Archive of SID

بررسی تغییرات هیستامین و بار باکتریایی در ماهی هامور معمولی *Epinephelus coioides* نگهداری شده در یخ

سراج بیتا*[1]، حسین نجف‌زاده‌ورزی[2]، پریتا کوچنین[3]، علی فضل‌آراء[2] و تکاور محمدیان[4]

[1] عضو هیات علمی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران

[2] عضو هیات علمی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

[3] عضو هیات علمی دانشگاه علوم وفنون دریایی خرمشهر، ایران

[4] دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت آبزیان دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۱۱، تاریخ تصویب: ۸۹/۹/۲۳)

چکیده

در این مطالعه تغییرات هیستامین و بار باکتریایی (باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل) در ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخ مورد ارزیابی قرار گرفت. هیستامین در اولین روز نگهداری (روز صفر) در نمونه‌ها یافت نشد و از روز سوم نگهداری با میانگین غلظت ۰/۱۵ میکروگرم/گرم قابل ردیابی بود و سپس در طی دوره نگهداری ابتدا روند افزایشی داشت اما از روز پانزدهم کاهش قابل ملاحظه‌ای در غلظت آن مشاهده گردید که‌این کاهش تا پایان دوره نگهداری ادامه داشت. بار باکتریایی در زمان‌های مختلف نگهداری روند افزایشی را نشان دادند و بین اولین روز و آخرین روز نگهداری اختلاف معنی‌داری در مقادیر آنها مشاهده گردید. باکتری‌های سرمادوست تغییرات یکنواخت‌تری نسبت به باکتری‌های مزوفیل نشان دادند و با گذشت زمان باکتری‌های غالب در یخ را تشکیل دادند. باکتری‌های مزوفیل در طی دوره نگهداری نوسانات کاهشی و افزایشی داشتند به طوری که در روز پانزدهم یک کاهش در تعداد آنها مشاهده شد، اما از روز هجدهم مجدداً روند افزایشی در پیش گرفتند. بر اساس نتایج حاصله، هیستامین بیشترین ارتباط را با باکتری‌های مزوفیل نشان داد و معادله رگرسیونی بصورت HIS = ۱۸/۸۵ meso -۴۱/۱۶ تعیین گردید. بر طبق نتایج حاصل از بار باکتریایی و هیستامین و با توجه به حد استاندارد تعیین شده آنها در ماهیان (بار باکتریایی 10^{6}- 10^{7} cfu/g، هیستامین ۱۰ mg/۱۰۰g)، می‌توان گفت که ماهیان هامور معمولی نگهداری شده در یخ در روز هجدهم در مرحله فساد می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: هیستامین،کنترل کیفیت، بار باکتریایی، یخ، هامور معمولی *Epinephelus coioides*

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۹۳۷-۰۰۴۶۶۵۶ فاکس: ۰۵۴۵-۲۲۲۴۲۶۴ E-mail: bitaf79@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان، مسئله تأمین غذای سالم و کافی یکی از مسائل و مشکلات بحرانی بسیاری از کشورهای جهان، بویژه کشورهای در حال توسعه می باشد. در این میان مواد غذایی با منشأ دریایی از ارزش غذایی بالایی برخوردار بوده و توجه روزافزون بشر نیز برای مصرف چنین محصولاتی افزوده شده است. پس از صید ماهی، شرایط نگهداری بر روی عرشه تأثیر زیادی بر روی کیفیت و مدت زمان ماندگاری آنها دارد بنابراین آگاهی کامل از چگونگی بروز این تغییرات به خصوص تغییرات بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی در ماهیان و سایر آبزیان در طی مراحل مختلف نگهداری جهت پیش‌بینی مدت زمان ماندگاری محصول و قابل مصرف بودن آن ضروری می باشد. در علم جدید بهداشت مواد غذایی، به منظور به دست آمدن نتیجه‌ای مناسب و قطعی در خصوص وضعیت و کیفیت یک محصول معمولا بر اساس نمونه برداری از فرآورده‌ها و ارزیابی کیفی آنها با استفاده از تغییرات میکروبی، شیمیایی، فیزیکی وحسی اقدام می شود که نتایج آن در رد یا قبول محصول و پیش بینی مدت زمان ماندگاری فرآورده‌ها قابل اطمینان است (Fazlara, 2005). یکی از روش های شیمیایی مورد استفاده برای سنجش کیفیت ماهیان و سایر فرآورده‌های غذایی دریایی اندازه گیری میزان هیستامین می باشد که در اثر دکربوکوکسیلاسیون اسیدآمینه هیستیدین به وسیله باکتری‌ها بوجود می‌آید (Behling and Taylor, 1982). میزان هیستامین در یک ماهی سمی به میزان هیستیدین آزاد در عضله ماهی و تعادل بین تولید هیستامین و تخریب آن به وسیله آلودگی میکروفلورا بستگی دارد (Lehane and Olley, 2000). شاخص‌های میکروبیولوژیکی نیز با پیشرفت فساد در طی نگهداری در یخ افزایش می‌یابند و لذا تعداد باکتری‌های نمونه مورد آزمایش شاخص خوبی جهت بررسی مدت زمان ماندگاری آبزیان می باشد به طوری که اگر نمونه‌ای از ماهی دارای 10^6 باکتری در هرگرم باشد این امر نشانه‌ای از آغاز فساد و پیشرفت آن و اگر دارای 10^8 باکتری در هرگرم نمونه باشد نشانه غیرقابل‌مصرف بودن آن است (Razavi Shirazi, 1994). ماهی به عنوان موادغذایی خیلی فسادپذیر طبقه‌بندی می‌شود و زمان ماندگاری آن بسته به کیفیت اولیه و همچنین شرایط نگهداری آن متفاوت می‌باشد همچنین روش صید و به دنبال آن اعمال دستکاری‌های پس از صید نیز تأثیر زیادی بر کیفیت ماهی و زمان ماندگاری گونه‌های مختلف آنها دارد (Banja, 2002). ماهی هامور معمولی به راسته سوف ماهیان و خانواده هامورماهیان تعلق دارد و یکی از مهم‌ترین ماهیان تجاری در حوضه خلیج‌فارس می باشد، این ماهی با در نظر گرفتن ارزش اقتصادی آن، به عنوان یک ماهی رایج و گرانقیمت در بازارهای خلیج فارس، هند، سنگاپور، هنگ کنگ و تایوان می باشد (Heemstra and Randall 1993). از طرفی حمل ونقل غذاهای دریایی و سایر موادخام ماهی در جهان افزایش یافته است، بنابراین پیش‌بینی اثرات نگهداری و شرایط توزیع بر روی کیفیت و زمان ماندگاری غذاهای دریایی در مدیریت نگهداری و حمل ونقل و نیز صادرات آنها می‌تواند نقش به سزایی داشته باشد (Tuominen and Esmark, 2003). مطالعات متعددی در زمینه تغییرات شاخص‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی کنترل کیفیت و تعیین مدت زمان ماندگاری آبزیان توسط Ruiz-Capillas and Moral (2001) بر ماهی هیک اروپایی (*Merluccius merluccius*) و Banja (2002) در ماهی‌کاد (*Gadus morhua*) و ماهی هادداک (*Melanigrammus aeglefinus*)، Ozogul *et al.* (2005) بر مارماهی و Chytiri *et al.* (2004) بر قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، همچنین در ایران مطالعاتی توسط Rezaei *et al.* (2007) بر ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisi kutum*) و ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورشی، Hosseini (2007) بر ماهی شوریده (*Otholites ruber*) صورت گرفته است. ماهی هامور معمولی از ماهیان مورد پسند و خوش خوراک در جنوب کشور می باشد با توجه به‌اینکه‌این ماهیان اغلب در

www.SID.ir

Archive of SID

بازار در یخ نگهداری می شوند بنابراین هدف از این تحقیق سنجش میزان هیستامین و بار باکتریایی در شرایط نگهداری در یخ در روزهای مختلف و تعیین مدت زمان ماندگاری این ماهی می باشد.

مواد و روش‌ها

- تهیه ماهی

ماهیان مورد نیاز مستقیما از صیدگاههای بندرهندیجان در همان لحظه صید به صورت تصادفی تهیه شدند. جهت انجام این تحقیق۳۰ عدد ماهی هامور معمولی تازه صید شده با میانگین طول کل (± انحراف معیار) و وزن بترتیب ۵/۶۳±۴۵/۳۸ سانتیمتر و ۱۹۶/۸۵±۸۰۰/۱۵ گرم از صیدگاه سجافی بندرهندیجان صید گردیده و سپس ماهیان تهیه شده پس از شستشو در داخل جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (به صورت لایه‌های متناوبی از یخ و ماهی با نسبت۱:۳) قرار داده شدند و در طی مدت زمان ۲ ساعت پس از یخ گذاری به آزمایشگاه فارماکولوژی و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. کنترل دمای داخل جعبه از طریق اندازه گیری مداوم دما به کمک دماسنج جیوه‌ای صورت گرفت و در صورت ذوب شدن یخ های داخل جعبه و با افزایش دمای جعبه، یخ تازه به داخل جعبه اضافه می‌شد. با همین روند نمونه‌ها در فواصل زمانی صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵و ۱۸روز مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند. جهت انجام آزمون شاخص‌های های شیمیایی و میکروبیولوژیکی کیفیت در هر مرحله ۳ عدد ماهی بصورت تصادفی انتخاب و هر مرحله با ۳ تکرار و در مجموع ۲۱ تیمار با نمونه برداری از عضله ماهی در قسمت جلویی بدن و جدا کردن پوست از عضله انجام شد. در ابتدا قبل از هرگونه عملیات نگهداری، تعداد ۳ عدد از ماهیان صید شده جهت انجام آزمون میکروبیولوژیکی مورد نظر به همراه فاکتورهای شیمیایی مورد سنجش قرار گرفتند اینکار امکان مطالعه روند تغییرات فساد شیمیایی و میکروبی را در زمانهای مختلف نگهداری میسر می سازد.

- تعیین شاخص‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی

اندازه‌گیری هیستامین

کالیبراسیون دستگاه HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

منحنی‌های کالیبراسیون

بر اساس حدود غلظت هیستامین در نمونه‌های اصلی، مقادیر مناسب از استاندارد هیستامین از محلول استاندارد کاری برداشته، به لوله شیشه‌ای منتقل و با جریان ملایم نیتروژن خالص خشک گردید. طبق روش ذکر شده در بخش ۲-۲-۱-۳ مشتق سازی و طبق بخش ۲-۲-۱-۴ با دو تکرار به دستگاه تزریق شد. منحنی کالیبراسیون بصورت معادله خطی $y = ax + b$ (y: میانگین سطح زیر منحنی هر غلظت بر حسب$\mu V*sec$ وx: غلظت بر حسب ppm) به روش Least Square با استفاده از نرم افزار Excel محاسبه و رسم گردید. ضریب همبستگی (R^2) نیز برای بررسی میزان خطی بودن نتایج توسط همین نرم افزار محاسبه شده که در فضای منحنی کالیبراسیون توسط دستگاه نمایش داده شده است.

نمونه شاهد

به موازات آنالیز شیمیایی نمونه‌ها (مراحل۲-۲-۱-۲ تا ۲-۲-۱-۴) ۱۰ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۵ درصد (TCA) را برداشته و این مراحل در کنار نمونه‌های اصلی انجام شد. این نمونه نباید هیچ پیکی مشابه با زمان ماندگاری هیستامین داشته باشد. از این نمونه به عنوان استاندارد صفر در بخش۲-۲-۱-۱-۱ استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج

استخراج هیستامین بر اساس روش Mietz and Karmas (1978) که برای سایر آمین های بیوژن نیز صدق می کند، انجام شد:

۵۰ گرم نمونه عضله بدون پوست همگن شده با چرخ گوشت با ۷۵ میلی لیتر TCA ۵ درصد (۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) توسط مخلوط کن Waring به مدت ۲ دقیقه مخلوط، سپس محتوی آن به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی توسط قیفی که در قسمت بالایی آن پشم شیشه قرار دارد صاف و به بالن حجمی ۲۵۰ میلی لیتری منتقل شد. ماده مانده در ته لوله سانتریفیوژ به مخلوط کن برگردانده و با اضافه کردن ۷۵ میلی لیتر TCA ۵ درصد مراحل فوق تکرار گردید. عمل استخراج برای بار سوم نیز صورت گرفت تا این مرحله حجم کل به ۲۲۵ میلی لیتر رسید با مقداری TCA ۵ درصد قیف شسته شده و با همان TCA محلول به حجم (۲۵۰ میلی‌لیتر) رسید. این مخلوط در حقیقت رقت ۰/۲ نمونه ماهی است و می توان آن را ۲ تا ۳ هفته در یخچال نگهداری نمود

۱۰ میلی لیتر از هر محلول نمونه (معادل ۲ گرم نمونه)، ۱۰ میلی لیتر TCA ۵ درصد (به عنوان نمونه شاهد)، به لوله‌هایی جداگانه ۳۰ تا ۵۰ میلی لیتری سانتریفیوژ با در شیشه‌ای که قبلاً ۴ گرم NaCl، ۱ میلی لیتر NaOH ۵۰ درصد و ۵ میلی لیتر کلروفرم-بوتانول (۱+۱) به آن اضافه شده منتقل گردید. سپس ۲دقیقه به شدت تکان داده شد. آنگاه به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز بالایی (آلی) به قیف جدا کننده ۶۰ میلی لیتری منتقل گردید. این مرحله استخراج نیز در مجموع سه بار تکرار شد که در هر بار به محلول نمونه پس از جداسازی فاز بالایی، مواد ذکر شده (۴گرم NaCl،۱میلی لیتر NaOH ۵۰ درصد و ۵ میلی لیتر کلروفرم-بوتانول) دوباره اضافه می شد. حال به مجموع استخراجها در قیف، ۱۵ میلی لیتر n-هپتان و سپس ۱ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال اضافه و قیف به شدت تکان داده شد. در مرحله بعد فاز پایینی (آبی) به لوله ۱۰ میلی لیتری با در شیشه‌ای منتقل گردید. این عمل نیز در کل با اضافه نمودن n-هپتان و اسیدکلریدریک ۰/۲ نرمال سه بار تکرار شد. در مرحله بعد ۱ میلی لیتر آب مقطر به قیف اضافه شد و به همان صورت استخراج گردید تا از جداسازی کامل هیستامین اطمینان حاصل گردد سپس لوله محتوی این استخراجها در حمام آب داغ (۸۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد تا با کمک جریان ملایم هوا و یا ترجیحاً گاز نیتروژن محلول خشک گردد، به علاوه می‌توان از حمام بخار نیز بدین منظور استفاده نمود.

مشتق‌سازی

روش مورد استفاده در این آزمایش بر اساس روش مورد استفاده توسط Dawood *et al.* (1988) می باشد که در زیر بیان می‌شود:

به ماده خشک باقیمانده در بخش ۲-۲-۱-۲ یا استانداردها که در بخش۲-۲-۱-۱-۱ بیان شد، ۱میلی لیتر NaOH ۲ مولار اضافه شد. سپس توسط میکروپیپت، ۵ میکرولیتر بنزویل کلراید اضافه و بخوبی توسط ورتکس مخلوط گردید. سپس اجازه داده شد تا محلول به مدت ۲۰ دقیقه بماند. بعد ۲ میلی لیتر محلول NaCl اشباع اضافه کرده تا عمل مشتق سازی متوقف گردد. ۲ میلی لیتر دی اتیل اتر اضافه، و بخوبی تکان داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. بعد فاز بالایی (اتر) به لوله تمیز منتقل و با جریان ملایم گاز نیتروژن تبخیر گردید تا خشک شود.

تزریق و آنالیز دستگاهی با HPLC

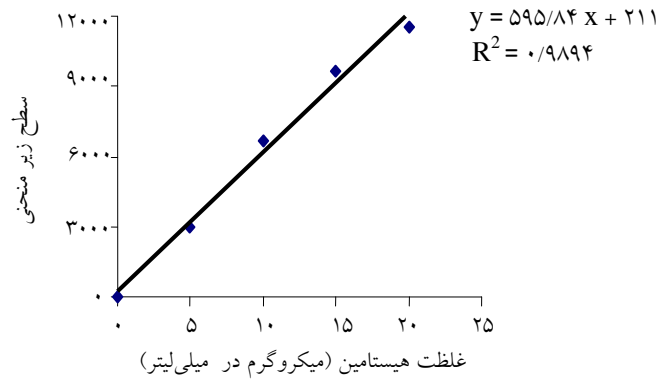
این مرحله از آزمایش نیز بر اساس روش Dawood *et al.* (1988) انجام شد:

در این مرحله به ماده خشک باقیمانده، بخش۲-۲-۱-۳، ۲۰۰ میکرولیتر متانول اضافه کرده و از فیلترمیلی پور با قطر

www.SID.ir

Archive of SID

منافذ ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده و سپس ۲۰ میکرولیتر از این محلول با سرنگ میکرولیتری Hamilton به دستگاه HPLC مدل شیمادزو، کیوتو ژاپن شامل پمپ، دتکتور UV-VIS تنظیم شده در طول موج ۲۵۴ نانومتر و ستون ODS، C۱۸ تزریق گردید. اساس سنجش جداسازی هیستامین استفاده از جذب UV در طول موج ۲۵۴ نانومتر، استفاده از فاز معکوس با سیستم ایزوکراتیک متانول و آب (به نسبت حجمی ۷۰ و ۳۰) با جریان حلال ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه در درجه حررات معمول اتاق می‌باشد. سپس بر اساس تطابق زمان ماندگاری (Retention time) نمونه‌های مجهول با نمونه‌های استاندارد، هیستامین را شناسایی کرده و با توجه به سطح زیر منحنی پیک‌ها با توجه به منحنی‌های استاندارد مربوطه براساس میکروگرم در میلی لیتر تعیین غلظت شدند.



شکل ۱- منحنی استاندارد هیستامین

- شاخص‌های میکروبیولوژیکی

کشت باکتری‌ها نیز بر اساس روش APHA (1984) با استفاده از کشت سطحی بر روی محیط کشت آگار مغذی انجام شد. سپس کلیه پلیت ها در داخل انکوباتور در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد جهت انکوباسیون یا رشد باکتری‌های سرمادوست بر اساس روش موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی (ISIRI, 2001) شماره ۲۶۲۹ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد جهت رشد باکتری‌های مزوفیل (ISIRI, 1999) شماره ۲۳۹۴ به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، پرگنه‌های تشکیل شده در هر پلیت بطور جداگانه بر اساس روش موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی (ISIRI, 2001) شماره ۲۳۲۵ مربوط به شمارش میکروارگانیسم‌ها شمارش شده و داده‌های بدست آمده، بصورت لگاریتم تعداد کلنی های شمارش شده به ازاء هر گرم (Log cfu/g ± SD) ارائه شدند.

- تجزیه وتحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از شاخص‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. روش تجزیه واریانس یکطرفه جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمانهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز به کار رفت. همچنین جهت تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف زمانی مورد آزمایش از

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون حداقل تفاوت معنی دار استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین فاکتورهای شیمیایی و میکروبیولوژیکی و همچنین زمان نگهداری از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و معادله رگرسیونی آنها بدست آمد.

نتایج

مقادیر هیستامین به همراه نتایج میکروبیولوژیکی (بار باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل) در نمونه‌های ماهی هامور معمولی نگهداری شده در یخ (مربوط به روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، و۱۸) در جدول۱-۱ و نیز روند تغییرات و مقایسه شاخص‌های شیمیایی و میکروبی کنترل کیفیت با یکدیگر در نمودارهای مربوطه آورده شده‌اند.

جدول ۱- میانگین مقادیر تغییرات هیستامین و بار باکتریایی در ماهی هامور معمولی *Epinephelus coioides* در روزهای مختلف نگهداری در یخ

شاخص‌های کیفیت / روز نگهداری	سرما دوست * log cfu/g))	مزوفیل * log cfu/g))	هیستامین* µg/g))
صفر	۱/۳۷±۰/۱۹ a	۲/۰۰ ±۰/۰۰ a	ND** a
۳	۳/۱۵ ± ۰/۱۵ b	۲/۰۰ ±۰/۰۰ a	۰/۱۵±۰/۰۰ a
۶	۴/۰۸ ±۰/۰۳ c	۲/۶۹ ±۰/۲۱ b	۱/۴۳ ± ۰/۴۸ a
۹	۵/۵۱ ±۰/۰۰ d	۳/۴۵ ±۰/۰۷ c	۶/۷۷ ±۰/۳۷ b
۱۲	۶/۲۹ ±۰/۲۰ ab	۴/۲۱ ±۰/۱۲ d	۷۰/۴۰ ±۰/۳۹ c
۱۵	۶/۹۱ ±۰/۰۶ ac	۳/۸۵ ±۰/۰۲ d	۳۵/۲۰ ±۲/۶۴ d
۱۸	۷/۷۲ ±۰/۰۹ bc	۴/۶۱ ±۰/۱۳ ab	۲۸/۳ ۰±۰/۱۲ ab

به همراه نتایج آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح ۹۵٪ * (Mean ± SE, n=3)

(حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار هستند. **Not Detected = ND: عدم ردیابی

بر طبق آزمون واریانس یکطرفه، میانگین غلظت هیستامین تا روز ششم نگهداری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، ولی از روز نهم نگهداری افزایش شدیدی در مقادیر غلظت آن مشاهده شد که‌این روند تا پایان دوره نگهداری ادامه داشت، هر چند که غلظت هیستامین از روز پانزدهم در مقایسه با روز دوازدهم کاهش شدیدی را نشان داد که‌این کاهش در روز هیجدهم نیز در نمونه‌ها مشاهده گردید ولی غلظت آن بین اولین روز نگهداری و آخرین روز نگهداری اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). هیستامین در روز اول نگهداری (روز صفر) در نمونه‌ها یافت نشد و از روز سوم قابل ردیابی بود، که میانگین غلظت آن در روز سوم نگهداری ۰/۱۵µg/g و در آخرین روز نگهداری (روز هجدهم) µg/g

www.SID.ir

Archive of SID

۲۸/۳ محاسبه شد. بیشترین میزان غلظت هیستامین، در روز دوازدهم نگهداری با متوسط غلظت ۷۰/۴ µg/g بدست آمد و سپس یک روند کاهشی را نشان داد. آزمون آماری حاصل از تجزیه واریانس یک طرفه نمونه‌ها نشان داد که بین میانگین غلظت هیستامین در اولین روز (صفر) و آخرین روز نگهداری (هجدهم) افزایش معنی‌داری وجود دارد. در روزهای صفر، ۳ و ۶ نگهداری در نمونه‌ها از نظر غلظت هیستامین اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در این مطالعه شاخص‌های میکروبیولوژیکی در زمان‌های مختلف نگهداری روند افزایشی را نشان داد. به طوری که بر طبق آزمون آماری واریانس یک‌طرفه بین میانگین بار باکتریایی در نمونه‌ها در روز اول نگهداری (روز صفر) با روز آخر نگهداری (روز هجدهم) اختلاف معنی‌داری وجود داشت که‌این اختلاف در مورد باکتری‌های‌سرمادوست در تمامی روزهای نگهداری معنی‌دار بود. میزان بار باکتریایی سرمادوست در روزهای اول نگهداری بسیار پایین بود (۱/۳۷ log cfu/g) ولی با گذشت زمان افزایش پیدا کرده و در روز هجدهم به بیشترین مقدار رسید (۷/۷۲ log cfu/g). در روزهای اول نگهداری بار باکتریایی مزوفیل نسبت به باکتری‌های سرمادوست بیشتر بود ولی با گذشت زمان نگهداری، باکتری‌های سرمادوست تغییرات بیشتر و روند افزایشی بیشتری را در مقایسه با باکتری‌های مزوفیل نشان دادند. بطوریکه باکتری‌های مزوفیل در روز پانزدهم یک روند کاهشی را نشان داده و از ۴/۲۱ log cfu/g در روز دوازدهم به ۳/۸۵ log cfu/g در روز پانزدهم رسیدند ولی در روز هجدهم مجددا افزایش یافته و به حداکثر مقدار (۴/۶۱ log cfu/g) خود مشاهده شدند. بر طبق آزمون آماری واریانس یک‌طرفه، بین میانگین بار باکتریایی مزوفیل در اولین روز نگهداری با بقیه روزها بجز روز سوم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، اما در روزهای دوازدهم و پانزدهم به دلیل کاهش باکتری‌های مزوفیل نسبت به روز قبل اختلاف معنی‌دار بین این روزها وجود نداشت. بر طبق آزمون رگرسیون خطی، هیستامین بیشترین ارتباط را با باکتری‌های مزوفیل نشان داد (R^2 = ۰/۷۶). و معادله رگرسیونی آن بصورت HIS = ۱۸/۸۵ meso-۴۱/۱۶ تعیین گردید. بر طبق نتایج آزمون همبستگی پیرسون، هیستامین با بار باکتریایی مزوفیل (P <۰/۰۵، r = ۰/۷۶)، سرمادوست (P<۰/۰۵، r =۰/۶۶) ارتباط معنی‌داری نشان داد ولی با روز نگهداری (P >۰/۰۵، r = ۰/۶۵) ارتباط معنی‌داری نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

کیفیت اولیه مواد خام با توجه به تازگی، بار میکروبی و آسیب فیزیکی یک فاکتور مهمی است که کیفیت فرآورده نهایی را تحت تاثیر قرار می دهد. حفظ کیفیت محصول به میزان قابل توجهی به دمای نگهداری بستگی دارد. ماهی در مقایسه با سایر موادغذایی جزء غذاهای شدیداً فسادپذیر است به طوری که پس از مرگ ماهیان واکنش های آنزیماتیکی و شیمیایی مسئول از دست دادن تازگی اولیه در آنها بوده و فعالیت‌های میکروبی مسئول بارز فساد و بنابراین تعیین کننده کیفیت ماهی و مدت زمان ماندگاری آن می‌باشند که می‌توانند همراه با شاخص‌های شیمیایی کنترل کیفیت نقش به سزایی در تعیین مدت زمان ماندگاری محصول داشته باشند (Gram and Huss, 1996). هیستامین از مهمترین آمین‌های بیوژن است که به طور معمول در بدن ماهیان در اثر دکربوکسیلاسیون اسیدآمینه هیستیدین تشکیل می‌شود (Ababouch *et al.*, 1991). و حضور آن به عنوان یک شاخص مناسب، جهت تعیین کیفیت و وضعیت نگهداری برخی از غذاها است. یک روش مناسب و اختصاصی برای سنجش هیستامین استفاده از تکنیک HPLC می باشد به طوری‌که زمان ردیابی توسط دستگاه HPLC با رقت‌های مختلف ترزیق و در طول موج ۲۵۴ nm در محدوده ۸-۶ دقیقه بود، که در مطالعه انجام شده توسط Cinquina (2004)، برای سنجش هیستامین در ماهیان تن ردیابی هیستامین در طول موج ۴۱۲ nm در محدوده زمانی ۹/۵۷-۸/۲۴ گزارش شد. تشکیل هیستامین در ماهی به شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

محیطی، میزان هیستیدین و حضور باکتریهای دکربوکسیله کننده هیستیدین بستگی دارد. در تحقیق حاضر، هیستامین در طی دوره نگهداری روند افزایشی در میزان آن مشاهده شد که در اوایل دوره نگهداری (روز صفر، ۳، ۶) این افزایش چندان چشمگیر نبود به طوری که در روز اول نگهداری میزان آن توسط دستگاه HPLC قابل ردیابی نبود، و برای اولین بار از روز سوم با غلظت ۰/۱۵ µg/g ردیابی شد، در روزهای بعدی به خصوص در روز دوازدهم افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در غلظت هیستامین در نمونه‌ها مشاهده گردید (۷۰/۴µg/g) که‌این افزایش بسیار چشمگیر بود، سپس از روز دوازدهم به بعد یک روند کاهشی از خود نشان داد، در هجدهمین روز نگهداری غلظت آن به ۲۸/۳ µg/g کاهش یافت. اداره غذا و دارو (FDA,1998) غلظت ۵ mg/۱۰۰g هیستامین را به منظور اطمینان سلامتی فرآورده‌ها تأیید کرده است اما بالاتر از این میزان نامطلوب می باشد. اتحادیه اروپا پیشنهاد کرده که میانگین غلظت هیستامین در ماهی نبایستی بیش از ۱۰ mg/۱۰۰g باشد و میزان ۱۰میلی‌گرم هیستامین در۱۰۰گرم عضله ماهی بنظر می‌رسد که برای سلامت عمومی مناسب باشد (Lehane and Olley, 2000). همچنین SABS (South African Boreau of Standard) و AFSC (Australian Food Standard Code) بترتیب میزان هیستامین ۱۰ mg/۱۰۰g و ۲۰ mg/۱۰۰g در عضله ماهی را بعنوان حد مجاز پیشنهاد نموده اند. ماهیان تازه معمولا دارای میزان کمی هیستامین ۰/۱ mg/۱۰۰g> می‌باشند و همچنین، ماهیان گوشت قرمز مثل ساردین و ماکرل دارای میزان هیستیدین بیشتری در مقایسه با ماهیان گوشت سفید مثل کاد و هامورماهیان می باشند (Kagawa, 2000). به طوری‌که در تحقیق حاضر نیز، در اولین روز نگهداری (روز صفر) احتمالا به دلیل تازه‌بودن ماهیان و رشد بسیار اندک باکتری‌های دکربوکسیله‌کننده هیستیدین و نیز وجود اندک هیستیدین در نمونه‌های مورد مطالعه، هیستامین توسط دستگاه HPLC قابل‌ردیابی نبود ولی با گذشت زمان و فرایند پروتئولیزیس (proteolysis) که پس از مرگ ماهی رخ داده و سبب آزاد شدن بیشتر هیستدین از پروتئین‌های عضله می‌شود (Rossano *et al*., 2006) و همچنین فرایند دکربوکسیلاسیون باکتریایی و تبدیل اسیدآمینه هیستیدین آزاد به هیستامین (Ababouch *et al*., 1991) غلظت هیستامین در نمونه‌ها افزایش یافت و در روز دوازدهم به بالاترین میزان رسید (۷۰/۴ µg/g). در روزهای پانزدهم و هجدهم، هر چند که غلظت هیستامین نسبت به روز دوازدهم کمتر بود که بر طبق یافته‌های Sato *et al*., (1994) ناشی از رشد باکتری‌های تجزیه کننده هیستامین می‌باشد که سبب شده مقادیر هیستامین نسبت به روز دوازدهم کاهش یابد، اما مقادیر آن با روزهای اوایل دوره نگهداری (صفر، ۳ و ۶) به دلیل تولید هیستیدین بیشتر، رشد باکتری‌های دکربوکسیله‌کننده هیستیدین اختلاف معنی‌داری داشت. Guizani *et al*., (2005) اثر دماهای مختلف نگهداری را بر روی تولید هیستامین در ماهی تن‌زردباله (*Thunnus albacres*) بررسی نمودند، در این مطالعه هیستامین در نمونه‌های نگهداری شده در دمای صفر درجه سانتی‌گراد از همان روز اول، با میزان ۲/۷۸ mg/۱۰۰ g توسط دستگاه HPLC ردیابی شد، از روز هفدهم نگهداری در تمام نمونه‌ها یک کاهش به میزان ۰/۶۱ mg/۱۰۰ g تا پایان مراحل نگهداری مشاهده گردید که در مطالعه ما نیز در روزهای پایانی دوره نگهداری احتمالا بدلیل رشد باکتری‌های تجزیه کننده هیستامین در عضله ماهی هامور معمولی مقادیر هیستامین روند کاهشی نشان داد که با نتایج بدست آمده از این تحقیق همخوانی دارد. Taylor (1986) مطالعاتی را در زمینه اثر دمای نگهداری بر تشکیل هیستامین در گونه‌های مختلف ماهی انجام داد و یافت که هیستامین در ماهی نگهداری شده در دمای صفردرجه سانتی‌گراد یا دماهای پایین تر ازآن به میزان کمی تشکیل می‌شود. همچنین در مطالعه Chytiri *et al*. (2004)، هیستامین در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان کامل و فیله شده در مراحل پایانی

www.SID.ir

Archive of SID

نگهداری و با غلظت کمی مشاهده شد، آنها دلیل این غلظت‌های کم را پایین‌بودن بار انتروباکترها که به کمتر از ۶ log cfu/g رسیده بود و همچنین غلظت کم هیستیدین آزاد در عضله نمونه‌ها ذکر کردند. در مطالعه‌ای بر روی تغییرات آمین‌های‌بیوژن و رابطه آنها با بار میکروبی در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان در طی نگهداری در یخ به مدت ۱۸ روز توسط Montazri *et al.* (2005)، هیستامین از روز نهم توسط دستگاه HPLC با غلظت ۰/۳۷ µg/g ردیابی شد و میزان آن در آخرین روز نگهداری به ۱/۶۱ µg/g افزایش یافت. Dawood *et al.* (1988) اظهار داشتند که غلظت هیستامین در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان نگهداری‌شده در سرما (صفر درجه‌سانتی‌گراد) از کمتر از ۱ µg/g به ۴ µg/g افزایش یافت. غلظت پایین هیستامین در این نمونه‌ها احتمالا به دلیل وجود اندک هیستیدین، کم بودن بار باکتریایی مزوفیل در نمونه‌ها که تا روز ششم نگهداری تعداد آنها کمتر از ۲ log cfu/g بود و نیز احتمالا کاهش فعالیت‌های آنزیماتیکی می‌باشد. زیرا اغلب باکتری‌های دکربوکسیله‌کننده هیستامین در دماهای بالا قادرند که هیستیدین آزاد را دکربوکسیله نمایند. در صورتی که در تحقیق ما بر طبق آزمون رگرسیون خطی، هیستامین بیشترین ارتباط را باکتری‌های مزوفیل داشت (R=۰/۷۶)، و با افزایش آن، غلظت هیستامین افزایش یافته، و در روز پانزدهم نگهداری با کاهش بار باکتریایی مزوفیل، غلظت هیستامین نیز در نمونه‌ها کاهش نسبتاً زیادی (µg/g ۳۵/۲) نسبت به روز دوازدهم (µg/g ۷۰/۴) نشان داد. به طوری که غلظت هیستامین در روز پانزدهم، به نصف میزان آن در روز دوازدهم نگهداری، کاهش یافت.

از بین شاخص‌های میکروبیولوژیکی بار باکتریایی سرمادوست نسبت به باکتری‌های مزوفیل در اولین روز نگهداری کمتر بود ولی از روز سوم تعداد آنها افزایش یافت به‌طوری‌که از روز سوم نگهداری یک جهش بسیار بالایی نسبت به بقیه روزها در آن مشاهده گردید و از log cfu/g ۱/۳۷ در روز صفر به log cfu/g ۳/۱۵ در روز سوم افزایش یافت اما در بقیه روزها این افزایش نسبت به روزهای ما قبل خود زیاد چشمگیر نبود ولی این روند افزایشی تا پایان دوره آزمایش در نمونه‌ها ادامه داشت. باکتری‌های سرمادوست در طی دوره نگهداری در نمونه‌ها روند افزایشی را نشان دادند و در روزهای مختلف نگهداری اختلاف معنی‌داری از نظر بار باکتریایی سرمادوست در نمونه‌ها وجود داشت به طوری‌که میزان آن از log cfu/g ۱/۳۷ در روز صفر به log cfu/g ۷/۷۲ در روز هجدهم نگهداری که بالاتر از حد مجاز بود رسید. از نظر میکروب شناسی نشان داده شده است که ماهیان نگهداری شده در دمای صفردرجه سانتی گراد، غالباً درگیر باکتری‌های سایکروفیل یا سرمادوست هستند. نتایج بدست آمده از مطالعه Campos *et al* (2005) در ماهی ساردین (*Sardina pilchardus*) نگهداری شده در یخ آبکی ازون دار (ozonised slurry ice)، یخ آبکی (slurry ice) و یخ ورقه‌ای (flake ice) نشان داد که جمعیت باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت و به میزان 10^{6}-10^{7} cfu/g & cm^2 بعد از دو هفته نگهداری در یخ ورقه‌ای رسید. در مطالعه ما رشد سریع‌تر باکتری‌های سرمادوست نسبت به باکتری‌های مزوفیل نشان می‌دهد که این باکتری‌ها می‌توانند به طور قابل‌ملاحظه‌ای در فساد ماهی هامور معمولی در طی نگهداری در یخ نقش داشته باشند به طوری که در یافته‌های Olafsdottir *et al.* (2006)، Esaiassen *et al.* (2004)، Dalgaard *et al.* (1997)، نیز به خصوص حضور باکتری *Photobacterium phosphoreum* که از باکتری‌های سرمادوست می‌باشند، در سایر گونه‌های ماهی در حال فساد گزارش شده است. همچنین مطالعه Turhan *et al* (2001). بر روی زمان ماندگاری پاتی‌های (patties) آنچوی خام، شمارش کل بار باکتریایی پاتی آنچوی از 10^{4}cfu/g ×۱ در روز اول، به میزان 10^{7}cfu/g ×۵/۸ در روز دهم افزایش یافت، بار باکتریایی کل به حد بحرانی 10^{6} cfu/g در روز هشتم رسید. در تحقیقی توسط Joseph *et al.* (2004)، با بررسی مدت زمان ماندگاری ماهی شبه‌شوریده

www.SID.ir

Archive of SID

(*Pseudotolithus senegalensis*)، دریافتند که بار میکروبی اولیه در ماهی $۵/۳\times۱۰^{۳}$ counts/g گوشت بود. در طی نگهداری در یخ فلور باکتریهای Pseudomonas و جنس *Alteromonas putrefaciens* تعدادشان افزایش یافت و بیش از ۹۰٪ میکروفلوراهای فساد را تشکیل دادند. که نشان می دهد که در طی نگهداری در یخ، فساد معمولا بیشتر بوسیله‌این باکتریها اتفاق می افتد (Levin, 1968, Shewan, 1977).

بر طبق نتایج حاصل از بار باکتریایی و با توجه به حد استاندارد تعیین شده آنها در ماهیان (بار باکتریایی cfu/g $۱۰^{۶}$ - $۱۰^{۷}$، هیستامین ۱۰ mg/۱۰۰g) می‌توان گفت که ماهیان هامور معمولی نگهداری شده در یخ در روز هجدهم در مرحله فساد می‌باشند. البته هیچ وقت نمی‌توان پیش‌بینی دقیقی را در مورد ماندگاری غذاها و فساد آنها ارائه داد چرا که میزان فساد ماهی به چندین فاکتور بستگی دارد که مهمترین آنها دما، شیوه عمل آوری و شرایط نگهداری می‌باشد. همچنین فاکتورهایی مثل گونه ماهی، میزان چربی، اندازه ماهی، فصل و منطقه صید نیز در روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و فیزیکی و در نتیجه کیفیت آن تأثیر دارند. و از طرفی حد استانداردهای تعیین شده نیز در منابع مختلف همان‌طور که ذکر گردید، متفاوت می‌باشند. معمولا هیچ نوع روشی به تنهایی نمی‌تواند روش قابل اطمینانی برای ارزیابی تازگی و فساد در غذاهای‌دریایی باشد، بنابراین استفاده توأم از روش‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی، بیوشیمیایی و فیزیکی و غیره می‌تواند اطلاعات جامع و مفیدتری را برای تعیین کیفیت و چگونگی فساد و مراحل آن در ماهیان و سایر فرآورده‌های دریایی فراهم نماید.

منابع

- Ababouch, L., Afilal, MN., Benabdeljelil, H., and Busta. FF., 1991. Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchards*) stored at ambient temperature and ice. Internatinal Journal of Food Science Technology, 26, 297-306.

- American Public Health Association., 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of - Foods, 2nd ed. APHA, Washington, DC.

- Banja, B., 2002. Shelf life trial on Cod (*Gadus morhua*) and Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stored on ice around 0^{o}c. United Nations University (UNU) Fisheries Training programme Marine Research Institute (MRI), Reykjavik, Iceland.

- Campos, C.A., Rodriguez, O., Losada, V., Aubourg, S.P., Barros-Velaquez, J., 2005. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). International Journal of Food Microbiology, 103, 121– 130.

- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiology, 21, 157–165.

- Cinquina, A.L., Longo, F., Cali, A., De Santis, L., Baccelliere, R., and Cozzani, R., 2004. Validation and comparison of analytical methods for the determination of histamine in tuna fish samples. Journal of Chromatography A, 1032, 79–85.

- Dalgaard, P., O. Mejlholm, T.J. Christiansen, Huss., H.H., 1997. Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere-packaged fish products. Letters in Applied Microbiology. 24:373–378.

- Dawood, A.A., Karkalas, J., Ray, R.N., Williams, C.S., 1988. The occurrence of Non-volatile Amine in Chilled-stored Rainbow trout (*Salmo irideus*). Food Chemistry, 27:33-45

- Esaiassen, M., Nilsen, H., Joensen, S., Skjerdal, T., Carlehog, M., Eilertsen, G., Gundersen, B., Elvevoll, E., 2004. Effects of catching methods on quality changes during storage of cod (*Gadus morhua*). Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 37, 643–648.

- Fazlara, A., 2005. Hygienic principle in holding and distribution center of food Research and Agricultural Training Center of Iran, 120pp.

www.SID.ir

Archive of SID

- FDA., 1998. FDA and EPA guidance levels. In: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide, 2nd Edition, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, pp. 245–248, Appendix 5.

- Gram, L., Huss, H. H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology, 33, 121–137.

- Guizani, N., Al-Busaidy, M.A., Al-Belushi, I.M., Mothershaw, A., Shafrur Rahman, M., 2005. The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). Food Research International, 38, 215–222.

- Heemstra, P.C., and Randall, J.E., 1993. Groupers of the world. FAO Species Catalogue. FAO Fisheries Synopsis No. 125. vol. 16. Food and Agriculture Organization, Rome, 382pp.

- Hosseini, A., 2007. Biogenic amines changes and relation with bacterial count in croaker fish (*Otholithes ruber*) during ice storage. M.Sc thesis. Fisheries Department. Khoramshahr University of Marine Science and Technology, 85 pp.

- Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I., and Fritz, R., 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). LWT 39, 99–104.

- ISIRI., 1999. Permitted limit of microbial pollution in meat. 2nd ed. Institute of Standard and Industrial Research of Iran, No 2394.

- ISIRI., 2001. Principle of microbiological laboratory methods. Institute of Standard and Industrial Research of Iran, No 2325.

- ISIRI. ,2001. The counting methods of psychrophilic and psychrotrophic bacteria. 2nd ed. Institute of Standard and Industrial Research of Iran, No 2625.

- Joseph, O., and Adnes, O., 2004. Storage life of croaker (*Pseudotholitus senegalensis*) in ice and ambient temperature. African Journal of Biomedical Research, 7, 13– 17.

- Kagawa, Y. (Ed.)., 2000. Standard table of food composition in Japan. Nutrition University Publishing Division, Tokyo, 316–335 pp.

- Lehane, L., Olley, J., 2000. Histamine fish poisoning revisited. International Journal of Food Microbiology, 58, 1–37.

- Levin, R.E., 1968. Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria on fish. I. methodology. Applied Microbiology., 16, 1734-1737.

- Mietz, J.L., Karmas, E., 1978. Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster and shrimp as an indicator of decomposition. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 61, 139–145.

- Montazeri, N., 2005. Determination of biogenic amines and its relation with bacterial count in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) during ice storage. M.Sc thesis. Fisheries Department. Islamic Azad University Of Lahijan, 52 pp.

- Olafsdottir, G., Lauzon, H.L., Martinsdottir, E., Kristbergsson, K., 2006. Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. International Journal of Food Microbiology, 111, 112–125.

- Ozogul, Y., Ozyurt, G., Ozogul, F., Kuley, E., Polat, A., 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry, 92, 745–751.

- Razavi Shirazi, H., 1994. Seafood products technology, handling and processing. No 1. Shilateh Co., Iran, 353-380 pp.

- Rezaei, M., Montazeri, N., Langrudi, H.E., Mokhayer, B., Parviz M., Nazarinia, A., 2007. The biogenic amines and bacterial changes of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice. Food Chemistry, 103, 150-154.

- Rezaei, M., Jafari, H., Sahari, M.A., Hosseini, H., Montazeri, N., Parviz, M., and Nazarinia, A., 2007. Relation of biogenic amines and bacterial changes in ice storage southern Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). Food Biochemistry, 31, 541-550.

www.SID.ir

Archive of SID

- Rossano, R., Mastrangelo, L., Ungaro, N., and 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. Journal of Chromatography B, 830, 161–164.

- Ruiz-Capillas, C., and Moral, A., 2001. Production of biogenic amines and their potential use as quality indices for Hake stored in ice. Journal of Food Science, 66, 1030-1032.

- Sato, T., Fujii, T., Masuda, T., and Okuzumi, M., 1994. Changes in numbers of histamine – metabolic bacteria and histamine content during storage of common mackerel. Fisheries Science, 60, 299–302.

- Shewan J. M., 1977. The Bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial sections. In: handling, processing and marketing of tropical fish. London, Tropical products institute, pp 51 – 66.

- Taylor, S., 1986. Histamine food poisoning: toxicity and clinical aspects—a review. CRC—Critical Reviews in Toxicology, 17, 91– 128.

- Turhan, S., Evren, M., Yaziki, F., 2001. Shelf-Life of Refrigerated Raw Anchovy (*Engraulus encrasicholus*) Patties. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18, 391-398.

www.SID.ir

Archive of SID

A study on histamine and bacterial changes in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* during ice storage

S. Bita[1], H. Najafzadeh Varzi[2], P. Kochanian[3] , A. Fazlara[2] and T. Mohammadian[4]
[1] Fisheries Department of Chabahar maritime and marine Science University, I.R. Iran
[2] Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, I.R. Iran
[3] Fisheries Department of Khorramshahr marine Science University, I.R. Iran
[4] Ph.D Student of Aquatic Health of Faculty of Veterinary, Shahid Chamran University, I.R. Iran
(Received: 31 January 2010, Accepted: 14 December 2011)

Abstract
In this study changes in histamine, mesophilic and psychrophilic bacteria as quality control indices in orange-spotted groper, *Epinephelus coioides* during ice storage were investigated. Histamine as chemical quality indices at first day was not detected, however histamine initially increased during storage period, but since 15th day, it showed significant decrease, that was going on until the end of the period. There was a significant difference between histamine concentration at first and last day of storage ($P < 0.05$). Mesophilic and psychrophilic bacteria were increased during storage, whereas mesophilic bacteria count decreased at day 15 of storage. Microbiologcal indices at first and last day of storage showed significant difference ($P < 0.05$). At end of the storage days psychrophilic bacteria count reached above 7/72 log cfu/g. These value showed that fishes become inconsumable for human at day 18th when total psychrophilic bacterial count reached above the limit determined by ICMSF.

Keywords: Histamine, Quality control, Bacterial count, Ice, Orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*

*Corresponding author: Tel: +98 937 0046656 , Fax: +98 545 2224264 , E-mail: bitaf79@gmail.com

www.SID.ir