



## کارایی آمین‌های بیوژن در ارزیابی کیفیت ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) هنگام نگهداری در یخ

سید ولی حسینی<sup>۱\*</sup>، علی حمزه<sup>۲</sup>

\*۱- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲- دانشجوی دکتری، گروه فراوری آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۵

\*نویسنده مسئول مقاله: hosseinisv@ut.ac.ir

### چکیده:

نگهداری ماهی حتی در شرایط سرد نیز منجر به تغییراتی کیفی ناشی از جدا شدن پپتیدها و اسیدهای آمینه شده و در اثر فعالیت باکتری‌ها تبدیل به آمین‌های بیوژن به‌عنوان ترکیبات مضر می‌شود. در این مطالعه شش آمین بیوژن (پوترسین، کدورین، اسپرمین، اسپرمیدین، تیرامین و هیستامین)، در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۱۶ روز نگهداری شده در یخ در پنج فاصله زمانی (۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ روز) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که در کل دوره نگهداری پوترسین و کدورین مقادیر بالاتری را نسبت به دیگر آمین‌ها داشتند و برای ارزیابی کیفیت ماهی کپور مناسب بودند. مقادیر اسپرمین و اسپرمیدین دارای نوسان بودند و مقادیر آمین‌های خطرناک هیستامین و تیرامین، در کل دوره نگهداری پایین‌تر از حد مجاز بودند، بنابراین نمی‌توانند به‌عنوان عامل ایجادکننده خطر در ماهی کپور مطرح باشند.

کلید واژگان: آمین بیوژن، کپور معمولی، کنترل کیفیت

## مقدمه

ماهیان از فراورده‌های پروتئینی هستند که روند فساد در آن‌ها سریع‌تر از سایر فراورده‌های مشابه است. استفاده از سرما و نگهداری فراورده‌ها در شرایط سرما، یکی از شرایط معمول برای به حداقل رساندن تغییرات نامطلوبی است که پس از مرگ در عضلات رخ می‌دهد. اگرچه یخ و نگهداری فراورده‌ها در شرایط سرما باعث کاهش سرعت فساد می‌شود، اما همچنان تغییرات کیفی در آن‌ها رخ می‌دهد به طوری که در اثر این تغییرات ممکن است پپتیدها و اسیدهای آمینه از ساختار پروتئین جدا و در اثر فعالیت باکتری‌ها به آمین‌های بیوژن تبدیل شوند (Krizek et al., 2011)

آمین‌های بیوژن (پوترسین<sup>۱</sup> PUT، کدورین<sup>۲</sup> CAD، اسپرمین<sup>۳</sup> SPM، اسپرمیدین<sup>۴</sup> SPD، تیرامین<sup>۵</sup> TYR، هیستامین<sup>۶</sup> HYS و ...)، ترکیبات غیرفرار و با وزن مولکولی کم هستند و در اثر فعالیت باکتری‌ها بر روی پروتئین‌ها و از طریق دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه مشخص تشکیل می‌شوند (Kim et al., 2010; Hwang et al., 2010). آمین‌های بیوژن به صورت طبیعی و به مقدار کم در ماهیان وجود دارند و در انجام برخی فعالیت‌های فیزیولوژیک نقش اساسی دارند. اما وجود مقادیر زیاد آن‌ها در فراورده‌ها مربوط به فساد باکتریایی و اثر باکتری‌ها بر پروتئین‌هاست و اثرهای سمی خواهد داشت (Krizek et al., 2004; Önal, 2007).

در شرایط طبیعی اثرهای سمی آمین‌های بیوژن با فعالیت آنزیم‌های آمین اکسیداز خنثی می‌شوند، اما در افراد

حساس به دلیل وجود برخی ترکیبات بازدارنده فعالیت این آنزیم‌ها، روند سم‌زدایی دچار اختلال شده و این ترکیبات در بدن انباشته شده و باعث مسمومیت می‌شوند (Özogul et al., 2002; Kim et al., 2009). اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن در فراورده‌ها از ۲ جنبه اهمیت دارد: ۱- اثرهایی که بر سلامتی انسان‌ها دارند و ۲- از آنجایی که مقادیر زیادی از آن‌ها در اثر فعالیت‌های باکتریایی و آن هم در انتهای عمر ماندگاری فراورده‌ها تولید می‌شود، می‌تواند شاخص خوبی برای تعیین کیفیت فراورده‌های پروتئینی باشند (Rodríguez-Méndez et al., 2009; Özogul et al., 2006).

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) از ماهیان پرورشی و پر تولید در کشور است که بیش تر حمل و نقل و فروش آن به صورت تازه در یخ انجام می‌شود. تحقیقات پیشین (Krizek et al., 2004; Krizek et al., 2011) مشخص کردند که تشکیل آمین‌های بیوژن در ماهی کپور و محصولات آن، یکی از عوامل اصلی کاهش کیفیت آن‌ها بوده و ارزیابی میزان آن‌ها می‌تواند یکی از شاخص‌های مطلوب بررسی کیفیت در چنین آبزیان ارزشمندی باشد. این رو هدف اصلی از پژوهش حاضر بررسی تغییرات آمین‌های بیوژن در ماهی کپور معمولی و بیان زمان ماندگاری این ماهی در طی دوره نگهداری در یخ است.

## مواد و روش‌ها

## مواد مورد استفاده

تمامی استانداردهای آمین‌های بیوژن، متانول، کلروفرم، بوتانول، دی اتیل اتر و هپتان نرمال از شرکت مرک و آب دو بار تقطیر و آب دیونیزه از شرکت میلی پور خریداری شد.

1. Putrescine
2. Cadaverine
3. Spermine
4. Spermidine
5. Tyramine
6. Hystamine

### تهیه نمونه‌ها

تعداد ۴۵ عدد ماهی کپور معمولی با وزن  $25 \pm 670$  از یک مرکز پرورش ماهیان گرمابی شهرستان نور در اواخر فصل بهار خریداری و بلافاصله شستشو شده و پس از آن به سه بخش و در هر بخش ۱۵ عدد ماهی تقسیم شد. یک بخش بلافاصله به نسبت ۱ به ۳ (ماهی به یخ) در یخ قرار گرفت و ۲ بخش دیگر، به مدت ۴ و ۸ ساعت در دمای اتاق (۲۴-۲۶) نگهداری و پس از آن با همان نسبت در یخ قرار گرفتند. در طول دوره نگهداری آب‌های ایجاد شده در اثر ذوب یخ‌ها، با یخ‌های تازه جایگزین می‌شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۶ روز در یخ نگهداری شدند و در هر ۴ روز (۴، ۸، ۱۲، ۱۶) آمین‌های بیوژن آن‌ها با روش Paleologos و همکاران (۲۰۰۳) و میزان بار باکتریایی آن‌ها به روش Downes و Ito (۲۰۰۱) ارزیابی شد.

برای سنجش میزان دقیق آمین‌های بیوژن، از چندین استاندارد داخل استفاده شد. استانداردهای داخلی مورد استفاده شامل histamine dihydrochloride، putrescine dihydrochloride، dihydrochloride، cadaverine dihydrochloride، tyramine hydrochloride با درجه خلوص بالا (۹۸ درصد) و از شرکت سیگما (Sigma Co., USA) خریداری شد. برای تعیین میزان آمین‌های بیوژن عملیات استخراج آن‌ها به روش Mietz و Karmas (۱۹۷۷) و مشتق‌سازی به روش Dawood (۱۹۸۸) انجام گرفت. به‌طور خلاصه، ۵۰ گرم از عضلهٔ باله پستی ماهی در ۷۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۵ درصد به مدت ۲ دقیقه هم‌وزن و سپس سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در ۴۳۰۰ جی) شد. آنگاه محلول فوقانی فیلتر و ۱۰ میلی‌لیتر آن با ۴ گرم NaCl و ۵۰ میلی‌لیتر NaOH و ۵ میلی‌لیتر chloroform-butanol (نسبت ۱:۱) مخلوط و سپس سانتریفیوژ و فیلتر شده و

آنگاه بر این محلول عملیات مشتق‌سازی و سپس با دستگاه HPLC (Shimadzu Co., Japan)، میزان هر یک از آمین‌های بیوژن تعیین گردید.

برای سنجش بار میکروبی کل و دیگر گروه‌های میکروبی مورد بررسی، ابتدا عملیات آماده‌سازی بر نمونه‌های مورد بررسی انجام شد. برای این کار، با توجه به روش استاندارد آماده‌سازی نمونه از ماهیان برای آزمایش‌های میکروبی (ICMSF, 1986)، با استفاده از پنس و چاقوی استریل از هر ماهی مقدار ۲۵ گرم نمونه برداشته شد و آنگاه ۲۲۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک استریل شدهٔ سرد (دمای تقریبی ۴ درجهٔ سانتی‌گراد) به آن افزوده و کاملاً هم‌وزن گردید (به مدت ۲ دقیقه). سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند تا عمل احیای resuscitation در آن‌ها انجام شود. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، رقت‌های مختلف تهیه شد.

در این آزمایش برای اندازه‌گیری بار باکتریایی کل، باکتری‌های تولیدکنندهٔ اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه به ترتیب از محیط کشت‌های plate count agar، deMan violet red bile glucose agar و Rogosa Sharpe agar (اکسید، انگلیس) استفاده شد. بر حسب دستورالعمل ارائه شده از طرف کارخانهٔ سازنده در خصوص تهیهٔ هر یک از محیط کشت‌ها، محیط کشت‌های مورد نظر آماده و تا زمان استفاده در حمام آبی با دمای متوسط ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. سنجش میزان هر یک از گروه‌های باکتریایی مورد اشاره در فوق از روش کشت پور پلیت استفاده شد. برای اندازه‌گیری بار باکتریایی کل پلیت‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه گذاری (انکوباتور) نگهداری و سپس تعداد کلونی‌های موجود در پلیت‌های مذکور شمارش شدند. در خصوص باکتری‌های

واریانس بین نتایج و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا نبود اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد.

### نتایج

#### آمین‌های بیوژن

مقادیر ۶ آمین بیوژن مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در یخ در جدول ۱ نشان داده شده است. در آغاز دوره نگهداری مقادیر کدورین، هیستامین و تیرامین قابل تشخیص نبود و مقادیر هر یک از آمین‌های نام برده شده به ترتیب از روز ۴، ۸ و ۱۲ قابل تشخیص بود. به‌طور کلی با افزایش زمان نگهداری مقادیر آمین افزایش یافت. در بین آن‌ها مقادیر پوترسین و کدورین نسبت به بقیه آمین‌ها بیش‌تر و مقادیر هیستامین و تیرامین کم‌تر از بقیه آمین‌ها بودند. مقادیر اسپرمین و اسپرمیدین هم مانند بقیه آمین‌ها با افزایش طول دوره نگهداری افزایش یافت، اما روند تغییرات در آن‌ها کم‌تر از کدورین و پوترسین و بیش‌تر از هیستامین و تیرامین، به‌ترتیب از ۷/۶۶ و ۶/۸۶ در ابتدای دوره تا ۱۲/۷۳ و ۱۰/۰۴ در انتهای دوره متغیر بود. این درحالی است که مقادیر پوترسین و کدورین به‌ترتیب از ۱/۳ و ۶/۷۱ تا ۹۱/۹۳ و ۱۲۸/۴ و مقادیر هیستامین و تیرامین به‌ترتیب از ۰/۲۳ و ۰/۴۵ تا ۰/۴۷ و ۱/۱۲ متغیر بوده است.

تولیدکننده اسید لاکتیک نیز پس از آماده‌سازی پلیت‌ها، از دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ تا ۷۲ روز برای انکوباسیون آن‌ها استفاده شد و آنگاه تعداد کلونی‌های تشکیل شده شمارش گردید. برای بررسی باکتری‌های انتروباکتریاسه، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و آنگاه کلنی‌های بزرگ با هاله‌های بنفش رنگ شمارش شد. نتایج به‌دست آمده برحسب log CFU در هر گرم از فیله گزارش شدند.

#### شاخص کیفیت (QI) و شاخص آمی بیوژن (BAI)<sup>۷</sup>

این دو شاخص به‌ترتیب بر اساس فرمول مطرح شده از سوی Mielz و Karmas (۱۹۷۷) و Veciana-Nogues و همکاران (۱۹۹۷) به‌صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{شاخص کیفیت} = \frac{\text{پوترسین} + \text{کدورین} + \text{هیستامین}}{\text{کدورین} + \text{پوترسین} + ۱}$$

$$= \text{پوترسین} + \text{کدورین} + \text{هیستامین}$$

شاخص آمین بیوژن تیرامین

#### تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق از طرح فاکتوریل استفاده می‌شود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. ابتدا بررسی طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوراف-اسمیرنوف<sup>۸</sup> و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون<sup>۹</sup> بررسی شد. پس از بررسی تحقق دو شرط اصلی آزمون پارامتریک تجزیه واریانس (Zar, 1996)، از آزمون مذکور برای مقایسه

7. Quality Index  
8. Biogenic Amine Index  
9. Kolmogorov - Smirnov  
10. Leven

جدول ۱ تغییرات آمین‌های بیوژن (mg/kg) در ماهی کپور معمولی در طول دوره نگهداری در یخ

آمین بیوژن	روز				
	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
پوترسین	۱/۳±۰/۴۷ <sup>e</sup>	۴/۱۹±۰/۶۸ <sup>d</sup>	۱۳/۶۵±۱/۲۳ <sup>c</sup>	۳۰/۷۱±۲/۱۳ <sup>b</sup>	۹۱/۹۳±۱/۹۸ <sup>a</sup>
کلورین	ND	۶/۷۱±۱/۳۸ <sup>d</sup>	۲۲/۴۹±۳/۹۵ <sup>c</sup>	۵۲/۸۷±۳/۲ <sup>b</sup>	۱۲۸/۴±۱۱/۹۶ <sup>a</sup>
اسپریمین	۷/۶۶±۰/۵۷ <sup>d</sup>	۸/۷۹±۰/۷۱ <sup>c</sup>	۸/۵۲±۰/۲۳ <sup>c</sup>	۱۰/۶۶±۰/۸۶ <sup>b</sup>	۱۲/۷۳±۰/۵ <sup>a</sup>
اسپریمیدین	۶/۸۶±۰/۷۱ <sup>c</sup>	۸/۰۷±۰/۳۶ <sup>b</sup>	۶/۱±۰/۳۷ <sup>c</sup>	۸/۶۲±۰/۳۹ <sup>b</sup>	۱۰/۰۴±۱/۰۶ <sup>a</sup>
هیستامین	ND	ND	۰/۲۳±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۰/۳۲±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۴۷±۰/۰۴ <sup>a</sup>
تیرامین	ND	ND	ND	۰/۴۵±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۱۲±۰/۲ <sup>a</sup>

میانگین ± انحراف معیار (Mean ± Standard DE of Mean; n=3)

حروف کوچک مشترک و مختلف در هر ردیف به ترتیب نشان از نبود و وجود تفاوت معنادار در آمین بیوژن است. ND: تشخیص داده نشده

شده و در روز ۱۶ به حداکثر میزان خود یعنی ۲۲۱/۹۳ رسید. در شاخص کیفیت هم افزایش معنادار در طول دوره نگهداری مشاهده شد و حداکثر میزان آن در روز ۱۶ و به میزان ۹/۳ مشاهده شد.

همگام با افزایش مقادیر آمین‌های بیوژن در طول دوره نگهداری، شاخص کیفیت و شاخص آمین بیوژن هم با افزایش دوره نگهداری، افزایش یافتند (جدول ۲). به‌طور کلی، شاخص آمین بیوژن (BAI) بزرگ‌تر از شاخص کیفیت (QI) بوده و تغییرات معنادار آن از روز ۸ شروع

جدول ۲ تغییرات شاخص‌های کیفیت و آمین بیوژن ماهی کپور معمولی در طول دوره نگهداری

شاخص آمین بیوژن	شاخص کیفیت	روز
۱/۳±۰/۴۷ <sup>d</sup>	۰/۰۸۳±۰/۰۲ <sup>e</sup>	۰
۱۰/۹±۱ <sup>d</sup>	۰/۶۱±۰/۰۵ <sup>d</sup>	۴
۳۶/۳۷±۳/۱۸ <sup>c</sup>	۲/۳۳±۰/۲۷ <sup>c</sup>	۸
۸۴/۳۵±۴/۳ <sup>b</sup>	۴/۱۵±۰/۴۴ <sup>b</sup>	۱۲
۲۲۱/۹۳±۱۱/۲۳ <sup>a</sup>	۹/۳±۰/۳ <sup>a</sup>	۱۶

میانگین ± انحراف معیار (Mean ± Standard DE of Mean; n=3)

حروف کوچک مشترک و مختلف در هر ستون به ترتیب نشان از نبود و وجود تفاوت معنادار در شاخص‌های کیفیت و آمین بیوژن است.

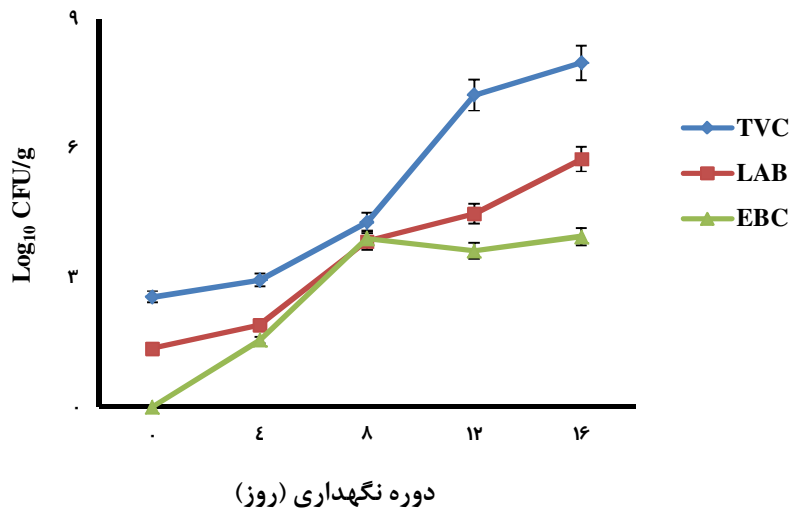
باکتری‌های اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه بود. در مجموع LAB، TVC و EBC با افزایش دوره نگهداری مقدار آن‌ها افزایش یافت. برای EBC در ابتدای دوره هیچ کلونی‌ای مشاهده نشد و در روز ۱۶ به بیش‌ترین مقدار خود، ۲/۹۵ CFU/g رسید؛ البته مقدار آن با روز ۸ و ۱۲ اختلاف

### یافته‌های میکروبی

میزان تغییرات بار کل باکتریایی (TVC)، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) و انتروباکتریاسه (EBC) نمونه‌ها در طی نگهداری در یخ در شکل ۱ به نمایش در آمده است. در کل دوره نگهداری، مقادیر بار کل باکتریایی بیش‌تر از

تا اینکه در نهایت در روز ۱۶ به حداکثر مقدار خود هم برای TVC و EBC به ترتیب به  $7/99 \text{CFU/g}$  و  $5/75 \text{CFU/g}$  رسید.

معناداری نداشت ( $p > 0/05$ ). برای LAB و TVC در روزهای صفر و ۴ با وجود افزایش، اختلاف معناداری مشاهده نشد و افزایش معنادار در آن‌ها از روز ۸ آغاز شده



شکل ۱ مقادیر بار کل باکتریایی (TVC)، لاکتیک اسید (LAB) و انتروباکتریاسه (EBC) ماهی کپور طی نگهداری در بیخ (CFU/g) بحث

کردند که در نگهداری ماهی باراموندی در دماهای صفر و ۴ درجه سانتی‌گراد، پوترسین و کدورین جزو آمین‌های غالب بودند. Mackie و Fernandez-Salguero (۱۹۸۷)، گزارش کردند که افزایش کدورین و پوترسین ارتباط تنگاتنگی با افزایش بار باکتریایی در ماهی *Haddock* (*Melanogrammus aeglefinus*) و *Herring* (*Clupea harengus*) دارند و در نتیجه این دو آمین می‌توانند شاخص خوبی برای ارزیابی کیفیت ماهیان باشند. Paleologos و همکاران (۲۰۰۴)، گزارش کردند که مقدار کدورین در ابتدای دوره اغلب کم‌تر از پوترسین است ولی در ادامه تشکیل آن با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد. در مطالعه حاضر نیز میزان کدورین در ابتدای دوره قابل تشخیص نبوده ولی در ادامه و از روز ۴ نگهداری مقدار آن قابل تشخیص و همچنین بیش‌تر از

#### آمین‌های بیوزن

در بین آمین‌های بیوزن اندازه‌گیری شده در ماهی کپور، در کل دوره نگهداری، مقادیر پوترسین و کدورین بیش‌تر و برجسته‌تر از دیگر آمین‌ها بودند، بنابراین این دو آمین می‌توانند شاخص خوبی برای بررسی کیفیت ماهی کپور باشند. Krizek و همکاران (۲۰۰۲)، بر اساس ارزیابی حسی ارتباطی بین کیفیت و مقادیر پوترسین پیشنهاد کردند بدین صورت که مقادیر کم‌تر از  $10 \text{ mg/kg}$  به‌عنوان کیفیت خوب، ۱۰ تا  $20 \text{ mg/kg}$  را به‌عنوان کیفیت قابل قبول و مقادیر بالاتر از  $20 \text{ mg/kg}$  را به‌عنوان غیرقابل قبول در نظر گرفتند. در این مطالعه مقدار پوترسین در روز ۱۲ به بالاتر از ۲۰ رسید و از نظر طبقه‌بندی Krizek و همکاران (۲۰۰۲)، نمونه‌ها غیرقابل قبول بودند. Bakar و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش

مطالعه مقدار تیرامین تا روز ۱۲ قابل تشخیص نبود و در روزهای ۱۲ و ۱۶ تشخیص داده شد که آن هم بسیار اندک بود (به ترتیب ۰/۴۵ و ۱/۱۲ میلی‌گرم در هر کیلوگرم گوشت) و با توجه به نتایج به دست آمده، مقدار تیرامین در ماهی کپور معمولی نمی‌تواند خطر ساز باشد. منشأ تیرامین از اسید آمینه تیروزین است. این آمین بیوژن در شکل‌گیری لکه‌های سیاه در میگو نقش اساسی دارد و میگوهایی که در آستانه پوست اندازی هستند به دلیل اینکه تیروزین زیادی دارند، حداکثر حساسیت و میگوهای بلافاصله پس از پوست اندازی، به دلیل کاهش مقادیر تیروزین در آن‌ها، حداقل حساسیت به تشکیل لکه سیاه را دارند (Nicolas et al., 2003). داده‌های مربوط به تیرامین در این مطالعه با مطالعات Özogul و همکاران (۲۰۰۲)؛ Krizek و همکاران، (۲۰۰۴) و Paleologos و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت داشت.

در این مطالعه مقدار هیستامین پس از ۸ روز قابل تشخیص بود و پس از آن در کل دوره نگهداری مقادیر آن زیر حد مجاز بود. هیستامین هم مانند تیرامین نمی‌تواند به عنوان یک خطر در ماهی کپور محسوب شود. Mendes (۱۹۹۸)، گزارش کرد که تولید هیستامین در ماهی ساردین که در یخ نگهداری شده بود، بسیار ناچیز بوده و متأثر از رشد باکتری‌ها نیست. Krizek و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش کردند که میزان هیستامین حتی در زمانی که از لحاظ حسی هم قابل پذیرش نبودند، بسیار ناچیز بودند. داده‌های این مطالعه با Mendes (۱۹۹۸) و Krizek و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت.

شاخص کیفیت از سوی Mielitz و Karmas (۱۹۷۷) و بر اساس میزان کدورین، هیستامین، پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین و شاخص آمین بیوژن از سوی Veciana-Nogues و همکاران (۱۹۹۷)، بر اساس کدورین،

میزان پوترسین بوده است. Krizek و همکاران (۲۰۰۴)، ماهی کپور را در خلأ و اتمسفر اصلاح شده بسته‌بندی کردند و گزارش نمودند که تغییرات پوترسین و کدورین نسبت به بقیه آمین‌ها بیش‌تر بوده و در نتیجه با بررسی این دو آمین بیوژن می‌توان کیفیت ماهی کپور را سنجید. میزان بالای پوترسین و کدورین و همچنین افزایش آن‌ها در طول دوره نگهداری را می‌توان به بار باکتریایی و افزایش آن در طول دوره نگهداری مرتبط دانست (Kim et al., 2009).

اسپرمین و اسپرمیدین به‌طور طبیعی در فراورده‌ها وجود دارند و از لحاظ مسمومیت اهمیت چندانی ندارند و گزارش‌هایی وجود دارد که ادعا می‌کنند میزان و شکل‌گیری آن‌ها به فساد باکتریایی ارتباطی ندارد (Majjala et al., 1995 et al., 1996 Veciana-Nogues)؛ (Özogul et al., 2002). این محققان گزارش کردند که تغییرات اسپرمین و اسپرمیدین در طول دوره نگهداری بسیار اندک بوده و آن را به حضور طبیعی این آمین‌ها در فراورده‌های مورد مطالعه نسبت دادند. در این مطالعه تغییرات مربوط به این دو آمین کم و البته دارای نوسان بوده و از آنجایی که با افزایش بار باکتریایی در مقادیر این دو آمین نوسان مشاهده شده، نمی‌توان وجود این دو آمین را به وجود و افزایش بار باکتریایی مرتبط دانست. داده‌های این مطالعه با مطالعه Majjala و همکاران (۱۹۹۵)؛ Veciana-Nogues و همکاران، (۱۹۹۶) و Özogul و همکاران، (۲۰۰۲) مطابقت داشت.

برای تیرامین حد مجاز و محدود کننده‌ای گزارش نشده است، اما مقادیر بالای این آمین خطر ابتلا به افزایش فشار خون را دارد و همچنین می‌تواند با ترکیب با نیتريت در شرایط اسیدی به ترکیبات جهش‌زا مثل ۳-DT تبدیل شود (Pester, 2011). در این

به عنوان حد مجاز پیشنهاد کردند. در این مطالعه در روز ۱۲ میزان بار باکتریایی به  $7/24 \log \text{CFU/g}$  رسید و اگر در روز ۱۲ نمونه‌ها را از نظر باکتریایی فاسد در نظر بگیریم، با طبقه‌بندی‌ای که از سوی Krizek و همکاران (۲۰۰۲) ارائه شد، مطابقت دارد؛ زیرا بر اساس این طبقه‌بندی پوترسین در نمونه‌ها در روز ۱۲ به بالاتر از  $20 \text{ mg/kg}$  (به عنوان حد مجاز) یعنی  $30/71$  رسید. داده‌های مطالعه حاضر با مطالعات Bakar و همکاران (۲۰۱۰) روی ماهی باراموندی، Krizek و همکاران (۲۰۰۴) روی ماهی کپور در شرایط خلأ و اتمسفر اصلاح شده و Paleologos و همکاران (۲۰۰۴) روی ماهی Sea bass مطابقت داشت.

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که آمین‌های بیوژن در ماهی کپور معمولی نمی‌توانند مشکلی برای سلامتی انسان‌ها محسوب شوند، زیرا میزان آمین‌های خطرناکی مانند هیستامین و تیرامین در آن، در تمام دوره نگهداری بسیار کم‌تر از حد مجازند. در بین آمین‌های بیوژن مورد اندازه‌گیری، کلدورین و پوترسین بیش‌تر از سایر آمین‌های مورد اندازه‌گیری بود و با افزایش طول دوره نگهداری نیز میزان این دو آمین افزایش می‌یابد، بنابراین می‌توان این دو آمین را به عنوان نشانگر مناسب برای ارزیابی و تعیین کیفیت ماهی کپور معمولی مطرح کرد.

#### منابع

- Bakar, J., Yassoralipour, A., Bakar, F. A., Rahman, R. A., 2010. Biogenic amine changes in barramundi (*Lates calcarifer*) slices stored at 0°C and 4°C. *Food Chemistry*, 119: 467-470.
- Dawood, A. A., Karkalas, J., Ray, R. N., Williams, C. S., 1988. The occurrence of non-volatile amine in chilled stored Rainbow trout (*Salmo irideus*). *Food Chemistry*, 27:33-45

هیستامین، پوترسین و تیرامین در ماهی تن پیشنهاد شد. Karmas و Mielzt (۱۹۷۷) عدد ۱۰ را به عنوان حد مجاز برای شاخص کیفیت پیشنهاد کرد اما در مطالعه حاضر در کل دوره نگهداری این عدد به ۱۰ نرسید و این بدین معناست که از لحاظ شاخص کیفیت فاسد محسوب نمی‌شود و این در حالی است که فساد باکتریایی و مقادیر بالای پوترسین و کلدورین در نمونه‌ها مشاهده شد. از این‌رو، این طبقه‌بندی که از سوی Karmas و Mielzt (۱۹۷۷) ارائه شد، نمی‌تواند برای ماهی کپور به کار رود. اما شاخص آمین بیوژن حدود ۲ برابر شاخص کیفیت بوده و تغییرات آن نسبت به شاخص کیفیت چشم‌گیرتر است و به نظر می‌رسد که برای ارزیابی کیفیت ماهی کپور می‌تواند کارایی بهتری داشته باشد. Özogul و Özogul (۲۰۰۶) گزارش کردند که شاخص آمین بیوژن در ماهی ساردین که در اتمسفر اصلاح شده و خلأ بسته‌بندی شده بودند، بزرگ‌تر از شاخص کیفیت بوده و شاخص آمین بیوژن را برای ارزیابی کیفیت ماهی ساردین بهتر از شاخص کیفیت معرفی کردند. نتایج این مطالعه با Özogul و Özogul (۲۰۰۶) مطابقت داشت.

#### یافته‌های میکروبی

کیفیت میکروبی ماهی به شرایط آبی‌پروری، حمل‌ونقل و دستکاری آن تا زمان رسیدن به مرکز بسته‌بندی و یا تا مصرف آن بستگی دارد (Krizek et al., 2004). در این مطالعه داده‌های مربوط به آزمایش‌های میکروبی و آمین‌های بیوژن مرتبط به هم بودند، به طوری که با افزایش بار کل باکتریایی (TVC)، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) و انتروباکتریاسه (EBC) در طول دوره نگهداری، مقادیر آمین‌های بیوژن هم افزایش یافت. Bakar و همکاران (۲۰۱۰)، بار کل باکتریایی (TVC) معادل  $6 \log \text{CFU/g}$  را



- different temperatures. *Journal of Food Biochemistry*, 23: 33-43.
- Mieltz, J. L., and Karmas, E. 1977.** Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 42: 155-158.
- Nicolas, J., Billaud, C., Philippon, J., Rouet-Mayer, M. A. 2003.** BROWNING/Enzymatic – Biochemical Aspects. In: Caballero, B. (Eds.), *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. Academic Press, pp. 678.
- Önal, A., 2007.** A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 103: 1475-1486.
- Özogul, F. and Özogul, Y. 2006.** Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging. *Food Chemistry*, 99: 574-578.
- Özogul, F., Gökbulut, C., Özogul, Y., Özyurt, G. 2006.** Biogenic amine production and nucleotide ratios in gutted wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice, wrapped in aluminium foil and wrapped in cling film at 4°C. *Food Chemistry*, 98, 76-84.
- Özogul, F., Taylor, K. D. A., Quantick, P., Özogul, 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.
- Paleologos, E. K., Chytiri, S. D., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G., 2003.** Determination of biogenic amines as their benzoyl derivatives after cloud point extraction with micellar liquid chromatographic separation. *Journal of Chromatography A*, 1010: 217-224.
- Pester, L. 2011.** Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. *Food Additives and Contaminants*, 28: 1547-1560.
- Rodriguez-Mendez, M. L., Gay, M., Aptrei, C., De Saja, J. A., 2009.** Biogenic amines and fish freshness assessment using a multisensor system based on voltammetric electrodes. Comparison between CPE and screen-printed electrodes. *Electrochimica Acta*, 54: 7033-7041.
- Veciana-Nogues, M. T., Albalá-Hurtado, S., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M. C., 1996.** **Fernandez, S. J., Mackie, I. M., 1987.** Comparative rates of spoilage of fillets whole fish during storage of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and herring (*Clupea harengus*) as determined by the formation of non-volatile and volatile amines. *International Journal of Food Science and Technology*, 22: 385-390.
- Hwang, C. C., Lee, Y. C., Huang, Y. R., Lin, C. M., Shiau, C. Y., Hwang, D. F. and Tsai, Y. H. 2010.** Biogenic amines content, histamine-forming bacteria and adulteration of bonito in tuna candy products. *Food Control*, 21: 845-850.
- Kim, M. K., Mah, J. H. and Hwang, H. J. 2009.** Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *Food Chemistry*, 116: 87-95.
- Krizek, M., Vacha, F., Vorlová, L., Lukasova, J., Cupáková, S. 2004.** Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *Food Chemistry*, 88, 185-191.
- Krízek, M., Vácha, F., Pelikánová, T. 2011.** Biogenic amines in carp roe (*Cyprinus carpio*) preserved by four different methods. *Food Chemistry*, 126: 1493-1497.
- Krizek, M., Vacha, F., Vorlova, L., Lukasova, J., Cupakova, S. 2004.** Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *Food Chemistry*, 88: 185-191.
- Krizek, M., Pelikanova, T., and Vacha, F. 2002.** Formation of selected biogenic amines in carp meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1088–1093.
- International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF), 1986.** Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, *Microorganisms in foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*, Vol.2.2nd Edition. University of Toronto Press, Toronto, Canada, pp. 181-196.
- Majjala, R., Eerola, S., Lievonon, S., Hil, I. P., Hirvi, T. 1995.** Formation of biogenic amines during ripening sausages affected by starter culture and thawing time of raw material. *Food Science*, 60: 1187-1190.
- Mendes, R. 1998.** Changes in biogenic amines of major Portuguese bluefish species during storage at

with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 2036-2041.

**Zar, j. H. 1996.** Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, 960 p.

Changes in biogenic amines during the manufacture and storage of semipreserved anchovies. *Food Protection*, 59: 1218-1222.

**Veciana-Nogues, M. T., Marine-Font, A. and Vidal-Carou, M. C., 1997.** Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships

## Evaluation of biogenic amines as quality indicator of common carp (*Cyprinus carpio*) during ice storage

Seyed Vali Hosseini<sup>1\*</sup>, Ali Hamzeh<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj

2-Ph.D student, Department of Seafood Science and Technology, Tarbiat Modares University, Noor,

Received: 2013/9/15

Accepted: 2013/12/16

\*Corresponding author: hosseinisv@ut.ac.ir

### Abstract:

Quality deterioration of fish as the result of disintegration of proteins, even under chill storage, yields peptides and amino acids, which make the quality susceptible to further degradation as the result of bacterial conversion of these amino acids into hazardous biogenic amines (BAs). In this study, six biogenic amines (putrescine, cadaverine, spermidine, spermine, histamine and tyramine) in 16 days ice stored common carp (*Cyprinus carpio*) were evaluated at 5 intervals (0, 4, 8, 12 and 16 days). Higher levels of putrescine and cadaverine were detected at all intervals, indicating they can be good markers to determine the carp quality. Spermidine and spermine levels fluctuated during the storage and the levels of dangerous histamine and tyramine were too low to raise any concern.

**Keywords:** Biogenic amine, Common carp, Quality control