بررسی میزان هیستامین به روش الیزا در تون ماهی زرد باله صید شده از دریای عمان

ولی اله کوهدار[a*]، فرهاد موسی خانی[b]، بهراد رادمهر[a]، محمد مهدی دانشی[c]

[a]استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، کرج
[b]استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، کرج
[c]دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، کرج

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۹/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۵/۱۵

چکیده

مقدمه: مسمومیت هیستامینی، یکی از مهمترین بیماریهای ناشی از غذاهای دریایی با انتشار جهانی است که بوسیله آمینهای بیوژن ایجاد می شود. هیستامین از جمله آمینهای بیوژن می باشد که در ماهیان فاسد شدهٔ اسکومبروئیدی که حاوی مقادیر زیادی هیستیدین آزاد هستند، یافت می شود. اندازه گیری هیستامین در مواد غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردار است، زیرا از آن به عنوان شاخص در تعیین میزان تازگی یا فساد ماده غذایی استفاده می شود. هدف از این مطالعه، اندازه گیری میزان هیستامین در ماهی زرد باله، برای تعیین میزان فساد و پتانسیل مسمومیت زایی آن بود.

مواد و روش ها: تعداد ۳۰ نمونه ماهی زرد باله تازه صید شده از دریای عمان، مورد نمونه برداری قرار گرفت. میزان هیستامین موجود در عضلات مجاور آبششهای ماهی که معمولاً یکی از آلوده ترین اندامها به هیستامین می باشد، با استفاده از روش الیزا اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج حاصله نشان داد که حداقل و حداکثر میزان هیستامین و همچنین میانگین آن در نمونه های مورد آزمایش به ترتیب۰/۴، ۱۲/۸ و ۱/۹۱ppm می باشد.

نتیجه گیری: مقادیر هیستامین در تمام نمونه ها، کمتر ازحداکثر میزان پذیرفته شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (۲۰ppm) بود. بنابراین هیچگونه احتمال بروز مسمومیت هیستامینی بوسیله نمونه های مورد آزمایش وجود ندارد.

واژه های کلیدی: *روش الیزا، ماهیان تون، ماهی زرد باله، مسمومیت هیستامینی*

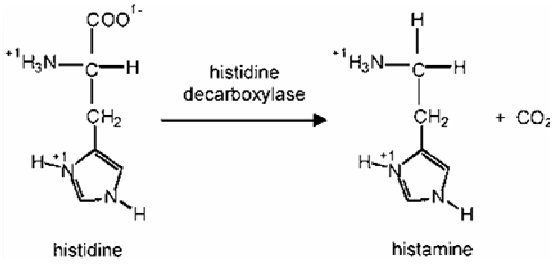
* نویسنده مسئول مکاتبات email: dr.koohdar@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

توکسین‌ها و متابولیت‌هایی که بوسیله برخی از میکروارگانیسم‌های موجود در مواد غذایی دریایی تولید می‌شوند، عامل ایجاد کننده تعدادی از بیماریهای غذازاد می‌باشند که از جمله آنها می‌توان به مسمومیت هیستامینی اشاره کرد (Etkind *et al*., 1987). مسمومیت با هیستامین که یکی از آمین‌های بیوژن می‌باشد و از آن بعنوان مسمومیت اسکومبروئیدی هم یاد می شود، یکی از رایج‌ترین بیماریهای غذازاد در آمریکا می‌باشد (Chen *et al*.,1995; Oduzhani & Angip, 2005). این مسمومیت با مصرف ماهیان خانواده اسکومبروئیده[1] و اسکومبروسوسیده[2] فاسد شده‌ای که حاوی مقادیر بالای هیستامین هستند، ایجاد می‌شود (Lopez-Sabater *et al*., 1996; Oduzhani & Angip, 2005). این نوع ماهیان اغلب حاوی هیستامین می باشند، زیرا در عضلات آنها مقادیر زیادی هیستیدین آزاد وجود دارد که در اثر فعالیت آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز پس از صید و در طول فساد تبدیل به هیستامین می‌شود. ماهیان اسکومبروئیدی تازه صید شده‌ای که کیفیت خوراکی بالایی دارند، فاقد هیستامین می‌باشند و هیستامین موجود در ماهی های تازه، منجمد و کنسرو شده این خانواده، در اثر فعالیت برخی از باکتریها ایجادمی شود؛ لذا این مسمومیت با مصرف محصولات ذکر شده آلوده، ایجاد می‌شود (Chen *et al*., 1995; Lopez-Sabater *et al*., *1994;* Oduzhani & Angip, 2005; Önal, 2007; Taylor & Speckhard, 1983).

آمینهای بیوژن در اثر دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه تولید می‌شوند. بعنوان مثال هیستامین از طریق دکربوکسیله شدن اسیدآمینه هیستیدین آزاد (که در عضلات ماهیان خانواده اسکومبروئیده به وفور یافت می‌شود) بوسیله آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز تولید شده بوسیله برخی از باکتریها، ایجاد می‌شود (شکل ۱). حضور غلظتهای بالای این آمینها مخصوصاً هیستامین، در نتیجه فعالیت میکروبی بویژه باکتریهای مزوفیل و سپس در نتیجه اتولیز می باشد (Lopez-Sabater, 1994). گروه بزرگ و متنوعی از باکتریها بعنوان عوامل تولید کننده هیستامین در ماهیان، لبنیات، فراورده‌های گوشتی و حتی سبزیجات گزارش شده‌اند. تنوع باکتریهای دارای فعالیت هیستیدین دکربوکسیلازی مشاهده شده در ماهیان اسکومبروئیدی می‌تواند ناشی از نوع غذای دریایی، تنوع گونه‌های ماهیان، درجه حرارت انبار و مدت زمان نگهداری ماهی باشد (Yoshinaga & Frank, 1982).



شکل۱- تشکیل هیستامین از اسید آمینه هیستیدین

تعیین دقیق آستانه سمیت آمینهای بیوژن در افراد بدلیل وابستگی شدید دوز سمی به مکانیسمهای توکسین زدایی هر فرد بسیار مشکل است. مقادیر هیستامین در محدوده های ۸-۴۰ میلی گرم، ۴۰-۱۰۰ میلی گرم و بیش از ۱۰۰ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم ماده غذایی، ممکن است به ترتیب باعث ایجاد مسمومیت خفیف، متوسط و شدید گردد. در عین حال در اکثر موارد مسمومیت هیستامینی، میزان هیستامین موجود در ماهیان ایجاد کننده بیماری بیش از ۲۰۰ppm بوده است (Önal, 2007). سازمان غذا و داروی آمریکا، حد مجاز هیستامین در بافتهای عضلانی ماهیان خام و کنسروهای ماهی را به ترتیب ۲۰ و ۵۰ppm تعیین کرده است (US. FDA, 1998).

مسمومیت با هیستامین معمولاً با علائمی شبیه به آلرژی همراه است. علائم و نشانه‌های مسمومیت ناشی از آن در انسان شامل: سردرد، سرگیجه، دل درد، تهوع، سرخی چهره، دشواری در بلع، افت فشار خون، خارش، ادم و اسهال می‌باشد (Oduzhani & Angip, 2005; Önal, 2007).

با توجه به گزارشهای موجود در خصوص بالا بودن میزان هیستامین در کنسروهای تهیه شده از ماهیان تون و احتمال وقوع مسمومیت هیستامینی در ایران (حسینی و همکاران، ۱۳۸۶؛ کامکار و همکاران، ۱۳۸۲)، این پژوهش جهت بررسی میزان هیستامین موجود در ماهی زرد باله

[1] Scombroidae

[2] Scombrosocidae

ifn.srbiau.ac.ir

(یکی از گونه های مهم خانواده تون ماهیان) صید شده از آبهای دریای عمان و تعیین پتانسیل مسمومیت زایی توسط آن انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعهٔ مقطعی، جهت بررسی میزان هیستامین، از ۳۰ نمونه ماهی زرد بالهٔ تازه صید شده با روش صید سنتی، استفاده شد. به همین منظور، ۱۰۰ گرم نمونه از عضلات قسمت پشت آبششهای ماهی مورد نمونه برداری قرار گرفت؛ زیرا این قسمت یکی از قسمتهایی است که بیشترین آلودگی میکروبی و هیستامینی را دارا می‌باشد (Taylor & Speckhard, 1983). نمونه ها بلافاصله تحت شرایط یخچالی به آزمایشگاه منتقل شدند.

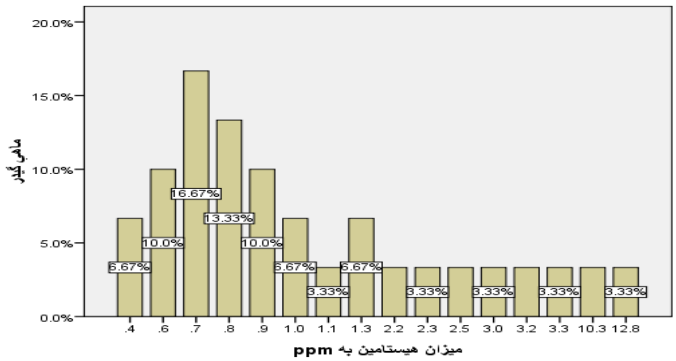
در آزمایشگاه پس از جداسازی پوست و استخوانهای موجود، نمونه ها بطور جداگانه در داخل مخلوط کن (بدون اضافه کردن مایع رقیق کننده) قرار گرفته و جهت ایجاد یک مخلوط کاملاً هموژن، به مدت ۵ دقیقه مخلوط شدند. ماده هموژن بدست آمده سریعاً با استفاده از روش الیزا (ELISA) جهت تعیین میزان هیستامین موجود، مورد آزمون قرار گرفت. برای این منظور، از کیت وراتوکس مربوط به شرکت NEOGEN استفاده شد. این کیت عموماً برای آنالیز کمی هیستامین موجود در ماهیان خانواده اسکومبروئیده استفاده می‌شود. بطور خلاصه، ۱۰۰µl آنزیم کونژوگه و سپس ۱۰۰µl استانداردهای هیستامین و نمونه‌های رقیق شده ماهی (نمونه های آماده شده بوسیله بافر رقیق کننده با نسبت ۱۰۰ µl/۱۰ml) به چاهکهای مخصوص مخلوط کردن نمونه به رنگ قرمز موجود در کیت اضافه شد. پس از آن، ۱۰۰µl از این محلول به چاهکهای حاوی آنتی‌بادی هیستامین منتقل شد. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای محیط آزمایشگاه به مدت ۱۰ دقیقه، سه بار شستشوی چاهکها با استفاده از بافر شستشو انجام شد. ۱۰۰µl از محلول سوبسترا به هرکدام از چاهکها اضافه شد و پس از گرمخانه گذاری در دمای آزمایشگاه به مدت۱۰ دقیقه، با اضافه کردن ۱۰۰µl از محلول متوقف کننده، واکنش آنزیمی متوقف شد. در نهایت هم با طول موج ۶۵۰ نانومتر، نتایج قرائت گردید.

یافته ها

میزان حداقل و حداکثر هیستامین در نمونه های مورد آزمایش به ترتیب ۰/۴ و۱۲/۸ppm بود. همچنین میزان میانگین± انحراف معیار هیستامین موجود در نمونه‌ها ۱/۹±۲/۸ppm تعیین شد. در نمودار ۱ میزان هیستامین موجود در نمونه ها آمده است.

بحث

اولین گزارش در مورد مسمومیت هیستامینی بوسیله دانشمندان ژاپنی در دهه پنجاه میلادی گزارش گردید و بر اساس شواهد اپیدمیولوژیکی، هیستامین بزرگترین عامل منتقله از مواد غذایی در آن دوره بوده است. در مورد سایر کشورها، اولین گزارشها از دهه هفتاد به بعد صورت گرفته است. پس از ژاپن، آمریکا و سپس انگلیس از جمله کشورهایی هستند که این مسمومیت را زیاد گزارش کرده‌اند؛ این مسئله ممکن است به دلیل مصرف زیاد ماهیان خانواده اسکومبروئیدی و یا سیستم گزارش بهتر موارد بیماری توسط این کشورها باشد. در آمریکا، یک سوم بیماریهای ناشی از غذاهای دریایی بدلیل مسمومیت با هیستامین می باشد. در سالهای اخیر مسمومیت با ماهیان اسکومبروئیدی طیف وسیعی از مردم را دربر گرفته است (Middlebrooks *et al.*,1988; Oduzhani & Angip, 2005).



نمودار ۱- میزان هیستامین موجود در ۳۰ نمونه تون ماهی زرد باله صید شده از دریای عمان

jftn.srbiau.ac.ir

مسمومیت هیستامینی در سرتاسر جهان اتفاق می‌افتد و چه بسا شایعترین شکل مسمومیت ناشی از مصرف ماهی باشد. به هرحال آمار خوبی درباره میزان شیوع آن موجود نمی‌باشد، زیرا موارد مسمومیت به دلیل طبیعت ملایم بیماری، ضعف در گزارش بیماریهای غذازاد، یا عدم تشخیص توسط کادر پزشکی که مسمومیت هیستامینی را اشتباهاً عفونت سالمونلایی یا آلرژی غذایی تشخیص می‌دهند، اغلب گزارش نمی شوند (Lehane & Olley, 2000; Russell & Martic,1986; Taylor, 1986).

در ایران گزارشی از مسمومیت هیستامینی وجود ندارد، ولی باتوجه به گزارش کامکار و همکاران (۱۳۸۲) و همچنین گزارش حسینی و همکاران (۱۳۸۶) مبنی بر بالا بودن میزان هیستامین به ترتیب در ۴۱/۲۵ و ۴۴/۳ درصد از کنسروهای تهیه شده از ماهی تون، احتمالاً موارد وقوع این مسمومیت وجود داشته، ولی به دلیل عدم تشخیص دقیق و ثبت آن، گزارشی از اپیدمی‌های رخ داده وجود ندارد (حسینی و همکاران، ۱۳۸۶; کامکار و همکاران، ۱۳۸۲).

میزان هیستامین در ماهیان تازه معمولاً کمتر از ۲ppm می‌باشد و ماهیانی که حاوی مقادیر بالای ۲۰ppm هستند، قادر به ایجاد علائم مختلف بیماری می‌باشند. میزان هیستامین بین مقادیر ۲۰ تا ۵۰ppm نشان دهنده فساد ماهی می باشد و میزان ۵۰ppm به عنوان دوز فعال مطرح می باشد که باعث غیرقابل مصرف شدن محصولات ماهی می‌شود (Codori & Marinopoulos, 2010; US. FDA, 1998). بررسی سازمان غذا و داروی آمریکا (۱۹۷۰) نشان داد که میزان هیستامین موجود در تون ماهیان تازه صید شده همواره کمتر از ۱ppm بوده است و این میزان در سایر انواع ماهیان تجارتی تازه صید شده در حدود ۵ppm بوده و حداکثر آن به ۲۰ppm می‌رسید (Wenta & Liao, 1999; Windyga *et al*.,1992). در گزارش دیگری، تمام ۱۹۵ نمونه ماهی ماکرل و ساردین مورد مطالعه، میزان هیستامین کمتر از حد مجاز داشتند (Kasha & Noriens, 1988).

در گزارش Gajewska و همکاران (۱۹۹۱) که بر روی میزان هیستامین و تایرامین موجود در ماهی و فراورده‌های آن مطالعه کردند، آمده است که میزان هیستامین و تایرامین در ماهیان خام به ترتیب بین ۰ تا ۸ و ۰ تا ۲/۶ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم بوده است (Gajewska *et al*., 1991). در مطالعهٔ انجام شده در کشور ایتالیا طی سالهای 1995–1988، مشخص گردید که مقادیر هیستامین در ۴۱ نمونه ماهی تازه تون و ماکرل، پائین تر از حد مجاز بود (Donn, 1991).

در مطالعه ای که بر روی انواع ماهیان و کنسرو تهیه شده آنها انجام شده، میزان هیستامین در نمونه‌های ماهیان تازه همواره کمتر از ۳ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم بود (Laurent *et al*., 1995). گروه دیگری از محققین، میزان هیستامین را در ماهی تون مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که تمام نمونه های مورد آزمایش حاوی هیستامین بوده، ولی در هیچ یک از نمونه‌ها میزان هیستامین بالاتر از میزان استاندارد کشورهای اروپایی نبود (Lopez-Sabater *et al*., 1996). همچنین در مطالعه‌ای دیگر که توسط Chamberlin بر روی سه گونه تون ماهیان شامل آلباکور، تون چشم درشت و زرد باله انجام شد، مشخص گردید که در میزان مقادیر هیستامین موجود بین سه گونه مورد مطالعه، هیچ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. میزان هیستامین موجود در تمام نمونه های نگهداری شده در دمای پایین، کمتر از حد مجاز بود و با افزایش دمای نگهداری ماهی، بر میزان هیستامین هم افزوده می شد (Chamberlin, 2001).

تأثیر دماهای نگهداری بر تولید هیستامین و میزان تازگی ماهی زرد باله مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصله نشان داده که میزان هیستامین موجود در دمای صفر درجه سانتیگراد، ۲/۷۸ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم بوده و با افزایش دمای نگهداری ماهی، میزان فساد و هیستامین تولید شده هم افزایش می‌یابد (Guizani *et al*., 2004). در گزارشی آمده است که در هیچ یک از ۲۹ نمونه ماهی زرد باله و دولفین مورد مطالعه، میزان هیستامین بیش از ۲ppm نبوده است؛ این مقادیر پایین بدست آمده، دور از انتظار نبوده، زیرا قبلاً هم نتایج مشابهی در مورد شاه ماهی به دست آمده است (Chamberlin, 2001; Fernandez-Salguero & Mackie, 1987). در تحقیقی حداکثر میزان هیستامین موجود در ماهی تازه هوور در قسمتهای ضخیم و قسمتهایی با ضخامت متوسط به ترتیب ۵/۲۴ و ۸/۵۳ میلی گرم در هر کیلو گرم بود

ift.srbiau.ac.ir

(Mercogliano *et al*., 2008). در مطالعه حاضر نیز که بر روی ۳۰ نمونه ماهی زرد باله تازه صید شده از دریای عمان انجام شد، نتایج حاصل نشان داد که اگرچه همه نمونه ها حاوی مقادیری از هیستامین بودند، ولی هیچ یک از آنها مقادیر بالاتر از حد مجاز را نداشتند.

نتیجه گیری

با عنایت به نتایج حاصله باید عنوان کرد که مصرف تون ماهیان تازه صید شده با کیفیت تغذیه ای بالا، هرگز باعث ایجاد مسمومیت هیستامینی در انسان نمی شود. اما همانطور که اشاره شد، در مطالعات کامکار و همکاران (۱۳۸۲) و حسینی و همکاران (۱۳۸۶)، مقادیر بالایی از هیستامین در درصد قابل توجه ای از کنسرو تهیه شده از تون ماهیان گزارش گردید که بیانگر وجود خطرات بهداشتی در صنعت تون ماهیان می‌باشد (حسینی و همکاران ۱۳۸۶; کامکار و همکاران ۱۳۸۲). بررسی و مطالعه در مورد تأثیر مراحل مختلف فراوری ماهیان کنسروی از زمان صید تا زمان تولید کنسرو بر روی بار میکروبی تولید کننده هیستامین در جهت تعیین نقاط بحرانی در شکل گیری هیستامین و همچنین اجرای دقیق روشهای پیشگیری تولید هیستامین در طی این مراحل، ضروری به نظر می رسد.

سپاسگزاری

این تحقیق با همکاری صمیمانه آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی مبنا به انجام رسید که بدین وسیله از تمامی پرسنل آزمایشگاه به ویژه آقای دکتر محسن ظفری سپاسگزاری می شود.

منابع

حسینی، ه.، کشاورز، ع.، پیرعلی، م.، خاکسار، ر.، عباسی، م.، فکری، م.، صفائیان، ش.، باقرزاده، ز. و دیده بان، س. (۱۳۸۶). مطالعه میزان هیستامین کنسرو تون ماهیان تولید شده در ایران در سال ۱۳۸۶ به روش الیزا. مجله علوم وصنایع غذایی ایران، شماره۲، صفحات ۷۷-۸۴.

کامکار، ا.، حسینی، ه. و ابوالحسنی، گ. (۱۳۸۲). مطالعه میزان هیستامین در کنسروهای تن و ساردین. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام وآبزیان، شماره ۶۰ صفحات ۴۴-۵۰.

Allen, D. G., Green, D. P., Bolton, G. E., Jaykus, L. A. & Cope, W. G. (2005). Detection and identification of histamine-producing bacteria associated with harvesting and processing mahi-mahi and yellow fin tuna. Journal of Food Protection. 68 (8), 1678-1682.

Chamberlin, T. (2001). Histamine levels in longlined tuna in Fiji: A comparison of samples from two different body sites and the effect of storage at different temperatures. Journal of National Science. 19, 30-34.

Chen, M., Marshall, M. R., Koburger, J. A., Otwell, W. S. & Wei, C. I. (1995). Determination of minimal temperatures for histamine production by five bacteria. Department of Food Science and Human Nutrition, University of Florid.

Codori, N. & Marinopoulos, S. (2010). Scombroid Fish Poisoning After Eating Seared Tuna. Southern Medical Journal. 103(4), 382-384

Donn, R. (1991). Scombroid poisoning. Microbiology of marine food products.Pp: 331-350.

Etkind, P., Wilson, M. E., Gallagher, K. & Cournoyer, J. (1987). Blufish-associated Scombroid poisoning. An example of the expanding spectrum of food poisoning from sea food. Journal of American Medical Association. 258, 3409-3410.

Fernandez-Salguero, J. & Mackie, I. M. (1987). Coparativerstes of spoilage of fillets and whole fish during storage of haddock (*Melanogrammusaeglefinus*) and herring (*Clupeaharengus*) as determined by the formation of non-votile and votile amines. International Journal of Food Science. Technol. 22, 385-390.

Gajewska, R., Lipka, E. & Ganowiak, Z. (1991). Contents of histamine and tyramine in selected food products.

Guizani, N., Al-Busaidy, M. A., Al-Belushi, I. M., Mothershaw, A. & Rahman, M. S. (2004). The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellown tuna (*Thunnusalbacares*). Food Research International. 38, 215-222.

Kasha, N. (1988). Histamine poisoning in a patient on Isoniazid. CaniDis. Wikipedia Representation. 7, 79-80.

Laurent, G., Bennasar, M., Fall, F. & Lima, H. A. (1995). Histamine content in fresh and canned tuna. Medicine-et-Nutrition; 31(1), 23-33.

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

jfn.srbiau.ac.ir

Lopez-Sabater, E. I., Rodriguez-Jerez, J. J., Hernandez-Herrero, M. & Morana-Ventura, M. T. (1994). Evaluation of histidine decarboxylase activity of bacteria isolated from sardine (*SardinaPilchardus*) by an enzymic method. Journal of Applied Microbiology. 19, 70-75.

Lopez-Sabater, E. I., Rodriguez-Jerez, J. J., Hernandez-Herrero, M. & 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.

Mercogliano, R., Anastasio, A., Colarusso, G., Marrone, R. & Cortesi, M. L. (2008). Evaluation of histamine profilein Thunnusthynnus processed seafoods. Veterinary Research Communication. 32, 331-333.

Middlebrooks, B. L., Toom, P. M., Douglas, W. L., Harrison, R. E. & 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.

Oduzhani, P. & Angip, S. (2005). Scombroid (Histamine) Poisoning. Ataturk University of Agriculture Fishery Products. Section, 25240.

Önal, A. (2007). Current analytical methods for determination of biogenic aminesin foods. Journal of Food Chemistry. 103, 1475-1486.

Russel, F. E. & Martic, Z. (1986). Scombroid poisoning: mini review. Western case histories. Journal of Toxicology. 24, 967-973.

Taylor, S. L. (1986). Histamine food poisoning: Toxicology and clinical aspects. CRC Critical Reviews in Toxicology. 17, 91.

Taylor, S. L. & Speckhard, M. W. (1983).Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. Marin and Fisheries Research. 45 (46), 35-39.

U.S.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.

Wenta, K. & Liao, H. (1999). Use of capillary electrophoresis with UV detection as screening method to determine histamine in fish samples. Journal of Chromatography. 853, 541-544.

Windyga, B., Grochowska, A., Scezynska, H., Gorecka, K., Fenberg, D. & Broczek, M. (1992). Determination of histamine in canned fish products by the colorimetric method of Hardy and Smith.Rocznik: Panstwowego-Zakladu-ltigieny. 43(2), 193-199.

Yoshinaga, D. H. & Frank, H. A. (1982). Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonuspelamis*). Applied Environmental Microbiology. 44 (2), 447-452.

.

jftn.srbiau.ac.ir