

รหัสโครงการ 3-305-44-12-17



รายงานการวิจัย

การเกิดไบโอจีนิกเอมีนในน้ำปลาปลากะตักและในเนื้อปลาสร้อย  
Formation of Biogenic Amines in Anchovy Fish Sauce and in Jullien's Mud Carp

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรวัฒน์ ยงสวัสดิ์กุล

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุรสิทธิ์ รอดทอง

สาขาจุลชีววิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2544 - พ.ศ. 2545

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มกราคม 2548

## บทคัดย่อ

ฮิสตามีน คาคนวอรีน พิวเทรสซีน และไทรามีน เป็นไบโอจีนิกเอมีนที่พบในปลาตะกั้ง (*Stolephorus indicus*) ที่เน่าเสียโดยการบ่มที่ 35°C เป็นเวลา 8 และ 16 ชั่วโมง ในปริมาณสูง และพบในน้ำปลาที่หมักจากวัตถุดิบดังกล่าวด้วย ปริมาณไบโอจีนิกเอมีนเปลี่ยนแปลงน้อยมากตลอดระยะเวลาการหมักที่อุณหภูมิห้องและที่ 40°C ซึ่งบ่งชี้ว่าการปนเปื้อนของไบโอจีนิกเอมีนในน้ำปลามาจากปลาซึ่งเป็นวัตถุดิบมากกว่าที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ของตัวอย่างที่หมักจากปลาที่เน่าเสียมีค่าสูงกว่าที่หมักจากปลาสดในระยะแรกของการหมักทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่ 40°C และ ปริมาณเปปไทด์เริ่มมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงสุดท้ายของการหมัก ดังนั้นวัตถุดิบปลาที่เน่าเสียไม่มีผลต่อการลดระยะเวลาในกระบวนการหมัก ไบโอจีนิกเอมีนสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของน้ำปลา ร่วมกับปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมด

*Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris* และ *Staphylococcus xylosum* สร้างไบโอจีนิกเอมีนได้สูงในปลาตะกั้งและอาหารเหลว เมื่อเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่ศึกษา *Enterobacter aerogenes* สามารถสร้างคาคนวอรีนได้สูงที่ 0, 15 และ 35°C ในขณะที่ *Morganella morganii* เป็นแบคทีเรียชนิดเดียวที่สามารถสร้างพิวเทรสซีนในอาหารเหลวที่ 15°C และทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถสร้างพิวเทรสซีนได้สูงในอาหารเหลวที่ 35°C แต่ *Enterobacter aerogenes* และ *Proteus vulgaris* สร้างพิวเทรสซีนในปลาตะกั้งได้สูงสุดที่ 15 และ 35°C ตามลำดับ ทั้ง 4 สายพันธุ์สร้างไทรามีนได้น้อยในอาหารเหลว แต่ *Enterobacter aerogenes* และ *Staphylococcus xylosum* สร้างไทรามีนได้สูงที่ 15 และ 35°C เมื่อทดสอบในปลาตะกั้ง ทุกสายพันธุ์สร้างสเปอมีนและสเปอมีดินได้น้อยเมื่อทดสอบในอาหารเหลวและในปลาตะกั้งที่ทุกอุณหภูมิที่ศึกษา

จากการแยกและคัดเลือกแบคทีเรียจากตัวอย่างปลาสร้อยสดและปลาสร้อยที่เน่าเสียซึ่งบ่มที่ 35°C เป็นเวลา 20 ชั่วโมงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA), violet red bile glucose agar (VRBG), thiosulfate citrate bile salt agar (TCBS), pseudomonas isolation (PI) สามารถแยกและคัดเลือกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 495 ไอโซเลท โดย 136 ไอโซเลทนั้นสามารถสร้างฮิสตามีนในอาหารเหลว Histamine evaluation broth (HEB) มากกว่า 0.5 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ที่ 35°C ภายใน 18 ชั่วโมง และพบว่าแบคทีเรียที่สร้างฮิสตามีนแยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในสัดส่วนสูงคือ 53.4% และที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ PI ในสัดส่วนต่ำสุดคือ 5.3% *Plesiomonas shigelloides* เป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นที่คัดแยกได้จากปลาสร้อยสดและที่เน่าเสีย และสามารถสร้างฮิสตามีนได้ระหว่าง 14.4-191.3 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร นอกจากนี้ แบคทีเรียที่สร้างฮิสตามีนได้สูงที่พบคือ *Morganella morganii*,

*Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila* และ *Serratia fonticola* ซึ่งสามารถสร้างฮีสตามีนได้ตั้งแต่ 0.49 – 464.1 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร และเมื่อทดสอบความสามารถในการสร้างไบโอจีนิกเอมีนในอาหารเหลว MØller ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว พบว่า *Plesiomonas shigelloides* และ *Serratia fonticola* สามารถสร้างคาตาเวอริน และพิวเทรสซินได้สูง *Klebsiella oxytoca* และ *Aeromonas hydrophila* สามารถสร้างคาตาเวอรินได้สูง ในขณะที่ *Morganella morganii* ผลิตพิวเทรสซินได้สูง

### Abstract

Histamine, cadaverine, putrescine, and tyramine were predominant biogenic amines found in anchovy left at 35°C for 16 h and its fish sauce product. Changes of biogenic amines were subtle during the course of fermentation at room temperature (RT) and at 40°C, suggesting that the main source of biogenic amines was associated with raw material, rather than with fermentation process. Soluble peptide of fish sauce prepared from temperature-abused anchovy were higher at the initial stage of fermentation at RT and 40°C and became comparable to those prepared from fresh anchovy at the end of fermentation. Biogenic amines should be considered along with total nitrogen content as quality indicators of fish sauce.

*Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, and *Staphylococcus xylosum* were able to produce biogenic amines in anchovy and in the culture broth. Among 4 bacteria studied, *Enterobacter aerogenes* produced the highest level of cadaverine at 0, 15, and 35°C. The highest putrescine level in the broth incubated at 15°C was found in the presence of *Morganella morganii*, while all four bacteria produced high level of putrescine at 35°C. However, *Enterobacter aerogenes* and *Proteus vulgaris* produced the highest putrescine in anchovy stored at 15 and 35°C, respectively. All 4 bacteria produced insignificant amount of tyramine in the broth, but *Enterobacter aerogenes* and *Staphylococcus xylosum* appeared to produce tyramine in anchovy stored at 15 and 35°C. Spermine and spermidine were insignificantly produced by all studied bacteria.

Histamine-forming bacteria were isolated from fresh Jullien's mud carp (*Cirrhina jullieni*) and those incubated at 35°C for 20 h to induce spoilage, using plate count agar (PCA), violet red bile glucose agar (VRBG), thiosulfate citrate bile salt agar (TCBS), pseudomonas isolation (PI). The total of four hundreds and ninety five isolates were obtained, and 136 isolates of those produced histamine >0.5 mg/100 ml in HEB incubated at 35°C for 18 h. Approximately 53.4% of isolates obtained from PCA was histamine formers, while only 5.3% of isolates obtained from PI was considered as histamine formers. *Plesiomonas shigelloides* was the predominant species found in fresh and spoiled Jullien's mud carp, and produced histamine ranging from 14.4 to 101.3 mg/100 ml. Other histamine formers including *Morganella morganii*, *Klebsiella oxytoca*, *Aeromonas hydrophila* and *Serratia fonticola* were also isolated and identified. *Plesiomonas shigelloides* and *Serratia fonticola* were able to produce cadaverine and putrescine at high level in the broth. *Klebsiella oxytoca* and

*Aeromonas hydrophila* also produced high level of cadaverine whereas *Morganella morganii* produced high level of putrescine in the broth.