مجله شیلات
سال چهارم، شماره اول، بهار ۸۹

تعیین میزان تری متیل آمین و ارتباط آن با بار میکروبی در بافت عضله ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) نگهداری شده دریخ

***احمدرضا حسینی[۱]، محمدحسین نوری موگهی[۲]، حسین نجف‌زاده‌ورزی[۳]، علی فضل‌آرا[۳]، ابراهیم رجب‌زاده قطرمی[۴]، سراج بیتا[۵] و حسین مرادیان[۱]**

[۱]موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی یاسوج، [۲]عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران، [۳]عضو هیات علمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، [۴]عضو هیأت علمی دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه خرمشهر، [۵]عضو هیات علمی دانشکده علوم دریایی، دانشگاه چابهار

چکیده

در این مطالعه (زمستان، ۱۳۸۵) میزان تری‌متیل‌آمین در بافت عضله ماهی شوریده (*Otolithes rubber*) در ارتباط با تغییرات بار باکتریایی (باکتری‌های سرمادوست و مزوفیل) در طی هجده روز نگهداری در یخ مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان داد که غلظت تری متیل آمین و بار باکتریایی به‌طور معنی‌دار طی دوره نگهداری در یخ افزایش یافت. تری متیل آمین در اولین روز نگهداری تشخیص داده نشد. اولین ردیابی مربوط به روز سوم نگهداری بود. در این تحقیق بهترین همبستگی بین تری متیل آمین با بار باکتریایی سرمادوست یافت شد (R^2=۰/۹۱) و همچنین این باکتری‌ها به‌عنوان میکروارگانیسم غالب در مدت نگهداری تشخیص داده شدند. غلظت اولیه تری‌متیل‌آمین به ۱/۳۶ میلی‌گرم (در ۱۰۰ گرم عضله) و سر انجام به ۸/۹۷ میلی‌گرم (در ۱۰۰ گرم عضله) رسید و این درحالی بود که بار باکتریایی سرمادوست به بیش از 10^8 cfu/g رسیده بود. میانگین غلظت تری‌متیل‌آمین (در پانزدهمین روز) بالاتر از حد مجاز تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: بار باکتریایی، بافت عضله، تری‌متیل‌آمین، ماهی شوریده، نگهداری در یخ

مقدمه

با رشد روز افزون جمعیت، فرآورده‌های دریایی به عنوان یکی از بهترین منابع، جهت تأمین پروتئین جامعه در راستای کاهش واردات گوشت قرمز و اثرات سوء مصرف بی‌رویه آن از جنبه سلامت انسان می‌باشند. از نقطه نظر مصرف‌کننده مهمترین فاکتورهای تعیین کیفیت محصولات دریایی، ظاهر، بو، طعم، تازگی، عدم حضور میکروارگانیسم‌های خاص، اندازه، ترکیب و... می‌باشد. تازگی[۱] مهمترین فاکتور کیفی برای مصرف‌کننده است که میزان یا درجه فساد ماهی و محصولات آن هنگام نگهداری را نشان می‌دهد (۷). در مقایسه با سایر مواد غذایی که از نظر پروتئینی غنی هستند غذاهای دریایی قابلیت فساد بیشتری دارند، زیرا این مواد دارای مقادیر زیادی ازت غیرپروتئینی هستند که به راحتی در اختیار باکتری‌ها قرار می‌گیرد و ایجاد فساد می‌کنند. همچنین زندگی ماهیان در آب‌های سرد موجب می‌شود که نگهداری این مواد در یخچال یا شرایط سرما، نتواند از تکثیر برخی میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کند. از دلایل دیگر فسادپذیری ماهیان، می‌توان به اثر pH بر میکروارگانیسم‌های عامل فساد اشاره کرد که پس از مرگ، به‌علت کمبود کربوهیدرات‌ها در ماهیان، اسیدلاکتیک موجود در لاشه که در اثر فرایند گلیکولیز بی‌هوازی تولید می‌شود، به میزانی نیست که در هنگام جمود نعشی، pH را کاملاً کاهش به‌مقدار ۶/۵-۶/۳ تنزل دهد که در واقع

* مسئول مکاتبه: ahmadreza1377@yahoo.com

1- Freshness

مناسبترین pH برای رشد میکروارگانیسم‌ها است. تری متیل آمین اکساید (TMAO) یک ترکیب نیتروژنی بوده که معمولاً در ارگانیسم‌های دریایی یافت می‌شود. تری متیل آمین اکساید به ترکیبات ساده‌تر نظیر تری‌متیل آمین (TMA) و دی متیل آمین اکساید (DMAO) تبدیل می‌گردد که این ترکیب بوسیله آنزیم‌های باکتریایی به تری متیل آمین تجزیه می‌شود (۱). باید توجه داشت که عوامل فساد آبزیانی که در یخ نگهداری می‌شوند عمدتاً باکتری‌های سرمادوست (*Psychrophilic bacteria*) هستند. این باکتری‌ها قادرند در صفر درجه یا کمتر از این فعالیت نموده و تکثیر پیدا نمایند. در شرایط نگهداری ماهی در سرما باکتری‌های مقاوم به سرما[1] گرم منفی میله‌ای شکل مانند *Pseudomonas* sp. و *Shewanella* sp. غالب خواهند بود (۹). ماهیان زنده و تازه صید شده معمولاً دارای میزان کمی تری‌متیل‌آمین می‌باشند ولی با گذشت زمان و با تجزیه تری متیل آمین اکساید و تبدیل آن به تری‌متیل آمین بوی شبیه بوی آمونیاک در آنها استشمام می‌شود (۸). در بدن ماهی زنده واکنش‌های هیدرولیز و آنزیمی به‌طور طبیعی اتفاق می‌افتد. ولی با مرگ ماهی، این واکنش‌ها در جهت تخریب بافتی ادامه پیدا کرده و کم کم با فساد میکروبی همراه می‌شوند. در نهایت تغییرات فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی ایجاد شده از کیفیت محصول می‌کاهد. لذا آگاهی از این تغییرات و استفاده از آن در حفظ وضعیت گوشت ماهی با شرایط مطلوب، از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (۱۱). از طرفی، پیچیدگی ترکیبات ماهی باعث می‌شود جستجو و اندازه‌گیری همه این تغییرات مشکل باشد، به همین خاطر در صنایع شیلاتی پاره‌ای از آنها مورد سنجش قرار گرفته و به‌عنوان شاخص میزان تازگی یا حد پیشرفت فساد مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این بررسی‌ها از روش‌های شیمیایی، حسی و میکروبیولوژیکی کمک گرفته می‌شود. روش‌های شیمیایی به‌دلیل سنجش فاکتورهایی که عمدتاً منشاء داخلی دارند و یا از متابولیت‌های حاصل از واکنش‌های فوق بر روی پروتئین‌ها و چربی‌ها ایجاد می‌شوند نظیر تری‌متیل آمین، هیپوزانتین (HX)، بازهای ازته فرّار (TVN) و آمین‌های بیوژن (نظیر هیستامین، پوترسین و ...) از بهترین و دقیق‌ترین فاکتورهای کیفی محسوب می‌شوند (۱۲). لذا هدف اصلی این تحقیق بررسی میزان سلامت ماهیان صید شده در روش نگهداری سنتی پس از صید (نگهداری در یخ) تا زمان عرضه به بازار مصرف در بندر هندیجان خوزستان بوده است. بنابراین در این تحقیق که در دی ماه ۱۳۸۵ (ژانویه ۲۰۰۷) در استان خوزستان با صید ماهیان شوریده تازه و نگهداری آنها در یخ طی دوره زمانی مشخص صورت گرفت، زمان ماندگاری این ماهیان بر اساس سنجش برخی فاکتورهای کنترل کیفی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌های ماهی: جهت انجام این تحقیق ۳۰ عدد ماهی شوریده تازه (میانگین طولی ۳۳ سانتی‌متر و میانگین وزنی ٤۰۰ گرم) از بندر هندیجان در دی ماه ۱۳۸۵ صید شد. برای تهیه نمونه تازه ماهی، مجبور به استفاده از قایق صیادی شده تا بتوان همزمان با صید نمونه‌ها، آنها را در یونولیت حاوی یخ نگهداری نمود و سپس ماهیان تهیه شده پس از شستشو در داخل جعبه‌های یونولیت حاوی پودر یخ (به‌صورت لایه های متناوبی از یخ و ماهی) قرار داده و سریعاً به آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. کنترل دمای داخل جعبه از طریق اندازه‌گیری مداوم دما به کمک دماسنج جیوه‌ای صورت گرفت و در صورت ذوب شدن یخ‌های داخل جعبه و با افزایش دمای جعبه، یخ تازه به داخل جعبه اضافه می‌شد. در کل دوره، یخ به میزان کافی در دسترس بوده و جایگزین یخ ذوب شده می‌گردید و در کف جعبه یونولیت نیز جهت خروج آب حاصل از ذوب یخ یک سوراخ تعبیه شد تا آب حاصل از ذوب یخ خارج و در ظرف نگهداری باقی نماند، زیرا این آب علاوه بر آلوده بودن به خون و سایر ترشحات، دارای تعداد زیادی باکتری‌های‌سرماگرا است که به آسانی در آنجا رشد و فعالیت خواهند داشت. نمونه ها در فواصل

1- Psychrotolerant

زمـــانی صـــفر، ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز بـــه‌صـــورت تصادفی از مجموعه ماهیان صید شده برای آنالیز برداشـت می‌شد. در این تحقیق منظور از زمان صفر، اولین روز تهیه ماهیان از لحظه صید بـوده اسـت و نمونـه‌هـا کمتـر از ٦ ساعت به آزمایشگاه منتقل و در همان روز (صـفر) مـورد اولین ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرارگرفتند.

آزمون میکروبی: برای تعیین شمارش کلی میکروبی در این پروژه از کشت سطحی بر روی محیط آگار مغذی استفاده شد که شامل مراحل ذیل می‌باشد:

تهیه سرم فیزیولوژی: برای تهیه محلول سرم فیزیولوژی، ۹ گرم کلرید سدیم جامد به یک لیتر آب در یک بالن دو لیتری اضافه و سپس بر روی اجاق قرار داده شد تا نمک به خوبی در آب حل شود، بعد از حل شدن، سرم فیزیولوژیک تهیه شده را در در ارلن‌های ۹۰ سی‌سی و لوله‌های آزمایش تقسیم کرده و درب آنها با پنبه و ورق آلومنیومی محکم بسته و روی یکی از آنها چسب اتوکلاو زده، و در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. بعد از استریل شدن جهت حل نمودن، عضله چرخ شده (۹۰ سی‌سی به ازای ۱۰گرم عضله ماهی) مورد استفاده قرار می‌گیرد (٤).

تهیه محیط کشت: برای تهیه محیط کشت، ۲۰ گرم نوترینت آگار شرکت Merck بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده در یک لیتر آب مقطر حل شد و سپس بر روی اجاق حرارت دهی گردید. در زمان حرارت دادن در یک لحظه محلول شروع به جوشیدن نموده و کف می‌کند، در این زمان باید آن را از روی شعله برداشته و مدتی به حال خود رها نمود و مجدداً بر روی شعله قرار داد. این عمل سه بار تکرار می‌شود تا محیط کشت حالت آبکی پیدا نماید. در حالتی که حباب‌های محیط کشت حالت لانه زنبوری گرفته و محیط شفاف می‌گردید عمل حرارت دادن خاتمه داده می‌شد. سپس محلول حاصل در داخل ارلن‌ها ریخته شده و درب آنها با پنبه و ورق آلومنینیومی محکم بسته و در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ب ۱۳۸۰).

روش کشت: قبل از انجام هرگونه آزمون شیمیایی، جهت انجام آزمون میکروبی، نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ذکر شده (صفر، ۳ و ...) به آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران انتقال داده شدند. ابتدا شعله‌ها را روشن نموده و کف هود و سینی مخصوص نگهداری ماهی با الکل ضدعفونی شدند. همچنین پوست ماهی از سمتی که عضله ماهی برش داده می‌شود به خوبی با الکل ضدعفونی شد. سپس عضله ماهی از قسمت جلویی (نزدیک سرپوش آبششی بین خط جانبی و قسمت پشتی) برش داده شد و ۱۰ گرم از عضله را در شرایط سترون با ترازو وزن نموده و در داخل هاون چینی کاملاً همگن و یکنواخت گردید. سپس با ۹۰ سی‌سی سرم فیزیولوژی به خوبی مخلوط شد، در این حین لوله‌های آزمایش و پلیت‌ها را کدگذاری نموده و هر یک از رقت‌ها در لوله‌های آزمایشی که حاوی ۹ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل بودند، تهیه شدند. براساس روش APHA[1] بعد از مراحل فوق به منظور تهیه رقت‌های سریال از نمونه‌های مورد نظر مقدار یک سی‌سی از نمونه هموژن (مخلوط عضله ماهی با سرم فیزیولوژی) را از هاون (رقت ۰/۱) بوسیله سمپلر برداشته و به لوله آزمایش مورد نظر اضافه شد تا رقت ۰/۰۱ بدست آمد. مجدداً از این لوله آزمایش (رقت ۰/۰۱) یک سی‌سی بوسیله سمپلر برداشته و به لوله آزمایش بعدی اضافه می‌شود تا رقت ۰/۰۰۱ تهیه شود. برای تهیه بقیه رقت‌ها نیز همین مراحل انجام می‌شود (۳). برای تهیه هر رقت، سرسمپلرها تعویض شده و کلیه مراحل در زیر هود و در مجاورت شعله و محیط استریل انجام شد. بعد از مراحل فوق پلت‌های حاوی محیط کشت با توجه به رقت مورد نظر شماره‌گذاری شدند و از هر رقت با سرسمپلر مخصوص خود، ۰/۱ سی‌سی برداشته و در داخل پلیت مورد نظر ریخته و توسط لوله L شکل استریل شد. سپس محلول حاصل به خوبی بر روی محیط‌کشت پخش

1- American Public Health Association

گردید. سپس پلیت‌های مذکور چند دقیقه به حال خود رها شدند تا محلول حاصل به خوبی بر روی محیط‌کشت ثابت شود. سپس کلیه بعد کلیه پلیت‌ها در داخل انکوباتور در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد جهت انکوباسیون یا رشد باکتری‌های سرمادوست (۵) و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جهت رشد باکتری‌های مزوفیل (۲) به‌مدت ٤٨ ساعت انکوبه می‌شوند و پس از ٤٨ ساعت، نمونه‌های کشت داده شده را از انکوباتورها خارج نموده و به وسیله پرگنه شمار، پرگنه‌های تشکیل شده در هر پلیت به‌طور جداگانه بر اساس روش استاندارد (٤) مربوط به شمارش میکروارگانیسم‌ها مورد شمارش قرار داده و داده‌های به‌دست آمده، به‌صورت لگاریتم کلنی‌های[1] شمارش شده به ازاء هر گرم عضله، ارائه شدند. در این تحقیق از ۵ رقت تا زمان پنجم نمونه‌برداری و سپس به‌دلیل افزایش رشد باکتری‌ها از رقت ششم نیز برای کشت استفاده گردید.

آزمون شیمیایی: برای اندازه‌گیری تری‌متیل آمین از روش AOAC (۱۹۹۵) استفاده شد. جهت تهیه عصاره بافت ماهی ۱۰ گرم از عضله ماهی را وزن کرده و با ۳۰ میلی‌لیتر از ماده تری کلرواستیک اسید ۷/۵ درصد مخلوط کرده و سپس با دستگاه یکنواخت کن (هموژنیزر) به‌مدت دو دقیقه یکنواخت گردیده تا محلول شیری رنگ حاصل شود. در مرحله بعد بافت یکنواخت شده در سرعت ۲۵۰۰ دور و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و مواد جامد ته نشین شده و محلول فوقانی که شفاف می‌باشد، به‌عنوان عصاره بافت عضله ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد سپس آزمون تری‌متیل آمین بدین روش انجام شد: ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره بافت ماهی با پیپت برداشته و به لوله آزمایش اضافه شد و با آب مقطر به حجم ٤ میلی‌لیتر رسانده شد. به عصاره فوق یک میلی‌لیتر فرمالدئید ۲۰ درصد و در مرحله بعد ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن و ۳ میلی‌لیتر محلول کربنات کلسیم به محتویات لوله آزمایش اضافه شد تا حجم نهایی لوله آزمایش به ۱۸ میلی‌لیتر رسید. در این زمان دو فاز در لوله آزمایش تشکیل شد، فاز فوقانی تولوئن و فاز زیرین سایر مواد موجود در لوله آزمایش است. سپس درب لوله آزمایش بسته و در داخل حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه نمونه‌ها از حمام آب گرم خارج و ٤٠ تا ٦٠ بار تکان داده شد، به‌طوری که دو فاز تشکیل شده کاملاً با هم مخلوط شدند و TMA آزاد شده، جذب تولوئن شد. به همین دلیل از لوله‌های آزمایشی استفاده و درب آنها محکم بسته شد تا در هنگام تکان دادن هیچ مایعی خارج نشود. در مرحله بعد لوله‌ها را به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط آزمایشگاه گذاشته تا دو فاز کاملاً از هم جدا شوند. پس از جدا شدن فازها، ۹-۷ میلی‌لیتر لایه تولوئن به دقت از لایه پایینی جدا و به لوله آزمایش دیگر منتقل شدند. جهت اطمینان از اینکه هیچ مولکول آبی در تولوئن نیست، به لوله آزمایش، ۰/۱ گرم سولفات سدیم بدون آب انتقال داده شد. در مرحله بعد درب لوله را کاملاً بسته و به خوبی تکان داده شد تا تولوئن خشک شود، سپس ۵ میلی‌لیتر محلول اسیدپیکریک به آن اضافه کرده و با چرخش آرامی کاملاً ترکیب و با دستگاه اسپکتروفتومتر تغییر رنگ ایجاد شده مقابل لوله شاهد (Blank) که حاوی تمامی مواد نامبرده شده بجز عصاره ماهی است، در طول موج ٤١٠ نانومتر قرائت شد. به‌منظور تهیه محلول‌های استاندارد، به‌ترتیب ۱، ۲ و۳ میلی‌لیتر از محلول استاندارد TMA (working solution)، با آب مقطر به ٤ میلی‌لیتر رسانده و سپس با تعیین میزان جذب نور منحنی استاندارد رسم شد. در این آزمایش یک لوله به عنوان شاهد نیز در نظر گرفته شد. جدول ۱ میزان مواد و محلول‌های هر سه لوله شاهد، استاندارد و مجهول را نشان می‌دهد. با تعیین میزان جذب نور در نمونه مجهول و با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده میزان TMA در عضله ماهی محاسبه شد.

1 - log CFU/g

جدول ۱- میزان محلول‌های لازم (میلی لیتر) جهت اندازه‌گیری تری‌متیل آمین برای هر آزمایش

محلول‌ها	نمونه مجهول	استانداردها	شاهد
عصاره عضله ماهی	۱	- - -	-
تری متیل آمین با غلظت معین	-	۱ ۲ ۳	-
آب مقطر	۳	۳ ۲ ۱	٤
فرمالدئید۲۰٪	۱	۱ ۱ ۱	۱
کربنات کلسیم	۳	۳ ۳ ۳	۳
تولوئن	۱۰	۱۰ ۱۰ ۱۰	۱۰

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه وتحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی ماهی شوریده نگهداری شده در یخ، با نرم‌افزار SPSS انجام پذیرفت. روش تجزیه واریانس یکطرفه جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های صفر، ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز به کار رفت. همچنین جهت تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف زمانی مورد آزمایش از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار استفاده شد. برای تعیین ارتباط بین میزان تولید تری متیل آمین و بار باکتریایی (متغیرها) از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و معادله رگرسیونی آن بدست آمد.

نتایج

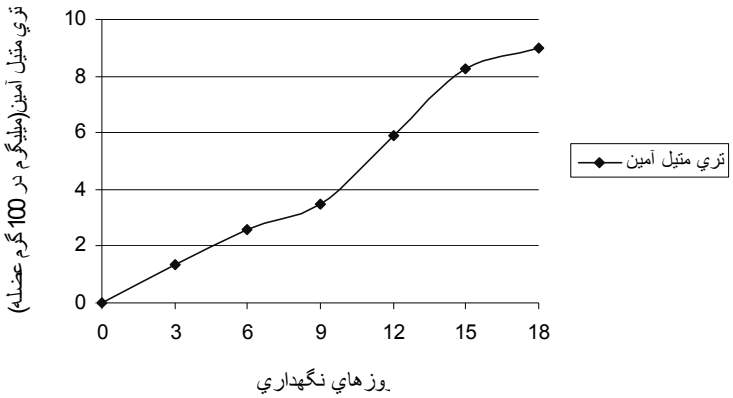
میانگین غلظت محاسبه شده برای تری متیل آمین در روزهای مختلف نگهداری به همراه نتایج حاصل از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۰/۰۵ در جدول ۲ و روند تغییرات این ترکیب در شکل ۱ آورده شده است.

جدول ۲- میانگین غلظت تری متیل آمین* و بار باکتریایی* ماهی شوریده نگهداری شده دریخ

زمان نگهداری (روز)	تری متیل آمین	باکتری‌های سرمادوست	باکتری‌های مزوفیل
۰	۰± ۰/۰۰^{a}	۲/٦۰ ± ۰/٤۲^{a}	۳/٦۰± ۰/۱۹^{b}
۳	۱/٦۳ ± ۰/۳۳^{b}	۳/۱۸ ± ۰/۰۸^{b}	۲/۵۷± ۰/۱۱^{a}
٦	۲/۵۹۰ ± ۰/۱۵^{c}	۳/۹۷ ± ۰/٤۲^{c}	۳/۵۸± ۰/۱۵^{b}
۹	۳/٤۹ ± ۰/۱۲^{d}	٤/۵۵ ± ۰/۲۱^{d}	۵/٦۹± ۰/۲۵^{c}
۱۲	۵/۸۸ ± ۰/۰۲^{e}	٦/۰۹ ± ۰/۰۷^{e}	٦/۵۱± ۰/۰۲^{d}*
۱۵	۸/۲۵ ± ۰/۰٤^{f}	۷/٦۲ ± ۰/۱٦^{f} *	٦/٦۳± ۰/۰۳^{d}
۱۸	۸/۹۷ ± ۰/۰٤^{g}	۸/۰۹ ± ۰/۱۲^{f}	۷/۹۵± ۰/۰٦^{e}

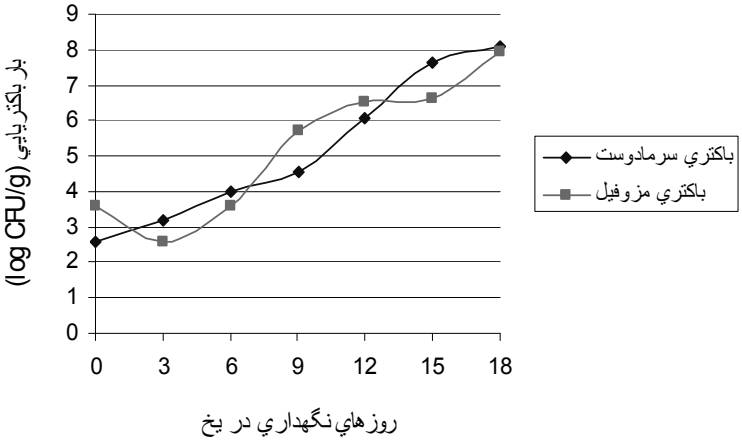
*میانگین سه تکرار تری متیل آمین (mg/100g) و بار باکتریایی (log CFU/g) به همراه نتایج آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

آزمون آماری تری متیل آمین نشان می‌دهد که میانگین غلظت این ترکیب بین اولین روز نگهداری ماهی‌ها (روز صفر) و آخرین روز نگهداری (روز هجدهم) افزایش معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). از جدول ۲ استنباط می‌شود که در اولین روز نگهداری ماهی‌ها تری‌متیل آمین یافت نشد یا به‌عبارت دیگر زیر حد سنجش قرار داشت و تری متیل آمین از روز سوم نگهداری با مقدار ۱/۳٦ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عضله قابل تشخیص بود. در کل دوره، روند افزایشی در غلظت تری‌متیل آمین مشاهده شد و در طی این ۱۸ روز در هر نوبت نمونه‌برداری تغییر معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵).



شکل ۱- تغییرات تری متیل آمین در ماهی شوریده هنگام نگهداری در یخ

مقادیر بـار باکتریـایی گـروه سـرماگرا (سرمادوسـت) و باکتری‌های مزوفیل در نمونه‌های مورد بررسی همـراه نتـایج آزمون آماری مربوطـه در جـدول ۲ و رونـد تغییـرات ایـن بـاکتری‌هـا در شـکل ۲ آورده شـده اسـت. در ایـن تحقیـق میانگین بار باکتریایی سرمادوست در کل دوره روند افزایشی داشته و این باکتری‌ها با میانگین مقدار اولیه log CFU/g ۲/۶۰ از اولین روز نگهداری نمونه‌های ماهی قابل مـشاهده بودنـد. طبـق آزمـون واریـانس یکطرفـه در هـر نوبـت نمونه‌برداری (به استثناء روز هجدهم) تغییـرات معنـی‌دار در میـانگین بـار بـاکتری‌هـای سرمادوسـت مـشاهده گردیـد ($P<$۰/۰۵) و مقدار این بـاکتری‌هـا در پایـان روز هجـدهم به ۸/۰۹ log CFU/g رسید. بیشترین تغیرات در مقدار این باکتری‌ها مربوط به روزهای دوازدهم و پانزدهم نگهداری در یخ بوده است. این نتایج حاکی است کـه میـانگین بـار ایـن بـاکتری‌هـا در روز هجـدهم نـسبت بـه روز اول افـزایش معنـی‌داری را نـشان مـی‌دهـد ($P<$ ۰/۰۵). در ایـن مطالعـه باکتری‌های مزوفیل از روز اول نگهداری با مقدار اولیه log ۳/۶۰ CFU/g قابل مشاهده بودند. در ایـن تحقیـق مقـادیر میانگین باکتریایی مزوفیل‌ها از روز اول تا روز سوم نگهداری رونـد کاهـشی را نـشان داد کـه یـک رونـد معنـی‌دار بـود ($P<$۰/۰۵). از روز ششم نگهـداری نمونـه‌هـای مـاهی بـار باکتریایی مزوفیل‌ها با مقدار log CFU/g ۳/۵۸ روند افزایشی داشت که این روند تا پایان آزمایش ادامه داشت. بـر طبق آزمون آمـاری، بـاکتری‌هـای مزوفیـل در روز پـانزدهم نگهداری فاقد تفاوت معنی‌دار بودند ($P>$ ۰/۰۵). همچنـین نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بار باکتریایی مزوفیـل در روز ششم نگهداری ماهیان در یخ در مقایسه با روز اول تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهند ($P>$۰/۰۵). بیشترین افزایش در بار باکتری‌های مزوفیل مربوط به روز نهم بوده اسـت. طبـق نتایج آماری واریانس میانگین بـار بـاکتری‌هـای مزوفیـل در آخرین روز (هجدهم) نسبت به روز اول تغییر معنـی‌داری را نشان داد ($P<$۰/۰۵) و در پایان دوره میانگین بار باکتری‌های مزوفیل به ۷/۹۵ log CFU/g رسید.



شکل ۲- تغییرات بار باکتریایی در ماهی شوریده هنگام نگهداری دریخ

جدول ۳- ضریب همبستگی تری متیل آمین با بار باکتریایی

ترکیب	همبستگی با باکتری‌های سرمادوست	همبستگی با باکتری‌های مزوفیل
تری متیل آمین	R^2 = ۰/۹۱	R^2 = ۰/۸۱

برای بررسی ارتباط بین تغییرات تری متیل آمین با تغییرات بار باکتریایی در ماهیان نگهداری شده در یخ، از آزمون رگرسیون خطی استفاده شد و معادله رگرسیونی مربوطه نیز بدست آمد.

طبق نتایج جدول ۳ ضریب همبستگی تری متیل آمین با بار باکتریایی نمونه‌ها نشان می‌دهد که این ترکیب (تری متیل آمین) به‌عنوان یک متغییر مستقل، بیشترین همبستگی را با باکتری‌های سرمادوست داشته است (R^2=۰/۹۱). معادله رگرسیونی زیر ارتباط تری‌متیل آمین را با بار باکتری‌های سرمادوست بیان می‌کند. معادله رگرسیونی تری‌متیل‌آمین با باکتری‌های سرمادوست به‌صورت y=۱/۵۵x-۳/۵٦ است که در آن: y= میانگین بار تری‌متیل‌آمین و x= میانگین بار باکتری‌های سرمادوست می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

فساد ماهی فرآیند پیچیده‌ای است که در آن مکانیسم‌های فیزیکی، شیمیایی و میکروبیولوژیکی دخیل می‌باشند. واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی مسئول از دست رفتن تازگی اولیه در ماهی می‌باشند و این در حالی است که فعالیت‌های میکروبی مسئول بارز فساد هستند و این میکروب‌ها تعیین کننده کیفیت ماهی و مدت زمان ماندگاری محصول هستند. از زمان صید تا فساد که دوره تازگی ماهی محسوب می‌شود، فرایند خود هضمی و تکثیر باکتری‌ها در ماهی شروع می‌شود، ولی هنوز محصولات ناشی از فساد در حد بسیار پایین وجود دارند. تا انتهای دوره تازگی، جمعیت باکتریایی به مقداری می‌رسند که متابولیت‌های فساد از راه‌های مختلفی قابل ردیابی هستند (۸). از نظر میکروب شناسی نشان داده شده است که ماهیان نگهداری شده در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، غالباً باکتری‌های سایکروفیل یا سرمادوست هستند (۸). در این درجه حرارت باکتری‌های مزوفیل اهمیت زیادی ندارند، اما مطالعات نشان می‌دهد که پس از ۷۲ ساعت، میکروارگانیسم‌های روده ماهی نیز می‌توانند به گوشت آن هجوم آورند (۱۵). اکثر میکروارگانیسم‌های عامل فساد در غذاهای دریایی را سودوموناس‌ها تشکیل می‌دهند که دو ویژگی مهم آنها باعث فساد ماهی می‌شود (۱٤). اول اینکه این باکتری‌ها سرمادوست بوده و به آسانی در برودت یخچال و دماهای پایین رشد می‌کنند و دوم اینکه با هجوم به بافت‌های ماهی در تولید ترکیبات نامطلوب از نظر طعم و بو نقش دارند که ناشی از فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک و لیپولیتیک می‌باشد (۱٤). در فلور طبیعی ماهیان دریایی گرمسیری و نیمه گرمسیری نیز سودوموناس‌ها بخش مهمی از باکتری‌ها را تشکیل می‌دهند. این دسته از باکتری‌ها پس از نگهداری ماهی به‌مدت ۱۵-۱٤ روز در یخ، هنوز وجود دارند (۱٤). به‌منظور کند نمودن مکانیزم‌های عامل کاهش کیفیت در ماهی، باید بلافاصله ماهی پس از صید منجمد شود. یکی از روش‌های رایج نگهداری ماهیان و سایر فرآورده‌های غذایی دریایی نگهداری و خنک‌سازی آنها با یخ می‌باشد (۱٦). دراین تحقیق با نگهداری ماهیان شوریده در یخ، شاهد رشد باکترهای سرمادوست بوده بطوری‌که در اولین روز نمونه‌برداری با مقدار ۲/٦۰ logCFU/g تشخیص داده شدند. بیشترین تغییرات در مقدار باکتری‌های سرمادوست مربوط به روزهای دوازدهم و پانزدهم نگهداری ماهیان بوده که از روز نهم به دوازدهم میانگین بار این باکتری‌ها ٤/۵۵ log CFU/g به ٦/۰۹ log CFU/g و از این مقدار ذکر شده (روز دوازدهم) به ۷/٦۲ log CFU/gدر روز پانزدهم رسید. روند رشد کند و تدریجی باکتری‌های سرمادوست در روزهای اولیه نگهداری نمونه‌ها را می‌توان به‌دلیل سازگاری تدریجی این باکتری‌ها با شرایط محیطی مناسب (از نظر دما و غلظت نمک) که برای رشد و تکثیر آنها فراهم شده است، استدلال کرد. روند افزایشی این باکتری‌ها (سرمادوست) در طول دوره نشان می‌دهد که فراهم شدن شرایط محیطی (دمای مناسب)، سبب رشد و

تکثیر سریع این باکتری‌ها شده و با ترشح آنزیم‌های خود به‌تدریج شرایط را برای تولید تری متیل آمین فراهم می‌آورند. در تحقیق حاضر پایین بودن بار باکتریایی سرمادوست نسبت به باکتری‌های مزوفیل در اولین روز نگهداری، را می‌توان به دلیل فراهم بودن شرایط دمایی در آب دریا برای رشد باکتری‌های مزوفیل نسبت به باکتری‌های سرمادوست بررسی کرد. بطوری‌که با انتقال ماهیان از دریا به یخ و انجام آزمایش میکروبی در اولین روز نگهداری این تفاوت در میزان بار این باکتری‌ها محرز گردید. در درجه حرارت‌های پایین بار باکتریایی که ایجاد می‌شود عمدتاً مربوط به باکتری‌های سرماگرا و سرمادوست‌ها است تا مزوفیل‌ها، به‌علاوه در این درجه حرارت فعالیت میکروبی کاهش می‌یابد ولی پتانسیل فساد، بیشتر از طرف باکتری‌های سرماگرا و سرمادوست‌ها خواهد بود و در این میان باکتری‌های سرمادوست بخصوص سودوموناسها در فرآیند فساد نقش مهمی را ایفا می‌کنند، زیرا هم فعالیت لیپازی و هم پروتئولیتیکی دارند که اهمیت این آنزیم‌ها و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزی در شکستن مولکول‌های درشت و تبدیل آن به مونومرها مثل آمینو اسیدها است (۱۰). در این مطالعه تری‌متیل آمین در ماهی شوریده در روزهای ابتدای دوره نگهداری روند افزایشی آرامی را نشان داد (جدول ۲). بر طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر تری‌متیل آمین در روزهای دوازدهم و پانزدهم افزایش قابل ملاحظه‌ای در مقدار آن مشاهده و به‌ترتیب به ۵/۸۸ و ۸/۲۵ میلی‌گرم در۱۰۰گرم عضله رسید و در همین زمان میانگین بار باکتری‌های سرمادوست به‌ترتیب ٦/۰۹ و logCFU/g ۷/٦۲ رسید. بیشترین جهش در میانگین غلظت تری‌متیل آمین مربوط به روز دوازدهم بود که مقدار آن از mg/۱۰۰ g ۳/٤۹ در روز نهم به mg/۱۰۰g ۵/۸۸ در روز دوازدهم رسید در این مدت بار باکتریایی سرمادوست‌ها از ٤/۵۵ به logCFU/g ٦/۰۹ رسید. در این پژوهش، بار باکتریایی مزوفیل‌ها تا روز سوم نگهداری روند کاهشی را نشان داد و مقدار آن از ۳/٦۰ به logCFU/g ۲/۵۷ رسید که احتمالاً به‌دلیل شوک وارده ناشی از سرما به این باکتری‌ها در روزهای اولیه بوده است. لازم به ذکر است که این کاهش در بار باکتریایی معنی‌دار بوده و این باکتری‌ها از روز ششم نگهداری روند افزایشی را در پیش گرفتند. نتایج مندرج در جدول ۲ نشان می‌دهد که با آداپته شدن این باکتری‌ها به شرایط نگهداری در یخ، میزان رشد و تکثیر آنها بالا رفته است. در سال ۱۹۸۷، Perez-Villareal و Howgate با استفاده از روش‌های حسی و میکروبی ارزیابی کیفی ماهی هیک اروپایی (*Merluccius merluccius*) نگهداری شده در یخ Slurry را انجام دادند. نتایج به‌دست آمده در آنالیز حسی توسعه چشمگیر مدت زمان ماندگاری را از ۵ روز به ۱۲ روز در طی نگهداری در یخ slurry در مقایسه با یخ پولکی نشان داد. همچنین تشکیل TMA نیز به‌طور قابل توجهی در گروه نگهداری شده در یخ slurry بعد از ۱۲ روز نگهداری پایین‌تر بود. کیفیت اولیه مواد خام با توجه به تازگی، بار میکروبی و آسیب فیزیکی یک فاکتور مهمی است که کیفیت فرآورده نهایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. حفظ کیفیت محصول به میزان قابل توجهی به دمای نگهداری بستگی دارد (۱۷).

نحوه تجمع TMA در طی نگهداری ماهی در یخ بسیار شبیه افزایش باکتری‌ها می‌باشد، بدین‌ترتیب که تغییرات آن در طی چند روز اول صید محدود بوده ولی به‌تدریج با گذشت زمان سرعت این تغییرات بیشتر می‌شود. این روش ارزیابی کیفی فقط در ماهیانی قابل اجرا است که در بدن آنها TMAO به مقدار کافی وجود دارد و بنابراین استفاده از تست تری‌متیل آمین برای گونه‌های آب شیرین که فاقد TMAO هستند روش مناسبی نمی‌باشد (۱۳). در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۳۹٤ بر این نکته تاکید شده است که حد مجاز بار باکتریایی به تنهایی ملاک قضاوت نمی باشد و خصوصیات فیزیکی و ارگانولپتیکی گوشت نیز باید مورد توجه قرار گیرند (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۸). از طرفی بیان می‌شود که در درجه حرارت‌های کم، فساد وقتی شدت می‌یابد که بار ارگانیزم‌های مسبب به log CFU/g ۸-۵ به ازاء هر میلی‌لیتر، گرم یا سانتی‌متر مربع برسد (۱۱). در جدول ٤ میزان تری‌متیل آمین و بار باکتریایی بر اساس استانداردها آورده شده است.

جدول ٤- استاندارد تری متیل آمین (mgTMA/١٠٠ g) و بار باکتریایی (log CFU/g) محصولات دریایی

تری متیل و بار باکتریایی	غلظت یا میزان	نوع تاثیر	منبع
تری متیل آمین	٨-٦	شروع فساد	Regenstein (١٩٩١)
بار باکتریایی	٧-٥	حد مجاز	Shewan (١٩٧٧)
بار باکتریایی	٧	حد استاندارد	ICMSF (١٩٨٦)
بار باکتریایی	٧	حد استاندارد	Huss (١٩٩٤)
بار باکتریایی	٧	حد استاندارد	موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی (١٣٧٨)

با بررسی تری متیل آمین در این تحقیق در پایان دوره نگهداری نمونه‌ها، میانگین غلظت آن به ٨/٩٧ mgTMA/١٠٠g عضله ماهی رسید و میانگین بار باکتریایی سرمادوست‌ها در پایان دوره به log CFU/g ٨/٠٩ (بیشتر از CFU/g $١٠^{٨}$) و میانگین بار باکتری‌های مزوفیل به log CFU/g ٧/٩٥ (بیشتر از CFU/g $١٠^{٧}$) رسید که نشان می‌دهد باکتری‌های سرمادوست از مقدار بیشتری برخوردار بوده‌اند و بطورکل بار باکتریایی (مزوفیل و سرمادوست) بالاتر از حد مجاز تعیین گردید (حد مجاز CFU/g $١٠^{٧}$). همچنین در پایان دوره، دامنه تغییرات (روز هجدهم نسبت به روز اول) باکتری‌های سرمادوست در مقایسه با باکتری‌های مزوفیل بیشتر بوده است (٥/٤٩ برای سایکروفیل‌ها و ٤/٣٥ برای مزوفیل‌ها) (جدول ٢). بالا بودن میزان بار باکتریایی مزوفیل‌ها در اولین روز نگهداری نشان دهنده وجود شرایط مناسب دمایی و محیطی (آب دریا) برای رشد این باکتری‌ها قبل از نگهداری در یخ بوده است. به همین دلیل، این باکتری‌ها نسبت به باکتری‌های سرمادوست که درجه حرارت پایین‌تری را برای رشد نیاز دارند بار آنها در اولین نمونه‌برداری (سه ساعت پس از صید) بیشتر تشخیص داده شد. مقایسه میزان تولید تری متیل آمین با میزان حد شروع فساد ناشی از این آمین در ماهی (جدول ٤) و میزان حد مجاز بار باکتریایی (CFU/g $١٠^{٧}$) نشان داد که میانگین غلظت تری متیل آمین از مقدار مجاز (٨-٦ mgTMA/١٠٠g) فراتر رفته و بیانگر آغاز فساد در ماهی مورد مطالعه می‌باشد. با توجه به اینکه در این آزمایش ارزیابی حسی صورت نگرفت ولی در روزهای آخر بخصوص در روز هجدهم (پایان نگهداری نمونه‌ها) ماهی‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای علائم فساد مثل بوی بسیار تند و نامطبوع آمونیاک، نرمی شدید بافت و ترکیدگی شکم را نشان دادند که نتایج میکروبیولوژیکی و میزان بالای تری متیل آمین نشان دهنده علائم فساد و تأییدکننده این موضوع است. در این تحقیق بار باکتری‌های سرمادوست به‌عنوان باکتری‌های غالب تشخیص داده شده و بهترین ارتباط بین بار باکتری‌های سرمادوست و غلظت تری‌متیل آمین تشخیص داده شد (R^2=٠/٩١). همانطور که از جدول نتایج (جدول ٢) استنباط می‌گردد حداکثر زمان نگهداری این ماهیان در یخ تا روز دوازدهم پس از صید بوده است، زیرا نگهداری پس از آن سبب شروع فساد در ماهیان مورد نظر خواهد شد. باید توجه داشت که تری متیل آمین در ارتباط با فاکتورهای زیادی ارزیابی می‌گردد و نمی‌توان سنجش این آمین را در ارتباط با یک فاکتور خاص دانست. به‌عبارت دیگر در تحقیق حاضر هر چند که تری‌متیل‌آمین با باکتری‌های سرمادوست بهترین ارتباط و همبستگی را داشته است ولی تأثیر عوامل دیگر را نیز نباید نادیده گرفت. با توجه تنوع گونه‌ای آبزیان و اهمیت آنها در رژیم غذایی نیاز به مطالعات و تحقیقات بیشتر در زمینه کنترل کیفی مواد غذایی و ارائه راهکارها جهت بررسی تغییرات و فاکتورهای شیمیایی و بیوشیمیایی در آبزیان در بحث کنترل و بهداشت مواد غذایی آبزیان می‌باشد، زیرا تغییر در محیط آب می‌تواند نوع باکتری‌های موجود روی پوست و آبشش ماهی تازه صید شده را تحت تاثیر قرار دهد، همچنین اختلاف در مقادیر آمینواسیدهای پیش‌ساز، سن ماهی، نوع گونه ماهی، میزان چربی، مکان صید، روش صید ماهی، pH بافت ماهی، شرایط نگهداری ماهی به‌صورت فیله یا کامل، میزان و نسبت عضلات تیره و سفید نسبت به هم، فلور باکتریایی خاص منطقه و فصل از عوامل مهم در بروز این

تغییرات هستند (۱). به نظر می‌رسد که استفاده تلفیقی از این شاخص‌ها، می‌تواند گویای خوبی از نظر میزان کیفیت و تازگی باشد. بر اساس نتایج این تحقیق میانگین غلظت تری‌متیل آمین در پانزدهمین روز نگهداری ماهیان بالاتر از حد مجاز تشخیص داده شد و هر چند که در روز دوازدهم نگهداری نیز میزان سنجش شده تری متیل آمین در حد مجاز بوده است، ولی توصیه می‌گردد که حداکثر زمان از مرحله صید در دریا تا عرضه به مصرف کننده در شرایط نگهداری در یخ بیشتر از ده روز نباشد، زیرا همیشه باید در نظر داشت که میزان و مقدار شاخص‌های کنترل کیفی سنجش شده در حد مجاز را نباید ملاک قضاوت قرار داد بلکه باید شرایط نگهداری محصول را از نظر زمانی بر اساس میزان پایین تر از حد مجاز در نظر گرفت.

تشکر و قدردانی

از کارشناسان محترمه آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی و فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز سرکار خانم مهندس اصفهانیان و سرکار خانم مهندس دهکردی کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

۱- رضوی شیرازی، ح.،۱۳۷۳. تکنولوژی فرآورده‌های دریایی، اصول نگهداری و عمل‌آوری. انتشارات شرکت شیلانه. ۳٦۰ صفحه .

۲- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، ۱۳۷۸. حد مجاز آلودگی میکروبی در انواع گوشت. شماره ۲۳۹٤. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۳۰ صفحه.

۳- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، الف.، ۱۳۸۰ . میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمایشهای میکروبیولوژیکی. شماره ۳٥٦. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۲۰ صفحه.

٤- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، ب.، ۱۳۸۰. میکروبیولوژی- آیین کاربرد روش‌های عمومی آزمایش‌های میکروبیولوژی. شماره ۲۳۲٥. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲٦۰ صفحه.

٥- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، ج.، ۱۳۸۰. روش شمارش میکرو ارگانیسمهای سرماگرا و سرمادوست، چاپ دوم. شماره ۲٦۲۹. انتشارات استاندارد ملی ایران. ۲۸۰ صفحه.

6.AOAC., 1995. Association of Official Analytiacal Chemists 15th (ed).Washington DC, Chapter 35, 7-9.

7.Connell, J.J., 2002. Quality control in fish Industry. Torry Research Station. Torry advisory Note No. 58, 8-9.

8.Gram, L. and Huss, H.H., 1997. Microbiological spoilage of fish and fish products. Int. J. Food Microbiol. 33, 121–137.

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

10.Gray, R. and Sorhang, T., 1983. Responses regulatione and utilization of microbial activites at low temperature In: A.H.Rose(ed.), Food microbiology (8), 1-45

11.Hamada-Sato, N., Usui, K., Kobayashi, T., Imada, C. and Watanable, E., 2005. Quality assurance of raw fish based on HACCP cocept. J. Food Control. 16, 301-307.

12.Huss, H.H., 1988. Fresh Fish Quality and Changes. FAO Fisheries series. No. 29, 20-24, 43-52 and 61-67.

13.Huss, H.H., 1994. Assurance of seafood quality. FAO Fisheries Technical Paper 33, 41-48

14.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. Pp. 13-16

15.Mazorra-manzano, M., Pacheco-Aguilar, R., Dias-Rajas, E. and Luge-Sanchez, M., 2000. Post mortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. Journal Food Science 65 (5), 774-779.

16.Nunes, M., Batista, I., Moraode, and Campos, R., 1992. Physical, chemical and sensory analysis of sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice. Journal of the Science of Food and Agriculture 59, 37–43.

17.Perez-Villareal, B., and Howgate, P., 1987. Spoilage of European Hake (*Merluccius merluccius*) in ice. Journal Science Food Agriculture 41(4), 335-380.

18.Regenstein, J.M., 1991. Introduction to Fish Technology. Van Nostran Reinhold, New York. Pp. 19-20.

19.Shewan J.M., 1977. The Bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial sections. In handling, processing and marketing of tropical fish. London, Tropical products institute, pp 51 - 66 Food Technol. 36 (7), 328-334.

Journal of Fisheries
Vol. 4, No. 1, Spring 2010

Determination of trimethylamine (TMA) content and its relation with Microbial load in Muscle tissue of whole Croaker (*Otolithes ruber*) during iced storage

***A.R. Hosseini[1], M.H. Noori Mogehi[2], H. Najafzadeh Varzi[3], A. Fazlara[3], E. Rajabzadeh Ghatrami[4], S. Bitta[5] and H. Moradian[1]**

[1]Iranian Fisheries Research Organization, Coldwater Fishes Research Center of Yasuj, [2]Faculty Member of Medical Sciences University of Tehran, [3]Faculty Member of Veterinary College, University of Shahid Chamran, Ahvaz, [4]Faculty Member of Marine Natural Resources College, University of Khorramshahr, [5]Faculty Member of Marine Sciences, University of Chabahar

Abstract

In this study (Winter, 2007), the trimethylamine (TMA) content in the muscle tissue of whole croaker*(Otolithes ruber*) in relation with bacterial load changes (psychrophiles and mesophiles bacteria) was monitored during iced storage for a period of 18 days (0, 3, 6, 9, 12, 15 and 18th day). Results showed that the concentration of TMA and bacterial load (psychrophiles and mesophiles), increased linearly during iced storage. TMA was not detected in the first storage day. The first detection was in the 3rd storage day. In this study, the best correlation was found between TMA and psychrophilic bacterial load (R^2=0.91), these bacteria were also found to be the dominant microorganism during storage time. Initial concentration of TMA 1.36mg/100g finally reached 8.97mg/100g, while psychrophilic bacterial load reached more than 10^8cfu/g. The average TMA concentration (in the 15th day) was found to be more than the acceptable range.

Keywords: Microbial load; Muscle tissue; Trimethylamine; *Otolithes rubber*; Ice storage

* Corresponding Author; Email: ahmadreza1377@yahoo.com