

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 11047:2015

Xuất bản lần 1

**THỦY SẢN VÀ SẢN PHẨM THỦY SẢN -
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG HISTAMIN -
PHƯƠNG PHÁP ĐO HUỖNH QUANG**

*Fish and fishery products -
Determination of histamine content - Fluorometric method*

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 11047:2015 được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 977.13 *Histamine in seafood Fluorometric method* (Revised 2012);

TCVN 11047:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F11 *Thủy sản và sản phẩm thủy sản* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Xác định hàm lượng histamin - Phương pháp đo huỳnh quang

Fish and fishery products - Determination of histamine content - Fluorometric method

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng hoặc các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đo huỳnh quang để xác định hàm lượng histamin trong thủy sản và sản phẩm thủy sản.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 5276, *Thủy sản – Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu*

3 Nguyên tắc

Mẫu được chiết bằng metanol 75 % (thể tích). Cho dịch chiết đi qua cột trao đổi ion. Bổ sung dung dịch o-phthaldialdehyd (OPT) vào dịch rửa giải nhằm tạo dẫn xuất huỳnh quang với histamin. Cường độ huỳnh quang của các dẫn xuất được đo bằng máy đo huỳnh quang và hàm lượng histamin được định lượng, sử dụng chất ngoại chuẩn.

4 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có quy định khác.

4.1 Metanol, 75 % (thể tích).

Cho 75 ml metanol (được cất bằng dụng cụ thủy tinh) vào bình định mức 100 ml. Thêm nước đến vạch. Vừa thêm nước vừa xoay bình để trộn.

4.2 Dung dịch natri hydroxit (NaOH), 1,00 M và 2,0 M.

4.3 Dung dịch axit clohydric (HCl), 0,1 M và 1,00 M.

4.4 Dung dịch axit phosphoric (H₃PO₄), 1,19 M

Pha loãng 73,33 ml axit phosphoric 85 % khối lượng (15 M) với nước để có 1 000 ml.

Đối với axit phosphoric ở các nồng độ khác, thể tích dung dịch axit phosphoric cần để có 1 lít axit phosphoric 1,19 M, *V*, được tính theo Công thức 1:

$$V = \frac{17493}{d \times c} \quad (1)$$

Trong đó:

d là tỉ trọng của dung dịch axit phosphoric, tính bằng gam trên mililit (g/ml);

c là nồng độ của dung dịch axit phosphoric, tính bằng phần trăm khối lượng.

Kiểm tra nồng độ dung dịch axit phosphoric đã chuẩn bị bằng cách chuẩn độ 5,00 ml dung dịch này với dung dịch natri hydroxit 1,00 M (4.2), sử dụng chất chỉ thị phenolphthalein và chỉnh nồng độ, nếu cần.

4.5 Dung dịch o-phthaldialdehyd (OPT), 0,1 % (khối lượng/thể tích)

Hòa tan 100 mg o-phthaldialdehyd trong 100 ml metanol (4.1).

Dung dịch o-phthaldialdehyd được sử dụng trong một tuần khi bảo quản lạnh trong chai sẫm màu để trong tủ lạnh.

4.6 Các dung dịch chuẩn histamin

4.6.1 Dung dịch chuẩn gốc histamin, 1 mg/ml

Hòa tan khoảng 169,1 mg histamin-2HCl (98 %) cho vào bình định mức 100 ml, thêm dung dịch axit clohydric 0,1 M (4.3) đến 100 ml.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc histamin và bảo quản lạnh để sử dụng trong một tuần.

4.6.2 Dung dịch chuẩn trung gian histamin, 10 µg/ml

Dùng pipet lấy 1 ml dung dịch chuẩn gốc histamin (4.6.1), cho vào bình định mức 100 ml và thêm dung dịch axit clohydric (4.3) đến vạch.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn trung gian histamin và bảo quản lạnh để sử dụng trong một tuần.

4.6.3 Các dung dịch chuẩn làm việc histamin, 0,5 µg/5 ml; 1,0 µg/5 ml và 1,5 µg/5 ml

Dùng pipet lấy 1 ml, 2 ml và 3 ml dung dịch chuẩn trung gian (4.6.2) và cho vào các bình định mức 100 ml riêng rẽ, thêm dung dịch axit clohydric 0,1 M (4.3) đến vạch.

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc histamin và bảo quản lạnh để sử dụng trong ngày.

4.7 Nhựa trao đổi ion, ví dụ Bio-Rad AG 1-X8 hoặc Dowex 1-X8, cỡ hạt từ 50 mesh đến 100 mesh.

Bổ sung khoảng 15 ml dung dịch natri hydroxit 2 M (4.2) cho 1 g nhựa đựng trong cốc có mỏ để chuyển về dạng OH⁻. Trộn đều hỗn hợp, để yên không quá 30 min rồi gạn bỏ phần chất lỏng và lặp lại việc bổ sung natri hydroxit. Rửa kỹ nhựa bằng nước. Đổ sang giấy lọc gấp nếp và rửa lại bằng nước. Chuẩn bị nhựa trao đổi ion trong tuần làm việc và bảo quản trong nước.

4.8 Dung dịch natri clorua (NaCl), bão hoà.

5 Thiết bị, dụng cụ

CHÚ Ý – Trước khi sử dụng, tráng rửa tất cả các vật chứa bằng chất dẻo và bằng thủy tinh với dung dịch axit clohydric (chuẩn bị từ axit clohydric đặc và nước theo tỉ lệ thể tích 1 : 3) và với nước.

5.1 Máy xay phòng thử nghiệm.

5.2 Máy trộn tốc độ cao.

5.3 Sàng, số 8 đến số 12.

5.4 Dụng cụ làm ráo nước.

Đĩa hoặc khay bằng kim loại, đáy phẳng, mỗi cạnh dài 5 cm, diện tích bề mặt đĩa tính theo lượng thủy sản đưa vào để làm ráo không nhỏ hơn 500 cm²/l, có đặt các lỗ có đường kính 0,6 cm, khoảng cách giữa các lỗ là 3,2 cm hoặc các lỗ có diện tích và sự phân bố tương đương.

5.5 Bình nón, bằng thủy tinh hoặc bằng polypropylen, dung tích 50 ml.

5.6 Bình định mức, bằng thủy tinh, loại dung tích 100 ml có nắp đậy kín và loại 50 ml.

5.7 Pipet, dung tích 1 ml và 5 ml.

TCVN 11047:2015

5.8 Máy đo huỳnh quang, có bước sóng kích thích 350 nm và bước sóng phát xạ 444 nm.

5.9 Nồi cách thủy, có thể duy trì ở 65 °C.

5.10 Giấy lọc gấp nếp.

5.11 Cột sắc ký, bằng polypropylen, chiều dài 200 mm x đường kính trong 7 mm, được gắn với nắp nhỏ bằng chất dẻo và ống teflon khoảng 45 cm, hoặc loại tương đương, có thể kiểm soát được tốc độ dòng chảy qua lớn hơn 3 ml/min.

5.12 Cốc có mở, dung tích 10 ml.

5.13 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

6 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện. Mẫu không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không được quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 5276.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị mẫu thử

7.1.1 Yêu cầu chung

Để tránh bị mất nước trong quá trình chuẩn bị và xử lý mẫu tiếp theo, nên sử dụng phần mẫu thử lớn. Giữ mẫu đã nghiền trong bình đậy kín khí. Tiến hành tất cả các phép xác định càng nhanh càng tốt. Nếu tiến hành chậm, nên làm lạnh phần mẫu thử để hạn chế sự phân hủy.

Thông thường, khi chuẩn bị mẫu cá, lấy phần da và loại bỏ xương, nhưng về nguyên tắc là giữ lại toàn bộ những phần có thể ăn được, ví dụ, loại bỏ phần da cá trê không ăn được, giữ lại xương cá hồi đóng hộp đã được làm mềm và cá trích được lấy nguyên con.

Cấp đông mẫu thử đã nghiền để bảo quản, nếu cần.

7.1.2 Cá tươi

Cá được làm sạch, đánh vảy và bỏ ruột.

Đối với cá có chiều dài nhỏ hơn hoặc bằng 15 cm, sử dụng từ 5 con đến 10 con.

Đối với cá cỡ trung bình, bỏ đầu, vây, đuôi, vây, ruột và phần xương không ăn được, lọc philê để lấy toàn bộ phần thịt và da từ đầu đến đuôi.

Đối với cá lớn, lấy tối thiểu 3 con, mỗi con lấy 3 lát cắt ngang, mỗi lát dày 2,5 cm, một lát lấy ở ngay vây ngực, một lát lấy ở khoảng giữa từ lát cắt đầu tiên đến hậu môn và một lát ở ngay hậu môn. Loại bỏ xương.

Dùng máy xay phòng thử nghiệm (5.1) xay nhanh phần mẫu thử 3 lần. Sau mỗi lần, loại bỏ phần mẫu không nghiền được nhờ từ máy xay và trộn kỹ mẫu. Máy xay phải có các lỗ sàng nhỏ càng tốt (đường kính từ 1,5 mm đến 3 mm) và không được rò rỉ ở xung quanh đầu tay cầm.

Đối với cá mềm, thay vì xay, có thể sử dụng máy trộn tốc độ cao (5.2). Trộn mẫu trong vài phút, dùng máy trộn thường xuyên để tạo sạch mẫu ở thành bình chứa.

7.1.3 Sản phẩm thủy sản đóng hộp

Cho toàn bộ mẫu đựng trong hộp vào máy trộn (5.2) và trộn cho đến khi đồng nhất hoặc xay 3 lần qua máy xay (5.1).

Đối với các hộp lớn, làm ráo trên sàng số 8 đến sàng số 12 (5.3) khoảng 2 min và thu lấy tất cả dịch lỏng. Xác định khối lượng của phần thịt và thể tích của dịch lỏng. Trộn phần mẫu thử (với tỉ lệ tương ứng của phần thịt và phần dịch lỏng) trong máy trộn (5.2) hoặc máy xay (5.1) cho đến khi đồng nhất.

7.1.4 Sản phẩm thủy sản đóng hộp ngâm trong dầu

Làm ráo mẫu trên sàng số 8 (5.3) trong khoảng 2 min. Chuẩn bị phần mẫu thử theo 7.1.3. Dịch lỏng có thể được phân tích riêng, nếu cần, hoặc gộp với phần cái của mẫu thử dạng rắn để phân tích.

7.1.5 Cá ướp muối hoặc cá ngâm trong nước muối

Làm ráo mẫu, loại bỏ nước muối và tráng sạch các tinh thể muối bám dính bằng dung dịch natri clorua (NaCl) bão hòa (4.8). Làm ráo lại mẫu trong 2 min và tiến hành như 7.1.2.

7.1.6 Cá muối khô hoặc cá xông khói khô, tiến hành như 7.1.2.

7.1.7 Cá đông lạnh

Rã đông cá ở nhiệt độ phòng và làm ráo nước.

Đối với cá philê đông lạnh, dùng toàn bộ thân thịt.

Đối với cá nguyên con đông lạnh, tiến hành như 7.1.2.

TCVN 11047:2015

7.1.8 Động vật có vỏ khác với hào, trai và sò

Nếu mẫu thử còn vỏ thì rửa sạch như 7.1.9 và tách phần ăn được theo cách thông thường. Chuẩn bị phần mẫu ăn được dùng để phân tích như 7.1.2.

7.1.9 Hào, trai và sò còn vỏ

Rửa sạch vỏ hào, trai và sò bằng nước để loại bỏ tất cả bùn và chất bẩn, sau đó để ráo nước. Tách vỏ hào hoặc sò, cho phần thịt vào vật chứa khô, sạch có dung tích nhỏ nhất 500 ml. Chuyển từng miếng thịt vào dụng cụ làm ráo nước (5.4), thực hiện tách nước trong 2 min sau đó tiến hành như trong 7.1.10 hoặc 7.1.11.

7.1.10 Trai và sò đã tách vỏ, chuẩn bị như 7.1.3.

7.1.11 Hào đã tách vỏ

Trộn thịt cùng với dịch lỏng từ 1 min đến 2 min trong máy trộn tốc độ cao (5.2).

7.1.12 Cá tẩm bột mì, dạng nguyên liệu hoặc đã nấu chín

Tiến hành như 7.1.2, lấy cả phần bột mì và da cá.

7.2 Dụng cụ chuẩn

Dùng pipet (5.7) lấy hai phần dung dịch chuẩn làm việc histamin (4.6.3), mỗi phần 5 ml cho vào các bình nón (5.5) riêng rẽ. Lấy tiếp 10 ml dung dịch axit clohydric 0,1 M (4.3) cho vào mỗi bình và trộn đều. Sau đó lấy tiếp 3 ml dung dịch natri hydroxit 1,00 M (4.2) cho vào mỗi bình và trộn đều. Trong vòng 5 min, lấy 1 ml dung dịch o-phthalaldehyd (4.5) vào mỗi bình và trộn ngay. Sau đúng 4 min, dùng pipet thêm 3 ml dung dịch axit phosphoric 1,19 M (4.4) vào mỗi bình và trộn đều ngay. Cần trộn kỹ dung dịch sau mỗi lần thêm thuốc thử và ít nhất một lần trong quá trình tạo phản ứng với dung dịch o-phthalaldehyd.

Chuẩn bị mẫu trắng, dùng 5 ml dung dịch axit clohydric 0,1 M (4.3) thay cho dung dịch chuẩn histamin.

Trong vòng 1,5 h, ghi lại cường độ huỳnh quang (I) của dung dịch chuẩn làm việc histamin so với nước trong cuvet so sánh, sử dụng máy đo huỳnh quang có bước sóng kích thích 350 nm và bước sóng phát xạ 444 nm. Dụng cụ thị của cường độ huỳnh quang (đã được hiệu chỉnh đối với mẫu trắng) theo số microgam histamin trong 5 ml dung dịch chuẩn làm việc histamin. Đường chuẩn phải là đường thẳng đi qua gốc tọa độ.

7.3 Chiết mẫu

Chiết mẫu đã được chuẩn bị (xem 7.1) bằng metanol 75 % (4.1) như sau. Chuyển 10 g mẫu thử đã chuẩn bị vào bình bán vi lượng (semimicro container) của máy nghiền (5.2), thêm khoảng 50 ml metanol (4.1), trộn đều trong khoảng 2 min. Chuyển hỗn hợp vào bình định mức bằng thủy tinh dung

tích 100 ml (5.6), tráng nắp và bình bán vi lượng bằng metanol (4.1), cho nước tráng vào bình định mức. Đun trong nồi cách thủy (5.9) đến khoảng 60 °C (5.9) và giữ ở nhiệt độ này trong 15 min. Để nguội đến 25 °C, thêm metanol (4.1) đến vạch rồi lọc qua giấy lọc gấp nếp (5.10). Dịch chiết mẫu có thể bền được vài tuần khi được bảo quản trong tủ lạnh.

7.4 Xác định

Cho 4 ml đến 5 ml nước chảy qua cột (5.11) và loại bỏ dịch rửa giải này (khi đó, có thể bỏ qua phần kết tủa tách riêng khi bảo quản).

Dùng pipet (5.7) lấy 1 ml dịch chiết mẫu (7.3) cho lên cột và thêm từ 4 ml đến 5 ml nước. Chuyển ngay dịch rửa giải vào bình định mức 50 ml (5.6) có chứa 5,00 ml dung dịch axit clohydric 1,00 M (4.3). Khi mức chất lỏng cao hơn lớp nhựa (resin) khoảng 2 mm thì thêm khoảng 5 ml nước và rửa giải cột. Tiếp tục thêm nước cho đến khi thu được khoảng 35 ml dịch rửa giải. Khóa cột rồi thêm nước đến vạch và trộn đều. Bảo quản dịch rửa giải trong tủ lạnh.

Dùng pipet (5.7) lấy 5 ml dịch rửa giải cho vào bình nón 50 ml (5.5) và bổ sung 10 ml dung dịch axit clohydric 0,1 M (4.3). Thêm 3 ml dung dịch natri hydroxit 1,00 M (4.2) cho vào bình nón và trộn đều. Trong vòng 5 min, lấy 1 ml dung dịch o-phthalaldehyd (4.5) vào bình và trộn ngay. Sau đúng 4 min, dùng pipet thêm 3 ml dung dịch axit phosphoric 1,19 M (4.4) vào bình và trộn đều ngay. Trộn kỹ dung dịch sau mỗi lần thêm thuốc thử và ít nhất một lần trong quá trình tạo phản ứng với dung dịch o-phthalaldehyd.

Nếu mẫu thử dự kiến chứa histamin lớn hơn 15 mg/100 g thì dùng pipet (5.7) lấy 1 ml dung dịch mẫu thử chứa o-phthalaldehyd cho vào cốc có mỏ 10 ml (5.12) chứa chính xác 2 ml hỗn hợp mẫu trắng chứa o-phthalaldehyd. Trộn kỹ. Đọc cường độ huỳnh quang của dung dịch thu được.

CHÚ THÍCH: Việc pha loãng và trộn các phần dung dịch mẫu thử bằng hỗn hợp mẫu trắng chứa o-phthalaldehyd nhằm thu được số đọc có thể đo được (trong dải tuyến tính).

Tỷ lệ phần thể tích giữa dung dịch mẫu thử và hỗn hợp mẫu trắng như trên cho biết độ pha loãng đúng của dung dịch mẫu thử trước phản ứng o-phthalaldehyd thứ hai để định lượng chính xác dung dịch thử. Cũng có thể dựa vào dải độ nhạy của máy đo huỳnh quang (nếu thiết bị có bộ phận này) để ước tính độ pha loãng. Sử dụng các tỷ lệ nêu trên để chuẩn bị độ pha loãng thích hợp của dung dịch mẫu thử bằng dung dịch axit clohydric 0,1 M. Thêm 3 ml dung dịch natri hydroxit 1,00 M (4.2) cho vào cốc và trộn đều. Sau khoảng 5 min, lấy 1 ml dung dịch o-phthalaldehyd (4.5) vào cốc và trộn ngay. Sau đúng 4 min, dùng pipet thêm 3 ml dung dịch axit phosphoric 1,19 M (4.4) vào cốc và trộn đều ngay. Đọc cường độ huỳnh quang của dung dịch mẫu thử và hiệu chỉnh đối với mẫu trắng.

Nếu đường chuẩn không tuyến tính, dùng đường chuẩn đó để xác định trực tiếp hàm lượng histamin có trong mẫu thử từ cường độ huỳnh quang đo được. Khi đó, trục hoành (nồng độ histamin trong dung dịch thử) cần chia vạch $\leq 0,1 \mu\text{g}/5 \text{ ml}$. Đọc tất cả các giá trị từ đường chuẩn chính xác đến $0,05 \mu\text{g}$ histamin trong 5 ml dung dịch thử.

8 Tính kết quả

a) Trường hợp đường chuẩn là tuyến tính

Hàm lượng histamin có trong mẫu thử, X , biểu thị bằng miligam trên 100 g (mg/100 g), được tính bằng Công thức (1):

$$X = 10 \times F \times \frac{1}{m} \times I_s \quad (1)$$

Hàm lượng histamin có trong mẫu thử, X , biểu thị bằng microgam trên gam ($\mu\text{g/g}$), được tính bằng Công thức (2):

$$X = 100 \times F \times \frac{1}{m} \times I_s \quad (2)$$

Trong đó:

I_s là cường độ huỳnh quang dung dịch mẫu thử;

F là hệ số pha loãng, trong trường hợp mẫu thử dự kiến chứa histamin lớn hơn 15 mg/100 g, được tính theo Công thức (3):

$$F = \frac{V_1 + V_2}{V_1} \quad (3)$$

Trong đó:

V_1 là thể tích dung dịch mẫu thử (dịch rửa giải) thu được, tính bằng mililit (ml);

V_2 là thể tích dung dịch axit clohydric đã sử dụng, tính bằng mililit (ml).

($F = 1$ đối với dịch rửa giải chưa pha loãng).

m là độ dốc của đường chuẩn (7.2), được tính theo Công thức (4):

$$m = \frac{\frac{I_a}{1,5} + I_b + 2I_c}{3} \quad (4)$$

Trong đó:

I_a , I_b và I_c là cường độ huỳnh quang của dung dịch chuẩn làm việc histamin với nồng độ tương ứng là 0,5 $\mu\text{g/5 ml}$; 1,0 $\mu\text{g/5 ml}$ và 1,5 $\mu\text{g/5 ml}$.

b) Trường hợp đường chuẩn không tuyến tính

Trong trường hợp này, hàm lượng histamin có trong mẫu thử được tính trực tiếp từ đường chuẩn theo cường độ huỳnh quang đo được.

Hàm lượng histamin có trong mẫu thử, X , biểu thị bằng miligam trên 100 g (mg/100 g), được tính bằng Công thức (5):

$$X = 10 \times F \times W \quad (5)$$

Hàm lượng histamin có trong mẫu thử, X , biểu thị bằng microgam trên gam ($\mu\text{g/g}$), được tính bằng Công thức (6):

$$X = 100 \times F \times W \quad (6)$$

Trong đó

F là hệ số pha loãng, được tính theo Công thức (3);

W là số microgam histamin trong 5 ml dung dịch thử được xác định từ đường chuẩn.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm

Bảng A.1 – Các kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm để xác định histamin trong cá ngừ bằng phương pháp đo huỳnh quang (dựa vào các kết quả nghiên cứu cộng tác từ phương pháp ban đầu)

Mẫu thử ^a	Hàm lượng histamin ^b , mg/100 g	Hàm lượng histamin trung bình thu được, mg/100 g	Độ lệch chuẩn lặp lại (s _r)	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại (RSD _r), %	Độ lệch chuẩn tái lập (s _R)	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập (RSD _R), %	Giá trị HorRat
Cá ngừ vẫn trong môi trường nước	1	1,4	0,643	46,9	1,009	73,6	-
Cá ngừ vẫn bổ sung histamin, 25 mg /100 g mẫu thử	26	25,8	0,950	3,7	1,383	5,4	0,54
Cá ngừ vây dài đã phân hủy, trong môi trường nước	30	31,6	2,053	6,5	3,473	11,0	0,97
Cá ngừ vây vàng đã phân hủy, trong môi trường nước	20	19,8	0,941	4,7	1,729	8,7	0,65
Cá ngừ vẫn ngâm dầu đã phân hủy	120	125,6	6,432	5,1	8,807	7,0	0,94
Cá ngừ vây vàng ngâm dầu đã phân hủy	200	198,8	4,801	2,4	10,6555	5,4	0,47
CHÚ THÍCH:							
^a Hai mẫu mù.							
^b thành phần xấp xỉ.							

Bảng A.2 – Các kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm để xác định histamin trong cá ngừ đóng hộp và cá mahimahi bằng phương pháp đo huỳnh quang [phương pháp cải tiến, sử dụng metanol 75 % (thể tích)]^a

Mẫu thử	Giá trị trung bình, $\mu\text{g/g}$	Độ lệch chuẩn lặp lại (s_r)	Độ lệch chuẩn tái lập (S_R)	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại (RSD_r), %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập (RSD_R), %	Giới hạn lặp lại (r) [$2,8 \times s_r$]	Giới hạn tái lập (R) [$s_R \times 2,8$]	Giá trị Horat
1	9,896	0,884	0,915	9,01	9,32	2,475	2,562	0,83
2	13,0	1,710	1,710	13,17	13,17	4,788	4,788	1,22
3	5,627	1,205	1,295	21,42	23,03	3,374	3,626	-1,88
4	7,831	1,084	1,084	13,84	13,84	3,035	3,035	1,19
5	20,28	1,140	2,077	5,62	10,24	3,192	5,816	1,01
6	58,02	2,111	5,466	3,64	9,42	5,911	15,305	1,09
7	158,4	6,575	14,0,50	4,15	8,87	18,410	39,340	1,19

CHÚ THÍCH:

^a Dựa vào các kết quả nhận được từ 16 phòng thử nghiệm.

**Bảng A.3 – Độ thu hồi của histamin được bổ sung vào cá ngừ đóng hộp
[phương pháp cải tiến, sử dụng metanol 75 % (thể tích)]^a**

Phòng thử nghiệm ^b	Hàm lượng histamin trong nền mẫu, µg/g	Hàm lượng histamin xác định được, µg/g	Hàm lượng histamin thu hồi được, µg/g	Độ thu hồi, %
A	10,00	69,00	59,00	117,65
		66,00	56,00	111,67
B	9,85	63,30	53,45	104,39
		62,20	52,35	114,36
C	9,65	67,00	57,35	114,36
		72,40	62,75	125,12
D	8,95	55,00	46,00	91,82
		58,10	49,15	98,01
E	9,50	58,40	48,90	97,51
		55,10	45,60	90,93
F	9,65	58,10	48,45	96,61
		51,80	42,15	84,05
G	11,55	61,40	49,85	99,40
		57,80	46,25	92,22
H	9,20	54,10	44,90	89,53
		54,10	44,90	89,53
J	9,30	55,60	46,30	92,32
		56,10	46,80	93,32
K	10,25	53,00	42,75	85,24
		53,00	42,75	85,24
N	10,10	54,30	44,20	88,14
		54,30	44,20	88,14
O	10,00	59,00	49,00	97,71
		59,00	49,00	97,71
P	10,70	53,30	42,60	84,95
		53,30	42,60	84,95
Độ thu hồi trung bình, %				96,41
CHÚ THÍCH:				
^a Được bổ sung histamin với hàm lượng 50,15 µg/g.				
^b Dữ liệu từ các phòng thử nghiệm I, L và M bị loại trừ vì các kết quả đối với nền hoặc mẫu thêm chuẩn là ngoại lệ.				

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] AOAC 937.07 (Final Action 1996) *Fish and Marine Products. Treatment and Preparation of Sample*
 - [2] AOAC 954.04 *Histamine in Seafood. Biological Method*
 - [3] AOAC 957.07 *Histamine in Seafood. Chemical Method*
 - [4] TCVN 3703:2009 *Thủy sản và sản phẩm thủy sản – Xác định hàm lượng chất béo*
-