اقیانوس‌شناسی/ سال سوم/ شماره ۱۰/ تابستان ۱۳۹۱/۹/۶۷-۵۹

بررسی تغییرات برخی آمین‌های بیوژنیک ماهی گیدر *(Thunnus albacares)* نگهداری شده در یخ و انجماد در شناورهای صیادی چابهار

شیوا افشارمنش[1*]، سیدیوسف پیغمبری[2]، بهاره شعبان‌پور[3]، احمد سواری[4]

۱ـ کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استان گلستان، گرگان، پست الکترونیکی: shiva_826@yahoo.com

۲ـ عضو هیأت علمی دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استان گلستان، گرگان، پست الکترونیکی: sypaighambari@yahoo.com

۳ـ عضو هیأت علمی دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استان گلستان، گرگان، پست الکترونیکی: b_shabanpour@yahoo.com

۴ـ عضو هیأت علمی دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: savari53@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۴ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۱۰*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۱، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

در این تحقیق که در فروردین ۸۸ انجام شده است به بررسی میزان آمین‌های بیوژن پوترسین، کدورین وهیستامین ماهی گیدر (*Thunnus albacares*) و رابطه‌ی آن‌ها با بارمیکروبی حاصل از دو روش نگهداری در یخ و انجماد پرداخته شده است. پس از کشت میکروبی قطعه‌ای از عضله‌های ۱۵ نمونه ماهی گیدر، عصاره‌ای را استخراج کرده و مورد آنالیز شیمیایی قرار دادیم. بیشترین تعداد نمونه‌های ردیابی شده برای آمین‌ها به‌ترتیب برای پوترسین، کدورین و سپس هیستامین بوده است. با نگهداری ماهیان در یخ، مشاهده گردید که آمین پوترسین به‌عنوان عمده‌ترین آمین تشکیل شده در این شرایط نگهداری بوده است. با افزایش بار باکتریایی، میزان تولید آمین‌های پوترسین، کدورین و هیستامین افزایش می‌یابد و این دو عامل یعنی بار باکتریایی و تولید آمین‌ها با یکدیگر رابطه‌ی تنگاتنگ و مستقیمی دارند. با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی خطی مثبت، بالا (r =۰/۹۷) و معنی داری(P<۰/۰۵) برخوردار است. طی نگهداری در یخ و انجماد، بیشترین مقدار آمین پوترسین مربوط به نمونه‌ای بوده است که بیشترین بار باکتریایی را داشته است. با افزایش بار باکتریایی، مقدار کادورین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی خطی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۴) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است. همین‌طور با افزایش بار باکتریایی، مقدار هیستامین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی نمایی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۹) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است. به همین صورت با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین و کاداورین در عضله‌ی نگهداری شده به‌حالت انجماد افزایش یافته و از رابطه‌ی نمایی مثبت، بالا (r = ۰/۹۸) و (r =۰/۹۶) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) به‌ترتیب برخوردار است. تولید آمین هیستامین در حالت یخ و انجماد بسته به تولید آمین پوترسین و کاداورین است و با افزایش تولید پوترسین و کاداورین، میزان تولید آمین

هیستامین نیز افزایش می‌یابد. در حالت انجماد، آمین هیستامین ردیابی نشد، زیرا باکتری‌های موجود در نمونه‌های منجمد سایکروفیل‌اند و قادر به تولید آمین هیستامین نیستند.

کلمات کلیدی: *آمین‌های بیوژن (هیستامین، پوترسین، کاداورین)، ماهی گیدر (Thunnus albacares)، بار باکتریایی، یخ، انجماد.*

۱. مقدمه

با رشد روز افزون جمعیت، آبزیان دریایی به‌عنوان یکی از بهترین منابع، جهت تامین پروتئین جامعه در راستای کاهش مصرف گوشت قرمز هستند. از نقطه نظر مصرف کننده مهمترین عوامل تعیین کیفیت محصولات دریایی عبارتند از: ظاهر، بو، طعم، بافت ، تردی، رنگ (خواص ارگانولپتیکی)، عدم حضور میکروارگانیسم‌های خاص، اندازه، ترکیب و... تازگی[1] مهمترین عامل کیفی برای مصرف کننده است که میزان یا درجه فساد ماهی و محصولات آن هنگام نگهداری را نشان می‌دهد (Connell, 2002). امروزه برای صید آبزیان از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. در کشورها و مناطقی که نیاز به صید در مقدار و حجم زیاد است اصولاً از کشتی‌های صیادی استفاده می‌شود که مجهز به سامانه‌های نگهداری و خنک‌کننده هستند. در این روش صید درحجم زیاد و با استفاده از ادوات پیشرفته‌تر و به‌خصوص نگهداری اصولی‌تر (به‌حالت انجماد) صورت می‌گیرد. از دیگر روش‌های صید و نگهداری آبزیان صید به روش مرسوم و متداول است که در این روش محصول صید شده عمدتاً تا هنگام تخلیه بر روی عرشه در یخ نگهداری و خنک می‌گردد (جان فدا، ۱۳۸۴). برای بررسی کنترل کیفی آبزیان از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. در صنایع شیلاتی برخی روش‌های شیمیایی، حسی و فیزیکی و باکتریایی مورد سنجش قرار گرفته و به‌عنوان شاخص میزان فساد یا حد پیشرفت فساد و بررسی‌های کنترل کیفی مورد استفاده قرار می‌گیرند. آمین‌های بیوژن از راه دکر بو کسیلاسیون باکتریایی اسیدهای آمینه در غذاها تشکیل می‌شوند (Taylor and Sumner, 1986). تحقیقات نشان می‌دهند که طی نگهداری ماهی به دو صورت متفاوت پس از صید، سطوح متفاوتی از آمین‌های مهم مثل: پوترسین، هیستامین و کاداورین نیز تشکیل می‌شود. باید توجه داشت که عوامل فساد آبزیانی که در یخ و حالت انجماد نگهداری می‌شوند عمدتاً باکتری‌های سرمادوست[2] هستند. این باکتری‌ها قادرند در صفر درجه یا کمتر از این فعالیت نموده و تکثیر شوند. ماهی گیدر با نام علمی *Thunnus albacares* از جمله تون‌ماهیانی است که مصرف بسیار زیاد به‌صورت روزمره و محصول فراوری شده به حالت کنسرو و غیره را دارد و روش غالب صید آن در ایران روش گوشگیر است. چون در لنج‌های صیادی تون ماهیان بیشتر از یخ در نگهداری ماهیان صید شده استفاده می‌شود و گزارش‌ها حاکی از نامناسب بودن این روش است، بنابراین در این مقاله ماهیانی که پس از صید به دو روش متفاوت نگهداری شده بودند (نگهداری در حالت انجماد و یخ بر روی عرشه) بر اساس سنجش و مقایسه پارامترهای باکتریایی و شمیایی در این دو روش نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفتند؛ با این هدف که بر اساس نتایج این تحقیق بتوان راهکارهای دقیق‌تر و مطمئن‌تر نگهداری و تعیین کیفیت منابع غذایی دریایی را ارائه نمود.

۲. مواد و روش‌ها

۲ـ۱. تهیه نمونه‌های ماهی

جهت انجام این تحقیق در هنگام تخلیه شناورهای صیادی در منطقه پسابندر چابهار، تعداد ۱۵ عدد ماهی گیدر از شناوری که ماهیان را به حالت انجماد و ۱۵ عدد دیگر، از شناوری که ماهیان را در یخ نگهداری کرده بودند تهیه و به‌صورت کاملا یخ پوشی در داخل یونولیت ظرف مدت ۴ ساعت به آزمایشگاه پاسارگاد تهران انتقال داده شدند. بعد از انتقال نمونه‌ها، مراحل اندیس‌های باکتریایی و شیمیایی آنها به‌صورت جداگانه مورد آنالیز قرار گرفت.

مواد مصرفی جهت انجام آزمون میکروبی عبارت بودند از:

[1] Freshness

[2] *Psychrophilic bacteria*

محیط کشت نوترینت آگار مرک Merck، نمک طعام، آب مقطر، پنبه، الکل، ساولن، تیغ اسکالپل، ورق آلومینیومی به‌علاوه مواد مصرفی جهت آنالیز شیمیایی (آمین‌ها) عبارت بودند از:

متانول، کلروفرم، بوتانول، اتر، n ـ هپتان، اسید کلریدریک (۰/۲ نرمال) همگی با درجه خلوص Liquid Chromatography، بنزویل کلراید با علامت «*for synthesis*»، تری کلرواستیک اسید (۵ درصد)، همگی با درجه خلوص بالا محصول Merck آلمان، هیدروکسید سدیم، آب مقطر با درجه خلوص مخصوص HPLC (برای تهیه محلول‌ها) و آمین‌های خالص به‌عنوان استاندارد.

۲ـ۲. آنالیز باکتریایی

برای جلوگیری از آلودگی احتمالی باکتریایی و خطای کمتر در محاسبه تعداد بار باکتری‌های سرمادوست، در ابتدا باید بار باکتریایی (Total count) در هر نمونه مورد سنجش قرار می‌گرفت و سپس محاسبه میزان غلظت آمین‌های آن نمونه انجام می‌شد. برای تعیین شمارش باکتریایی در این پروژه از کشت سطحی بر روی محیط آگار مغذی استفاده شد که شامل مراحل تهیه سرم فیزیولوژی، تهیه محیط کشت آگار، کشت سطحی و انکوباسیون محیط‌های کشت داده شده در داخل انکوباتور در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ب ۱۳۸۰) جهت رشد باکتری‌های سرمادوست به مدت ۴۸ ساعت بود. سپس بار باکتریایی به‌صورت لگاریتم کلنی‌های شمارش شده به ازای هر گرم عضله ارائه گردید (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، الف، ب و ج، ۱۳۸۰).

۲ـ۳. آنالیز شیمیایی (آمین‌های بیوژن)

۲ـ۳ـ۱. استخراج[1]

استخراج آمین‌های بیوژن بر اساس روش Me itz and Karmas (1978) انجام شد.

۲ـ۳ـ۲. مشتق‌سازی[2]

به ماده خشک باقیمانده در بخش استخراج، ۱ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۲ مولار اضافه شد. سپس توسط میکروپیپت، ۵ میکرولیتر بنزویل کلراید اضافه و مخلوط گردید. سپس اجازه داده شد تا محلول به مدت ۲۰ دقیقه بماند. بعد ۲ میلی لیتر محلول کلرید سدیم اشباع اضافه کرده تا عمل مشتق سازی متوقف گردد. دو میلی لیتر دی اتیل اتر اضافه، و به‌خوبی تکان داده شد و سپس به مدت ۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس فاز بالایی (اتر) به لوله تمیز منتقل و تبخیر، تا خشک شود (Dawood et al., 1988).

۲ـ۳ـ۳. تزریق و آنالیز دستگاهی با HPLC

این مرحله از آزمایش نیز بر اساس روشی است که توسط (Dawood et al., 1988) انجام شد. آمین‌های پوترسین، کدورین و هیستامین بر اساس تطابق زمان ماندگاری[3] پیک‌های نمونه مجهول با نمونه های استاندارد، شناسایی و با توجه به سطح زیر منحنی پیک‌ها با استفاده از منحنی استاندارد مربوطه تعیین غلظت شدند.

۳. نتایج

در این تحقیق، بار باکتریایی گروه سرماگرا (سرمادوست) در نمونه‌های ماهی گیدر نگهداری شده در یخ و انجماد مورد بررسی قرار گرفتند. دقت شود که برای آنالیز پارامترهای شیمیایی و میکروبی، با توجه به اینکه تولید هر آمین وابسته به میزان بار باکتریایی تولیدکننده آن آمین است. بنابراین ابتدا پارامتر میکروبی هر نمونه ارزیابی گردید و سپس بررسی میزان پارامتر شیمیایی آن نمونه صورت گرفت.

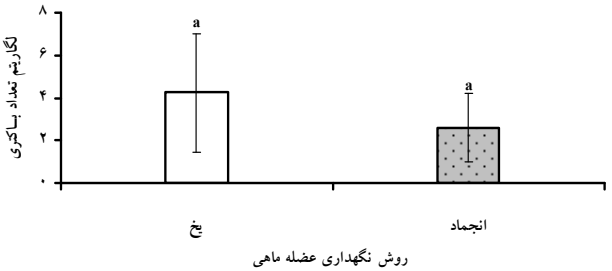
نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که میانگین بار باکتری‌های سرمادوست در روش نگهداری ماهیان در یخ رشد و بقای بهتری نسبت به نگهداری ماهیان در حالت انجماد داشته‌اند، به‌طوری که حداکثر میزان بار این باکتری‌ها در نگهداری نمونه‌ها در یخ و

[1] Extraction

[2] Derivatization

[3] Retention time

انجماد به‌ترتیب به ۸/۶۲ log CFU/g بیش از 10^8 و ۵/۵۲log CFU/g (بیش از 10^5) رسیده بودند.



شکل ۱ـ مقایسه‌ی لگاریتم تعداد باکتری طی دو روش نگهداری

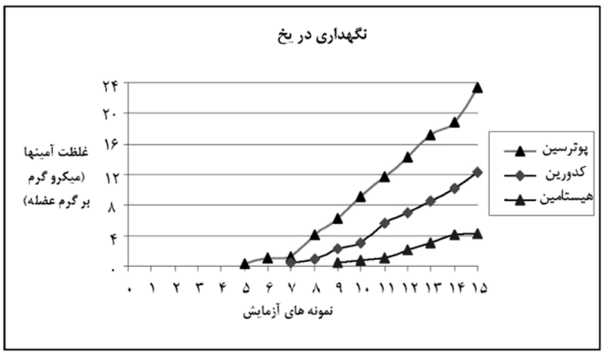
اگرچه مطابق با شکل ۱ در روش نگهداری عضله ماهی در یخ و به حالت انجماد، مقادیر بار باکتریایی در عضله‌ی نگهداری شده در یخ نسبت به نگهداری به حالت انجماد بالاتر بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌داری نبود ($p>0/05$).

از آمین‌های بیوژن به‌عنوان پارامتر شیمیایی فساد در نمونه‌های ماهی گیدر نگهداری شده در یخ و حالت انجماد در این تحقیق استفاده شد. از عصاره‌های استخراج شده از بافت عضله هر ماهی، به میزان ۲۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق گردید که با توجه به کروماتوگرام‌های به‌دست آمده و سطوح زیر این کروماتوگرام‌ها، غلظت آمین‌ها توسط معادله‌ی خطی به‌دست آمده از منحنی کالیبراسیون (استاندارد) محاسبه گردید. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که هر سه آمین مورد بررسی یعنی پوترسین، کدورین و هیستامین در روش نگهداری ماهیان در یخ، توسط دستگاه HPLC ردیابی شدند، در صورتی‌که با نگهداری ماهیان در لنج‌های حاوی تونل انجماد، آمین هیستامین در بافت عضله این ماهیان یافت نشد.

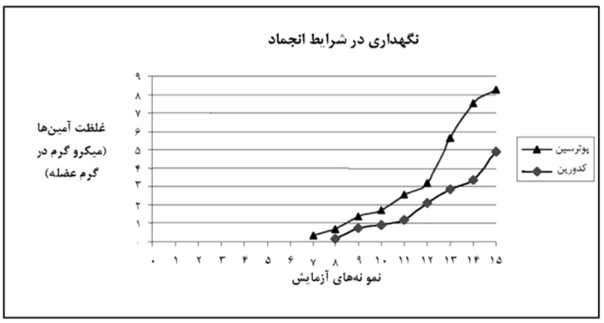
در این تحقیق، در هر دو روش نگهداری، آمین بیوژن پوترسین از نظر میزان و میانگین غلظت به‌دست آمده عمده‌ترین آمین تشکیل شده بود. به‌طوری‌که به‌دلیل رشد و بقای مناسب‌تر باکتری‌های تولیدکننده این آمین در شرایط نگهداری در یخ میانگین غلظت این آمین بیشتر از شرایط نگهداری در حالت انجماد بوده است.

روند تشکیل آمین‌ها در روش نگهداری در حالت انجماد در تعداد نمونه‌های کمتری صورت گرفته است، به‌طوری که حتی آمین هیستامین در حالت نگهداری به روش انجماد تشکیل نگردید.

با توجه به اینکه شرایط نگهداری ماهی می‌تواند در میزان و مقدار غلظت آمین‌های تولیدی موثر باشد، بنابراین برای مقایسه‌ی بهتر میانگین غلظت تولیدی برای هر آمین در هر دو روش نگهداری در شکل‌های مربوط آورده شده است (شکل ۲ و ۳). عدم نمایش هیستامین در حالت انجماد در شکل ۳ به‌دلیل عدم ردیابی این آمین در حالت انجماد بوده است.



شکل ۲ـ تغییرات آمین‌های بیوژن (میکروگرم بر گرم) در بافت عضله ماهی گیدر نگهداری شده در یخ

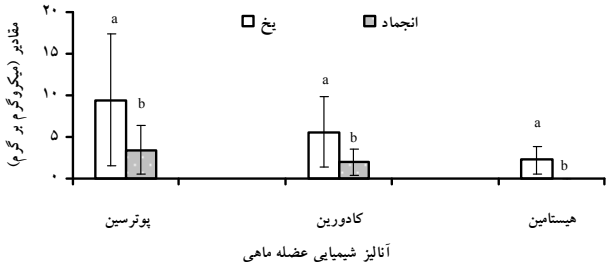


شکل ۳ـ تغییرات آمین‌های بیوژن (میکروگرم بر گرم) در بافت عضله ماهی گیدر در حالت انجماد

در آنالیز شیمیایی عضله ماهی در شکل ۴ مشاهده گردید. مقادیر پوترسین، کادورین و هیستامین در عضله ماهی نگهداری شده در یخ نسبت به عضله نگهداری شده به‌حالت انجماد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($p<0/05$).

در بررسی همبستگی پیرسون بین پارامترهای شیمیایی عضله ماهی نگهداری شده در یخ مشاهده گردید که پارامترهای مورد بررسی از همبستگی بالا و معنی‌داری برخوردار بودند ($p<0/05$) (جدول ۱).

با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی خطی مثبت، بالا (r =۰/۹۷) و معنی‌داری برخوردار است.



شکل ۴ـ آنالیز شیمیایی عضله ماهی گیدردر دو حالت نگهداری در یخ و انجماد

با افزایش بار باکتریایی، مقدار کادورین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه خطی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۴) و معنی داری برخوردار است.

با افزایش بار باکتریایی مقدار هیستامین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه نمایی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۹) و معنی داری برخوردار است. به‌عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر هیستامین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می یابد.

جدول ۱ـ همبستگی بین پارامترهای شیمیایی بافت ماهی با یکدیگر در یخ

	پوترسین	کادورین	هیستامین
پوترسین		*۰/۹۹***	*۰/۹۷***
کادورین			*۰/۹۷۵***
هیستامین			

*** معنی دار در سطح ۰/۰۱*

بررسی همبستگی پیرسون بین پوترسین و کادورین در عضله ماهی نگهداری شده به‌حالت انجماد مشاهده گردید که پارامترهای مود بررسی از همبستگی بالا و معنی داری برخوردار بودند (p<۰/۰۵) (جدول ۲).

با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین در عضله نگهداری شده به‌حالت انجماد افزایش یافته و از رابطه نمایی مثبت، بالا (r = ۰/۹۸) و معنی داری برخوردار است. به عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر پوترسین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می‌یابد.

با افزایش بار باکتریایی، مقدار کادورین در عضله نگهداری شده به حالت انجماد افزایش یافته و از رابطه نمایی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۶) و معنی‌داری برخوردار است. به‌عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر کادورین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می‌یابد.

جدول ۲ـ همبستگی بین پارامترهای شیمیایی بافت ماهی با یکدیگر در انجماد

	پوترسین	کادورین
پوترسین		*۰/۹۷***
کادورین		

*** معنی دار در سطح ۰/۰۱*

۴. بحث و نتیجه‌گیری

آمین‌های پوترسین، کدورین و هیستامین در نمونه‌های ماهی نگهداری شده در یخ، در برخی از نمونه‌ها ردیابی شدند. بیشترین تعداد نمونه‌های ردیابی شده برای آمین‌ها به‌ترتیب برای پوترسین، کدورین و سپس هیستامین بوده است. با نگهداری ماهیان در یخ مشاهده گردید که آمین پوترسین به‌عنوان عمده‌ترین آمین تشکیل شده در این شرایط نگهداری بوده است. در نمونه‌های نگهداری در یخ، بیشترین میزان سنجش شده در نمونه‌ها از نظر میانگین غلظت آمین‌ها برای هیستامین، کدورین و پوترسین به‌ترتیب ۰/۰۹ ±۴/۳۰ ، ۰/۱۱ ±۱۲/۳۷ و ۰/۲۴ ± ۲۳/۳۹ (میکرو گرم در گرم عضله) بوده است. با افزایش بار باکتریایی مقدار هیستامین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی نمایی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۹) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است. به‌عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر هیستامین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می‌یابد. با افزایش بار باکتریایی، مقدار کادورین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی خطی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۴) و معنی داری(P<۰/۰۵) برخوردار است. با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین در عضله نگهداری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه‌ی خطی مثبت، بالا (r = ۰/۹۷) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است.

نتایج حاکی از آن است که مقایسه میزان بار باکتریایی هر نمونه با میانگین غلظت آمین پوترسین همان نمونه طی نگهداری ماهیان در یخ، روندی افزایشی را نشان می‌دهد. به‌عبارت دیگر هر نمونه‌ای که بیشترین بار باکتریایی را داشته است، بیشترین میزان پوترسین را به‌خود اختصاص داده است. به‌طوری که طی نگهداری در یخ بیشترین مقدار آمین پوترسین ۰/۲۴ ± ۲۳/۳۹ (میکروگرم در گرم عضله) مربوط به نمونه‌ای بوده است که

بیشترین بار باکتریایی را به مقدار logCFU/g ۸/۶۲±۰/۱۶ داشته است. بررسی وضعیت تغییرات آمین‌های بیوژن پوترسین، کدورین و هیستامین طی نگهداری ماهیان در حالت انجماد، بر اساس نتایج نشان می‌دهد که اگرچه آمین‌های پوترسین و کدورین در برخی نمونه‌ها ردیابی گردیدند، اما تعداد نمونه‌هایی که این دو آمین در آنها ردیابی گردیدند کمتر از نمونه های نگهداری شده در یخ بوده است. به‌علاوه، نکته جالب توجه این است که آمین هیستامین در نگهداری نمونه‌ها به‌حالت انجماد اصلاً ردیابی نگردید، در صورتی‌که در برخی نمونه‌های نگهداری در یخ این آمین قابل ردیابی بود. با توجه به اینکه تولید هیستامین به‌طور نسبی و به آرامی از صفر درجه به ۴ درجه افزایش می‌یابد لذا برای کنترل تولید هیستامین محدوده دمایی باید در حدود صفر درجه یا پایین‌تر از آن حفظ شود (Kerr et al., 2002).

در حالت انجماد، مشابه شرایط نگهداری در یخ آمین پوترسین بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد و عمده ترین آمین تولید شده بود که حداکثر میانگین غلظت پوترسین و کدورین در این شرایط نگهداری در نمونه‌ها به‌ترتیب به مقدار۰/۴۱ ±۸/۲۷ و ۰/۱۱ ±۴/۸۹ (میکرو گرم در گرم عضله) بوده است. با افزایش بار باکتریایی، مقدار پوترسین در عضله نگهداری شده به‌حالت انجماد افزایش یافته و از رابطه‌ی نمایی مثبت، بالا (r = ۰/۹۸) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است. به‌عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر پوترسین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می‌یابد. با افزایش بار باکتریایی، مقدار کادورین در عضله نگهداری شده به حالت انجماد افزایش یافته و از رابطه‌ی نمایی، مثبت، بالا (r = ۰/۹۶) و معنی‌داری (P<۰/۰۵) برخوردار است. به‌عبارت دیگر با افزایش بار باکتریایی، مقادیر کادورین ابتدا با شدت کمتر و سپس در مقادیر بالای باکتریایی با شدت بیشتر افزایش می‌یابد. روند تغییرات آمین‌ها در ارتباط با بار باکتریایی سرمادوست در حالت انجماد بر اساس نتایج نشان داده است که هر چه بار باکتریایی سرمادوست در نمونه‌ای بیشتر باشد میزان تولید آمین‌های ناشی از اثرات دکربوکسیلاسیونی این باکتری‌ها نیز بیشتر بوده است؛ به نحوی که آمین پوترسین که بهترین ارتباط را با بار باکتریایی سرمادوست در حالت انجماد داشته است بیشترین مقدار آن (۰/۴۱ ±۸/۲۷) در نمونه‌ای بوده است که بیشترین میزان بار باکتریایی logCFU/g (۰/۱۱± ۵/۵۲) را داشته است. باید توجه داشت که در مباحث کنترل کیفی آبزیان با استفاده از پارامترهای مختلف شیمیایی و میکروبی، نوع نگهداری و شرایط نگهداری آبزی می‌تواند در به‌وجود آمدن نوع یا انواع متعددی از پارامترهای ویژه سنجش کنترل کیفیت موثر باشد. در این پروژه با نگهداری ماهیان پس از صید در حالت انجماد و نگهداری در یخ مسلم است که باکتری‌های سرمادوست رشد و بقای بهتر و بیشتری نسبت به باکتری‌های مزوفیل و ترموفیل خواهند داشت. به همین خاطر باید انتظار داشته باشیم که تاثیر این باکتری‌ها در به‌وجود آوردن برخی شاخص‌های کنترل کیفی موثرتر و مشهودتر خواهد بود. محققین مختلفی در خصوص اثرات باکتری‌های سرمادوست بر تولید پارامترهای مختلف کنترل کیفی بررسی‌هایی را در شرایط مختلف نگهداری انجام داده‌اند که به شرح زیر است.

تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل در تشکیل آمین‌ها نقش مهمی را بازی می‌کنند (Taylore and Sumner, 1986). همچنین مطالعات زیادی نشان داده‌اند که باکتری‌های سرمادوست از عوامل اصلی تشکیل پوترسین و کدورین هستند (Chytiri et al., 2004).

مطالعات مشابه تحقیق حاضر توسط دانشمندان ومحققین مختلف انجام شده است که تأثیر و نقش عوامل مختلف به‌خصوص باکتری‌های سرمادوست را در تشکیل آمین پوترسین و کدورین در انواع مواد غذایی در شرایط مختلف نگهداری را نشان می‌دهد که در ادامه به برخی از این تحقیقات اشاره می‌شود.

در تحقیق انجام شده توسط "منتظری" در سال ۱۳۸۴ در مورد تغییرات آمین‌های بیوژن و رابطه‌ی آنها با بار باکتریایی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخ، به‌مدت هجده روز، مشاهده گردید که مقادیر آمین‌های پوترسین، کدورین، هیستامین و بار باکتریایی در طول دوره نگهداری افزایش یافته و طی این مدت تیرامین در هیچ کدام از نمونه‌ها یافت نشد و باکتری‌های سرماگرا به‌عنوان بار باکتریایی غالب تشخیص داده شدند. بهترین همبستگی بین پوترسین و باکتری‌های سرمادوست به‌دست آمد.

همان‌طور که بیان شد نوع و شرایط نگهداری آبزی در میزان کیفیت آن موثر است و با توجه به نتایج بررسی‌های برخی محققین که ذکر گردید برای ما آشکار شد که تولید آمین‌های بیوژن در هر حالت وابسته به عوامل بیوژنیک بخصوص باکتری‌ها است، زیرا برخی از باکتری‌ها با داشتن آنزیم دکربوکسیلاز قادر به شکستن آمینو اسید آزاد خواهند بود و سبب تبدیل آن به آمین‌های بیوژنیک می‌گردند. نکته قابل توجه این است که شرایط

نگهداری می‌تواند محدودیت تولید در برخی آمین‌های بیوژن و محدودیت رشد در برخی باکتری‌ها ایجاد نماید. بنابراین با دانستن این حقیقت که باکتری‌های تولیدکننده آمین پوترسین و کدورین سرماگرا هستند. لذا تولید این آمین‌ها در شرایط نگهداری در یخ و انجماد بیشتر از دیگر آمین‌ها خواهد بود. از طرف دیگر در مقایسه نوع شرایط نگهداری ذکر شده (یخ و انجماد) مشاهده می‌گردد که شرایط نگهداری در یخ زمینه را برای تولید بیشتر این آمین‌ها نسبت به حالت انجماد ایجاد کرده است. زیرا درست است که باکتری‌های تولیدکننده این آمین‌ها سرماگرا هستند ولی آنزیم دکربوکسیلاز این باکتری‌ها نیز در شرایط انجماد دچار کاهش کارایی و عملکرد می‌گردد و به تبع آن میزان آمین‌های تولیدی در حالت انجماد کمتر از نگهداری در یخ خواهد بود. در مورد تولید هیستامین نیز وضعیت تابع شرایط نگهداری خواهد بود، زیرا تشکیل هیستامین وابسته به فعالیت باکتری‌ها در شرایط دمایی بیشتر خواهد بود (باکتری‌های مزوفیل). به همین دلیل نگهداری آبزی در شرایط سرد می‌تواند محدودیت در کارایی آنزیم دکربوکسیلاز این باکتری‌ها ایجاد کند و تولید این آمین را متوقف نماید یا در صورت تولید مقدار آن بسیار ناچیز باشد. بنابراین نتایج این پروژه نشان داد که در حالت انجماد به‌دلیل عدم کارایی باکتری‌های تولیدکننده هیستامین این آمین تشکیل نگردید و در نگهداری در یخ میزان هیستامین تولیدی بسیار پایین بوده است. تحقیقات برخی محققین به شرح زیر بر نقش باکتری‌ها و گونه آبزی و نوع شرایط نگهداری در تولید هیستامین اذعان دارد.

دمای مطلوب برای رشد این باکتری‌ها در حدود $^{\circ}c$ ۳۰-۲۰ است. هرچند که بعضی از این باکتری‌های تولیدکننده هیستامین دمای مطلوب پایین‌تر از $^{\circ}c$ ۱۰ دارند (مانند بعضی از جنس‌های ویبریو). بنابراین سطوح هیستامین بالا در غذاهای دریایی نشان می دهد که فرآیند خنک سازی و سردسازی توقف پیدا کرده یا اینکه درحداقل ممکن است نمک زدن یا کنسرو کردن شاید بتواند آلاینده ها رابه حداقل برساند ولی قادر به تخریب ساختار سم حاصله (مانند هیستامین) نخواهد بود. تشخیص هیستامین در فرآورده، نشان دهنده‌ی شرایط نامناسبی است که فرآورده در معرض آن قرار داشته است (از نظر دمایی، آلاینده های میکروبی و غیره). به‌طوری که در گزارشات، هیستامین بالا حتی در فرآورده‌های خشک شده دریایی نیز تشخیص داده شده است. چنانکه عضله ماهی ساردین خشک شده با غلظت هیستامین در حدود ۳۰mg/100g سبب مسمومیت در ژاپن در سال ۲۰۰۴ شده است. طی تحقیقی Lukton and Olcott, 1958 گزارش نمودند که در ماهیچه‌ی قرمز ماهیان مانند گونه‌های ماکرل ماهیان نسبت به ماهیچه‌ی سفید مانند ماهی کاد هیستامین بیشتری تولید می‌شود، لذا ماهی کاد هیستیدین پائین و ماکرل ماهیان هیستیدین بالایی دارند. در سال ۱۹۸۷ طی مطالعه‌ای که در مورد ماهیان دریایی توسط "تیلور" و همکاران صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که تعداد زیادی از ماهیان پلاژیک دریایی به‌خصوص آنهایی که شنای مستمر و سرعت بالایی دارند نسبت عضله‌ی قرمز آنها بیشتر توسعه یافته است که این ماهیان، سریعتر در معرض فساد قرار گرفته و مسمومیت با آنها نیز به‌دلیل داشتن عضلات قرمز و اینکه دارای غلظت بالایی از آمینو اسید هیستیدین هستند، بیشتر خواهد بود. بر اساس گزارشات محققین در خصوص تولید آمین‌های بیوژن در ارتباط با باکتری‌ها که ذکر گردید به‌وضوح مشاهده می‌گردد که درجه حرارت (شرایط نگهداری) عامل اصلی و تعیین‌کننده در میزان سلامت و کیفیت آن گونه آبزی خواهد بود، زیرا درجه حرارت مناسب، سبب رشد نوع باکتری متناسب با آن درجه حرارت می‌گردد و به تبع آن آمین مورد نظر بر اثر فعالیت باکتری تولید خواهد شد. اما سوال بسیار مهمی که اینجا مطرح است این است که با توجه به اینکه می‌دانیم باکتری‌های تولیدکننده هیستامین مزوفیل هستند و شرایط نگهداری در حالت سرد نمی‌تواند تضمین‌کننده بقای باکتری‌های مزوفیل باشد پس به چه دلیلی در شرایط نگهداری در یخ، تولید هیستامین مشاهده گردیده است. پاسخ این سوال در این است که گزارشات محققین حاکی است که اگرچه عمده تولید آمین هیستامین به‌دلیل باکتری‌های مزوفیل است ولی نباید فراموش شود که برخی از باکتری‌های تولیدکننده هیستامین دارای تحمل بالایی از محدوده‌های دمایی بالا و پایین هستند و خواهند توانست حتی در شرایط نگهداری در یخ و در برخی مواقع در حالت انجماد سبب تولید هیستامین حتی در مقادیر کم شوند و هرچند که در این تحقیق گونه‌های مختلف باکتریایی شناسایی نگردیدند ولی به‌نظر می‌رسد که برخی از این باکتری‌های تولیدکننده‌ی هیستامین که قادر به تحمل شرایط دمایی پایین هستند توانسته‌اند با بقای خود میزان اندکی هیستامین را در نگهدری ماهیان در یخ ایجاد نمایند و شرایط نگهداری در حالت انجماد برای فعالیت این باکتری‌ها آرمانی نبوده و به‌همین دلیل در حالت انجماد هیستامینی تولید نگردیده است. استنادات مورد نیاز

برای صحت مباحث ذکر شده در گزارشات محققین به شرح زیر است.

آمین‌های بیوژن به‌عنوان شاخص‌های شیمیایی فساد در حالی مطرح می‌گردند که این آمین‌ها در مقابل درجه حرارت بسیار مقاوم بوده و ساختار آنها به‌راحتی تخریب نمی‌گردد. از این رو از طریق اندازه‌گیری این آمین‌ها حتی در غذاهای حرارت داده شده برای مصرف انسان می‌توان در مورد میزان این آمین‌ها در غذا و همچنین سالم بودن آن فراورده غذایی قضاوت نمود. تحقیقات دانشمندان زیر عدم تخریب ساختمان این آمین‌ها را در درجه حرارت‌های بالا به‌خوبی نشان می‌دهد.

Luten et al., 1992 گزارش کردند که آمین‌های بیوژن در برابر حرارت و گرما بسیار پایدار هستند و وقتی تشکیل می‌شوند حتی به‌وسیله‌ی نگهداری در دمای اتوکلاو ساختار آنها را نمی‌توان تخریب نمود. بررسی میزان ارتباط آمین‌های تولیدشده در حالت انجماد با یکدیگر نشان‌دهنده‌ی این است که بین آمین پوترسین و کاداورین بیشترین ارتباط (**۰/۹۷) در سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) وجود دارد. در صورتی که بررسی میزان ارتباط آمین‌های تولیدی در حالت یخ به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی بیشترین ارتباط بین امین پوترسین و کاداورین (**۰/۹۹)، هیستامین و کدورین (**۰/۹۷۵) و هیستامین و پوترسین (**۰/۹۷) در سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) است. نکته‌ی قابل توجه این است که هرچند که در هر دو روش نگهداری باکتری‌های سرمادوست بهترین ارتباط را تولید بالاتر آمین پوترسین به‌عنوان عمده‌ترین آمین تولیدی در این تحقیق داشته‌اند، ولی نباید فراموش کرد که این باکتری‌ها عامل مسبب تولید هیستامین و کدورین نیز در شرایط ذکر شده بوده‌اند، زیرا در هر نمونه‌ی ماهی میزان بار باکتریایی آن در اصل مجموعه‌ای از باکتری‌های سرمادوست تولیدکننده هیستامین و باکتری‌های تولیدکننده‌ی کدورین و پوترسین بوده‌اند. به همین خاطر طبیعی است که میانگین بار باکتریایی در این دو روش با این آمین‌ها ارتباط معنی‌داری را نیز داشته باشد. هرچند که این ارتباط با پوترسین بیشتر از دو آمین دیگر بوده است. باید توجه داشت که مقدار تولید آمین‌ها در عضلات برحسب گونه، نوع گوشت یا عضله (سفید یا تیره)، برش‌های مختلف (ناحیه جلو یا نزدیک به دم)، دمای محیط، فصل صید و اندازه ماهی می‌تواند متغییر باشد. همچنین وجود شرایط مختلف محیطی از جمله درجه حرارت، میزان آلودگی، بار باکتریای ماهی و.... در تشکیل آمین‌ها موثرند. این نکته‌ی بسیار مهم را باید مد نظر قرار داد که فراهم بودن شرایط مناسب برای تشکیل یک آمین، به عنوان یک اصل برای بوجود آمدن صرفاً همان آمین تلقی نمی‌شود، بلکه با توجه به تاثیر شرایط مختلف که ذکر شد تشکیل دیگر آمین‌های بیوژن دور از انتظار نخواهد بود. مطالعه‌ای که محققین در مورد فساد در ماهی تن و شناسایی شاخص‌های فساد به‌عمل آوردند پوترسین، کاداورین و تیرامین را به‌عنوان شاخص آمین‌های بیوژن یا شاخص کیفیت معرفی و اعلام کردند که مجموع مقدار آنها (هر سه آمین) نباید از ۱۰/۱ mg/100g افزایش یابد (Veciana et al.,1997).

طبق نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود جهت حفظ کیفیت تون ماهیان و جلوگیری از فساد آنها، تمامی لنج‌های صیادی که در ایران به روش صید گوشگیر صید تون ماهیان را انجام می‌دهند به سامانه‌ی انجماد مجهز شوند.

منابع

جان‌فدا، ت.س.، ۱۳۸۴. انجماد و نگهداری محصولات شیلاتی در سردخانه ها(ترجمه).۲۷۲ صفحه.

رضوی‌شیرازی، ح.، ۱۳۷۳. تکنولوژی فرآورده‌های دریایی، اصول نگهداری و عمل‌آوری. چاپ اول، انتشارات شرکت شیلانه، ۸۸-۴۹ صفحه.

منتظری، ن.، ۱۳۸۴. اندازه‌گیری میزان تغییرات آمین‌های بیوژن و رابطه آنها با بار میکروبی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخ. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ۷۲ صفحه.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ج.، ۱۳۸۰. روش شمارش میکرو ارگانیسمهای سرماگرا و سرمادوست، چاپ دوم. شماره ۲۶۲۹. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۸۰ صفحه.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ب.، ۱۳۸۰. میکروبیولوژی ـ آیین کاربرد روشهای عمومی آزمایشهای میکروبیولوژی. شماره ۲۳۲۵. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۶۰ صفحه.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. الف.، ۱۳۸۰. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمایشهای میکروبیولوژیکی. شماره ۳۵۶. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۲۰ صفحه.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، ۱۳۷۸. حد مجاز آلودگی میکروبی در انواع گوشت. شماره ۲۳۹۴. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۳۰ صفحه.

Arnold, S.H.; Price, R.J. and Brown,W.D., 1980. Histamine

Kerr, M.; Lawicki, P.; Aguirre, S.; Rayner, C., (editor)., 2002. Effect of storage conditions on histamine formation in fresh and canned tuna. Commissioned byFood Safety Unit. Published: Public Health Division.Victorian Government Department of Human Services. .

Luten, J.B.; Bouquet, W.; Seuren, L.A.J.; Burggraaf, M.M.; Riekwel-Booy, G.; Durand, P.; Etienne, M.; Gouyou, J.P.; Landrein, A.; Ritchie, A.; Leclerq, M.; and Guinet, R., 1992. Biogenic amines in fishery products: standardization methods within EC. In: Huss, H.H., Jacobsen, M.; Liston, J. (Eds.), Quality Assurance in the Fish Industry Elsevier, Amsterdam, 427-439 pp.

Lukton, A.; Olcott, H.S., 1958. Content of free imidazole compounds in the muscle tissue of aquatic animals. Food Res. 23, 518–611.

Meitz, J.L.; Karmas, E., 1978. Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. JAOAC61(1):139-145

Taylore, S.L.; and Sumner, S.S., 1986. Determination of histamine, putersine and cadaverin. Seafood quality determination, 235-246 p.

Taylor, S.L.; Summer, S.S., 1987. Determination of histamine, putrecine, cadaverine. In: Kramer DE, Liston J editors. Sea food quality determination. Proceeding of an international symposium. Elsevier Science Publisher: 235-245 p.

Veciana-Nogues, M.T.; Marine-Font, A.; Vidal-Carou, M.C., 1997. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 45: 2036–2041.

Yamanaka, H.; Shiomi, K.; Kikuchi, T., 1989. Cadaverine as a potential index for decomposition of salmonid fishes. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 30:170–174.

formation by bacteria isolated from Skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 46:991– 995.

Chytiri, S.; Paleologos, E.; Savvaidis, I.; Kontominas, M.G., 2004. Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored on ice. Journal of Food Protection, 67(5): 960–965.

Connell, J.J., 2002. Quality control in fish Industry. Torry advisory Note No. 58 Torry Research Station.

Dawood, A.A., Karkalas, J., Roy, R.N. andWilliams, C.A., 1988. The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored rainbow trout (*Salmo irideus*). Food Chem. 27:33-45.

EC, European Commission., 2003. Commision recommendation of 10 January 2003 concerning a coordinated programme for the official control of foodstuffs for 2003 (2003/10/EC), Official Journal of the European Commission 7:76–81.

FDA., 2000. Scombrotoxin (histamine) formation Chapter 7. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, 83– 102 pp.

Gram, L.; Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. Journal Environmental Biotechnology, 13: 262–266.

ICMSF., 1986. International Commission on Microbiological Specifications for foods Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF (eds), Microorganisms in Foods.Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications, Vol. 2, (2nd ed). University of Toronto Press, Toronto, Canada. Available from http://www.fao.org/ DOCREP/ 003/ T1768E/ T1768E04.htm. Klausen, N. K., and Lund, E., 1986. Formation of the biogenic amines in herring and mackerel. Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung, 182: 459–463.