك لإعداد الجداول ورسم المنحنيات.

النتائج:

اختبار الهستامين:

تم اختبار النتائج في مركز الوطني لرقابة على الأغذية والأدوية فرع مصراتة، لعينات سمك التونة التي تم تجميعه من سوق الأسماك قصر احمد باستخدام طريقة ELISA التي توضح أن النتائج متفاوتة مع المعاملات المختلفة من درجات حرارة التخزين يمكن رؤيتها في الجدول (1)، كانت مستويات الهستامين A "في درجة حرارة الغرفة 20^0" ذات قيمة أعلى حيث بلغت $50.00 \geq$ (ppm/100g) بينما وصل مستويات الهستامين C "في درجة حرارة الفريزر 0^0" أقل قيمة حوالي(ppm/100g) 5.268±). أما بالنسبة لمعاملة العينات "درجة حرارة الثلاجة 6^0" كانت مستويات الهستامين (ppm/100g 15.633±)، وقورنت المعاملات الثلاثة بالمواصفات والمعايير القياسية للمركز الوطني الليبي AA (الكنترول).

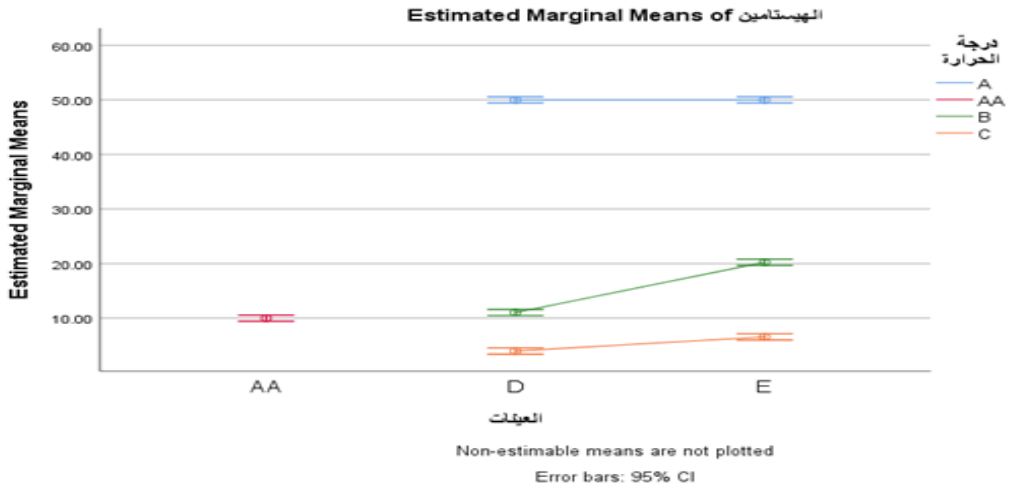
Report

العينات	درجة الحرارة	الهيستامين		ph.		Sig.
		Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation	
AA	AA	10.0000	.00000	5.4625	.01258	.000
	Total	10.0000	.00000	5.4625	.01258	.000
Total	A	50.0000	.00000	6.0775	.05874	.000
	AA	10.0000	.00000	5.4625	.01258	.000
	B	15.6338	5.00629	5.8925	.04621	.000
	C	5.2688	1.41035	5.5550	.05806	.000
D	A	50.0000	.00000	6.0250	.02517	.000
	B	11.0275	.66845	5.8525	.02062	.000
	C	3.9750	.33151	5.5025	.02062	.000
	Total	21.6675	21.14351	5.7933	.22793	.000
E	A	50.0000	.00000	6.1300	.00816	.000
	B	20.2400	1.20552	5.9325	.01708	.000
	C	6.5625	.26056	5.6075	.00957	.000
	Total	25.6008	18.95120	5.8900	.22527	.000

الجدول رقم (1) يوضح اختلاف معدلات الهستامين باختلاف درجة الحرارة

يتضح من خلال الجدول (1) بأن درجة الحرارة تلعب دور كبير في اختلاف تركيز الهستامين بين المعاملات مع وجود فروق معنوية عالية بين جميع المعاملات 0.000 >P، تركيز الهستامين في عينات

تأثير الحرارة في تركيز الهستامين



الشكل (5) يوضح تأثير درجة الحرارة ومكان أخذ العينة على تركيز الهستامين.

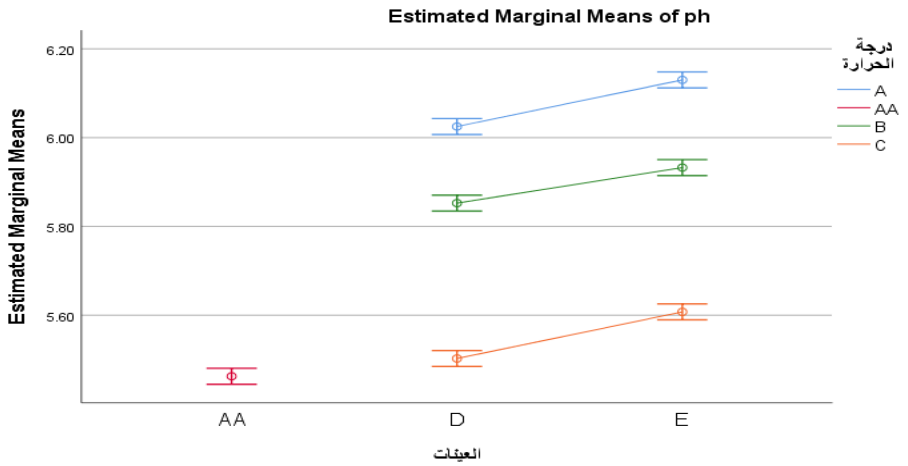
التونة A قد ازداد بمقدار 0000. ± 50.000 عن العينات AA، وكذاك المجموعة B ازدادت بمقدار 5.006. ± 15.633 عن AA، كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعة A &B مقارنة بالمجموعة AA عند مستوى احتمالية P< 0.000، تركيز الهستامين في المجموعة C اقل 1.41035± 5.2688 عن المجموعةAA كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المعاملتين بمقدار P< 0.000، وبالمقارنة بالمواصفات القياسية الليبية الخاصة بالتونة المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية.، 2020 حيث كانت عينات المجموعة C أقل من المواصفة وهو 10 ppm/100g أما عينات المجموعة B تتفق مع مواصفات دول الخليج العربي هيئة التقييس لدول مجلس التعاون لدول الخليج العربي.،2021. حيث لا تزيد نسبة الهستامين عن 20ppm/100g وكذلك موصفات دستور الأغذية **Codex Alimentarius.،2018** تشير إلى أن الحد المسموح به من تركيز الهستامين في التونة يجب ألا يزيد عن 20 ppm/100g وهذا يعني بأنه تركيز الهستامين المجموعة B في ضمن الحدود الآمنة. ما مستويات الهستامين الموجودة في المجموعة A أعلى بكثير من المستويات المسموح بها في المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية.، 2020 وكذلك المستويات المحددة بواسطة معايير مراقبة الجودة الياباني (**Okada, Fish as raw food material, in.1990** (50>ppm))، ولكنها لا تزال في النطاق (100-200 ppm) المسموح به من قبل الدول الأوروبية . **P. Visciano,*at.al*.2014 & P.Visciano,*et.al* 2020**

تركيز الهستامين في عينات التونة:

نتاج نسب الهستامين على حسب أماكن أخذ العينات أظهرت تباين واضح مع وجود فروق معنوية عالية بين جميع المعاملات P< 0.000 ، العينات المأخوذة من الظهر كانت قيمة الهستامين منخفضة مقارنة بالعينات المأخوذة من جهة البطن، كان تركيز الهستامين في المجموعة D على حسب درجة الحرارة A C & B بمقدار 50.00، 11.027 &3.97 على التوالي وذلك يرجع الى عدد من الأسباب ومن أهم هذه الأسباب التركيب النسيجي لظهر فالظهر في سمك التونة يكون نسب الدهون أقل وكذلك كثافة الكتلة العضلية هذا تركيب يحيل دون سرعة عملية تحلل النسيج وتكسر الهستدين ، المجموعة E كان تركيز الهستامين حسب درجة الحرارة A B C & بمقدار 50.00، 20.240 & 6.56 على التوالي كما في **الشكل(5)** وذلك يرجع الى سبب التركيب النسيجي للبطن في سمك التونة يكون نسب الدهون أكثر مما يجعل الكتلة العضلية أقل بالإضافة لوجودها حول الأحشاء مما يسهل في انتشار الأحياء الدقيقة التي تلعب دور كبير في تحلل الانسجة وهذا يتفق مع **Yan Ramona,.2023** ارتفاع مستوى الهستامين في عينات خاصره التونة قد يكون ناتجًا عن بكتيريا تنتمي إلى عائلات غير معوية ولكنها لم تظهر استجابة للنمو في الوسط الانتقائي المستخدم في دراستهم.

قياس الأس الهيدروجيني pH:

عند درجات الحرارة A B C& وتم تحديدها على أنها 6.0775 ±.058، 5.8925±.046، 5.5550 ± 0.058، على التوالي. كانت قيمة الرقم الهيدروجيني في عينات الأسماك التونة ضمن القيمة موصى به من قبل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية 2020.وتظهر هذه القيم في الجدول (1)



الشكل (6) يوضح تأثير درجة الحرارة ومكان أخذ العينة على الأس الهيدروجيني.

تقييم الأس الهيدروجيني pH:

يظهر **الشكل (6)** التغيرات في الرقم الهيدروجيني لثلاث درجات حرارة تخزين مختلفة مع وجود فروق معنوية عالية بين جميع المعاملات 0.000 >P. وتم قياس قيم الرقم الهيدروجيني الأولية للعينات الطازجة لتكون عند 5.46± 0.012 يتراوح الرقم الهيدروجيني للأسماك بعد اصطيادها مباشرة بين 6.0 و6.5 بشكل عام، أظهرت الدراسة أن قيم الأس الهيدروجيني للمعاملات الثلاثة 6.0775±.058، 5.8925±.046، 5.5550 ± 0.058، على التوالي كما في الشكل (6) لدرجات حرارة التخزين 0^0 و6^0 و20^0 درجات مئوية. الزيادة في قيم الرقم الهيدروجيني في الأسماك ناتجة بشكل رئيسي عن التحلل الإنزيمي .**Nikheel & Asif.2013** قد يكون سبب ذلك ارتفاع الجليكوجين تحلل الجليكوجين إلى حمض اللاكتيك يغير الرقم الهيدروجيني ولكن قيمة الرقم الهيدروجيني للأسماك بعد الصيد مقبولة حتى 6.8 حسب القيمة موصى به من قبل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية.، **2020** ودرجة الحموضة الأسماك الفاسدة أعلى من 7.0. ومع ذلك، قد تحتوي بعض أنواع الأسماك على لحوم قلوية بعد اصطيادها مباشرة. ولذلك، لا ينبغي استخدام قيمة الرقم الهيدروجيني كمؤشر وحيد لجودة الأسماك. خلال التغييرات بعد الوفاة، ستكون قيمة الرقم الهيدروجيني ثابتة إلى حد ما أو تزيد قليلاً بسبب تكوين المركبات الأساسية **.Huss,. 1988; Love,. 1980 & Shewan,. 1977** ،على الرغم من أن التغيرات في الرقم الهيدروجيني تكون صغيرة إلى حد ما بشكل عام، إلا أن لها أهمية تكنولوجية كبيرة. إن الرقم الهيدروجيني بعد الوفاة، وفقاً **Huss,. 1988**، هو العامل الأكثر أهمية الذي يؤثر على أنسجة السمك "يسبب في حدوث فجوات نسيجية" أي تمزق النسيج الضام. أحد أسباب ذلك هو أنه التغيرات الطفيفة في الرقم الهيدروجيني تؤثر بشكل كبير على خصائص النسيج الضام.

المناقشة Discussion:

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن درجة الحرارة تلعب دور كبير في تكوين الهستامين، بل تعتبر العامل الأساسي لتكون الهستامين في هذه العملية، تأثير درجة الحرارة يمكن ملاحظتها في هذه الدراسة التي تم إجراؤها على سمك التونة الطازج والمخزن في درجات حرارة المختلفة.

في هذه الدراسة كان أعلى تركيز للهستامين في العينات المخزنة عند درجة حرارة 20^0 درجة مئوية أظهرت سمك التونة علامات تلف ملحوظة وتغيرات في الخصائص الحسية بسبب ذلك التخزين غير السليم، والتي ربما كانت بسبب نمو البكتيريا. وهذه النتائج تتفق مع أعلى معدل لإنتاج إنزيم ديكاربوكسيلاز الذي يعمل على تحويل الهستدين إلى الهستامين من قبل منتجيها حدث عند درجة حرارة تتراوح بين ^{o}20و ^{o}37 درجة مئوية. **Ekici, & Omer. 2020** ، كما هو مبين في الرسم البياني في الشكل (5) ، هناك زيادة سريعة في الهستامين يمكن ملاحظتها في وقت مبكر يصل إلى 24 ساعة من الحضانة عند20^0 درجة مئوية ، بينما عند 6^0 درجات مئوية المجموعة B الزيادة لديها اتجاه أبطأ بكثير كما في **الجدول (1)**. وتتفق هذه البيانات مع ما نقلته **Lehane & Olley,. 2000**، عند التخزين في درجات حرارة التبريد ينتج عادة الهستامين بكميات أقل وهذه النتيجة تتفق مع **Zaman *et al.*,2010**

،التكوين السريع للأحماض الأمينية بعد الوفاة يعتمد على درجة الحرارة، وقت التخزين ودرجة الحرارة هي العوامل الرئيسية التي تؤثر في إنتاج الأمينات الحيوية. كما أن النشاط المائي للمواد المجمدة يساوي الصفر في المجموعة C وهذا يبطئ أو يوقف النشاط التحفيزي للإنزيمات. يبدأ في الزيادة بشكل ملحوظ عندما تم تحضين العينات عند درجة حرارة 4° درجات مئوية أو أعلى كما في المجموع B. وهذا يتماشى مع **Rossano, at.al. 2006** أيضا عند 4° درجات مئوية أو أكثر يبدأ مستويات الهستامين بالزيادة في العينات، يتأثر بطول فترة الحضانة. على الرغم من وجود تباين كبير في النتائج من الدراسات التي تم فيها حفظ المأكولات البحرية في ظروف مختلفة، بشكل عام، لفترة أطول يبدو أن الأوقات وارتفاع درجات الحرارة يزيد من إنتاج الهستامين **Flick *et al.*,2001**. ومع ذلك هذه النتائج ليست مطلقا، لأنه من الضروري النظر في الأنواع البكتيرية المسببة، والتي قد يكون لها دور في تكون الهستامين التي غالبًا ما تكون متواجدة في التونة الطازجة وعلى درجة حرارة 5^0 درجات مئوية في التونة ولكن ليس عند درجة حرارة 37° درجة مئوية .**Emborg, & Dalgaard, 2006.** وفقا لدراسة أجراها **Amani H,. *et al.* 2018** على الهستامين في أسماك التونة، فقد أصبح خلال فترات زمنية (0، 5، 10، 15، 20 يوما) ارتفع محتوى الهستامين في جميع العينات بشكل ملحوظ أن الحد الأقصى والحد الأدنى لمستويات الهستامين كانت 4.6،12.6 ppm، على التوالي. في العينات المجمدة، كان أعلى وأدنى الهستامين 2.6، 0.75 ppm، على التوالي **Sadeghi,. *et al.* 2015**، مع انخفاض معدل النشاط عند درجة حرارة -8^0 درجة مئوية أو قد يصبح غير نشط تمامًا عند درجة حرارة أقل من -8^0 درجة مئوية **Burns,. 1985**.من النتائج يتضح أن الانخفاض في درجة حرارة يؤدي إلى قمع تكوين الهيستامين بشكل كبير على العكس مع ارتفاع في درجة الحرارة وهذا يتفق مع **Yan Ramona,.2023**. درجة الحموضة. يظهر **الشكل (6)** التغيرات في قيم الأس الهيدروجيني أثناء تخزينه في درجات حرارة المختلفة. ومع ذلك كانت قيمة الرقم الهيدروجيني في عينات المعاملات الثلاثة ضمن القيمة موصى به من قبل المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية (6.8) المركز الوطني الليبي للمواصفات والمعايير القياسية.، 2020.

الخلاصة Conclusion:

يعد التسمم بالهستامين أحد أكثر الأمراض شيوعًا التي تسببها الأسماك والمنتجات السمكية. وعلى الرغم من الاهتمام المتزايد بسلامة الأغذية، فإن عدد الحالات آخذ في الارتفاع، ربما بسبب عدم تمييز المستهلك بين السمك الطازج من عدمه، التغير في عادات الأكل وزيادة استهلاك الأسماك الغير طازجة. يجب أن يكون المستهلكون على دراية بالتخزين المناسب لمنتجات المأكولات البحرية، من وقت الشراء إلى وقت إعداد المنتجات واستهلاكها. ما ظهر في الدراسة الحالية هو أن التخزين غير السليم يمكن أن يؤدي إلى تكوين الهستامين بمستويات أعلى بكثير من الحدود القانونية كما حدث في المعاملة A، وأن وقت التخزين ودرجة الحرارة هما العاملان الرئيسيان اللذان يؤثران على هذه العملية. في حين كان من المتوقع أنه عند 6^0 درجات مئوية، سوف يتباطأ إنتاج الهستامين، لوحظ أن انخفاض درجة الحرارة لا يتوافق بالضرورة مع تكوين أقل للهستامين. وبالتالي يمكن أن يكون وسيلة لزيادة العمر الافتراضي لهذا الطعام، في حين أن العينات في درجة حرارة 0^0 درجة مئوية "المعاملة C" يحد من تكسر الاحماض

الامينية وبتالي منع تكون الهستامين. بشرط ينبغي أيضًا التأكيد على أهمية نظافة الأدوات المستخدمة في التعامل مع الأسماك، لأنها يمكن أن تكون أيضًا مصدرًا للتلوث بالبكتريا التي تلعب دور في تكون الهستامين.

تركز الدراسة الحالية على تحليل الهستامين في أسماك التونة المعرضة لظروف مختلفة. سيكون من المثير للاهتمام مواصلة هذا البحث في المستقبل من منظور ميكروبيولوجي لدراسة الأحياء الدقيقة السائدة المسؤولة عن تطوير هذا الأمين الحيوي.

التوصيات:

- إتباع الطرق والأساليب الصحيحة في عملية حفظ ونقل سمك التونة، وكذلك عملية العرض لمنتجات الأسماك وفقاً لمعايير السلامة الغذائية.
- احتواء قارب الصيد علي حافظات ثلج للقوارب الصغيرة وثلاجات للجرافات والقوارب الكبيرة ووضع الاسماك فيها مباشراً وذلك لتثبيط النشاط الإنزيمي.
- يجب مراعاة التخزين الجيد والعرض في أماكن مبردة وعدم ابقاء سمك التونة معروضة ليوم كامل.
- يجب شراء سمك التونة الطازجة.
- الاهتمام بعمليات النظافة وتقليل فترة العرض والتجهيز الأغذية في المصانع وأسواق بيع الأسماك لسلامة المستهلك.

تطبيق برامج السلامة الغذائية وتطبيق المظاهر الصحية الجيدة في أسواق بيع وعرض الأسماك ومصانع تجهيز وحفظ الأسماك

المراجع

- احميده الغراري الزقطاط؛. هاجر عئسمر التومي (2023). تأثير عمليات العرض والتسويق والتصنيع على تركيز الهيستامين في بعض أنواع الأسماك. مجلة جامعة سبها للعلوم البحتة والتطبيقية..**VOL.22 NO. 1**

- الطائي منير عبود جاسم. (1987). تكنولوجيا اللحوم والأسماك، مطبعة جامعة البصرة.

- شوكت محمد فتحى عبد اللطيف.؛ الديب مهنى حمودة.؛ أحمد عبد الله الضبيب. (2008). كتاب صحة الاسماك، الفصل الثالث.2008.

-عبد الحميد محمد عبد الحميد (1998). مختصر الكلام في أضرار الطعام. أستاذ بكلية الزراعة جامعة المنصورة ص18-60.

-عدنان الشقير. (1998). نبذة عن بعض السموم الطبيعية في المواد الغذائية "سموم الحيوانات البحرية والفطريات". مجلة جامعة بيت لحم عدد 17 الضفة الغربية فلسطين.

-فهد بن محمد الحساس. (2011). مبادئ سلامة الأغذية، ص 75.

- Amani H, Kamani MH, Safari O, Vakilchap F, et al. (2018). A Comparative study on Histamine levels of refrigerated Trout fillets using competitive ELISAand HPLC method. J Food Chem & Nanotech 2018; 4: 33-37.

- Björnsdóttir-Butler, K; Green, D.P. (2010). Detection Of Histamine-Producing Bacteria in Fish. global aquaculture advocate.1 (1) 1-10.

- Burns F.D. (1985). Tuna Handling and Refrigeration on Purse Seiners U.S., 1985.

- Codex Alimentarius. 2018. Standard for canned tuna and bonito. Codex Standard 70-1981.

- Ekici K., Omer A.K. (2020). Biogenic amines formation and their importance in fermented foods, BIO Web Conf. 17 (Feb. 2020), 00232.

-Emborg, J.; Dalgaard, P.A.W. (2006). Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: An investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. J. Food Prot. 2006, 69, 897–906…

-Fernandez-Salguero; Mackie. (1979). Histidine metabolism in mackerel *(Scomber scombms).* Studies on histidine decarboxylase activity and histamine formation during storage of flesh and liver under sterile and non-sterile conditions. 1. Food Technol. 14:131-139.

-Flick, G.J.; Oria, M.P.; Douglas, L. (2001). Potential hazards in cold-smoked fish: Biogenic amines. J. Food Sci. 2001, 66, S1088-S1099.

-Geiger. E. (1944). Histamine content of unprocessed and canned fish. A tentative method for quantitative determination of spoilage.Food Res. 9:293-297.

-Geiger. E. (1948). On the mechanism of histamine formation. Arch. Biochem. 17:391-395.

-Hardy. R.; G. M. Smith. (1976). The storage of mackerel (Scomber scombrusl. Development of histamine and rancidity. J. Sci. Food Agric. 27:595 599.

-Hilmer, Frank, D. Yoshinaga, W. Nip. (2008). Histamine Formation and Honeycombing During Decomposition of Skipjack Tuna, Katsuwonus pelamis, at Elevated Temperatures. Environmental Science, Biology. October 1981, 4(10).

-Huss, H. H. 1988. *Fresh fish, quality and quality changes* (FAO Fisheries Series No. 29). Rome: FAO.

- Kim, S. H.; An, H.; Wei, C. I.; Visessanguan, W.; Benjakul, S.; Morrissey, M.T.; Su, Y. C; Pitta, T.P. (2003). Molecular detection of a histamine former, Morganella morganii, in Albacore, Mackerel, Sardine, and a processing plant. J. of Food Sci., 68 (2):453-457.

-Lehane, L.; Olley, J. (2000). Histamine fish poisoning revisited. Int. J. Food Microbiol. 2000, 58, 1-37.

-Love, R. M. 1980. Biological factors affecting processing and utilization. In J. J. Connel (Ed.), *Advances in fish science and technology*. Farnham: Fishing New Books.

-Mohan, C.O.; Remya, S.; Ravishankar, C.N.; Vijayan, P.K.; Gopal, T.K.S. (2013). Effect of filling ingredient on the quality of canned yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, *49*, 1557-1564.

-Nikheel, R.; Asif, P. 2013. Biochemical and sensory quality changes of fish cutlets, made from Pangasius fish (Pangasianodon hypophthalmus), during storage in refrigerated display unit at −15 to −18°C. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences. 3, 1-8.

- Rossano R., Mastrangelo L., Ungaro N., Riccio P. (2006). Influence of storage temperature and freezing time on histamine level in the European anchovy Engraulis encrasicholus (L., 1758): a study by capillary electrophoresis, J. Chromatogr. B 830 (1) (Jan. 2006) 161-164.

-Sadeghi E, Salati AP, Bohlouli S, et al. (2015). Histamine content of marine fillet fish in Kermanshah. Int J. Agri & Crop Sci 2015; 8: 1-4.

-Shewan, J. M. 1977. The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish (pp. 51–66). Tropical Products Institute, London.

141.

- Visciano P., Schirone M., Tofalo R., Suzzi, G..(2014). Histamine poisoning and control measures in fish and fishery products, Front. Microbiol. 5 (Sep. 2014).

-Visciano P., Schirone M., Paparella A. (2020). An overview of histamine and other biogenic amines in fish and fish products, Foods 9 (12) (Dec. 2020) 1795.

-Yan Ramona, Adnorita Fandah Oktariani, I Made Agus Gelgel Wirasuta, Ni Made Teriyani, Dipayan Sarkar, Kalidas Shetty. (2023). Suppression of histamine formation in processed tuna fish using probiotic (Lactiplantibacillus plantarum BY-45) approach. NFS Journal. Volume 31, June 2023, Pages 133--Zaman, M.Z.; Bakar, F.A.; Selamat, J.; Bakar, J. (2010). Occurrence of biogenic amines and amines degrading bacteria in fish sauce. Czech J. Food Sci. 2010, 28, 440–449.64.