بررسی میزان هیستامین در فیله ماهی خاویار توسط دستگاه HPLC

نائیری شهبازیانس[1]، لیندا یادگاریان[2*] و رکسانا موگویی[3]

۱- گروه کشاورزی گرایش مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۲- گروه محیط زیست دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- گروه آموزش و مدیریت محیط زیست، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۲۳ تاریخ پذیرش:۱۳۹۴/۰۵/۰۲

چکیده

ماهی از جمله محصولاتی است 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. هدف از انجام این تحقیق، اندازه گیری میزان هیستامین در دو گونه ماهی خاویار، فیل ماهی و ازون برون می‌باشد. فیل ماهی به صورت منجمد و ازون برون به صورت تازه صید شده و دودی شده مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تأثیر زمان نگهداری در یخچال (صفر، ۱۲ و ۲۴ ساعت) بر میزان هیستامین تولید شده در فیل ماهی مطالعه گردید. پس از تهیه سه نوع گوشت فیله ماهی میزان هیستامین موجود در آنها توسط کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مورد بررسی قرار گرفت. مقدار متوسط هیستامین در گوشت فیل ماهی ۲۷/۲۸±۱۱۷/۶۱ میکرو گرم بر گرم گوشت اندازه گیری شد که این مقدار ۵ برابر گوشت ازون برون دودی شده (۴/۲۰±۲۰/۵۲ µg/g) و ۲۰ برابر ازون برون تازه (۲/۷۹±۵/۸۴ µg/g) می‌باشد. همچنین داده‌های حاصل از اندازه گیری‌ها به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون t تست، با حد مجاز هیستامین که توسط Codex در عضلات ماهی خام ۲۰۰ µg/g توصیه شده است، مقایسه شد. نتایج آنالیز واریانس نشان دهنده اهمیت بالای عامل زمان بر میزان تولید هیستامین بوده و بیانگر آن است که با گذشت زمان میزان فعالیت آنزیمی باکتری‌ها افزایش یافته و میزان تولید هیستامین نیز بیشتر می‌گردد. مقایسه نتایج با حد مجاز کدکس نشان داد که مقدار هیستامین تولید شده در زمان صفر و ۱۲ ساعت پس از نگهداری در یخچال کمتر از حد مجاز توصیه شده و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال غلظت هیستامین (µg/g ۱۹/۷۳±۲۲۸/۱) به حد مجاز نزدیک شده ولی تفاوت معنی‌داری با آن نداشته است.

واژگان کلیدی: فیله ماهی خاویار، هیستامین، HPLC

* نگارنده پاسخگو: hoo.com

مقدمه

ماهیان خاویار (استروژن) نامی است که به بعضی از ماهیان خانواده‌ی تاس‌ماهیان داده می‌شود. خانواده استروژن به ۲۷ گونه و زیر گونه در جهان تقسیم می‌شوند که از این تعداد ۵ گونه در دریای خزر زندگی می‌کنند، دریایی که به تنهایی حدود ۹۰ درصد ذخایر ماهیان خاویاری جهان را در خود جای داده است. فیل ماهی، اوزون برون، تاس‌ماهی ایرانی، تاس‌ماهی روسی و ماهی شیپ از مهم‌ترین انواع ماهیان خاویاری هستند. اما ارزش ماهیان خاویاری هم به جهت استفاده از تخم آنان که به خاویار یا مروارید سیاه مشهور است و هم به واسطه گوشت آنان می‌باشد. گوشت این ماهی به عنوان منبعی غنی از پروتئین با قابلیت هضم آسان و ارزش بیولوژیک بالا که قادر است ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب ضروری را در دسترس قرار دهد به همین دلیل از جایگاه خاصی برخوردار است.

با توجه به تحقیقاتی که در زمینه استفاده از گوشت ماهی خاویار ایرانی صورت گرفته است، مشخص شده است که بیشتر اسیدهای آمینه موجود در این گونه‌ها ترئونین، هیستیدین، آرژنین، آسپاراژین، فنیل آلانین، سیستئین، گلوتامین و گلیسین می‌باشد. حضور این اسیدهای آمینه در گوشت این گونه از ماهیان سبب افزایش پذیرش مصرف آنها گردیده است. همچنین پروتئین‌های ماهی خاویار از نظر حساسیت نسبت به تجزیه پروتئولیتیکی (در اثر آنزیم‌ها) دارای ارزشی معادل یا حتی بیشتر از گوشت قرمز می‌باشد که به این ترتیب هضم آنها را تسهیل می‌نماید. علیرغم ارزش زیاد حضور این اسیدهای آمینه در ماهیان خاویار ایرانی، وجود هیستدین می‌تواند به عنوان سوبسترا برای آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز عمل نماید و در نتیجه در اثر فعالیت آنزیمی باکتری‌های گروه انتروباکتریاسه، لاکتو باسیلوس‌ها و کلستریدیوم ها، هیستیدین به هیستامین تبدیل گردد (Dijk, 2002; Oliveira, 2012; Jafari Shamushaki, 2008). لذا هیستامین به مرور زمان در گوشت این گونه ماهی افزایش پیدا می‌نماید، حال اگر چنین ماهیانی مورد مصرف قرار بگیرند پس از مدت زمان کوتاهی علائم مسمومیت بسته به حساسیت‌های فردی ظاهر می‌شود. ماهی خاویار معمولاً دارای هیستیدین بالا است و در هر ۱۰۰ گرم، ۰/۶ گرم هیستیدین وجود دارد.

مسمومیت با هیستامین در کشورهایی مانند ژاپن، آمریکا و انگلیس بالاتر از کشورهای دیگر است، که شاید به دلیل مصرف بالای انواع خاصی از ماهیان و یا گزارش بهتر موارد بیماری توسط این کشورها باشد. موارد شیوع مسمومیت هیستامین از کشورهایی مانند کانادا، نیوزیلند، آلمان، فرانسه، نروژ، سریلانکا، چک، سوئد، استرالیا، اندونزی و آفریقای جنوبی نیز گزارش شده است و این واقعیت که بیماری تقریباً در همه کشورها وجود دارد، بیانگر این مسئله است که مسمومیت هیستامینی جهانی است (Merson *et al*., 1974; Marcobal *et al*., 2005). پژوهشگران ژاپنی ابتدا مسمومیت هیستامینی را در اوایل ۱۹۵۰ شناسایی نمودند و براساس شواهد اپیدمیولوژیک بزرگ‌ترین عامل بیماری منتقل شده از طریق مواد غذایی در آن دوره بوده است. در ژاپن مسمومیت عمدتاً از طریق دو نوع ماهی تن و ماکرول گزارش شده است و در تمام موارد اشاره شده علائم واضح مسمومیت هیستامینی قابل مشاهده می‌باشد. در سال-های اخیر، گروه قابل توجهی از مردم در اثر مصرف انواع ماهیان دچار این مسمومیت شده‌اند (Codori & Marinopoulos, 2010).

مطالعات انجام شده توسط FDA در سال ۱۹۷۰ در ایالات متحده آمریکا نشان داد که میزان هیستامین در ماهیان تن تازه صید شده کمتر از 1 ppm بود و این میزان در سایر انواع ماهیان تجاری تازه صید شده از حد قابل قبول ۵ ppm تا حداکثر ۲۰ ppm به دست آمده بود (FDA/CFSAN, 1995).

Srisomboon و همکاران بین سال‌های ۱۹۹۵-۱۹۸۸ در ایتالیا میزان هیستامین را با روش HPLC

بررسی نمودند، نتایج حاصله نشان داد که حدود ۴/۷ درصد نمونه‌ها حاوی هیستامین بالای حد مجاز بودند. لازم به ذکر است که در ۴۱ نمونه ماهی تازه تمام مقادیر به دست آمده پایین‌تر از حد مجاز بوده و بالاترین میزان هیستامین تولیدی در ماهیان ماکرول بوده است (Srisomboon *et al*., 1995). با توجه به اهمیت وجود هیستامین در ماهیان مورد تغذیه در انسان و مسمومیت‌های ناشی از آن، پژوهش حاضر به منظور تعیین مقدار هیستامین موجود در نمونه‌های ماهی خاویاری با استفاده از روش کروماتوگرافی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی نمونه

فیل ماهی از سازمان شیلات خریداری شد، ماهی ازون برون دودی شده از سوپرمارکت تهیه گردید و ماهی ازون برون تازه از بازار رامسر خریداری شد. برای بررسی میزان هیستامین، گوشت ماهیان تهیه شده در اندازه‌هایی حدود ۵ سانتی متر قطعه قطعه شد و ۱۷۰ گرم از آن توزین و در سه ظرف جداگانه قرار گرفت. برای بررسی تأثیر زمان، فیل ماهی منجمد در زمان (صفر)، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از یخ زدایی و نگهداری در یخچال، مورد بررسی قرار گرفت. کلیه آزمون‌ها دارای سه تکرار بود.

تهیه استاندارد هیستامین

محلول استاندارد هیستامین با انحلال ۱۰۰ میکروگرم هیستامین دی هیدرو کلرید (شرکت سیگما آدریچ آلمان) در محلول آبی ۱۰ درصد تری کلرو استیک اسید (TCA) (شرکت سیگما آدریچ آلمان) تهیه شد و در دمای ۴ سانتی گراد نگهداری گردید.

تهیه محلول OPA

محلولی با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر با انحلال O-phtalaldehyde در متانول خالص تهیه گردید و در انجام آنالیز کروماتوگرافی بکار گرفته شد.

عصاره‌گیری از گوشت

۵ گرم گوشت ماهی فاقد پوست و غضروف به۳۰ میلی‌لیتر محلول آبی ۱۰ درصد وزنی‌تری کلرو استیک اسید (TCA) اضافه شد و توسط دستگاه هموژنایزر به صورت یکنواخت همگن گردید. سپس در دستگاه سانتریفیوژ با شتاب ۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول حاصله با استفاده از فیلتر (Whatman) ۰/۴۵میکرومتر صاف شد و برای اندازه‌گیری هیستامین استفاده گردید.

تهیه کمپلکس هیستامین –OPA

به یک لوله آزمایش استریل مقدار ۱۳۵ میکرولیتر نمونه حاوی هیستامین اضافه شد و ۱/۸۶ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن افزوده شد. سپس با ۰/۴ میلی‌لیتر سود نرمال مخلوط شد. لوله آزمایش به مدت یک دقیقه در شرایط تاریک در آزمایشگاه قرار داده شد. سپس به این محلول ۰/۱ میلی‌لیتر محلول OPA که از قبل تهیه شده بود، اضافه و مجدداً در شرایط تاریکی به مدت ۴ دقیقه نگهداری شد. در نهایت به منظور پایداری کمپلکس حاصل، ۲ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریک اسید ۳ نرمال (مرک آلمان) به آن اضافه شد.

اندازه‌گیری هیستامین

اندازه‌گیری هیستامین توسط دستگاه HPLC صورت گرفت. بدین منظور۲۰ میکرولیتر عصاره استخراجی، به ستون فاز معکوس Phenomenex از نوع Luna C8 به طول ۲۵۰ میلی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی متر و قطر ذرات ۵ میکرومتر تزریق شد. شرایط تزریق به صورت ایزوکراتیک تنظیم شد. دتکتور دستگاه HPLC از نوع فلئوروسانس انتخاب گردید و این دتکتور در طول موج تحریک ۳۴۳ نانو متر و در طول موج نشر ۴۴۵ نانو متر تنظیم گشت. درجه حرارت

ستون ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. فاز متحرک با سرعت ۰/۴ میلی‌لیتر بر دقیقه توسط پمپ (مدل k-120) متصل به دستگاه HPLC از ستون عبور داده شد. فاز متحرک شامل دو محلول به ترتیب محلول A و محلول B است. محلول A حاوی بافر ۵/۴ شامل فسفات ۰/۰۱ مولار و سدیم -۱- دکان– سولفانات ۰/۰۰۲ مولار و محلول B شامل استونیتریل فوق خالص می‌باشد. فاز متحرک با ترکیب ۸۰ درصد از محلول A و ۲۰ درصد از محلول B تهیه گردید. حجم هر تزریق به دستگاه نیز ۲ میکرو لیتر بود.

نتایج

براساس نتایج به دست آمده در جدول (۲) میزان هیستامین بیشتری در نمونه فیل ماهی در مقایسه با دو نمونه دیگر گوشت ماهی (گوشت ازون برون دودی شده و تازه صید شده) به دست آمد. مقدار متوسط هیستامین در گوشت فیل ماهی (۱۱۷/۶۱±۲۷/۲۸) میکرو گرم بر گرم گوشت اندازه‌گیری شده است که تقریباً ۵ برابر میزان هیستامین در نمونه ازون برون دودی شده (۲۰/۵۲±۴/۲۰) و ۲۰ برابر میزان هیستامین موجود در ازون برون تازه (۵/۸۴±۲/۷۹) است. متوسط میزان هیستامین در سه نوع گوشت به صورت نمودار ستونی در شکل (۱) نشان داده شده است.

جدول ۲- میزان هیستامین در سه نوع گوشت ماهی خاویار

نوع ماهی	غلظت هیستامین انحراف معیار± میانگین (µg/g)
فیل ماهی (منجمد)	۱۱۷/۶۱±۲۷/۲۸
ازون برون (دودی شده)	۲۰/۵۲±۴/۲۰
ازون برون (تازه)	۵/۸۴±۲/۷۹

بررسی تأثیر زمان بر میزان تولید هیستامین

نتایج حاصل از بررسی تأثیر زمان در تولید هیستامین در فیله ماهی منجمد در جدول (۳) نشان داده شده است.

جدول۳- میزان هیستامین در فیل ماهی در زمان‌های صفر، ۱۲ و ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال

شماره آزمون	میانگین میزان هیستامین (µg/g)
زمان صفر	۱۵۷/۷±۱۶/۸۹
۱۲ ساعت نگهداری در یخچال	۱۸۲/۶±۱۹/۸۶
۲۴ ساعت نگهداری در یخچال	۲۲۸/۱±۱۹/۷۳

با استفاده از آنالیز واریانس، جدول (۴)، تفاوت معنی دار میان زمان‌های مختلف بر میزان تولید هیستامین در فیل ماهی در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول۴- آنالیز واریانس مربوط به اثر زمان بر میزان تولید هیستامین در نمونه‌های فیل ماهی در زمان‌های صفر، ۱۲ ،۲۴ ساعت نگهداری در یخچال

	مجموع مربعات	درجه آزادی	متوسط مربعات	مقدار F	مقدار P
زمان	۷۶۱۸/۲۸۷	۲	۳۸۰۹/۱۴۳	۱۰/۶۸۷	۰/۰۱۱
رابطه خطی	۷۴۰۶/۱۰۷	۱	۷۴۰۶/۱۰۷	۲۰/۷۷۹	۰/۰۰۴

همچنین با توجه به سطر اول جدول (۴) و سطح اطمینان مورد استفاده در تحلیل، اثر زمان بر تولید هیستامین در نمونه معنی‌دار شناخته شد (P <۰/۰۵).

برای اطمینان از صحت این نتیجه از آزمون t استفاده گردید. نتایج این آنالیز در جدول (۵) ارائه شده است.

جدول۵- نتایج آزمون t برای بررسی معنی‌داری اثر زمان در نمونه‌های فیل ماهی در زمان‌های صفر،۱۲ و ۲۴ ساعت و مقایسه با غلظت هیستامین استاندارد در عضله ماهی خام (۲۰۰ppm)

جفت نمونه	اختلاف میانگین‌ها	انحراف معیار	خطای استاندارد	اختلاف جفت نمونه: سطح اطمینان ۹۵ درصد پایین	اختلاف جفت نمونه: سطح اطمینان ۹۵ درصد بالا	t	درجه آزادی	سطح معنی داری
(زمان: صفر- ۱۲)	-۲۴/۸۳	۳۶/۶۸	۲۱/۱۸	-۱۱۵/۹۷	۶۶/۳۰	۱/۱۷۲-	۲	۰/۳۶۲
(زمان: صفر- ۲۴)	-۷۰/۲۷	۲۴/۶۵	۱۴/۲۳	-۱۳۱/۵۱	-۹/۰۲	-۴/۹۳	۲	۰/۰۳۹
(هیستامین: در زمان صفر- حد مجاز)	-۴۲/۲۶	۱۶/۸۹	۹/۷۵	-۸۴/۲۳	-۰/۲۹	-۴/۳۳	۲	۰/۰۴۹
(هیستامین: در ۱۲ ساعت- حد مجاز)	-۱۷/۴۳	۱۹/۸۶	۱۱/۴۶	-۶۶/۷۶	۳۱/۹۰	-۱/۵۲	۲	۰/۰۲۶۸
(هیستامین: در ۲۴ ساعت-حد مجاز)	۲۸/۰۰	۱۹/۷۳	۱۱/۳۹	-۲۱/۰۱	۷۷/۰۱	-۲/۴۵	۲	۰/۱۳۳

براساس نتایج جدول (۵) میزان هیستامین پس از ۱۲ ساعت نگهداری در یخچال و در زمان اولیه، تفاوت معنی‌داری نداشت، در صورتی که پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال و در زمان اولیه تفاوت معنی داری به دست آمد (P<۰/۰۵).

آزمون t تفاوت معنی‌داری را در میانگین هیستامین موجود در زمان صفر (بلافاصله پس از یخ زدایی)، ۱۲ و۲۴ ساعت نگهداری و در مقایسه با میزان هیستامین مجاز Codex (۲۰۰ ppm) نشان داد (P<۰/۰۵). در بافت عضلانی ماهی خام، بین زمان صفر و نمونه نگهداری شده در یخچال به مدت ۱۲ ساعت، میزان هیستامین به طور معنی‌داری کمتر از میزان توصیه شده بود (P<۰/۰۵). در صورتی که تفاوت قابل ملاحظه بین نمونه نگهداری شده در یخچال به مدت ۲۴ ساعت و میزان حد مجاز دیده نشد. نتایج بیانگر افزایش میزان تولید هیستامین در نمونه گوشت ماهی با گذشت زمان است. مقایسه نتایج با حد مجاز Codex بیانگر آن است که مقدار هیستامین تولید شده در زمان صفر و ۱۲ ساعت پس از نگهداری کمتر از مقدار مجاز (ppm ۲۰۰) و پس از ۲۴ ساعت نگهداری بیشتر از حدمجاز است.

بحث و نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری میزان هیستامین در ماهی و

فرآورده‌های آن نه تنها وضعیت بهداشتی را نشان می‌دهد، بلکه در حفظ ایمنی و سلامت مصرف کنندگان نیز بسیار مؤثر است. تاکنون در تحقیقات صورت گرفته برای بررسی میزان هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن روش‌های مختلفی به کارگرفته شده است. بعضی از مهم‌ترین آزمایش‌های تشخیص هیستامین در ماهی و فراورده‌های آن شامل روش‌های کروماتوگرافی با لایه نازک (Schutz *et al*., 1976)، الکتروفورز موئین (Gallardo *et al*., 1997)، اندازه‌گیری بر اساس حسگر اکسیژنی (Ohashi *et al*., 1994)، استفاده از کیت‌های الیزا (Marcobal *et al*., 2005) و کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (Shakila *et al*., 2001) است. روش الیزا یکی از روش‌های دقیق برای تشخیص آمین‌های بیوژنیک در شمار کثیری از نمونه‌ها است ولی از مشکلات این روش هزینه بالای آن است (Serrar *et al*., 1995).

از میان تکنیک‌های جداسازی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، به دلیل حساسیت زیاد، دقت زیاد، قابلیت آنالیز نمونه‌های غیرفرار و حساس به دما بیشترین رشد و کارایی را داشته است. تاکنون مطالعات وسیعی در این زمینه بر روی گونه‌های مختلف ماهی و فراورده‌های آن صورت گرفته است. در تحقیق حاضر، از دستگاه HPLC برای اندازه‌گیری هیستامین استفاده شد و مقدار هیستامین در فیله سه نوع ماهی (فیل ماهی، ازون برون دودی و تازه) مقایسه شد. نتایج نشان داد که میزان هیستیدین در فیل ماهی حدوداً ۵ برابر ماهی ازون برون دودی و ۲۰ برابر ازون برون تازه بود. بر اساس یافته‌ها با گذشت زمان آنزیم هیستیدین D-کربوکسیلاز فرصت بیشتری برای تبدیل هیستیدین به هیستامین را داشته است و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال غلظت هیستامین (۱۹/۷۳±۲۲۸/۱) به حد مجاز (ppm۲۰۰) نزدیک شد ولی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با آن نداشته است ($P\geq ۰/۰۵$) افزایش میزان هیستامین نشان دهنده افزایش فعالیت آنزیمی ناشی از حضور باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه، با گذشت زمان نگهداری می‌باشد.

Rossano و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیقی مشابه به بررسی اثر دمای ذخیره‌سازی و مدت زمان ذخیره‌سازی بر میزان تولید هیستامین در گونه‌ای از ماهی کولی اروپا (*Engraulis encrasicholus*) پرداختند و نتایج تحقیق آنها نشانگر افزایش میزان هیستامین بعد از ۲۴ ساعت در ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود.

Rodtong و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی تجمع هیستامین در گونه‌ای از ماهی کولی هندی (*Stolephorus indicus*) در شرایط دمایی مختلف پرداختند. دمای ذخیره‌سازی در یخ، ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در تولید هیستامین در این ماهی مورد بررسی قرار گرفت. تجمع هیستامین در دمای ذخیره‌سازی یخ (۴ درجه) پس از مدت ۱۵ روز کمتر از ۱/۹ میلی‌گرم بر هر ۱۰۰ گرم گزارش شد. در حالی که در نمونه نگهداری شده در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد پس از ۳۲ ساعت، ۱۹ میلی‌گرم بر هر ۱۰۰ گرم هیستامین شناسایی گردید، با نگهداری در دمای ۳۵ درجه به مدت ۸ ساعت ۲۵/۴ میلی‌گرم بر هر ۱۰۰ گرم هیستامین تولید گردید. این گروه تحقیقاتی روند افزایش تدریجی هیستامین در ماهی کولی هندی در طی ذخیره‌سازی در یخ به مدت ۱۵ روز و ذخیره‌سازی در دمای ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد را نشان دادند. مسمومیت‌های هیستامینی در سرتاسر دنیا وجود دارد و با عنایت به این که درصد قابل توجهی از ماهی‌های تولیدی حاوی هیستامین بیش از حد مجاز بودند، به نظر می‌رسد که خطر مسمومیت‌های هیستامینی می‌تواند شامل حال افراد مصرف کننده این دسته از فراورده‌ها در کشور ما نیز بشود. لذا برنامه دقیق کنترلی در مورد ماهیان خام عرضه شده در بازار و ماهیان مورد استفاده در صنایع ضروری به نظر می‌رسد. در این ارتباط مراقبت‌های دقیق بهداشتی در طول مراحل مختلف صید، نقل و انتقال، نگهداری و

پرورش ضرورت دارد تا بدین وسیله بتوان رشد باکتری‌های مؤثر در تولید هیستامین را مهار نموده و یا کنترل نمود.

منابع

Codori, N. & Marinopoulos, S. 2010. Scombroid fish poisoning after eating Seared tuna .*Southern Medical Journal*, 103(4): 382-384.

Dijk, R. 2002. Histamine in fish. Inspectorate for Health Protection and Veterinary Public Health. Directed by the working-group CHEK. - Report nr. ND-02-35.

FDA/CFSAN. 1995. Prime Connection: Federal Register Announcement Decomposition and Histamine for Seafood. USA.

Gallardo, J. M., Sotelo, C. G. & Perez-Martin, R. I. 1977. Determination of histamine by capillary zone electrophoresis using a low-pH phosphate buffer: application in the analysis of fish and marine products. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 204(5): 336-340.

Geiger, E. 1944. Histamine content of unprocessed and canned fish. A tentative method for quantitative determination of spoilage. *Food Research*, 9:293-297.

Jafari Shamushaki, V. 2008.Taste attractiveness of free amino acids for juveniles of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Journal of Ichthyology*, 48(1): 124-133.

Marcobal, A., Polo, M.C., Martín-Álvarez, P.J. & 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.

Merson, M. H., Baine, W.B., Gangarosa, E.J. & Swanson, R.C. 1974. Scombroid fish poisoning. Outbreak traced to commercially canned tuna fish. *Journal of American Medical Association (JAMA*), 22(8): 1268-1269.

Ohashi, M., Nomura, F., Suzuki, M., Otsuka, M., Adachi, O. & Arakawa, N. 1974. Oxygen-Sensor-Based simple assay of Histamine in fish using purified amine oxidase. *Journal of Food Science*, 59(3): 519- 522.

Oliveira, R. B. A. 2012. Tuna fishing, capture and post-capture practices in the northeast of Brazil and their effects on histamine and other bioactive amines. *Food Control*, 25(1): 64-68.

Rodtong, S., Nawong, S. & Yongsawatdigul, J. 2005. Histamine accumulation and histamine-forming bacteria in Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *Food microbiology*, 22(5): 475-482.

Rossano, R. 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(1): 161-164.

Schutz, D. E., Chang, G. W. & Bjeldanes, L. F. 1976. Rapid thin layer chromatographic method for the detection of histamine in fish products. *Journal - Association of Official Analytical Chemists,* 59(6):1224-1225.

Serrar, D., Brebant, R., Bruneau, S. & Denoyel, G.A. 1995. The development of a monoclonal antibody-based ELISA for the determination of histamine in food: application to fishery products and comparison with the HPLC assay. *Food Chemistry*, 54 (1): 85-91.

Shakila, R. J., Vasundhara, T. S. & Kumudavally, K. V. 2001. A comparison of the TLCdensitometry and HPLC method for the determination of biogenic amines in fish and fishery products. *Food Chemistry*, 75 (2): 255-259.

Srisomboon, P., Jaengsawang, C. & Chareanvitvorakul, M .1995. A study in histamine content in preserved fish products. *Food*, 25(1): 3.