اندازه‌گیری میزان هیستامین و تعیین باکتری‌های تولیدکننده آن در تون ماهی هوور منجمد

ولی اله کوهدار[1*]، ودود رضویلر[2]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، کرج، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، استاد گروه بهداشت مواد غذایی، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: dr.koohdar@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۱/۲/۱۲ پذیرش نهایی: ۹۱/۸/۲۴)

چکیده

ماهی از جمله غذاهایی با قابلیت فساد بالا می‌باشد که در صورت نگه‌داری نامناسب، بلافاصله پس از مرگ دچار فساد می‌شود. مصرف ماهیان فاسد باعث ایجاد اپیدمی‌های مسمومیت غذایی از جمله مسمومیت هیستامینی می‌گردد. عوامل ایجادکننده مسمومیت هیستامینی آمین‌های بیوژن می‌باشند که بوسیله گونه‌های مختلفی از باکتری‌ها تولید می‌شوند. هدف از این تحقیق، اندازه‌گیری میزان هیستامین و شناسایی باکتری‌های تولیدکننده آن در تون ماهی هوور صید شده از آب‌های جنوبی ایران بود. برای این منظور عضلات اطراف آبشش‌های ۲۵ نمونه تون ماهی هوور منجمد مورد آزمایشات میکروبی و تعیین میزان هیستامین قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، میانگین ± انحراف معیار شمارش کلی میکروبی و شمارش سرماگراها به ترتیب ۰/۲۶ ± ٤/٨١ و Log CFU/g ۰/۲۵ ± ٤/٦٦ بود. باکتری‌های مختلفی به عنوان باکتری‌های تولیدکننده هیستامین شناسایی شدند. از میان آنها، *کلستریدیوم پرفرینجنس* با ۲٤/٤ درصد، بیشترین فراوانی را داشت و به دنبال آن گونه‌های پروتئوس با ۲۳/۰، گونه‌های کلبسیلا با ۱۳/۹ و گونه‌های انتروباکتر با ۱۱/۱ درصد، در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. میزان هیستامین در ٦٥/۰ درصد از نمونه‌های مورد آزمون بیش از حداکثر مقدار مجاز ppm ۵۰ بود. این موضوع بیانگر وجود خطرات بهداشتی در طی پروسه‌های صید و پس از صید تون ماهی هوور می‌باشد.

واژه های کلیدی: **مسمومیّت هیستامینی، ماهی هوور، باکتری‌های مولد هیستامین، اندازه‌گیری هیستامین**

مقدمه

تون ماهیان تازه صید شده معمولاً فاقد هیستامین بوده و یا مقادیر ناچیزی از هیستامین را دارا می‌باشند، اما پس از فاسد شدن، میزان هیستامین موجود در آنها افزایش می‌یابد. ماهیان این خانواده، مقادیر بالایی از هیستیدین آزاد را در عضلات دارا بوده و اگر تحت شرایط نامناسب، صید و نگه‌داری شوند، در اثر آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز تولید شده بوسیله باکتری‌ها، هیستامین از هیستیدین آزاد تولید خواهد شد (Mlcneryey et al., 1996). مصرف ماهیان سرد و

Archive of SID
www.SID.ir

منجمد فاسد شده و یا فرآورده‌های آنها که حاوی مقادیر زیادی هیستامین می‌باشند، علت اصلی مسمومیّت هیستامینی می‌باشد (Choudhury et al., 2008). مسمومیّت هیستامینی، یک مسمومیّت شیمیایی غذازاد می‌باشد و معمولاً یک مسمومیّت خفیف و ملایم بوده و با علائمی نظیر سردرد، جوش‌های پوستی، خارش، کهیر، التهاب موضعی، سوزش دهان و علائم گوارشی همراه است (Lehane and Olley, 2000).

باکتری‌های زیاد و متنوعی توانایی تولید آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز را داشته و قادر به تولید هیستامین می‌باشند. بطور کلی آنزیم‌های دکربوکسیله کننده اسیدهای آمینه مخصوصاً آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز، در برخی از گونه‌های انتروباکتریاسه، لاکتوباسیلوس‌ها، پسودوموناس‌ها، ویبریوها، کلستریدیوم و فوتوباکتریوم یافت می‌شود؛ اما باکتری‌های انتروباکتریاسه نقش مهمی را در تولید این آنزیم ایفاء می‌کنند (Ababouch and Afilal, 1991; Middlebrooks et al., 1988; Lehane and Olley, 2000). عواملی نظیر گونه ماهی، فصل صید، نحوه صید، شرایط نگه‌داری ماهی از نظر دما و زمان، منطقه جغرافیایی، میزان شوری و دمای آب و فرآیندهای پس از صید بر میزان و تنوع باکتری‌های تولیدکننده هیستامین تأثیرگذار می‌باشند (Yoshinaga and Frank, 1982). تون ماهی هوور صید شده از آبهای خلیج فارس و دریای عمان که متعلق به خانواده اسکومبروئیده بوده و میزان صید آن در طی سال‌های اخیر به بیش از ۳۰ هزار تن رسیده، برای انجام تحقیق انتخاب گردید (Iranian Fisheries Organization, 2010). این ماهی حاوی بیش از هزار میلی‌گرم اسید آمینه هیستیدین در هر صدگرم گوشت می‌باشد (Takagi et al., 1969) و لذا پتانسیل ایجاد مسمومیت هیستامینی را دارا می‌باشد. این تحقیق جهت تعیین میزان هیستامین موجود در تون ماهی هوور منجمد و همچنین بررسی انواع باکتری‌های مولّد آن انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در این مطالعه مقطعی، تعداد ۲۵ نمونه تون ماهی هوور موجود در یکی از شرکت‌های کنسروسازی فعال استان تهران، با روش نمونه‌برداری تصادفی ساده، مورد نمونه‌برداری قرار گرفت و بدلیل اینکه عضلات اطراف آبشش‌های ماهی، یکی از قسمت‌هایی است که بیشترین آلودگی میکروبی و هیستامینی را دارا می‌باشد (Taylor and Speckhard, 1983)، نیم کیلوگرم از این قسمت، جهت انجام آزمون‌های میکروبی و همچنین تعیین میزان هیستامین موجود، تحت شرایط استریل نمونه‌برداری و به آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی ارسال گردید.

آماده سازی نمونه‌ها

پس از پوست‌کنی و جداسازی استخوان‌های ماهیان مورد مطالعه، گوشت باقی‌مانده بدون اضافه کردن ماده رقیق‌کننده به داخل مخلوط‌کن منتقل گردید و به مدت چند دقیقه، عمل مخلوط کردن به منظور ایجاد یک مخلوط یکنواخت انجام شد. از مخلوط همگن شده با استفاده از پیپتون واتر استریل، به نسبت ۱ به ۱۰ رقت اولیه تهیه و از رقت ۰/۱، رقت‌های موازی ده برابر بعدی تا رقت 10^{-5} (برای شمارش کلی میکروبی، سرماگراها) و 10^{-3} (برای شمارش انتروباکتریاسه و بی‌هوازی ها) تهیه شد.

www.SID.ir

انجام آزمون‌های میکروبی

به منظور شمارش کلی میکروبی، سرماگراها و بی‌هوازی‌ها، کشت مخلوط با استفاده از محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار (TSA) انجام شد و پلیت‌ها به ترتیب در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت، ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز و ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٤۸ ساعت قرار گرفتند. شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه با استفاده از محیط VRBA پس از گرم‌خانه‌گذاری در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت انجام شد.

شمارش باکتری‌های مولّد هیستامین، بوسیله محیط کشت نیون (Niven et al., 1981) و محیط کشت تغییر یافته نیون (Yoshinaga and Frank, 1982) انجام شد. این محیط‌ها بصورت دست‌ساز بوده و با فرمولاسیون ارائه شده (Niven et al., 1981; Yoshinaga and Frank, 1982) تهیّه شدند. پس از تهیّه این محیط‌ها، تعداد ٦ پلیت خالی برای هر کدام از رقت‌های (10^{-1} تا 10^{-3}) در نظر گرفته شد و با استفاده از محیط کشت نیون و یا محیط کشت تغییر یافته نیون به صورت کشت مخلوط دو لایه و دوبل تهیّه کشت انجام شد؛ پس از آن، ۲ عدد پلیت حاوی محیط کشت نیون در گرم‌خانه ۳۷°C به مدت ٤۸ ساعت، ۲ عدد پلیت حاوی محیط کشت نیون در گرم‌خانه ۲۰°C به مدت ۵ روز (تحت شرایط هوازی با استفاده از جار و گازپک) و ۲ عدد پلیت حاوی محیط کشت تغییر یافته نیون در ۳۷°C به مدت ٤۸ ساعت (تحت شرایط بی‌هوازی) قرار گرفتند. کلنی‌هایی که دارای هاله بنفش در محیط کشت نیون بوده و یا دارای هاله صورتی در محیط کشت تغییر یافته نیون بودند، بعنوان باکتری‌های تولیدکننده آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز شمارش شدند. با استفاده از محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار حاوی یک درصد ایزومر L- هیستیدین هیدروکلراید و با pH برابر ٦، از هرکدام از کلنی‌های شمارش شده، تهیه کشت ایزوله انجام شد و سپس باکتری‌های تولید کننده آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز با استفاده از خصوصیاتی نظیر تست کاتالاز، تخمیر کربوهیدرات‌ها، تست‌های بیوشیمیایی، مورفولوژی کلنی‌ها و غیره توصیف شده در کتاب باکتری‌شناسی برگی (Holt et al., 1994)، مورد شناسایی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان هیستامین

میزان هیستامین موجود در نمونه‌ها با روش الایزا (ELISA) اندازه‌گیری شد (Onal, 2007) زیرا مشخص گردیده که روش الایزا همبستگی خوبی با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در تعیین میزان هیستامین دارد (Marcobal et al., 2005). از کیت مخصوص اندازه‌گیری هیستامین در ماهیان اسکومبروئیدی، بنام کیت وراتوکس مربوط به شرکت نئوژن برای این منظور استفاده شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS (ver.16) استفاده شد. به منظور بدست آوردن همبستگی بین شاخص میزان هیستامین و شاخص‌های میانگین تعداد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین و میانگین تعداد انتروباکتریاسه تولیدکننده ابتدا نمونه‌های تون ماهی هوور بر اساس مقدار هیستامین به ۳ گروه ۲۰ ppm>، ۲۰-۵۰ ppm، ۵۰ppm < تقسیم شد و میانگین تعداد باکتری‌های تحت مطالعه با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در بین سه گروه مقایسه شد.

Archive of SID
www.SID.ir

یافته‌ها

نتایج مقادیر حدّاقل، حدّاکثر و میانگین ± خطای معیار شمارش کلی میکروبی، سرماگراها، بی‌هوازی‌ها، انتروباکتریاسه، باکتری‌های مولد هیستامین و باکتری‌های انتروباکتریاسه مولد هیستامین مربوط به ۲۵ نمونه هوور مورد آزمون در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول ۱: مقادیر حدّاقل، حدّاکثر و میانگین ± خطای معیار آزمون‌های میکروبی (Log_{10} CFU/g) در ۲۵ نمونه تون ماهی هوور

شاخص	حداقل	حداکثر	خطای معیار ± میانگین Mean ± SE
شمارش کلی میکروبی	۳/۰۵	٦/۸۹	٤/۸۱±۰/۲٦
شمارش سرماگراها	۲/۹۵	٦/۷٤	٤/٦٦±۰/۲۵
شمارش بی‌هوازی‌ها	۱/۰	۳/۷۲	۲/٤۳±۰/۱۷
شمارش انتروباکتریاسه	۱/۷۰	۳/۹۷	۲/٦٦±۰/۱۳
شمارش باکتری‌های مولّد هیستامین	۱/۷۸	۳/۲٦	۲/٤۵±۰/۱۱
شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه مولّد هیستامین	۱/٤۰	۳/۱۱	۲/۲۲±۰/۱۳

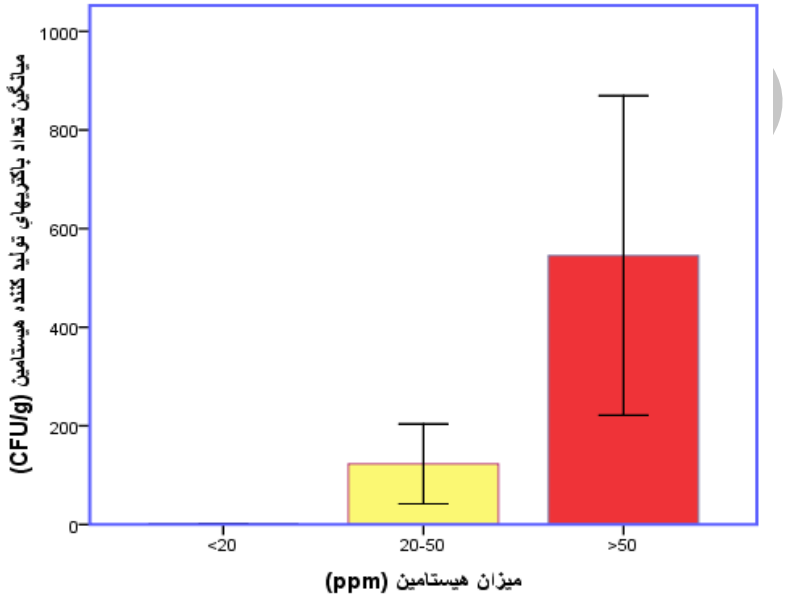
انواع باکتری‌های مولّد هیستامین جداشده از تون ماهی هوور در جدول شماره ۲ آمده است. از میان باکتری‌های مولد هیستامین جدا شده، *کلستریدیوم پرفرینجنس* با ۲٤/٤ درصد، گونه‌های پروتئوس با ۲۳ درصد، گونه‌های کلبسیلا با ۱۳/۹ درصد و گونه‌های انتروباکتر با ۱۱/۱ درصد بیشترین میزان فراوانی را به خود اختصاص دادند.

جدول۲: انواع باکتری‌های جداشده و میزان فراوانی آنها در تون ماهی هوور

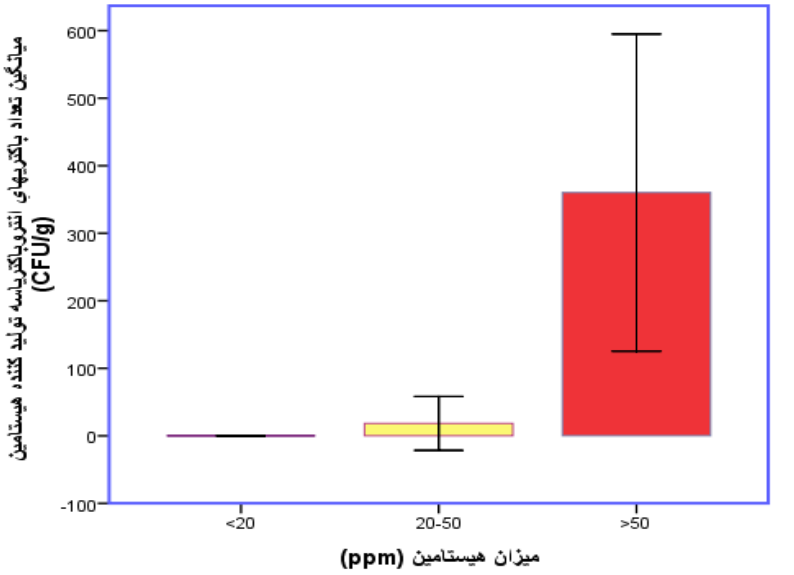
نوع باکتری	تعداد باکتری جدا شده	میزان فراوانی ٪
آئروموناس هیدروفیلا	۱۹۰	۲/٦
انتروباکتر آئروجنز	۵۰۵	٦/۷
انتروباکتر کلواسه	۳۳۰	٤/٤
اشریشیا کولای	۱۰۵	۱/٤
پروتئوس میرابیلیس	۹۲۵	۱۲/٤
پروتئوس وولگاریس	۷۹۰	۱۰/٦
سراتیا مارکسنس	٦۵	۰/۹
سودوموناس آئروجینوزا	۲٦۰	۳/۵
سودوموناس فلورسنس	٤۵۰	٦/۰
سیتروباکتر فروندای	٤۲۵	۵/۷
کلبسیلا نومونیا	۸٤۰	۱۱/۳
کلبسیلا اوکسی توکا	۱۹۰	۲/٦
کلستریدیوم پرفرینجنس	۱۸۲٤	۲٤/٤
مورگانلا مورگانی	۵٦۰	۷/۵
مجموع	۷٤۵۹	۱۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

نمودارهای شماره ۱ و ۲ میانگین تعداد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین و باکتری‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده هیستامین را در مقادیر مختلف هیستامین در تون ماهی هوور مورد مطالعه نشان می‌دهند. با افزایش میانگین تعداد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین و باکتری‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده هیستامین، میزان هیستامین موجود در تون ماهی هم افزایش یافت. با انجام آنالیز آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه نیز اختلاف آماری معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین میانگین تعداد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین و همچنین باکتری‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده هیستامین در سطوح مختلف هیستامین مشاهده شد.



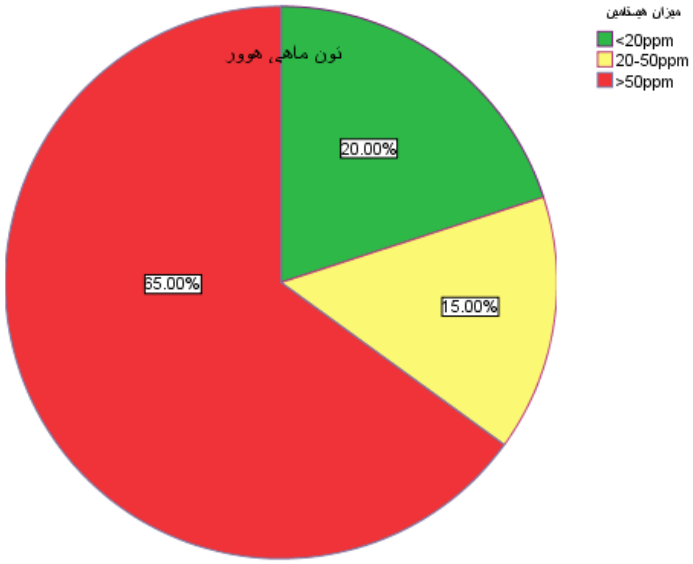
نمودار ۱: میانگین تعداد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین در نمونه‌های تون ماهی هوور دارای مقادیر مختلف هیستامین



نمودار ۲: میانگین تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده هیستامین در نمونه‌های تون ماهی هوور دارای مقادیر مختلف هیستامین

www.SID.ir

کمترین میزان هیستامین در نمونه‌های مورد آزمون ۱۱/۰، بیشترین آن ۱۸۹/۳ و میانگین± انحراف معیار آن ۷۱/٦±۱۱/۱ppm محاسبه گردید. میزان فراوانی هیستامین در مقادیر کمتر از ۲۰، بین ۲۰ تا ۵۰ و بیش از ۵۰ppm در نمودار شماره ۳ آمده است.



نمودار ۳: درصد نمونه‌های حاوی مقادیر مختلف تعریف شده هیستامین در نمونه‌های آزمایش شده

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس استانداردهای میکروبی ارائه شده توسط کمیته بین‌المللی خصوصیات میکروبی مواد غذایی، حد مجاز شمارش کلی میکروب‌های هوازی در هر گرم از نسج ماهیان تازه، دودی سرد و منجمد در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس (شمارش سرماگراها)، کمتر از 10^5CFU/g تعیین شده است. این میزان تا CFU/g 5×10^5 نیز قابل قبول می‌باشد؛ ولی مدت زمان حفظ و نگه‌داری این چنین ماهیانی محدودتر خواهد بود. مقادیر بالای CFU/g 5×10^5 در هر گرم از نسج غیرقابل قبول می‌باشد. در بیشتر آبزیان خوراکی خام، تعداد باکتری‌های مزوفیل باید یک دهم تعداد باکتری‌های سرماگرا باشد (Connell, 1995). با توجه به نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی و شمارش سرماگراها، میانگین شمارش کلی میکروبی در ۵۵ درصد از نمونه‌های تون ماهی هوور بیش از حد استاندارد موجود می‌باشد. در مورد باکتری‌های سرماگرا، میانگین شمارش این باکتری‌ها در نمونه‌های تون ماهی هوور بیش از حد مجاز بوده و در۲۰ درصد از آنها، شمارش سرماگراها بیش از حد استاندارد است.

مقادیر هیستامین به طور معنی‌داری از نظر آماری ($p<0/05$) در نمونه‌هایی که شمارش باکتری‌های تولیدکننده آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز بالایی داشتند، بالا بود. میانگین تعداد این باکتری‌ها درحدود ۰/۰٤ درصد میانگین شمارش کلی میکروبی محاسبه گردید. Lopez-Sabater و همکاران (۱۹۹٦) میزان شیوع باکتری‌های تولیدکننده هیستامین را همواره کمتر از ۰/۱ درصد شمارش کلی میکروبی گزارش نمودند.

www.SID.ir

Ababouch و Afilal (۱۹۹۱) این میزان را کمتر از ۱/۰ درصد شمارش کلی میکروبی گزارش نمودند (Ababouch and Afilal, 1991).

با توجه به نتایج آنالیز آماری واریانس یک‌طرفه، بین پارامترهای میزان هیستامین موجود در تون ماهی مورد مطالعه و شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه، ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). با افزایش تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه تولیدکننده هیستامین، میزان هیستامین موجود در ماهی هم افزایش می‌یافت. میانگین تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در ٦٥ درصد تون ماهی مورد مطالعه که حاوی مقادیر بالایی از هیستامین (بیش از ۵۰ppm) در عضلات بودند، $۳/٦\times۱۰^{۲}$ CFU/g شمارش شد.

باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه از مهمترین باکتری‌های تولیدکننده هیستامین در ماهی محسوب می‌شوند (Frank et al., 1985). در تحقیق حاضر ٦۳/۵ درصد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین در تون ماهی هوور، جزو خانواده انتروباکتریاسه بود. Lopez-Sabater و همکاران (۱۹۹٦) گزارش کردند که ۸۳ درصد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین جزو خانواده انتروباکتریاسه می باشند. در گزارش دیگری که توسط Lopez-Sabater و همکاران در سال ۱۹۹٤ منتشر شده، آمده است که تمام باکتری‌های تولیدکننده هیستامین جدا شده در تحقیق آنها، گرم منفی بوده و از ٤۰ ایزوله باکتریایی جدا شده در محیط نیون، ۷۷/۵ درصد از باکتری‌ها، جزو خانواده انتروباکتریاسه بوده‌اند. به این نکته باید توجه نمود که در مطالعات Lopez-Sabater و همکاران فقط باکتری‌های هوازی تولیدکننده هیستامین مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و باکتری‌های بی‌هوازی تولید کننده هیستامین نظیر *کلستریدیوم پرفرینجنس* مورد توجه قرار نگرفته است.

کلستریدیوم پرفرینجنس نیز یکی از باکتری‌های مهم در تولید هیستامین محسوب می‌شود و حضور آن در نمونه‌های مورد آزمون، اغلب با مقادیر بالای هیستامین همراه بود. ٢٤/٤ درصد از باکتری‌های تولیدکننده هیستامین جدا شده در نمونه‌های تون ماهی هوور مربوط به *کلستریدیوم پرفرینجنس* بود. در گزارشی، ۵۰ درصد باکتری‌های تولیدکننده هیستامین جدا شده از تون ماهیان، از جنس *کلستریدیم پرفرینجنس* بودند (Yoshinaga and Frank, 1982).

تمام باکتری‌های تولیدکننده هیستامین جدا شده در این مطالعه، قبلاً بوسیله سایر محققین نیز گزارش شده‌اند (Tsai et al., 2004; Choudhury et al., 2008; Middlebrooks et al., 1988; Lopez-Sabater et al., 1994; Kim et al., 2001; Frank et al., 1985; Yoshinaga and Frank, 1982). با توجه به تقسیم‌بندی انجام شده توسط Behling و Taylor (۱۹۸۲) در خصوص باکتری‌های تولیدکننده هیستامین (Behling, and Taylor, 1982)، باکتری‌هایی نظیر *کلستریدیوم پرفرینجنس*، *مورگانلا مورگانی*، گونه‌های پروتئوس، گونه‌های کلبسیلا و گونه‌های انتروباکتر که قدرت تولید مقادیر زیاد هیستامین را دارا هستند، در گروه تولیدکنندگان عمده هیستامین قرار می‌گیرند. این گروه از باکتری‌ها در نمونه‌هایی که حاوی مقادیر بالایی از هیستامین در عضلات بودند، در مقیاس بالایی جدا شدند. با مقایسه شیوع انواع باکتری‌های تولیدکننده هیستامین در تون ماهی هوور، مشخص گردید که *کلستریدیوم پرفرینجنس* با ٢٤/٤ درصد، گونه‌های پروتئوس با ۲۳/۰ درصد، گونه‌های کلبسیلا با ۱۳/۹

Archive of SID
www.SID.ir

درصد، گونه‌های انتروباکتر با ۱۱/۱ درصد و *مورگانلا مورگانی* با ۷/۵ درصد فراوانی در گروه یک تقسیم‌بندی قرار دارند. از طرف دیگر سایر گونه‌های جدا شده نظیر *سیتروباکتر فروندای*، *سراتیا مارکسنس*، *اشریشیا کولای*، *آئرومونا‌س هیدروفیلا* و گونه‌های سودو موناس در گروه تولیدکنندگان کم هیستامین قرار گرفتند.

میزان هیستامین در ماهیان تازه معمولاً کمتر از ۲ppm می باشد. مقادیر بین ۲۰ تا ۵۰ppm نشان‌دهنده فساد ماهی می‌باشد و میزان ۵۰ppm به عنوان دوز فعال مطرح می‌باشد که باعث غیرقابل مصرف شدن محصولات ماهی می‌شود (Codori and Marinopoulos, 2010; FDA, 1998). بر این اساس، این تحقیق نشان داد که ۲۰/۰، ۱۵/۰ و ٦۵/۰ درصد از تون ماهیان مورد آزمون به ترتیب حاوی مقادیر کمتر از ۲۰، بین ۲۰ تا ۵۰ و بیش از ۵۰ppm هیستامین در عضلات اطراف آبشش می‌باشند.

در گزارش Kamkar و همکاران (۲۰۰٤) آمده است که در ٤۱/۲۵ درصد نمونه‌های کنسرو تون ماهیان، میزان هیستامین بالاتر ازحد مجاز (۵۰ppm) می‌باشد (Kamkar, et al., 2004). همچنین در گزارش Hosseini و همکاران (۲۰۰۷) آمده که ٤٤/۳ درصد کنسروهای تون ماهیان مورد آزمون حاوی مقادیر بیش از حد مجاز بوده‌اند (Hosseini et al., 2007). با توجه به این تحقیقات و تحقیق حاضر، مسمومیت هیستامینی در کشور ایران اتفاق می‌افتد ولی به دلیل طبیعت ملایم بیماری و عدم تشخیص دقیق آن، گزارشی از موارد بیماری وجود ندارد. نتایج این تحقیق نشان داد که مخاطرات بهداشتی در روش‌های صید و فرآیندهای پس از صید مورد استفاده در صنعت تهیه کنسرو از تون ماهی هوور وجود دارد و استفاده دقیق از روش‌های مناسب پیشگیری تولید هیستامین و سایر آمین‌های بیوژن ضروری به نظر می‌رسد. از آنجا که اغلب باکتری‌های تولیدکننده هیستامین از خانواده انتروباکتریاسه و همچنین جنس کلستریدیوم بوده و اکثر سویه‌های آنها در گروه تولیدکنندگان عمده هیستامین قرار دارند، مدیریت در مراحل مختلف صید و فرآیندهای پس از آن، جهت جلوگیری از آلودگی متقاطع بوسیله این باکتری‌ها و نگه‌داری و حمل و نقل تون ماهیان در شرایط زمانی و دمایی مناسب (کمتر از ٤°C) به منظور جلوگیری از رشد و تکثیر این میکروارگانیسم‌ها و نتیجتاً کاهش شکل‌گیری هیستامین الزامی می‌باشد.

Archive of SID

منابع

- Ababouch, I. and Afilal, M.E. (1991). Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine stored in ice and at ambient temperature (25°C). Food Microbiology, 8:127-136.
- Behling, A.R. and Taylor, S.L. (1982). Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. Journal of Food Science, 47: 1311-1314.
- Choudhury, M., Kumar Sahu, M., Sivakumar, K., Thangaradjou, T. and Kannan, L. (2008). Inhibition of Actinomycetes to histamine producing bacteria associated with Indian Mackerel fish (*Rastrellinger kanagurata* Cuvier, 1816). Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3(2): 126-136.
- Codori, N. and Marinopoulos, S. (2010). Scombroid Fish Poisoning After Eating Seared Tuna. Southern Medical Journal, 103(4): 382-384.

www.SID.ir

- Connell, J.J. (1995). Control of fish quality. Fishing News Books. Fourth Edition, pp. 105-127.
- 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, Appendix 5, pp. 245-248.
- Frank, H.A., Baranowski, J.D., Chongsiriwatana, M., Brust, P.A. and Premaratine, R.J. (1985). Identification decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) after incubation at 0 and 30°C. International Journal of Food Microbiology, 2: 331-340.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th Edition, Baltimore. Williams and Wilkins.
- Hosseini, H., Keshsvarz, S.S., Pirali, P., Khaksar, R., Abasi, M., Fekri, M., Shafaian, S., Bagherzadeh, Z. and Tahmoozi, S. (2007). Study of histamin content in canned tuna fish produceds in iran by ELISA method. Journal of Food Sciences and Technology, 1(2): 77-84[In Farsi].
- Iranian Fisheries Organization. (2010). The rate of catched fish in Iran. Unit of statistics. Office of program and budget, pp. 21-26[In Farsi].
- Kamkar, A., Hosseini, H. and Abuhossein, G. (2004). A study of histamine contents of canned tuna and sardine of Iran. Research and Creativity in animal and marine, 62: 44-50[In Farsi].
- Kim, S., An, H. and Price, R.J. (2001). Isolation and characterization of histamine-producing bacteria in albacore. International Fishery Trade. Annual meeting, Astoria Oregon: Oregan State University Press.
- Lehane, L. and Olley, J. (2000). Histamine fish poisoning revisited. International Journal of Food Microbiology, 58: 1-37.
- Lopez-Sabater, E.I., Rodriguez-Jerez, J.J., Hernandez-Herrero, M. and Mora-Ventura, M.T. (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(3): 411-418.
- Lopez-Sabater, E.I., Rodriguez-Jerez, J.J., Hernandez-Herrero, M. and Morana-Ventura, M.T. (1994). Evaluation of histidine decarboxylase activity of bacteria isolated from sardine (*Sardina Pilchardus*) by an enzymic method. Letters in Applied Microbiology, 19: 70-75.
- Marcobal, A., Polo, M.C., Martín-Álvarez, P.J. and Moreno-Arribas, M.V. (2005). Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. Food Research International, 38: 387-394.
- Middlebrooks, B.L., Toom, P.M., Douglas, W.L., Harrison, R.E. and McDowell, S. (1988). Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scombeomorus maculates*). Journal of Food Science, 53(4): 1024-1029.
- Mlcneryey, J.M.D., Sahgal-Punnet, M.D., Vogel-Mitchell, M.D. and Jones-Ernesto, M.D. (1996). Scombroid poisoning. Annals of Emergency Medicine, 28(2): 235-238.
- Niven, C.F., Jeffrey, M.B. and Corlett, D.A. (1981). Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. Applied Environmental Microbiology, 41(1): 321-322.
- Onal, A. (2007). Current analytical methods for determination of biogenic amines in foods. Food Chemistry, 103: 1475-1486.
- Takagi, M., Iida, A., Murayama, H. and Soma, S. (1969). On the formation of histamine during loss of freshness and putrefaction of various marine products. Hokkaido Daigaku Suisan Gakubu Kenkyu Iho, 20: 227-234.
- Taylor, S.L., Speckhard, M.W. (1983). Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. Marine and Fishery Reviews, 45(46): 35-39.
- Tsai, Y., Kung, H., Lee, T., Lin, G. and Hwang, D. (2004). Histamine-related hygienic qualities and bacteria found in popular commercial Scombroid fish fillets in Taiwan. Journal of Food Protection, 67: 407-412.

Archive of SID

www.SID.ir

- Yoshinaga, D.H. and Frank, H.A. (1982). Histamine-Producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Applied Environmental Microbiology, 44(2): 447-452.

Determination of histamine and identification of histamine-producing bacteria in frozen Longtail tuna (*Thunnus tonggol*)

Koohdar, V.[1*], Razavilar, V.[2]

1-Assistant Professor of Food Hygiene Department, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2- Professor of Food Hygiene Department, Faculty of Specialized Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
*Corresponding author email: dr.koohdar@yahoo.com

(Received: 2012/5/1 Accepted: 2012/11/14)

Archive of SID

Abstract

Fish is considered as highly perishable food which spoils soon after death if not preserved properly. Consumption of spoiled fish results in the outbreaks of food poisoning such as histamine poisoning. Biogenic amines are the causative agents of histamine poisoning which are produced by various bacterial species. The aim of this study was to determine the amount of histamine and to identify the histamine-producing bacteria on frozen Longtail tuna (*Thunnus tonggol*) hunted from south of Iran. Microbial examinations and measurement of histamine were performed on the muscles around the gills of twenty five frozen samples. The results indicated that the mean ± SE Log CFU/g for total microbial and psychotrophic counts were 4.81 ± 0.26 and 4.66 ± 0.25, respectively. Different bacterial isolates were identified as histamine-producing bacteria i.e., *Clostridium perfringens* (24.4%) followed by Proteus spp. (23.0%), Klebsiella spp. (13.9%), and Enterobacter spp. (11.1%). Histamine content in 65.0% of the samples was more than the maximum acceptable level of 50 ppm. Therefore, there is a seafood safety risk in the current harvesting and post harvesting methods used in Longtail tuna industry.

Key words: Histamine poisoning, Longtail tuna, Histamine-producing bacteria.

www.SID.ir