تحديد الأنواع الميكروبية المنتجة للأمينات الحيوية في بعض أنواع الصوصيج وتقدير تأثيراتها على بعض الأنزيمات الكبدية والكلوبيولينات المناعية في الأرانب المختبرية*

ياسمين إسماعيل خليل[1] وفاروق محمود كامل وكركز محمد ثلج

قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق.

الخلاصة

الكلمات المفتاحية:
الامينات الحيوية، الارانب المختبرية، الصوصيج .

للمراسلة:
ياسمين إسماعيل خليل
قسم علوم الأغذية– كلية الزراعة– جامعة تكريت– **العراق.**

أُجريت الدراسة في مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت ومختبرات كلية التربية، جامعة كركوك بهدف الكشف وجود الأمينات الحيوية **(Biogenic amines)** المتكونة في بعض أنواع الصوصيج التي شملت 28 نموذجاً منها باستعمال جهاز **LC-mass**. وإجراء تشخيص الأنواع البكتيرية وتمييز المنتجة منها لأنواع الأمينات الحيوية (الهستامين والتايرامين والكادافيرين والتربتامين) من خلال تقدير تراكيزها المنتجة مختبرياً بعد تنمية العزلات الميكروبية في بيئة المنتج الغذائي المعقم فضلا عن دراسة تأثيراتها الصحية في الأرانب المختبرية. تبين من النتائج حصول تلوث عينات الصوصيج بالأمينات الحيوية عند 13 عينة بنسبة (46,4%) من العينات الكلية. كما بينت نتائج العزل والتشخيص الميكروبي للأنواع البكتيرية المنتجة للأمينات الحيوية في حصول تلوث عينات الصوصيج بالانواع (*Lactobacillus. plantrum* و*acidophilus Lactobacillus* و *Steptococcus .Pyogenes* و *Staphylococcus. aureus* و *Streptococcus agalactiae* و *Enterococcus faecalis* و *Klebsiella oxytoca* و *Proteus mirabilis* و *Citrobacter diversus* و *Pseudomonas fluorescens*) وتميزت العزلة *Enterococcus. Faecalis* بأنها العزلة الوحيد التي أنتجت جميع الامينات الحيوية المستعملة في الدراسة. كذلك تبين من النتائج إن تأثير التجريع الفموي لمجاميع الأرانب المختبرية لتراكيز من الامينات الحيوية عند 25و 50 مايكروغرام/ مل في حصول ارتفاع معنوي 0.05 >p في مستوى نشاطية أنزيمات كل من (AST) Aspartate Aminotransferase و(ALT) Alanine transaminase و Alkaline phosphatase (ALP) المقاسة ولكافة مجاميع الحيوانات المجرعة ولكل أنواع و تراكيز الأمينات المستخدمة في التجربة. كما كان التجريع من الامينات الحيوية ذا تأثيراً متباين في تركيز الكلوبيولينات المناعية من الأنواع IgG ، IgA ، IgM و IgE في مجاميع الأرانب المختبرية اعتمادا إلى التركيز والنوع منها ولكن جميعها كان عند التركيز 50مايكروغرام/ مل ذا تأثير في الارتفاع المعنوي لتراكيزها في مصل الدم للحيوانات المختبرية.

Identify Microbial Species Produced Biogenic Amines in some Types of Sausages and Its Effects in some Hepatic Enzymes and Immunological globulins in Laboratory Rabbits

Yasmeen I. Khalil, Farooq M. Kamel and Karkaz M. Thalij
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, IRAQ.

ABSTRACT

Keywords:
Biogenic Amines, Laboratory Rabbits, Sausages.

Correspondence:
Yasmeen I. Khalil
Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, **IRAQ**.

The study was conducted in the laboratory of graduate studies in the Department of Food Science, Faculty of Agriculture, University of Tikrit and laboratories Faculty of Education, University of Kirkuk, in order to detect the presence of Biogenic amines formed in some sausages types deployed, which included 28 model them using LC-mass device. And make the diagnosis of bacterial species and distinguish them producing the types of Biogenic amines (histamine and Tyramine and Cadaverine and Tryptamine) by estimating concentrations produced in vitro after the development of microbial isolates in food product sterile environment .In addition to the study of health effects in the effectiveness of liver enzymes Aspartate Aminotransferase and Alanine transaminase and Alkaline phosphatase and the level of immunoglobulins species IgG, IgM and

[1] البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الاول

IgA and IgE in laboratory rabbits. Results show for contamination of samples Alsusij vital amine at 13 sample rate (46.4%) of the total samples. The most biogenic amines were contaminated of sausages, canned fish and cheeses samples are the histamine and Tyramine. Insulation results and diagnosis of microbial bacterial species producing Biogenic amines as shown in for contamination Sausages sampled two types Gram positive bacteria of Lactobacillus They (Lactobacillus plantrum. And .*Lactobacillus acidophilus*) and four bacterial species of Gram positive bacteria of Staphylococcus and Steptococcus species (*Steptococcus .Pyogenes and Staphylococcus. aureus and Streptococcus agalactiae and Enterococcus faecalis*) and four isolates of Gram negative bacteria types of species (*Klebsiella oxytoca and Proteus mirabilis and Citrobacter diversus and Pseudomonas fluorescens*) .

The results also showed the influence of laboratory rabbits orally dosage from three concentrations of biogenic amines at 25 and 50 µg/ml in a significantly reduction ($P<0.05$) on Liver enzymes and immune globulins in serum, They were increased obtained in the activities of serum enzymes (AST) Aspartate Aminotransferase, Alanine transaminase (ALT) and Alkaline phosphatase ALP measured with all animals groups and all types of biogenic amines concentrations used in the experiment. Also the orally dosage of biogenic amines was so impact effects on the concentration of immune globulins of IgG, IgA, IgM and IgE species in laboratory rabbits, depending on concentration and type them but all at 50 µg/ml was influence in increased the all immune globulins in serum for laboratory animals.

المقدمة:

يُعد تلوث منتجات الأغذية بالأحياء المجهرية من المخاطر الرئيسية التي لا ينتج عنه تحلل مكوناتها فقط، لكن هذا التحلل يكون مقروناً بتحول الأحماض الأمينية المكونة للبروتين إلى الأمينات الحيوية (**Biogenic amines**) بفعل الأنزيمات المفرزة منها، ويكون تنوعها معتمداً على نوع الحامض الأميني والكائن المجهري الملوث، ويمكن تعريفها بأنها **عبارة عن مركبات عضوية قاعدية نتروجينية منخفضة الوزن الجزيئي تتكون اساساً بواسطة الأحياء المجهرية ذات الفعالية decarboxylase (ازالة Co_2 من الحامض الاميني)** (Naila وآخرون،2012) والتي توجد بشكل طبيعي في الإنسان والحيوان والتي تساهم في العمليات البيولوجية والطبيعية مثل تنظيم ضغط الدم والاستجابة للحساسية والسيطرة على نمو الخلايا مع ذلك يُعد مواد خطرة على صحة الإنسان عندما توجد بتراكيز مرتفعة (Ladero وآخرون ، 2010) ، ومن الجدير بالذكر أن جسم الإنسان قابلية لإزالة سمومها في الظروف الطبيعية وبالتراكيز المنخفضة لكن يفقد هذه الفعالية عند التراكيز المرتفعة . كما تُعدُ الامينات الحيوية كمواد مسببة للسرطان حيث وجد أنها تتفاعل مع النترات والنتريت التي تضاف في صناعة اللحوم لغرض ثبات اللون وتثبيط الأحياء المجهرية المسببة للفساد الغذائي حيث يتكون النايتروزامين الذي يعتبر من المواد المسرطنة . كما يمكن ان تتكون قاعدة النايتروزامين من تاثير بعض العمليات التصنيعية لبعض الاغذية كعمليات التمليح والتدخين و من المواد المضافة . كما وجد إن بعض أنواع المايكروبات لها القدرة على تكوين النايتروزامين (Nitrosamine) من خلال تفاعلات إنزيمية خاصة تمتلكها (Hernandez-Jover واخرون ، 1997; Eerola واخرون ، 1997; Kim واخرون ، 2009) . لذا دعت الحاجة إلى الاهتمام الواسع بسلامة الأغذية من مخاطر وجود الأمينات الحيوية والأغذية ذات الصلة بها وخطوات التقليل من هذه المخاطر وكذلك تقييم المخاطر المتعلقة بصحة المستهلك ،مما تقدم فإن هدف الدراسة كان في تحديد تراكيز كل من الأمينات الحيوية من Histamine ، Tyramine، Cadaverine و Tryptamine في بعض أنواع منتج الصوصج والتي جمعت من الأسواق وتحديد مستوى تلوثها بالأنواع الميكروبية وتحديد قدرتها في إنتاج كل من الأمينات الحيوية المحددة إضافة إلى تحديد فاعلية الأمينات الفسلجية في الحيوانات المختبرية.

المواد وطرائق البحث:

جمع النماذج: تم جمع 28 عينة لأنواع الصوصيج من الأسواق وبعلامات مختلفة وبواقع مكررين وهي (غديروزينة وGSM و Burdonوالتغذية وCavi والمراد) وحفظت عند درجة 4 ° م لحين أجراء الفحوصات المختبرية اللازمة عليها وكما جاء في (Robertsو Greenwood ، 2003 ; Winn،2006).

عزل وتشخيص الأنواع البكتيرية : بعد إعداد عينات الصوصيج تم زرع التخفيفين الاخيرين منها على الاوساط الزرعية الملائمة التي كانت (MacConkey agar, MRS agar, Nutreint agar, Cetrimide agar, Blood base agar, mannitol salt agar) المجهزة من شركة Oxoid الامريكية. بعد ظهور العزلات تم تنقيتها على الاوساط لكل نوع ثم التشخيص للعزلات من خلال الصفات الظاهرية والمجهرية والصفات المزرعية والكيموحيوية اعتماد على مصنف بيركي في (Holt وآخرون، 1994 ، Carr وآخرون ،2000) ولجميع العزلات.

تحديد وتقدير الامينات الحيوية في نماذج الصوصيج: استخدمت تقنية الكروماتوكرافيا السائلة من خلال جهاز LC-mass لتقدير الامينات الحيوية وهي (الهستامين والتايرامين والتربتامين والكادافيرين) واعتماداً على ما ذكر في (Hwang وآخرون ، 1995) والمحورة من قبل (Ozagul واخرون ،2002).

تحديد قابلية الانواع البكتيرية المعزولة في إنتاجها لأنواع الامينات الحيوية: تم الكشف عن قابلية الأنواع البكتيرية المعزولة في إنتاج أنواع الامينات الحيوية الأربعة من خلال تنميتها على بيئة الصوصيج المعقم إذ كانت التنمية عند 35 ° م لمدة 48 ساعة. بعده تم الكشف عن وجود الامينات الحيوية باستعمال جهاز LC– mass وكما ذكر في الطريقة اعلاه.

التجربة البايولوجية : استعمل في هذه الدراسة 52 أرنباً من سلالة Albino بيضاء اللون بعمر(5-6) أسابيع، وبمعدل وزن (600 – 750) غم، وروعيت ظروف تربية الحيوانات المختبرية من الاضاءة والتهوية وزعت الحيوانات عشوائياً الى ثلاثة عشر مجموعة وبواقع مكررين لكل مجموعة تضمن كل مكرر أرنبين . تم اعطاء الامينات الحيوية من خلال التجريع الفموي بعد اذابت المادة الاصلية للحصول على التراكيز المقترحة للتجربة وهي عند 10 ، 25 و 50 (مايكروغرام/ مل) في 2 مل من الماء المقطر الذي اعطي على وجبتين صباحية ومسائية/ يوم/ حيوان واستمرت التجربة لمدة 28 يوم .(NAS-NRC ، 2002) .

اختبار فعالية الانزيمات : تقدير فعالية أنزيم AST و ALT و ALP في مصل الد م : تم تقدير فعالية الإنزيمات باستعمال عدد التحليل (kits) من نوعRandox بريطاني المنشأ والخاصة بكل أنزيم كما جاء في (Tietz،2005).

تقدير الاكلوبيولينات المناعية IgG , IgA, IgM, IgE :قدرت الاكلوبيولينات المناعية باستعمال جهاز ELISA(Enzyme Linkage Immunue System Assay) وكما ذكر في Tietzواخرون، (2005).

التحليل الإحصائي:تم تحليل النماذج بإستخدام النموذج الخطي العام (Linear Model General) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS ، 2001)لدراسة تأثير العوامل على وفق التصميم العشوائي الكامل CRD كما أجري إختبار دنكن (Duncan ، 1955) لتحديد معنوية الفروق ما بين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى (0.05).

النتائج والمناقشة:

تبين من النتائج أن عينات الصوصيج التي كانت ملوثة بأنواع الأمينات الحيوية هي عند 13 عينات (46,4%) من مجموع العينات الكلية التي كانت عند 28 عينة (الجدول 1). كما تبين من النتائج ارتفاع النسبة المئوية للهستامين الملوث لانواع الصوصيج مقارنة مع الامينات الاخرى حيث كانت النسب (76,9% – 38,5% – 30,8 % – 30,8 %) للهستامين والتايرامين والكادافيرين والتربتامين على التوالي ولقد اتفقت النتائج مع (Gram وآخرون، 2002; Linare وآخرون ، 2010).

أن المستوى المسموح به من الهستامين والتيرامين و والكادافيرين والأمينات الأخرى في أنواع الأغذية يمكن أن يكون بحدود 50–100 ملغم / كغم و 100–800 ملغم / كغم و600 ملغم / كغم على التوالي وغيرها من الامينات الاخرى (Hernandez و Jover وآخرون 1997) .

جدول 1. أعداد ونسب أنواع الأمينات الحيوية الملوثة لعينات الصوصيج.

أنواع عينات الصوصيج الكلية	أنواع الأمينات الحيوية المختبرة	أرقام العينات الموجبة	أعداد ونسب الأمينات الحيوية من العينات الموجبة	
			الأعداد	%
28	Histamine	1- 4- 5- 8- 11- 16- 19- 22- 25- 27	10	76,9
	Tyramine	5- 11- 14- 16- 22	5	38,5
	Cadaverine	1- 8- 11- 15	4	30,8
	Tryptamine	4- 8- 20- 25	4	30,8
	Biogenic amines			46,4

تم الحصول على عزلات بكتيرية تابعة للجنس Lactobacilus وStreptococcus و Staphylococcus منتجة للأمينات الحيوية (**Biogenic amines**) من نماذج الصوصيج وذلك بتنميتها على الاوساط الملائمة MacConkey agar, MRS agar, Nutreint agar, Cetrimide agar, Blood base agar, mannitol salt agar( ) ثم تشخيصها اعتماداً على الصفات المظهرية والمزرعية والبايوكيميائية الخاصة بها إلى أجناس وأنواع وعند مقارنة نتائج الاختبارات المجهري والكيموحيوية والمزرعية مع ما ذُكر في موسوعة بيركي التصنيفية ومع ما ذكره (Salminen وآخرون ، 2004) ومع ما أشار إليه (Holt وآخرون ' 1994) وكذلك مع ما ذكره (Carr وآخرون ، 2002) فقد تم تشخيص نوعين من بكتيريا LAB تابعة للجنس Lactobacillus وهي *Lb.plantarum*، *Lb.acidophilus* وأربعة أنواع بكتيرية من الموجبة لصبغة كرام تعود للجنسين *Staphylococcus* و Steptococcus من الأنواع (*Steptococcus .Pyogenes* و*Staphylococcus. aureus* و *Streptococcus agalactiae* و *Enterococcus faecalis*) واربعة عزلات من الأنواع السالبة لصبغة كرام من الأنواع (*Klebsiella oxytoca* و *Proteus mirabilis* و *Citrobacter diversus* و*Pseudomonas fluorescens*) وكما موضحة في الجدول (2) و(3).

جدول 2. نتائج الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية للبكتيريا المعزولة من عينات الصوصيح .

نوع الاختبار / الأنواع الجرثومية	Gram stain	Oxidase	Catalase	تكوين الامونيا من الاحنض	من تكوين الكلوكوز CO_2	النمو في درجات حرارة مختلفة(م) 10	37	45	النمو في تراكيز الملح مختلفة 4%	6.5 %	Motility	Indol	Methyl red	Voges Proskauer	Simmon's citrate	Urease	Kliglar iron agar	Gelatin Liquefication	Bactracin	Haemolysin	Coagulase
Lactobacillus acidophilus	+	–	–	–	–	–	+	–	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Klebsiella oxytoca	–	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	–	+	V	+	+	+	–	–	ND	ND	ND
Lactobacillus plantrum	+	–	–	–	–	–	+	–	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Enterococcus faecalis	+	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	–	–	+	_	ND	ND	ND	_	v	+
Citrobacter diversus	–	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	–	_	+	_	_	–	ND	ND	ND
Proteus mirabilis	_	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	–	+	–	v	+	+	+	ND	ND	ND
Pseudomonas fluorescens	–	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	–	+	–	+	+	_	+	ND	ND	ND
Staphylococcus. aureus	+	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	v	ND	ND	ND	_	+	+
Streptococcus agalactiae	+	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	_	+	+
Streptococcus pyogenes	+	–	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	+	+	+

+ : موجبة الاختبار ، – : سالبة الاختبار ، ND : لم يجر الاختبار ، v: متباينة

جدول 3. اختبار تخمر الكربوهيدرات للبكتيريا المعزولة من عينات الصوصيح.

نوع الاختبار / الأنواع الجرثومية	كلوكوز	رافينوز	كلاكتوز	مانتوز	مانتول	فركتوز	زايلوز	لاكتوز	ارابينوز	رايبوز	تريهالوز	سكروز	سوربيتول	المليبايوز	رامنوز	اينوسيتول	سيليبايوز
Lactobacillus acidophilus	ND	+	+	+	+	_	_	+	+	_	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Klebsiella oxytoca	+	+	+	ND	+	ND	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	_	+
Lactobacillus plantrum	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Enterococcus faecalis	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	V	_	+	ND	ND	ND	ND	ND
Citrobacter diversus	+	–	+	ND	+	ND	+	+	+	+	+	ND	+	_	+	_	+
Proteus mirabilis	+	–	+	ND	_	ND	+	_	_	+	+	ND	_	_	_	_	_
Pseudomonas fluorescens	_	–	+	ND	+	ND	+	_	+	–	–	ND	+	_	_	+	+
Staphylococcus. aureus	+	ND	ND	ND	+	+	ND	ND	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Streptococcus agalactiae	+	ND	ND	ND	_	+	ND	ND	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Streptococcus pyogenes	+	ND	ND	ND	_	+	ND	ND	V	_	+	+	ND	ND	ND	ND	ND

+ : موجبة الاختبار ، – : سالبة الاختبار ، ND : لم يجر الاختبار ، v: متباينة

أن معرفة مستوى تركيز الأمينات الحيوية في الأغذية ضروري جداً لمعرفة المخاطر الصحية التي قد تنشأ من استهلاك الغذاء المحتوي عليها، وبما ان الأمينات تتكون بواسطة نشاط الأنزيمات أو نشاط البكتيريا المفرزة لهذه الأنزيمات فأن تثبيط مثل هذا النشاط ومنع النمو البكتيري سيكون غاية في الأهمية للتحكم في محتوى الأغذية من هذه الأمينات بتطبيق الظروف الصحية أثناء الإنتاج والتصنيع والتداول الأمن لجميع المواد الغذائية.

إن مقارنة تراكيز الأمينات الحيوية المفحوصة في عينات الصوصيح في الدراسة مع التراكيز المسموح بها فأنها تشير إلى إن تلك التراكيز تعد ضمن الحدود المسموحة، ولكن وجود أكثر من نوع منها يسبب في زيادة إمكانية إحداثها للتسمم الغذائي أو الحالات المرضية الناتجة عنها حيث تعمل على زيادة امتصاصها في الأمعاء من خلال تثبيط عمل نظام الأنزيمات الموجود في الجسم DAOو PAO MAO وHNMT . وتختلف الحدود القانونية للمستوى المسموح به للأمينات في دول العالم المختلفة وذلك لاختلاف العادات الغذائية ومستوى تناول هذه الأمينات ضمن الوجبة أو في اليوم الواحد وخاصة في الدول التي تعتمد اغلب غذاؤها على الأغذية البحرية (Bodmer; 1996، Shalaby وآخرون ، 1999; FDA ،2001;Bardocz ،1995) وتزداد حدة التسمم بالأمينات في حالة التداخل مع عوامل اخرى مثل الأدوية (Monoamine oxidase inhibitor) ووجود الأمينات الأخرى في الأغذية وعوامل أخرى تعتمد على الحالة الفردية للمستهلك . (Lipp وRose ، 1997;Leigh وآخرون ، 2000). يمكن أن تتواجد بعض الأنواع البكتيرية ضمن البادئ المضاف التي يكون لها القابلية على إنتاج مركبات تعمل على تثبيط الأنزيمات النازعة لمجموعة الكاربوكسيل من الحامض الاميني فضلا عن قابليتها على استهلاكه وبالتالي فإنها تمتص الأمينات الحيوي من وسط إنتاجها الذي سبب في قلة بعض الأمينات الحيوية في عينات المواد الغذائية المختبرة والتي اتفقت في ذلك مع ما ذكره (Dopkericine وآخرون ،2000 ;Naila وآخرون ، 2012) .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي للمعايير الإنزيمية عند مستوى احتمالية احتمالية ($P< 0.05$) كما في الجدول (5) عدم وجود فروقات معنوية في فعالية إنزيم AST Aspartate Amenotransferase عند تجريع مجاميع الحيوانات بالتركيز 10مايكروغرام / مل وحصول ارتفاع معنوي عند التركيزين 25 و50 مايكروغرام / مل لكل الامينات المستخدمة ، كما يبين الجدول حصول ارتفاع معنوي في فعالية إنزيمات ALT Alanine transaminase و ALP المقاسة ولكل مجاميع الحيوانات المجرعة بالأمينات الأربعة في التجربة وبكافة التراكيز مقارنة بمجموعة السيطرة ، وان اكبر ارتفاع معنوي لفعالية هذه الإنزيمات كان عند التركيز 50 مايكروغرام / مل ولكافة الأمينات، وسجل التربتامين أكثر الأمينات من حيث ارتفاع فعالية إنزيم AST و ALP حيث بلغت تراكيزها عند التجريع بالتربتامن وبالتركيز 50 مايكروغرام / مل(36، 148) وحدة دولية / مل لفعالية الإنزيميين ASTو ALP على التوالي وحدة دولية /مل في حين كان الهستامين الامين الذي سبب أعلى زيادة في تركيز الانزيم ALT وبالتركيز 50 مايكروغرام / مل حيث سجل (52) وحدة دولية /مل مقارنة بمجاميع السيطرة ،وتزداد هذه الفعالية بزيادة التركيز المجرع ولجميع الأمينات في التجربة.

إن هذه الزيادة المعنوية في تراكيز الأنزيمات ASTوALT تدل على حصول خلل في أداء وظائف الكبد لدى الحيوانات المجرعة بالأمينات الحيوية وخاصة عند التركيز 50مايكروغرام / وذلك يشير إلى حجم الضرر الذي حصل في أنسجة الكبد وبالتالي ظهر تأثيره واضحاً على وظائفه المتعددة في الجسم ، وان هذا الخلل يؤدى إلى انتقال مكوناتها إلى الدم بسبب تحطم الغشاء الخلوي وبالتالي ازدياد تركيزها مسببة بذلك ارتفاع قيم الإنزيمات AST و ALT في مصل الدم.كما إن إرتفاع إنزيم AST في فعاليته يمكن أن يحدث في حالة الأمراض مثل الإلتهابات البكتيرية الشديدة والأورام لأعضاء مثل القلب والعضلات (Cheesborough، 1991). أما بالنسبة للأنزيم AP فيدل الارتفاع في تركيزه على حصول خلل في الكلى بسبب وجود الأمينات الذي يؤدي إلى خروج ذلك الأنزيم إلى مجرى الدم (Tietz،2005).

كما يبين الجدول (6) تأثير التجريع بثلاث تراكيز مختلفة من الأمينات على تركيز الكلوبيوليينات المناعية في الأرانب حيث أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وعند مستوى احتمالية ($P< 0.05$) حصول ارتفاع معنوي في تركيز الكلوبيوليينات نوع IgG ولكافة التراكيز المستخدمة في التجربة .

أما بالنسبة لتركيز IgM لم تسجل فروق معنوية عند التركيز 10 مايكروغرام / مل أما عند التركيز 25مايكروغرام / مل لم يسجل وجود اختلافات معنوية للهستامين والتربتامين وحصول ارتفاع معنوي للتايرامين والكادافيرين ، وقد سجلت جميع الأمينات ارتفاعاً معنوياً عند التركيز 50 مايكروغرام/ مل ،أما بالنسبة للIgA لا وجود لفروقات معنوية عند التركيز 10 وحصول ارتفاع معنوي عند التركيزين 25و50 مايكروغرام / مل ، أما فيما يخص النوع IgE قد وجد حصول ارتفاع معنوي في تركيزه ولجميع التراكيز المستخدمة بالتجربة ما عدا التايرامين لم يسجل أي فرق معنوي عند التركيز 10مايكروغرام / مل .

أن زيادة تركيز الكلوبيوليينات المناعية في مصل الدم دلالة على الإصابة بالالتهابات المزمنة (عامل إصابة) مما يؤدي إلى ظهور دفاعات الجسم المختلفة حيث تشير الزيادة في النوع IgA إلى حالة تليف الكبد في معظم الحالات أو حصول ورم نخاعي خبيث IgA myeloma ، أما نوع الكلوبيولين المناعي IgG فانه يمكن أن يشير ارتفاعه لحدوث الالتهابات المزمنة الحبيبية وأمراض الكبد وسوء التغذية الحاد وفرط الحساسية والتهابات الجلد. أما ارتفاع الكلوبيولين المناعي نوع IgM فانه يمكن أن يعود إلى حصول التهابات لاسيما في المفاصل و IgD يمكن أن تعود الزيادة فيه إلى حصول الالتهابات المزمنة وورم نخاعي خبيث IgD myeloma ، أما الزيادة في الكلوبيولين المناعي نوع IgE فانه يمكن أن يرجع إلى الإصابة بالأمراض الجلدية مثل الاكزما وأمراض الجهاز التنفسي وحصول ورم نخاعي خبيث في الجسمIgE myeloma (Maurice و Albert ، 2008) .

جدول 4 . تركيز الأمينات الحيوية المنتجة مختبريا من أنواع المايكروبات الملوثة لعينات الصوصج.

مصدر عزل الأنواع البكتيرية	نوع العزلة	تركيز الأمينات الحيوية المنتجة (مايكروغرام/مل)			
		Histamine	Tyramine	Cadaverine	Tryptamine
عينات الصوصج	*Proteus mirabilis*	5,8	-	5,4	-
	Staphylococcus aureus	21,6	11,8	-	-
	Lactobacillus acidophilus	74,1	38,4	-	35,2
	Klebsiella oxytoca	43,8	-	19,0	-
	Streptococcus pyogenes	72,9	22,0	-	53,4
	Lactobacillus plantrum	69,3	31,7	-	25,8
	Enterococcus faecalis	57,0	28,6	42,7	16,1
	Citrobacter diversus	22,8	-	-	7,3
	Pseudomonas fluorescens	84,3	17,1	-	-
	Streptococcus agalactiae	91,7	-	15,2	-

جدول 5 . تأثير أنواع الأمينات الحيوية في نشاطية إنزيمات الكبد لذكور الأرانب.

المعاملات	التركيز المجرع (مايكروغرام/ مل)	نشاطية الإنزيمات لذكور الارانب(وحدة دولية/مل)		
		AST	ALT	ALP
السيطرة	صفر	29c	38e	121e
Histamine	10	30c	40d	127d
	25	33b	45c	135c
	50	35a	52a	142b
Tyramine	10	29c	41d	125d
	25	31b	43c	132c
	50	34a	47b	137b
Cadaverine	10	30c	39d	126d
	25	32b	43c	133c
	50	35a	47b	139b
Tryptamine	10	30c	41d	123d
	25	33b	44c	138b
	50	36a	49b	148a

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

جدول6. تأثير أنواع الأمينات الحيوية في تركيز الكلوبيولينات المناعية.

المعاملات	التركيز المجرع (مايكروغرام / مل)	تركيز انواع الكلوبيولينات في دم الارانب			
		IgG	IgM	IgA	IgE
		(ملغم/ديسلتر)			(وحدة دولية/مل)
السيطرة	صفر	6.53e	12.61b	9.34b	1244d
Histamine	10	6.65d	12.58b	9.38b	1278b
	25	7.75a	12.64b	9.46a	1306a
	50	7.91a	12.70a	9.59a	1327a
Tyramine	10	6.60d	12.60b	9.35b	1253d
	25	6.69c	12.68a	9.48a	1275b
	50	6.87b	12.75a	9.55a	1298a
Cadaverine	10	6.64c	12.62b	9.37b	1265c
	25	6.77c	12.66a	9.45a	1284b
	50	6.85b	12.71a	9.57a	1290b
Tryptamine	10	6.58d	12.60b	9.38b	1271c
	25	6.69c	12.64b	9.41a	1286b
	50	6.84b	12.68a	9.57a	1302a

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

المصادر:

Bardocz ,S.(1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. Trends Food Sci. Technol. 6, 10, 341-346.

Bodmer, S.; Imark C and Kneubühl, M. (1999). Biogenic amines in foods: histamine and food processing. Inflammation Res. 48, 296-300.

Carr, F. J.; Chill, D. & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria. A literature survey. Critical Reviews in Microbiology, 28 (4): 281-370.

Cheesborough, M. (1991). Medical laboratory manual for tropical countries 2nd ed. Topical health Tec. and Butterworth Scientific lim-ited. (1): 494-529.

Duncan , D.(1955).Multiple range and Multiple F-Test.Biometrics.11:1-42.

Dapkevicius, M.L.N.E.; Nout, M.J.R.; Rombouts, F.M.; Houben, J.H.and Wymenga, W., (2000). Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. International Journal of Food Microbiology 57, 107– 114.

Eerola,S.;Sagues,A.X.R.;Lilleberg,L. and Aalto,H.(1997).*Biogenic* amines in dry sausagesduring shelf-life *storage Zeitung Lebensmittell For Untersuchung und Foschung* A,205,351-355.

FDA, (2001). Scombrotoxin (histamine) formation. Page p. 73 in Fish and fishery products hazards and controls guide. 3rd ed. Department of Health and Human Services, Publich Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Office Seafood Washington, DC.

Gram,L.L.; Ravn,M.; Rasch,J.B.; Bruhn,A.B.; Christensen and M.; Givskov. (2002). Food spoilage interactions between food spoilage bacteria. International Journal of Food Microbiology 78, 79-97.

Hern´andez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, M.T., Marin´e- Font, A., and Vidal-Carou, M.C. (1997). Effect of starter cultures on biogenic amine formation during fermented sausage production. *J. Food Protect*., **60**:825–830.

Holt, J. G.; Kring, N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. J. and Williams, S. T . (1994). Group 17 gram-positive cocci. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. W. R. and Forlifer, L. E. pp. 527-543.

Hwang .D.F., Chang . S.H.,Shiau , C.Y.,& Cheng ,C.C .(1995) . Biogenic amines in the fish of Sailfish (*Istiophorus platypterus*) responsible for scombriod poisoning .*Journal of Food Science* ,60,926-928.

Kim, M.K.; Mah, J.H.; Hwang, H.J. (2009) Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. Food Chem 116:87-95.

Ladero V, Calles-Enríquez M, Fernández M and Alvarez MA, (2010). Toxi-cological effects of dietary biogenic amines. Current Nutrition Food Sci. 6, 145-156.

Leigh, L, Lehane L., and Olley J. (2000). Histamine fish poisoning revisted. *Int. J. Food Microbiol*., **58**:1–37.

Lipp, E.K. and Rose, J.B.(1997). The role of seafood in foodborne diseases in the United States of America. *Rev Sci Tech OIE (Off Int Epizoot)*, **16**:620–640.

Linares DM, Cruz Martı´n M, Ladero V, Alvarez MA, Ferna´ndez M(2010). Biogenic amines in dairy products. Critical Rev Food Sci .Nutr. (in press). has a global translational effect during acid adaptation in Salmonella enterica serovar typhimurium. J Bacteriol 189, 2417–2425.

Maurice .R.G .O"Gormano and Albert .D , Donnenberg (2008).Humman Immunology ,second edition .

Naila,A.; Flint,S.; Fletcher,G.; Bremer,Ph.; Meerdink,G.(2012). Histamine Degradation by Diamine Oxidase, Lactobacillus and Vergibacillus halodoniticans donitrificans Nai18, http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.1000158.

National Research Council Recommended (NAS-NRC) (2002) "Dietary Allowance "15th ed., Washington D.C., National Academy Press.

OZUGUL, F.; TAYLOR, K.D.; QUANTICK, P. Y OZAGUL, Y. (2002). Biogenic amines formation in Atlantic herring (Clupea harengus) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. International Journal of Food Science and Technology, 37: 515- 522.

Salminen ,S.; Wright .A.; Ouwehand ,A .(2004) " Lactic acid b-acteria , microbiological and functional aspect " third ed ., Marcel Dekker ,Inc .,New York.

SAS (2001). SAS User's guide: Statistical system, Inc. Cary, NC. USA.

Shalaby A.R., (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int. 29 (7), 675-690.

Tietz, Y., (2005), Clinical Biochemistry, 6th ed., McGraw –Hill, New York. 825.

Winn,J.W.; Allen,S.; Janda,W.; Koneman,E.; Procop,G.; Schreck-enberger, P.; and Woods,G.(2006). Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A.