

## بررسی میزان هیستامین در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان (اونکورینچوس مایکیس) خریداری شده از مراکز فروش ماهی در تهران

زهرة مشاک<sup>1\*</sup>، بیژن مرادی<sup>2</sup>، بهروز مرادی<sup>3</sup>

1- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

2- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران.

3- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات: [mashak@kia.ac.ir](mailto:mashak@kia.ac.ir)

(دریافت مقاله 90/1/30 پذیرش نهایی: 90/5/31)

### چکیده

هیستیدین یکی از مشتقات ازت دار غیر پروتئینی موجود در ماهی و سایر فرآورده‌های دریایی می‌باشد که میزان آن در انواع ماهیان از جمله خانواده سالمونیده (که ماهی قزل‌آلا نیز از این دسته می‌باشد) به نسبت سایر فرآورده‌های غذایی بالا می‌باشد. برخی از باکتری‌ها که فلور طبیعی این محصول می‌باشند از طریق دکربوکسیلاسیون آنزیمی خود هیستیدین را تبدیل به هیستامین می‌نمایند. مسمومیت حاصله از هیستامین برای انسان مخاطره‌آمیز می‌باشد. اندازه‌گیری میزان هیستامین با روشی سریع و دقیق می‌تواند در کاهش این خطرات مفید باشد. هدف این مقاله تعیین شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل و تعیین میزان هیستامین ماهی‌های قزل‌آلای عرضه شده در مراکز فروش ماهی در تهران با استفاده از روش الیزا می‌باشد. لذا 60 نمونه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (اونکورینچوس مایکیس) از 10 مرکز فروش ماهی در تهران خریداری شد و با استفاده از کیت الیزای ریدا اسکرین میزان هیستامین در آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین پس از رقت‌سازی از نمونه‌های حاصله در محیط آگار مغذی در دو دمای 25 و 35 درجه سلسیوس به صورت سطحی کشت داده شد. میزان هیستامین در نمونه‌ها بین 4 تا 28 mg/100g با میانگین 14/18 mg/100g بود. از این میان 12/50 درصد نمونه‌ها دارای میزان هیستامین بالاتر از حد مجاز بین‌المللی بودند (20mg/100g). بر اساس نتایج حاصل از آزمون همبستگی دو طرفه پیرسون مشاهده شد که رابطه مستقیمی بین میزان هیستامین و تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های ماهی برقرار است ( $p < 0/01$ ). تفاوت‌های موجود در میزان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز باکتریایی که در انواع ماهیان مشاهده می‌شود، می‌تواند با نوع غذایی دریایی، تنوع گونه‌های ماهیان، درجه حرارت و زمان نگهداری در ارتباط باشد. لذا اعمال مراقبت‌های خوب بهداشتی در طی مراحل مختلف پرورش، صید، انتقال و نگهداری در کاهش میزان رشد باکتری‌ها و متعاقب آن تولید هیستامین موثر می‌باشد و مخاطرات ناشی از مسمومیت‌های هیستامینی را بدین وسیله می‌توان به حداقل رسانید.

واژه‌های کلیدی: هیستامین، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، الیزا

**مقدمه**

ماهی و فراورده‌های آن به دلیل ظرفیت‌های مفید آن در بهبود سلامت انسان یکی از مطلوب‌ترین و مغذی‌ترین مواد غذایی است که در این میان مصرف ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) به‌عنوان مهم‌ترین ماهی پرورشی سردابی، به دلیل محتوای بالای پروتئین، اسید چرب امگا 3 و ویتامین D به طور خاصی در سال‌های اخیر افزایش یافته است (Stommel and Watters, 2006; National Institutes of Health, 2007).

همگام با بالا رفتن مصرف آبیان خصوصاً با فراوری‌های مختلف، شیوع بیماری‌های غذازاد از نقاط مختلف جهان نیز گزارش گردیده است. از جمله رشد و تکثیر میکروارگانسیم‌های موجود بر روی اغذیه دریایی که مسبب مسمومیت هیستامینی می‌گردد از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد که مشکلات جدی در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان از جمله کشور ایران به وجود آورده است (Hoseini, 2005; Kamkar et al., 2002; Marouni, 1999; Arnold and Sumner, 1978; Etkind et al., 1987; Kawabata et al., 1953; Laurent et al., 1995; U.S. FDA/CFSAN Hazard; U.S. FDA/CFSAN prime; Staruszkiewicz and Rogers, 2001).

این مسمومیت در اثر خوردن مواد غذایی حاوی مقادیر زیاد هیستامین ایجاد می‌شود. مطالعات نشان داده که ماهیان خانواده اسکمبروئید و اسکمبروسوسید عمدتاً در شیوع موارد مسمومیت‌های هیستامینی دخالت دارند (Oduzhani and Angip, 2005; Taylor and Speckhard, 1983; U.S. Food and Drug Administration, 2008; Lopez Sabater et al., 1996; Yoshinaga and Frank, 1982; Smith, et al., 1993). به همین دلیل مسمومیت هیستامینی را مسمومیت اسکمبروئیدی نیز می‌نامند که

می‌تواند باعث بروز واکنش‌های حساسیتی در فرد مسموم گردد (Patange, et al., 2005). هیستامین عمدتاً توسط یک دسته از باکتری‌ها که حاوی آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز هستند تولید می‌شود. در ماهیانی که میزان هیستیدین (یکی از مشتقات ازت‌دار غیرپروتئینی) در عضلاتشان بالا است (مانند خانواده تن ماهیان و آزادماهیان)، این ماده تحت تأثیر آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز برخی باکتری‌ها که فلور طبیعی این گونه ماهی‌ها می‌باشند (از قبیل هافنیا، موراکسلا و ...)، به هیستامین تبدیل می‌گردد. مهم‌ترین باکتری‌های حاوی آنزیم‌های دکربوکسیله کننده هیستیدین و ایجاد هیستامین متعلق به خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که به‌طور طبیعی در آبشش‌ها و دستگاه گوارش ماهی زنده، زندگی می‌کنند. هیستامین تولید شده نیز با حرارت پخت، تخریب نمی‌گردد (Patange et al., 2005) و پس از مصرف افراد را به مسمومیت هیستامینی دچار می‌سازد. ایجاد هیستامین و افزایش آن در ماهیان به عواملی نظیر نوع ماهی، میزان هیستیدین موجود در عضلات آنها، تفاوت‌های گونه‌ای، شرایط و درجه حرارت نگهداری ماهیان پس از صید بستگی دارد. لذا می‌تواند به‌عنوان یک شاخص شیمیایی جهت تشخیص تازگی ماهی‌ها و یا ضعف کیفیت بهداشت در حین صید، نگهداری و فراوری ماهی مورد ارزیابی قرار گیرد.

بر این اساس بررسی میزان آلودگی در مراحل مختلف نگهداری و فراوری ماهی از طریق اندازه‌گیری میزان هیستامین مورد نیاز است (Hwang et al., 2003). چرا که مصرف ماهیان دارای مقادیر بالاتر از حد مجاز هیستامین پس از مدت زمان کوتاهی موجب بروز علائم مسمومیت (نظیر سردرد، سرگیجه، عوارض

با استفاده از روش الایزا- مونوکلونال آنتی-بادی ضروری به نظر می‌رسد تا درصد نمونه‌های حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز مشخص شود.

### مواد و روش‌ها

بررسی میزان هیستامین در 60 نمونه ماهی قزل‌آلای خریداری شده از بازارهای تهران طی مراحل زیر صورت پذیرفت.

#### الف- آماده سازی نمونه‌ها

50 گرم از آبشش، پوست و گوشت نواحی مختلف بدن هر نمونه ماهی قزل‌آلا برداشت شده و به آن 50ml آب مقطر اضافه شد و با دستگاه هموژنیزاتور یکنواخت گردید. سپس 1ml از محلول حاصل تحت دمای حرارت اتاق ( $20-25^{\circ}\text{C}$ ) به مدت 5 دقیقه با سرعت 2500rpm سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ میزان  $20\mu\text{l}$  از بخش میانی لوله برداشت شده و در 10ml آب مقطر رقیق گردید (Kuda, et al., 2007).

#### ب- آسیلاسیون

جهت اندازه‌گیری میزان هیستامین در نمونه‌ها از کیت تجاری الایزای رقابتی RIDA SCREEN HISTAMIN (شرکت R-Biofarm) استفاده شد. میزان 100ml از محلول رقیق شده در پلیت مخصوص آسیلاسیون (حاوی 96 چاهک) موجود در کیت ریخته شد و طبق دستورالعمل کیت آزمایش انجام گرفت. بدین منظور بافر شست و شو که به میزان 10 برابر تغلیظ شده بود در دمای اتاق به نسبت 1:10 با آب مقطر رقیق گردید. سپس معرف لیوفیلیزه آسیلاسیون با

جلدی، گوارشی، عصبی، قلبی - عروقی و تنفسی) در فرد مصرف‌کننده می‌شود (Emilio et al., 1996; Etkind et al., 1987; Chen et al., 1995; Taylor and Speckhard, 1983; Onal, 2007; Lopez Sabater, et al., 1996; Subburaj et al., 1982).

هر چند تعیین دقیق آستانه سمیت هیستامینی در انسان به علت متفاوت بودن مکانیسم‌های توکسین‌زدایی افراد مشکل می‌باشد ولی به‌عنوان عاملی مخاطره‌آمیز در جوامع انسانی مطرح می‌باشد (Onal, 2007).

طبق قانون اتحادیه اروپا در صورتی که میزان هیستامین موجود در بافت عضلانی ماهی خام از  $20\text{mg}/100\text{g}$  تجاوز نماید ماهی غیرقابل مصرف اعلام می‌گردد (Hwang et al., 2003).

برای اندازه‌گیری میزان هیستامین در ماهی روش‌های مختلفی وجود دارد. از جمله روش‌های طیف سنجی که شامل کروماتوگرافی لایه نازک TLC، کروماتوگرافی مایع، کروماتوگرافی مایع با قدرت بالا HPLC، کروماتوگرافی گازی GC، کروماتوگرافی تعویض یونی IEC و .. است (Patange et al., 2005). روش‌های دیگر شامل اندازه‌گیری بر اساس حسگر اکسیژنی (برهمکنش بین هیستامین خالص و ترکیبات مس)، روش‌های آنزیمی (دی آمین اکسیداز DAO)، Real Time PCR، برای ژن هیستامین دکربوکسیلاز، فلوروسکپی، الکتروفوروز و روش الایزا بر اساس آنتی-بادی مونوکلونال است که روش اخیر یکی از سریع‌ترین و ارزان‌ترین این روش‌ها به شمار می‌رود و لذا (Kuda et al., 2007; Hwang et al., 2003). بررسی مقدار هیستامین موجود در ماهیان قزل‌آلای عرضه شده در مراکز فروش ماهی در استان تهران

**P** خالی کردن چاهک‌ها و دو بار شست و شو با بافر (250  $\mu$ l)

**P** مجاور کردن با محلول سوبسترای رنگ‌زا (پراکسید اوره و تترا متیل بنزیدین) در دمای اتاق و دور از نور به مدت 15 دقیقه (100 $\mu$ l)

**P** مجاور کردن با محلول متوقف‌کننده واکنش (Stop solution) به مدت 10 دقیقه (100 $\mu$ l)

**P** قرائت جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 450nm در برابر بلانک هوا

#### د- آزمون میکروبی

شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل و شمارش باکتری‌های سایکروفیل از محلول یکنواخت شده نمونه‌های ماهی با تهیه رقت‌های متوالی از آن، با استفاده از محلول پیتون واتر و سپس کشت سطحی بر روی آگار مغذی و نگهداری در دو دمای 25 و 35°C به مدت 3 روز انجام گرفت (Harrigan, 1998).

#### ه- تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری در این مطالعه، داده‌ها با استفاده از برنامه SPSS نسخه 17 تحت سیستم عامل ویندوز انجام شد و شاخص‌های مرکزی و پراکندگی و میزان همبستگی میزان هیستامین و شمارش باکتریایی در 60 نمونه ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

#### یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصل تمامی نمونه‌های مورد مطالعه حاوی هیستامین بودند. میزان هیستامین نمونه‌های مورد مطالعه بین محدوده 4 تا 28mg/100g با

1ml رقیق‌کننده آسیلاسیون مخلوط شد. پس از آن ابتدا محلول استاندارد کنترل و نمونه‌های آماده شده (100 $\mu$ l)، سپس معرف آسیلاسیون (25 $\mu$ l) و در نهایت بافر آسیلاسیون (200 $\mu$ l) به چاهک‌ها اضافه شد و طی 15 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. جهت آزمون الیزا 25 $\mu$ l از محتوی هر چاهک برداشت شد.

#### ج- آزمون الیزا Enzyme Immunoassay

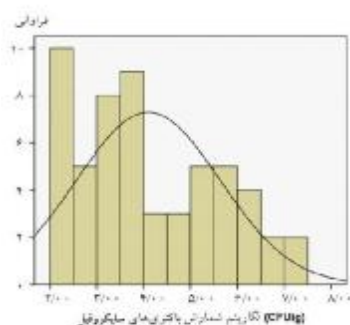
اصول کیت الیزای رقابتی بر اساس رقابت N-استیل هیستامین جداسازی شده از نمونه و هیستامین متصل به چاهک‌های (Micro-Well) پلیت میکروتیتر برای اتصال به آنتی‌بادی ضد هیستامین است. محلول مذکور پس از مجاور شدن با آنتی‌بادی‌های ثانویه نشان‌دار با پراکسیداز، شست و شو می‌شود. بنابراین در نمونه‌هایی که میزان هیستامین بالا است آنتی‌بادی بیش‌تر به هیستامین مورد آزمایش متصل می‌شود و مقدار کمتری از آن به سطح چاهک می‌چسبد و در نهایت بر اثر واکنش با آنزیم پراکسیداز و معرف رنگ‌زا، جذب نوری معکوسی با غلظت هیستامین در نمونه خواهد داشت. بنابراین مراحل زیر بر پلیت صورت گرفت.

**P** افزودن محلول‌های استاندارد، کنترل و نمونه‌های آسیله شده به هر چاهک (25  $\mu$ l)

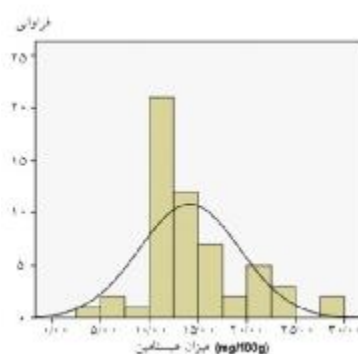
**P** مجاور کردن با آنتی‌هیستامین در دمای اتاق به مدت 40 دقیقه (100 $\mu$ l)

**P** خالی کردن چاهک‌ها و دو بار شست و شو با بافر (250 $\mu$ l)

**P** مجاور کردن با محلول آنتی‌بادی ضدآنتی‌بادی انسانی متصل به آنزیم پراکسیداز به مدت 20 دقیقه (100 $\mu$ l)



(ج)



نمودار 1. هیستوگرام فراوانی به همراه منحنی پراکنش طبیعی (الف) میزان هیستامین، (ب) لگاریتم شمارش باکتری‌های سایکروفیل، (ج) لگاریتم شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی

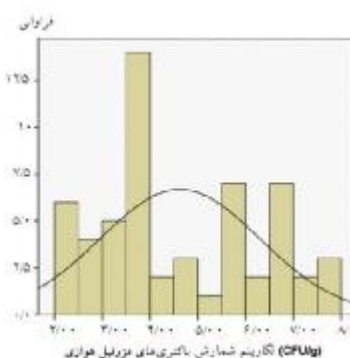
### بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این که هیستامین ترکیبی است که مصرف آن بالقوه برای انسان خطرناک است و تاکنون موارد زیادی از مسمومیت‌های وسیع از طریق مصرف فرآورده‌های غذایی دریایی که حاوی مقادیر بالای هیستامین بوده اند گزارش شده است (Hwang et al., 2003). بنابراین ارائه روشی ساده، سریع و مناسب جهت بررسی میزان هیستامین در فرآورده‌های غذایی می‌تواند در کاهش این مسمومیت‌ها موثر باشد. همچنین تعیین میزان دقیق هیستامین در این فرآورده‌ها و تایید سلامت آن‌ها جهت مصرف (با توجه به معیارهای جهانی) امری ضروری به نظر می‌رسد.

میانگین  $14/18\text{mg}/100\text{g}$  بود که 7 عدد ( $12/50$  درصد) از نمونه‌ها دارای میزان هیستامین بالاتر از حد مجاز بین‌المللی یعنی  $20\text{mg}/100\text{g}$  بودند. در جدول شماره 1 میانگین ( $\pm$  خطای معیار) میزان هیستامین، تعداد باکتری‌های سایکروفیل و تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در 60 نمونه ماهی قزل‌آلای خریداری شده از بازارهای تهران نشان داده شده است (نمودار 1).

بر اساس نتایج حاصل از آزمون همبستگی دو طرفه پیرسون مشاهده شد که رابطه مستقیمی بین میزان هیستامین و تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های ماهی برقرار است ( $p < 0/01$ ). بدین معنی که در نمونه‌های دارای میزان هیستامین بالاتر تعداد باکتری‌ها نیز بیشتر بود.

(الف)



(ب)

در کشور ایالات متحده مطالعات انجام شده توسط سازمان FDA در سال 1970 نشان داد که میزان هیستامین در انواع ماهیان تجاری تازه صید شده در حد قابل قبول 5ppm بوده و حداکثر به 20ppm می‌رسد (Wenta and Lino, 1999; Windyga, et al 1992).

در مطالعه Donn (1991) میزان هیستامین در انواع ماهی‌های فرآوری شده بین سال‌های 1988 الی 1991 در کشور ایتالیا بررسی گردید که حدود 4/7 درصد نمونه‌ها حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز بودند (Donn, 1991). همچنین در مطالعه گالارینی و امرسون (1996) مشابه مطالعه کنونی حدود 10 درصد نمونه‌ها حاوی میزان بالاتر از حد مجاز بود (Galarini and Emerson, 1996). در مطالعه Windyga و همکاران (1992) 18 درصد نمونه‌های ماهی ساردین وارداتی حاوی هیستامین بالاتر از 20 mg/100g بودند (Windyga et al., 1992). در مطالعه Fletcher و همکاران نیز (1998) که بر روی 28 نوع ماهی مختلف آزمایش شد 5 نمونه از آن‌ها حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز بودند (Fletcher et al., 1998).

در مطالعه کامکار و همکاران (2002) از تعداد 80 نمونه کنسرو ماهی تن 41/25 درصد آن‌ها دارای میزان هیستامین بالاتر از حد مجاز بودند (Kamkar et al., 2002).

در مطالعه حاضر نیز 12/50 درصد از نمونه‌های مورد بررسی حاوی هیستامین بالاتر از حد مجاز بین‌المللی بوده‌اند.

در مطالعه Yoshinaga و Frank (1982) نمونه‌های ماهی تن تازه به مدت 24 ساعت در دمای 38 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس نمونه برداری از ناحیه عضلات کمر به منظور شمارش

بنابراین در این مطالعه برای تعیین میزان هیستامین در ماهی‌های قزل‌آلای خریداری شده از مراکز فروش ماهی در تهران از روش الیزا استفاده شد که روشی دقیق، آسان و سریع برای اندازه‌گیری میزان هیستامین در مواد غذایی است (Kuda et al., 2007).

روش الیزا به طور قابل ملاحظه‌ای اقتصادی و کم هزینه است. زیرا هزینه تحلیل هر نمونه کمتر از یک دلار بوده و تنها نیازمند یک دستگاه قرائت نتایج الیزا می‌باشد (Patange et al., 2005). در ضمن روشی بسیار ساده است و نیازی به تجهیزات پیچیده و آموزش‌های حرفه‌ای ندارد. همچنین قابلیت اندازه‌گیری مقادیر هیستامین با دقت 1mg/100g را دارد. کمترین میزان هیستامین نیز که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت 4mg/100g بود. با توجه به این امتیازات روش الیزا جهت بررسی میزان هیستامین ماهی‌ها مناسب تشخیص داده شد.

مسمومیت هیستامینی برای اولین بار در کشور ژاپن در اوایل دهه 1950 شناسایی شد که بر اساس شواهد اپیدمیولوژیک بزرگ‌ترین عامل بیماری منتقله از طریق مواد غذایی در آن دوران بوده است. در فاصله بین سال‌های 1970 الی 1980 نیز در حدود 4164 مورد مسمومیت هیستامینی به وسیله وزارت بهداشت ژاپن گزارش گردید (Oduzhani and Angip, 2005; Middlebrooks et al., 1988).

در دسامبر 1977 در سانفرانسیسکو اپیدمی هیستامینی در اثر مصرف تن ماهیان با میزان هیستامین بالا و در کشور بریتانیا بین سال‌های 1976 الی 1986 نیز 250 مورد مسمومیت هیستامینی گزارش گردید (Oduzhani and Angip, 2005).

از آن، درجه حرارت و میزان نمک موجود در آب، روش مورد استفاده در عمل‌آوری و تولید محصول نهایی و شرایط عرضه در مراکز فروش ماهی نظیر آب مورد استفاده جهت مرطوب نگه‌داشتن آن و مدت زمان نگهداری ماهی در زمان عرضه تا فروش آن. ( Lopez Sabater et al., 1996; Smith et al., 1993; Yoshinaga and Frank, 1982).

لازم به ذکر آن که میزان هیستیدین در عضلات این گونه ماهیان پرورشی (قزل‌آلای رنگین‌کمان) در مقایسه با انواع دیگر ماهیان کمتر می‌باشد و همچنین کاهش مدت زمان نگهداری ماهی از زمان صید تا عرضه و مصرف مشاهده می‌گردد ( Kose and Hall, 2000; Ben-Gigiri et al., 1998).

لذا با توجه نکات فوق انتظار می‌رود که میزان هیستامین در این فراورده کمتر از نتایج حاصله از تحقیق حاضر باشد. در این مطالعه بین شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و سایکروفیل با میزان هیستامین همبستگی مثبت مشاهده شد. چون این باکتری‌ها اغلب جزء فلور نرمال ماهی محسوب می‌گردند و متعاقب آن در تولید هیستامین مؤثر می‌باشند، بنابراین مراقبت‌های خوب بهداشتی در طی مراحل مختلف پرورش، صید، انتقال و نگهداری در کاهش میزان رشد آن‌ها مؤثر می‌باشد. به این ترتیب می‌توان مخاطرات ناشی از مسمومیت‌های هیستامینی را به حداقل رسانید.

کلی باکتریایی و اندازه‌گیری هیستامین صورت پذیرفت. میانگین میزان هیستامین در نمونه‌ها 134 mg/100g و میانگین شمارش کلی باکتریایی مزوفیل  $3/5 \times 10^6$  CFU/g گزارش گردید که حاکی از ارتباط مستقیم میزان تولید هیستامین با میزان آلودگی میکروبی در ماهیان در دمای مذکور می‌باشد (Yoshinaga and Frank, 1982).

در مطالعه Mackie و Fernandez (1977) که بر روی ماهی ماکرل تازه و هرینگ پاک نشده در دمای 25 درجه سانتی‌گراد صورت گرفت میزان هیستامین با تعداد باکتری‌ها هماهنگی داشت (Mackie and Fernandez, 1977). به نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در میزان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز باکتریایی که در انواع ماهیان مشاهده می‌شود، می‌تواند با نوع غذایی دریایی، تنوع گونه‌های ماهیان، درجه حرارت و زمان نگهداری در ارتباط باشد ( Merson, et al., 1974; Murray et al., 1982; Subburaj et al., 1982). علاوه بر این نوع و ترکیب باکتری‌های مولد هیستامین تحت تاثیر عوامل دیگری نیز قرار می‌گیرد از جمله رفتارهای تغذیه‌ای، موقعیت جغرافیایی، تورها و ابزار صیادی، فاصله زمان صید تا انجماد، درجه حرارت به کاربرده شده در انجماد، کیفیت یخ، نحوه چینش ماهی‌ها بر روی یکدیگر، کیفیت بهداشتی سبدهای حمل و نقل و نگهداری ماهی، نحوه جا به جایی ماهی در هنگام صید و پس

## منابع

- Arnold, S.L. and Sumner, S.S. (1978). Histamine toxicity from fish products. *Advances in Food Research*, 24: 113-154.
- Ben-Gigiri, B., Craven, C. and An, H. (1998). Histamine Formation in Albacore Muscle Analyzed by AOAC and Enzymatic Methods. *Journal of Food Science*, 63 (2): 210-214.

- Y Chen, M., Marshall, M.R., Koburger, J.A., Otwell, W.S. and Wei, C.I. (1995). Determination of minimal temperatures for histamine production by five bacteria. Department of Food Science and Human Nutrition, University of Florida.
- Y Donn, R.W. (1991). Scombroid poisoning, microbiology of marine food products, Springer, Berlin, pp: 331-350.
- Y Emilio, I.L., Lopez, B. and Sabater, W. (1996). Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 411-418.
- Y Etkind, P., Wilson, M.E., Gallagher, K. and Cournoyer, J. (1987). Bluefish-associated Scombroid poisoning. An example of the expanding Spectrum of food poisoning from Seafood. *Journal of American Medical Association*, 258: 3409-3410.
- Y Fletcher, G.C., Summers, G., Wincester, R.V. and Wony, R. (1998). Levels of histamine and histidine in producing bacteria in smoked fish from New Zealand markets. *Journal of Food Protection*, 6 (8): 1064-1070.
- Y Galarini, R. and Emerson, L. (1996). Heavy metals and histamine in fish products. Histamine content during 1988-1995. *Industries Alimentary*, 35 (353): 1194-1198.
- Y Harrigan, W.F. (1998) Laboratory methods in food microbiology. 3<sup>rd</sup> Edition. Academic Press, California, USA, pp. 228-234.
- Y Hoseini, H. (2005). Study of Histamine level in Scromboidea Conserves by ELIZA method in Iran on 1385. *Journal of Iranian Food Science*, 9: 77-84.
- Y Hwang, B.S., Wang, J.T. and Choong, Y.M. (2003). A rapid gas chromatographic method for the determination of histamine in fish and fish products, *Food Chemistry*, 82: 329-334.
- Y Kamkar, A., Hoseini, H. and Abu-Hosein, G. (2002). The amount of histamine in canned tuna fish and sardines, *Journal of Research and Development*, 60: 44-50.
- Y Kawabata, T., Ishizaka, K. and Mura, T. (1953). Studies on the allergy-like food poisoning Caused by Samma sakurabosh (Dried seasoned saury) and other kinds of marine products. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 8: 487-501.
- Y Kose, S. and Hall, G. (2000). Modification of a colorimetric method for histamine analysis in fish meal. *Food Research International*, 33: 839-845.
- Y Kuda, T., Mihara, T. and Yano, T. (2007). Detection of histamine and histamine-related bacteria in fish-nukazuke, a salted and fermented fish with rice-bran, by simple colorimetric microplate assay. *Food Control*, 18: 677-681.
- Y Laurent, G., Bennasar, M., Fall, F. and Lima, H. (1995). Histamine content in fresh and canned tara. *Medecine- et- Nutrition*, 31(1): 23-33.
- Y Lopez Sabater, E., Rodríguez-Jerez, J., Hernández-Herrero, M. and Mora-Ventura, M. (1996). Incidence of histamine forming bacteria and histamine content in Scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 411-418.
- Y Mackie, I.M. and Fernandez Salguero, J. (1977). Histidine metabolism in Fish, Urocanic acid in Mackerel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28: 935-940.
- Y Marouni, N. (1999). Histamin Poisoning *Standard Journal*, 10: 45-47.
- Y Merson, M.H., Baine, W.B., Gangarosa, E.J. and Swamson, R.C. (1974). Scombroid fish poisoning. Outbreak traced to commercially canned tuna fish. *Journal of American Medical Association*, 22(8): 1268-1269.
- Y Middlebrooks, B.L., Toom, P.M., Douglasm W.L., Harrison, R.E. and McDowell, S. (1988). Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel. *Journal of Food Science*, 53: 1024-1029.
- Y Murray, C.K., Hobbs, G. and Gilbert, R.J. (1982). Scombrotxin and Scombrotxin-like poisoning from canned fish. *Journal of Hygiene*, 88: 215-220.



- National Institutes of Health. (2007). Dietary Supplement Fact Sheet: Vitamin D. Archived from the original on 2007-12-13, <http://www.webcitation.org/5RI5u0LB5>
- Oduzhani, P. and Angip, S. (2005). Scombroid (Histamin) Poisoning. Ataturk University of Agriculture Fishery Products Section, 25240.
- Onal, A. (2007). Current Analytical Methods for determination of biogenic amines in foods. Food Chemistry, 103: 1475-1486.
- Patange, S.B., Mukundan, M.K. and Ashok Kumar, K. (2005). A simple and rapid method for colorimetric determination of histamine in fish flesh. Food Control, 16: 465-472.
- Smith, A.M., Hayden, M.A., McCay, S.G., Zapatka, F.A. and Hamdy, M.K. (1993). Detection and confirmation of histamine producing bacteria. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 29: 618-623.
- Staruszkiewicz, W.F. and Rogers, P.L. (2001). Performance of histamine test kits for applications to seafood. 4<sup>th</sup> World Fish Inspection and Quality Control Congress, Vancouver B.C.
- Stommel, E.W. and Watters, M.R. (2006). Marine neurotoxins: Ingestible toxins. Current Treatment Options in Neurology, 6(2): 105-114.
- Subburaj, M. Karunasagar, I. and Karunasagar, I. (1982). Incidence of histamine-decarboxylating bacteria in fish and market environs. Food Microbiology, 1: 263-267.
- Taylor, S.L. and Speckhard, M.W. (1983). Isolation of Histamin Producing Bacteria from Frozen Tuna. Food Research Institute. Department of Food Microbiology and Toxicology and Food Science, University of Wisconsin, Madison.
- U.S. FDA/CFSAN (1993). Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) (Seafood) Chapter 7. Scombrotxin cation alimentaria por escombrido (atun) en un comdor colectivo de empresa. Med. Clin. Barcelona, 93: 641-644.
- U.S. FDA/CFSAN prime Connection (1995). Federal Register Announcement Decomposition and Histamine for Seafood. 1-6. [www.cdc.gov/scombroidfishpoisoning---pennsylvania1998.htm](http://www.cdc.gov/scombroidfishpoisoning---pennsylvania1998.htm)
- U.S. Food and Drug Administration (2008). What levels of histamine are considered dangerous to human health? U.S. Food and Drug Administration.
- Wenta, K. and Lino, H. (1999). Use of capillary electrophoresis with UV detection as a screening method to determine histamine in fish samples. Journal of Chromatography A, 853: 541-544.

## Preliminary study of Histamine in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) samples from fish markets in Tehran

Mashak, Z.<sup>1\*</sup>, Moradi, B.<sup>2</sup>, Moradi, B.<sup>3</sup>

1-Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2- Department of Microbiology, Faculty of Science, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

3- Department of Microbiology, Faculty of Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Corresponding author email: [Zohreh\\_mashak@yahoo.com](mailto:Zohreh_mashak@yahoo.com)

(Received: 2011/4/19 Accepted: 2011/8/22)

### Abstract

Histidine is one of non-protein nitrogen extractives which found in fish such as Salmonidae family (trout is belonged this family). Members of this family has high amounts of Histidine compared to other foods. Some Salmon microbial flora can decarboxylated Histidine to Histamine and this metabolite is a hazard component for human. Evaluation of Histamine levels in Salmon via a fast and accurate method can be useful for decreasing the intensity of these hazards. In this study evaluated psychrophilic and mesophilic aerobic bacteria and also histamine level in purchased salmon samples from fish markets in Tehran by ELISA method (Rida Screen Histamine Kits). A total of 60 samples of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) purchased from fish markets and assayed for Histamine by using Rida Screen Histamine ELISA Kits. Bacterial enumeration was performed on 10-fold diluted samples at 25°C and 35°C for mesophilic and psychrophilic bacteria, respectively. The range of Histamine content was 4 to 28mg/100g (14.18mg/100g). 12.50 percent of samples had Histamine content above the international standard level (20mg/100g). Data achieved by bacterial enumeration and ELISA test were analyzed by Pearson correlation test indicated that direct relationship between histamine and the number of bacteria in fish samples is established ( $p < 0.01$ ). Variations in amounts of bacterial decarboxylase enzyme in all kind of fish depends on with time – temperature storage, fish species variation and kind of seafood. Therefore, application of good health care during the various stages of breeding, fishing, transportation and storage in inhibition of bacterial growth and subsequent production of histamine is effective and the risks of histamine poisoning can be minimized thereby.

**Keywords:** Histamine, Rainbow trout fish, ELISA