



Titill/	TMA og TVB-N mælingar. Samanburður á aðferðum.		
Höfundur: Author:	Sigurður Einarsson		
Skýrsla Rf númer: Rf Report no.:	119	Útgáfudagur: Published:	22. maí 1996 (22.05.96)
Verknúmer:		Blaðsíðufjöldi: No. of pages:	17
Ágrip:	<p>Í þessari rannsókn voru bornar saman tvenns konar mæliaðferðir til að ákvarða trimethylamine (TMA) annars vegar og alla reikula basa (TVB-N) hins vegar í heilum þorski og þorskflökum sem geymd voru í ís í allt að fimmtán daga og mæld reglulega. Þá var fiskurinn skynmetinn soðinn samkvæmt ferskleikastigi á geymslutímanum. Við TMA greininguna voru bornar saman hin hefðbundna pikriksýruaðferð, sem byggir á að draga köfnunarefnissamböndin út í tolueni sem síðan myndar gulan lit við að mynda salt við pikriksýru, og svokölluð TCA-aðferð þar sem köfnunarefnissamböndin eru dregin út í tríklórédiksýru sem loks er gufueimað. Þá voru bornar saman svokölluð MgO aðferð og TCA-aðferð til að mælgreina TVB-N. Tilgangur rannsóknarinnar var fyrst og fremst að kanna hvort unnt væri að taka upp TCA-aðferðirnar til mælgreiningar á TMA og TVB-N en TCA-aðferðin til greiningar á TMA er mun fljótlegri í framkæmd og ódýrari. Niðurstaðan varð sú að ekki var marktækur munur á TCA-aðferðunum og hinum hefðbundnu aðferðum og eru þær aðferðir því fýsilegur kostur í stað hinna hefðbundnu aðferða. Í þessari skýrslu var einnig tekinn saman ýmis fróðleikur um TMA og TVB-N mælingar, eins og samanburður á aðferðum og skemmdarmörk m.t.t. TMA og TVB-N fyrir mörg sjávardýr.</p>		
Lykilorð:	Þorskur, TMA, TVB-N, mælingar, skynmat.		
Title:	Trimethylamine (TMA) and total volatile basic nitrogen (TVB-N) determinations. Comparison of methods.		
Summary:	<p>Two different methods to determine trimethylamine (TMA) and total volatile basic nitrogen (TVB-N) in whole cod and cod fillets, that were kept in ice for upto 15 days, were compared. A trained sensory panel evaluated samples of the cooked fish during the storage time. TMA was measured according to the colorimetric picric acid method and a method that involved steam distillation of TCA fish extract. TVB-N was determined by steam distillation with MgO and steam distillation of TCA fish extract. No statistically significant differences were found between the results for the two TMA methods nor the two TVB-N methods. A comprehensive literature study on different kinds of procedures for TMA and TVB-N determinations is a part of this report.</p>		
Keywords:	Cod, TMA, TVB-N, determinations, sensory evaluation		

EFNISYFIRLIT

1. INNGANGUR.....	3
2. EFNI OG AÐFERÐIR.....	7
2.1. Hráefni.....	7
2.2. Efnagreiningar.....	8
2.2.1. TVB-N mæling með gufueimingu á fiskhakki í MgO.....	8
2.2.2. TVB-N mæling á TCA ekstrakti með gufueimingu.....	8
2.2.3. TMA mæling með pikriksýruaðferð.....	8
2.2.4. TMA mæling á TCA ekstrakti með gufueimingu.....	9
2.3. Skynmat.....	9
3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR.....	9
4. ÁLYKTANIR.....	13
5. HEIMILDIR.....	14
6. VIÐAUKI.....	17

1. INNGANGUR

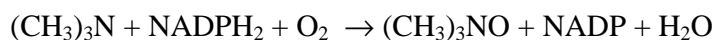
Hin dæmigerða ólykt af sjávarfiskum hefur oft verið skilgreind sem trímethylamín (TMA) eða ammóníakslykt. Þó er lyktin af hreinu ammóníaki eða TMA ekki alveg sambærileg og lyktin af skemmdum fiski því hún myndast þegar TMA hvarfast við fituna í fiskinum (Davies og Gill, 1936) auk þess sem önnur bragðvond niðurbrotsefni myndast vegna gerla (Reineccius, 1979).

Samkvæmt Connel (1990) má fyrsta flokks fiskur ekki fara yfir 1,5 mg TMA-N/100 g. Við samanburð á TMA og skemmdarlykt af fiski þá fundu Beatty og Gibbons (1937) það út að skemmdarlykt mátti fyrst greina í fiski þegar TMA mældist 4-6 mg N/100 g. Þegar gildið var komið í 10 mg N/100 ml fannst greinileg skemmdarlykt. Connel (1990) greindi frá því að 10-15 mg TMA-N/100g eða 35-40 mg TVB-N/100 g væru þau mörk sem hægt væri að setja fyrir neysluhæfan bolfisk (t.d. þorsk og ýsu). Fjöldi annarra rannsókna hafa gefið svipaða niðurstöðu þegar TMA og skynmat eru borin saman (Daussault, 1957; Spencer, 1962; Sen Gupta o.fl., 1972; Malle og Poumeyrol, 1989 og Vyncke 1995) en þó er það ekki algilt (Botta and Shaw, 1976). Þorskur og ýsa með TMA gildi á milli 10-20 mg N/100 g voru dæmd óhæf til neyslu samkvæmt rannsókn Dyer og Mounsey (1945). Öll þessi gildi sem hér hafa verið nefnd miða við geymslu á heilum slægðum fiski í ís. Hannes Magnússon o.fl. (1990) og Emilía Martinsdóttir o.fl. (1991) sýndu fram á að TMA myndast mun hægar í þorskflökum en sambærilegum heilum þorski og önnur viðmiðunarmörk þyrftu því að gilda fyrir fersk þorskflök geymd í ís. Þessi munur er talinn stafa af því að aðgangur súrefnis er mun minni í heilum fiski en í flökum sem veldur því að afoxun TMAO í TMA verður hraðari auk þess sem útskolun TMAO í flökunum er meiri en í heilum fiski vegna snertingar holdsins við ísinn. Einnig kom í ljós að notagildi TMA og TVB-N til gæðamats fyrir heilan fisk eða flök sem geymd voru í ís eftir þíðingu var ekkert en hugsanlegar skýringar voru að virkni örveranna eftir þíðingu væri minni til TMAO afoxunar í TMA eða að næringarframboð eftir þíðingu væri meira sem dragi úr þörf örveranna til að nýta sér TMAO sem orkugjafa.

Fyrir ósoðna rækju víða á mörkuðum í Japan og Ástralíu hefur hámarksgildi fyrir TMA verið 5 mg N/100 g og 30 mg N/100g fyrir TVB-N til að varan teldist söluhæf. (Montgomery o.fl., 1970).

Það er kunn staðreynd að ekki er hægt að dæma ferskleika ferskvatnsfiska eftir TMA þar sem þeir hafa sáralítið TMAO í holdi sínu (Bligh, 1971). TMAO í holdi lifandi fiska

er talið vera afleiðing oxunar á TMA (Amano, 1971) en ensímið TMA monooxygenasi hvetur hvarfið:



TMAO í sjávarfiskum gegnir því hlutverki að vinna gegn hinum háa mun á osmótískum þrýstingi sjávarins vegna mikils seltumunar á sjó og fiskholdi. Þess vegna er það TMA sem myndast við efnaskipti í lifandi fiskum geymt í vöðvum sjávarfiskanna sem TMAO en það TMA sem myndast hjá ferskvatnsfiskum er jafnóðum skilið út án þess að þörf sé á því að oxast það í TMAO vegna þess að osmótískur þrýstingur í ferska vatninu og vessum ferskvatnsfiskanna er nánast sá sami.

Eftir að fiskinum hefur verið slátrað þá byrjar strax niðurbrot TMAO í TMA, dimethylamín DMA og formaldehýð (FA) og er það TMAO reductasi í holdi fisksins fyrst og fremst sem hvetur hvarfið. Ensímið er til staðar í holdinu en myndast einnig þegar gerlar komast í holdið. Sú gerlategund sem myndar langmest eða um 80% af öllu TMA í fiskum er *Pseudomonas putrefaciens* en aðrar ættkvíslir gerla sem mynda ensímið eru fjölmargar en helstar má nefna *Escherichia*, *Micrococcus*, *Alteromonas*, *Clostridium* og *Bacillus*. Séu þessar gerlategundir ekki til staðar í eða á fiskinum þá verður myndun TMA mjög hæg og TMA er í þeim tilfellum ekki góður mælikvarði á skemmdir. Einnig getur óensímatísk afoxun TMAO í TMA, DMA og FA átt sér stað með hjálp hvatanna járn- eða hemoglobins (Vaisley, 1956).

Þótt gerlavöxtur í fiski hefjist strax eftir dauðastirðnun þá myndast TMA oft ekki fyrir en eftir nokkra daga (Connell, 1969) og TMA segir því ekki alltaf til um hvenær fiskur byrjar að skemmast. Til dæmis fengu hörpudiskar (Waters, 1964 og Shaw og Botta, 1975) slæma einkunn í skynmati áður en að TMA byrjaði að hækka að ráði. Það var heldur ekki gott samband á milli skemmdareinkenna í síld, samkvæmt skynmati og TMA (Gill, 1990). Í fitusnaðum fiski eins og þorski er samsvörun TMA og skynmats hins vegar gott, sérstaklega þegar TMA er skilgreint sem: $\log(1 + \text{TMA gildi})$ (Hoogland 1958). TMA eyðist mjög auðveldlega við hátt hitastig og er því TMA í hitameðhöndluðum fiski, t.d. niðursoðnum fiski og soðinni, pillaðri rækju, ekki góður mælikvarði á gæði fyrir þær afurðir.

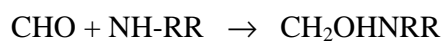
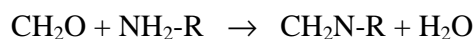
Í frosnum fiski brotnar TMAO oftast niður í DMA og FA en það síðarnefnda er talið eiga þátt í aukinni seigju frosins fisks með því að stuðla að þvertengingu myofibrillar próteina (Gill o.fl., 1979).

Magngreining á reikulum bösum (TVB-N) er ein algengasta aðferðin til að meta gæði sjávarafurða en hún var þróuð af Malle (1936) fyrir 60 árum. Evrópusambandið hefur gefið út reglugerð (91/493/EEC) um heilnæmi fiskafurða þar sem greint er frá að ef einhver vafi leikur á ferskleika fisks samkvæmt skynmati má nota TVB-N eða TMA til að meta hann. TVB-N samanstendur af TMA, DMA, FA, ammoníaki og öðrum reikulum köfnunarefnissamböndum. Notagildi hennar hefur verið staðfest af ýmsum höfundum; Collins o.fl., (1960) og Shewan o.fl. (1957). Þó hefur einnig verið sýnt fram á að það getur oft verið ósamræmi á milli TVB-N gilda og skemmdareinkunnar ("decomposition index" einkunnakvarði frá 1-4, þar sem 1 jafngilti mjög ferskum fiski en 3 var óhæft til manneldis) sem byggir m.a. á skoðun á roði, augum, tálknum og holdmýkt. Sérstaklega átti þetta við þegar fyrstu skemmdareinkenni komu fram samkvæmt skemmdarkvarðanum en TVB-N gildi voru enn lág (Malle o.fl.,1983). Rehbein og Oehlenschlager (1982) töldu að TVB-N væri lélegur mælikvarði á skemmdir fyrstu tíu dagana sem þorskur og fleiri tegundir væru geymdar í ís. Svipaðar niðurstöður fengu Malle og Poumeyrol (1989) fyrir þorsk og makríl en TMA hækkaði hins vegar strax á fyrstu skemmdarstigum og reyndist þannig betri mælikvarði í byrjun rotskemmda. TMA og TVB-N fyrir þessar tvær tegundir gáfu hins vegar mismunandi gildi við sömu skemmdareinkunn en þegar svokallað P-gildi var reiknað ($TMA/TVB-N \times 100$) var þorskurinn og makrillinn með svo til sama P-gildi fyrir sömu skemmdareinkunn. Malle og Poumeyrol (1989) komust því að þeirri niðurstöðu að P-gildi væri betri mælikvarði á rotskemmdir en TMA eða TVB-N gildi ein og sér, sérstaklega ef sama mæliaðferð var notuð til að mæla TMA og TVB-N (gufueiming á TCA extrakti). Þegar TVB-N í TCA extrakti er mælt með beinni eimingu er hvítur sjávarfiskur almennt talinn ferskur ef TVB-N er minna en 20 mg N/100 g. Fari TVB-N yfir 30 mg N/100 g er hann byrjaður að skemmast og fari gildið yfir 40 mg N/100 g er fiskurinn talinn óhæfur til neyslu (Lang, 1979). Allnokkrar aðferðir eru notaðar til að mæla TVB-N í sjávarafurðum en niðurstöðurnar geta verið misjafnar eftir því hvaða aðferð er notuð. Botta o.fl. (1984) báru saman sex mismunandi mæliaðferðir fyrir TVB-N og bar þeim fremur illa saman. Þær aðferðir sem best komu út miðað við heimtur á íbættu TVB-N (TMA-HCL og $(NH_4)_2SO_4$) voru *i*) gufueimað TCA extrakt, *ii*) bein gufueiming á fiskhakki með MgO og *iii*) gufueimað MgSO₄ extrakt. Aðferð *ii* braut hins vegar tæplega 11% af íbættu próteini (bovine serum albumin) niður sem þótti of mikið. Aðferð *i* reyndist töluvert ódýrari í framkvæmd en *iii* en aðferð *iii* sýndi stöðugri hækkun á TVB á geymslutímanum. Nú orðið er algengast að nota gufueimingu (aðferð *i* eða *ii*). Í flestum

Þeim mælingum sem hingað til hafa verið notaðar til að ákvarða TVB-N hefur þurft að eyðileggja fiskinn sem mæla á eða stóran hluta hans. Þó hefur hraðvirk aðferð, sem ekki eyðileggur fiskinn, verið notuð af belgískum dýralæknum til þess að mæla brotstuðul augnvökva fisksins (Proctor o.fl., 1959). Einnig hefur þessi aðferð gefið góða raun við að meta ferskleika túnfisks í Japan (Nagashima o.fl., 1990). Þá hefur TVB-N í augnvökva þorska nýlega verið ákvarðaður með góðum árangri, samkvæmt samanburði við aðrar mælingar, og voru skemmdarmörk með þessari aðferð sett við 30 mg N/100 g (Vyncke, 1995). Evrópusambandið hefur gefið út leiðbeiningar um mælingu á TVB sem byggir á gufueimingu á TCA ekstrakti.

Ýmsar aðferðir hafa verið notaðar til að mæla TMA í gegnum árin. Pikriksýruaðferð Dyer (1945), endurbætt af Tozawa o.fl. (1971), er aðferð sem mikið hefur verið notuð og er það sú aðferð sem Evrópusambandið mælir með en aðrar aðferðir nota t.d. gasgreini (Kuwata o.fl.1980), "solid state gas sension" (Storey o.fl., 1984), vökvagreini (Gill og Thomson, 1984) og "ensímsett". Perez Martin *et al.* (1987) þróuðu aðferð til að mæla TMA og DMA með gasgreini. Aðferðin gaf nákvæmari og lægri gildi fyrir TMA samanborið við pikriksýruaðferðina þar sem hægt var að útiloka að DMA mældist sem TMA eins og hætt er við í pikriksýruaðferðinni þrátt fyrir að KOH sé notað til að hindra að DMA tengist pikriksýrunni. Þessi aðferð var reynd á Rf og gaf góða raun en þótti heldur tímafek. Helsti kosturinn við að nota vökvagreini er sérhæfni hans. Gill og Thomson (1984) fengu 35% hærri TMA gildi með því að nota pikriksýruaðferðina í stað vökvagreinisadferðarinnar en það er kunn staðreynd að pikriksýra hvarfast við flest eingild, tvígild og þriggild amín, jafnvel þótt formaldehýð sé notað til að hindra eingildu og tvígildu amínin. Notkun á gasgreinum og vökvagreinum er hins vegar of dýr til að notkun þessara tækja hafi náð mikilli útbreiðslu við að meta gæði sjávarafurða. Þá hefur hraðvirk ensímatísk aðferð (Wong og Gill, 1987) gefið góða samsvörun við aðrar aðferðir, þ.m.t. vökvagreinisadferðina og skynmat. Hún byggir á oxun TMA með phenazine methosulfate (PMS) í nærveru TMA dehydrogenasa. Ildaða PMSH₂ sem myndast, breytir INT í rautt formazan sem er greint á ljósmæli við 500 nm. Annar kostur þessarar aðferðar er að unnt er að mæla litinn með berum augum með því að bera lit lausnarinnar saman við sérstakar ljóssíur. Aðalókostur þessarar aðferðar er að erfitt er fá TMA dehydrogenasa. Egashira o.fl.(1990) þróuðu aðferð til að mæla TMA í "fish headspace gases" sem byggði á hálfleiðurum úr málmoxíðum og hafði þann kost að ekki þurfti að eyðileggja fiskinn fyrir mælinguna en ókostur hennar var hversu tímafek hún var. Krzymien og Elials (1990) gerðu áþekka rannsókn en notuðu við það gasgreini og

tók mæling þeirra mun skemmri tíma en aðferð Egashira. Þá hefur verið þróaður lyktarnemi á Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins sem getur greint rok gjörn niðurbrotsefni í loftkenndu ástandi (headspace gases), m.a. TMA, sem myndast í fiskinum við geymslu en rannsóknir hafa aðallega verið gerðar á loðnu og gáfu niðurstöðurnar góða ssamsvörun við TVB-N og skynmat (Guðrún Ólafsdóttir o.fl., 1994). Flestar þessara aðferða sem hér hefur verið greint frá eru ýmist of tímafrekar, of dýrar eða að erfitt er að útvega aðföng til að unnt sé að framkvæma þær. Malle og Tao (1987) notuðu hins vegar einfalda lausn til að mæla TMA sem byggir á gufueimingu á TVB-N í TCA ekstrakti (Billon og Tao, 1979). Formaldehýði er bætt í suðufloškuna, sem inniheldur TCA ekstraktið fyrir eimingu, en það myndar efnatengi við eingildu og tvígildu amínin samkvæmt eftirfarandi hvörfum:



Þetta veldur því að formaldehýðtengdu amínin verða ekki rok gjörn og mælast því ekki í eimingu heldur aðeins köfnunarefnið sem tengt er TMA.

Í þessari rannsókn eru tvær TVB-N aðferðir (gufueimað TCA ekstrakt og gufueimað fiskhakk með MgO) og tvær TMA aðferðir (pikriksýru og gufueimað, formaldehýðmeðhöndlað TCA ext.) bornar saman fyrir þorsk sem geymdur var í ís og mældur með nokkurra daga millibili. Þá var framkvæmt ferskleikamat á þessum fiski á sömu dögum og hann var mældur.

2. EFNI OG AÐFERÐIR

2.1. Hráefni

Þorskur, sem veiddur var á línu 28. september 1995 út af Höfn í Hornafirði, var afhausaður og slógdreginn. Helmingur fiskanna var ísaður þannig í kassa og geymdur í allt að fimmtán daga en hinn helmingurinn var flakaður og flökin geymd í samloku, þ.e. flök hvers fisk voru geymd þannig að roðið sneri alltaf út að ísnum en holdið komst ekki í beina snertingu við hann. Með reglulegu millibili voru um tíu fiskar teknir og mælt í þeim TMA og TVB-N auk þess sem þeir voru skynmetnir út frá ferskleika (freshness score).

2.2. Efnagreiningar

2.2.1. TVB-N mæling með gufueimingu á fiskihakki í MgO (Antonacopoulos, 1968).

Vegin voru 10 g af fiskhakki í 500 ml suðufloösku ásamt 2 g af MgO og 100 ml af eimuðu vatni. Gufueimarinn (Struers TVN, Danmörk) var hitaður upp fyrir mælingu og köfnunarefnið úr sýninu var rekið yfir í 0,27% bórsýru, sem innihélt Tashiro indikator, í 12 mínútur. Títur var jafnóðum og græni liturinn myndaðist með 0,025 N HCl þar til gráum jafnvægispunkti var náð.

2.2.2. TVB-N mæling á TCA ekstrakti með gufueimingu (byggð á aðferð Billon, o.fl., 1979).

Vegin voru 100 g af fiskhakki í blandaraflát, 200 ml af 7,5% TCA bætt í og ílátíð sett á blandara (Waring Inc., Bandaríkin) og blandað á hæstu stillingu í 1 mín. Eftir 10 mínútur var blandan síuð í gegnum Whatman no. 3 síupappír. Tuttugu og fimm ml af tærum síuvökvanum voru settir í 500 ml suðufloösku ásamt 10 ml af 10% NaOH og ammóníakið rekið yfir í erlemeyrfloösku með 10 ml af 4% bórsýru og 0,04 ml af methyl rauðum og bromocresol grænum indikator. Eimingin var gerð á Struers TVN gufueimara og lauk þegar um 75 ml höfðu safnast yfir. Lausnin var þá títruð með 0,025 N H₂SO₄ að jafnvægispunkti þegar lausnin varð ljósfjólublá.

Útreikningar miðað við að títrað sé með 0,025 N H₂SO₄: TVB-N = (n ml) x 4,2 mg N/100g.

2.2.3. TMA mæling með pikriksýruaðferð (AOAC, 1990).

Rokgjarna köfnunarefnið var dregið út í TCA eins og lýst er í 2.2.2. og 1 ml. af síuvökvanum auk 3 ml af vatni, 1 ml af hlutlausu 20% formaldehyði, 3 ml af 45% KOH og 10 ml af tolueni (Merck 8331) sett í tilraunaglas og hrist í 40 sekúndur. Átta ml af toluen laginu var flutt yfir í annað tilraunaglas sem innihélt 0,2 g af þurrri Na₂SO₄ og hrist. Fjórir ml af þurrkaða toluenu voru svo færðir yfir í annað tilraunaglas sem innihélt 0,02% pikriksýru í tolueni. Staðlar (1, 2, 3, og 4 ml af 100 falt þynntri frumstaðllausn) og blindsýni voru keyrð samhliða en styrkur frumstaðalsins (2 ml af 45% TMA, 5 ml 25% HCl fyllt upp 200 ml) var ákvarðaður með gufueimingu. Ljósgeypnin var mæld á Cecil Series 2 ljósgeypnimæli við 410 nm bylgjulengd.

2.2.4. TMA mæling á TCA ekstrakti með gufueimingu, (byggð á aðferð Malle og Tao, 1987). Sama aðferð og útreikningar og í 2.2.2. nema að 20 ml af formaldhýði var bætt út í suðuflöskuna fyrir eimingu að auki.

2.3. Skynmat

Skynmat var framkvæmt af þjálfuðum skynmatsdómurum á soðnum þorski með ferskleikaprófi (freshness score). Dómararnir mátu ferskleika út frá lykt og bragði. Einkunnastiginn náði frá þremur upp í níu (sjá viðauka).

3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐA

Niðurstöður TVB-N og TMA mælinganna með öllum fjórum mæliaðferðunum eru sýndar í töflum 1 og 2. Þar kemur fram nokkur munur á meðaltalsgildum TVB-N eftir því hvor aðferðin var notuð og á það bæði við um afhausaðan, slógdreginn þorsk og flök. Samt sem áður er þessi munur ekki marktækur ($p < 0,05$; Student t-test) og virðist því ekki skipta máli hvor aðferðin er notuð. Í töflu 3 eru borin saman P-gildi fyrir þessar mismunandi aðferðir. Pikriksýru/MgO P-gildin gáfu ívið hærri niðurstöðu en TCA P-gildin en þó ekki marktækt hærri ($p < 0,05$). P er hlutfall TMA af TVB-N ($P = \text{TMA}/\text{TVB-N} (\%)$) og er gagnlegur mælikvarði á skemmdarstig sjávarfiska. Ef litið er á skemmdarstig fiskanna eftir fimmtán daga geymslu kemur í ljós, með hliðsjón af skynmatsniðurstöðum í töflu 3, að fiskurinn byrjaði að sýna skemmdareinkenni á 11.-13. degi eftir veiði en samkvæmt Malle og Poumeyrol (1989) er þorskur talinn skemmdur fari P-gildið yfir 40. Á 13. degi er P gildið í fiskinum í þessari rannsókn komið yfir 40.

Tafla 1. TMA og TVB-N gildi, ákvörðuð með fjórum mismunandi aðferðum, í heilum þorski sem geymdur var í ís í allt að fimmtán daga.

Dagar frá veiði	Nr.	TVB-N gildi (mg N/100 g)		TMA gildi (mg N/100 g)	
		Gufueiming með MgO	Gufueiming á TCA	Pikrísýru-aðferð	Gufueiming á TCA
1		12,3	14,1	0,80	0,63
5	A	12,3	12,6	1,8	1,9
5	B	10,5	13,4	1,8	2,2
5	C	11,0	13,9	1,4	1,3
Meðaltal		11,3 ± 0,93	13,3 ± 0,66	1,67 ± 0,23	1,80 ± 0,46
7	A	9,1	21,9	1,5	1,8
7	B	14,1	23,2	1,5	2,2
7	C	11,2	19,1	1,3	2,0
Meðaltal		11,5 ± 2,51	21,4 ± 2,10	1,43 ± 0,12	2,00 ± 0,20
11	A	15,9	24,5	5,8	5,4
11	B	16,5	25,1	5,2	6,4
11	C	14,0	20,5	2,8	4,4
Meðaltal		15,5 ± 1,31	23,4 ± 2,50	4,60 ± 1,59	5,60 ± 0,72
13	A	13,3	18,5	3,8	5,5
13	B	19,6	21,4	5,5	10,2
13	C	19,6	24,8	5,9	7,1
Meðaltal		16,5 ± 3,64	21,6 ± 3,15	5,07 ± 1,12	7,6 ± 2,39
15	A	27,5	35,3	15,6	16,2
15	B	20,5	21,0	6,3	9,7
15	C	21,2	30,2	7,9	9,7
Meðaltal		23,1 ± 3,86	28,6 ± 4,59	9,93 ± 4,97	11,87 ± 3,75
<u>Meðaltal meðaltalna</u>		<u>15,0 ± 4,50</u>	<u>20,40 ± 5,81</u>	<u>3,92 ± 3,43</u>	<u>4,92 ± 4,30</u>

Tafla 2. TVB-N og TMA gildi, ákvörðuð með fjórum mismunandi mælingum, í þorsklökum sem geymd voru í ís í allt að fjóra daga.

Dagar frá veiði	Nr.	TVB-N gildi (mg N/ 100 g)		TMA gildi (mg N/ 100 g)	
		Gufueiming með MgO	Gufueiming á TCA	Pikriksýru-aðferð	Gufueiming á TCA
1		12,3	14,1	0,80	0,63
5	A	10,2	13,4	1,3	1,4
5	B	10,7	14,3	1,4	1,4
5	C	11,2	12,6	1,5	1,5
Meðaltal		10,7 ± 0,50	13,4 ± 0,85	1,40 ± 0,10	1,43 ± 0,06
7	A	12,6	20,2	1,5	2,1
7	B	13,3	19,0	1,4	2,2
7	C	12,6	16,0	1,5	2,1
Meðaltal		12,8 ± 0,40	18,4 ± 2,16	1,47 ± 0,06	2,13 ± 0,06
11	A	13,8	20,2	4,6	4,7
11	B	17,5	24,7	7,9	6,7
11	C	14,0	19,2	2,0	4,4
Meðaltal		15,1 ± 2,10	21,4 ± 2,93	4,83 ± 2,96	5,27 ± 1,26
13	A	24,7	30,2	11,2	13,0
13	B	18,2	26,1	8,7	10,5
13	C	23,5	31,1	13,2	14,0
Meðaltal		22,1 ± 3,46	28,4 ± 2,65	11,0 ± 2,25	12,5 ± 1,80
15	A	22,8	31,9	10,8	9,5
15	B	24,0	25,9	11,7	12,2
15	C	20,5	20,2	8,4	9,6
Meðaltal		22,4 ± 1,78	26,0 ± 5,86	10,3 ± 1,71	10,43 ± 1,53
<u>Meðaltal</u>		<u>15,90 ± 5,117</u>	<u>20,28 ± 6,148</u>	<u>4,97 ± 4,630</u>	<u>5,40 ± 4,999</u>
<u>meðaltalna</u>					

Tafla 3. P gildi (TMA/TVB-N) fyrir heilan þorsk og þorskflök sem geymd voru í ís í allt að fimmtán daga.

Dagar frá veiði	Heill þorskur		Þorskflök	
	P picricTMA/ MgO TVBN	(%): P (%): TCA TMA/ TCA TVB-N	P (%): picric TMA/ MgO TVB-N	P (%): TCA TMA/ TCA TVB-N
1	6,5	4,5	6,5	4,5
5	14,8 ± 2,21	13,6 ± 3,72	13,1 ± 0,35	10,7 ± 1,08
7	12,9 ± 3,16	9,4 ± 1,15	11,4 ± 0,81	11,7 ± 1,35
11	29,3 ± 8,46	23,0 ± 2,18	30,9 ± 1,55	24,4 ± 2,32
13	28,9 ± 1,04	35,3 ± 10,7	49,8 ± 5,71	42,7 ± 2,41
15	41,6 ± 13,5	41,4 ± 8,06	45,7 ± 4,16	41,5 ± 10,1

Tafla 4. Skynmat á heilum þorski og þorskflökum sem geymd voru í ís í allt að fimmtán daga.

Dagar frá veiði	Nr.	Heill þorskur	Þorskflök
1	A	9,4	9,4
1	B	9,6	9,6
1	C	9,6	9,6
	Meðaltal	9,5 ± 0,1	9,5 ± 0,1
5	A	8,3	8,5
5	B	8,6	8,5
5	C	8,5	8,5
	Meðaltal	8,5 ± 0,2	8,5 ± 0,2
8	A	8,1	7,8
8	B	8,3	7,1
8	C	7,8	8,2
	Meðaltal	8,1 ± 0,3	7,7 ± 0,6
11	A	6,7	6,9
11	B	5,9	6,5
11	C	7,0	7,0
	Meðaltal	6,5 ± 0,6	6,8 ± 0,3
13	A	6,1	6,2
13	B	6,1	6,8
13	C	6,3	6,1
	Meðaltal	6,2 ± 0,1	6,4 ± 0,4
15	A	5,1	5,4
15	B	5,0	5,3
15	C	6,0	5,3
	Meðaltal	5,4 ± 0,6	5,3 ± 0,1

4. ÁLYKTANIR

Þar sem marktækur munur er ekki á þeim TMA og TVB-N aðferðum sem reyndar voru í þessari samanburðarrannsókn auk þess sem talsverður tímasparnaður vinnst við það að mæla TMA með TCA-aðferðinni (gufueimingu) í stað pikriksýruaðferðarinnar, sérstaklega ef mæla á fá sýni, er mjög eðlilegt að taka TCA-aðferðina upp hér á Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins sem aðalmælingu á TMA. Sú aðferð er mikið notuð nú orðið m.a. í Frakklandi og Bandaríkjunum og einnig er efniskostnaður við TCA-aðferðina heldur minni en pikriksýruaðferðina.

5. HEIMILDIR

- A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Fifteenth edition. Helrich, K. (ed). Virginia, U.S.A.
- Amano, K. (1971). Selected Topics of TMAO (Trimethylamine Oxide) in Fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 37(8):784-787.
- Antonacopoulos, N. (1968). In "Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd III/2." Ed. Acker, I. Springer Verlag, Berlin, pp. 1493-1494.
- Beatty, S.A. og Gibbons, N.E. (1937). The Measurement of Spoilage in Fish. J. Biol. Bd. Can. 3:77-91.
- Billon, J., Ollieuz, J.N. og Tao, S.H. (1979). Etude d'une nouvelle méthode de dosage de l'azoto basique volatil total pour l'évaluation qualitative des produits de la pêche. Rev. Tech. Vét. de l'Alimentation. 1149:13-17.
- Bligh, E.G. (1971). Specific Problems in the Quality Assessment of Freshwater Fish. In: "Fish Inspection and Quality Control." R. Kreuzer (Editor). Fishing News (Books) Ltd., London. pp. 81-85.
- Botta, J.R., Lauder, J.T. and Jewer, M.A. (1984). Effect of Methodology on Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Determination as an Index of Quality of Fresh Atlantic Cod (*Gadus morhua*). J. Food Sci. 49:734-736.
- Botta, J.R. og Shaw, D.H. (1976). Chemical and Sensory Analysis of Roundnose Grenadier (*Coryphaenoides rupestris*) Stored in Ice. J. Food Sci. 41:1285-1288.
- Boury, M. (1936). L'altération du poisson. Rev. Trav. Off. Pêche Mmes. 9:401-419.
- Collins, J., Seagran, H. and Iverson, J. (1960). Processing and Quality Studies of Shrimp Held in Refrigerated Sea Water and Ice. Commer. Fish. Rev. 22(4):1-5.
- Connel, J.J. (1969). Changes in the Eating Quality of Frozen Stored Cod and Associated Chemical and Physical Changes. In: "Freezing and Irradiation of Fish." R. Kreuzer, (editor). Fishing News (Books) Ltd., London. pp. 323-338.
- Connel, J.J. (1990). Control of Fish Quality, 3rd ed. Fishing News (Book) Ltd., London.
- Conway, E.J. (1962). Determination of volatile amines. pp. 195-200. In "E.J. Conway. Microdiffusion analysis and volumetric error, 5th ed. Crosby Lockwood, London.
- Daussault, H.P. (1957). TMA Test for Evaluating the Quality of Rosefish Fillets. Fish. Res. Bd. Can. Progr. Rep. Atl. Coast Stn. 67.
- Davies, W.L. og Gill, E. (1936). Investigations on Fishy Flavor. J. Soc. Chem. Ind. 55:141T-146T.
- Dyer, W.J. and Mounsey, Y.A. (1945). Development of Trimethylamine and Other Amines. In "Amines in Fish Muscle II". J. Fish. Res. Bd. Can. 6(5):359-367.
- Egashira, M., Shimizu, Y. og Takao, Y. (1990). Trimethylamine sensor based on semiconductive metal oxides for detection of fish freshness. Sen. Actuators B1, 108-115.
- Emilía Martinsdóttir, Hannes Magnússon og Páll Steinþórsson (1991). Geymsluþol á ófrystum og þíddum flökum í ís. 30. RIT Rf.

- Gill, T.A. (1990). Objective Analysis of Seafood Quality. *Food Reviews International*, 6(4): 681-714.
- Gill, T.A., Keith, R.A. og Smith-Lall, B. (1979). Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar proteins. *J. Fd. Sci.*, 44: 661.
- Gill, T.A., og Thompson, J. (1984). Rapid, automated analysis of amines in seafood by ion-moderated partition HPLC. *J. Food Sci.*, 49:603-606.
- Guðrún Ólafsdóttir, Emilía Martinsdóttir og Einar H. Jónsson. (1994). Measurements of volatile compounds in capelin (*Mallotus villosus*) by GC and electrochemical sensors. Western European Fish Technologist's association meeting 25-29th September 1994, Nantes, France.
- Hannes Magnússon, Emilía Martinsdóttir og Páll Steinþórsson (1990). Áhrif frystingar og frystigeymslu á geymsluþol þorsks eftir þíðingu. 26. RIT Rf.
- Hoogland, P.L. (1958). Grading Fish for Quality 2. Statistical Analysis of the Result of Experiments Regarding Grades and Trimethylamine Values. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 15(4):717-728.
- Krzymien, M.E. og Elias, L. (1990). Feasibility study on the determination of fish freshness by trimethylamine headspace analysis. *J. Food Sci.*, 55:1228-1232.
- Kuwata, K., Yamazaki, Y. and Uebori, M. (1980). *Anal. Chem.* 52: 1980.
- Lang, K. (1979). *Archives Lebensmittelhygiene*, 30: 215.
- Malle, P.; Nowogrocki, R.T. (1983). Relationship between deterioration index and rates of total volatile basic nitrogen for marine fish. *Science des Aliments*, 3:311-322.
- Malle, P. and Poumeyrol, M. (1989). A New Chemical Criterion for the Quality Control of Fish: Trimethylamine/Total Volatile Basic Nitrogen (%). *J. Food Prot.* 52:419-423.
- Malle, P. og Tao, S.H. (1987). Rapid Quantitative Determination of Trimethylamine using Steam Distillation. *J. Food Prot.* 50:756-760.
- Montgomery, W.A., Sidhu, G.S. and Vale, G.L. (1970). The Australian Prawn Industry I. Natural Resources and Quality Aspects of Whole Cooked Fresh Prawns and Frozen Prawn Meat. *Food Pres. Q.* 30:21-27.
- Nagashima, Y., Tanaka, M. and Taguchi, T. (1990) Evaluation of yellowfin tuna freshness by physicochemical properties of the eye fluid. *J. Tokyo Univ. Fish.* 77: 153-159.
- Perez Martin R.I., Franco, J.M., Molist, P., and Gallardo, J.M. Gas chromatographic method for the determination of volatile amines in seafoods. *Int. J. Fd. Sc. Technol.* 22(1987) 509.
- Proctor, B., Nickerson, J., Fazzina, T., Ronsivalli, L., Smidt, R. and Stern, J. (1959). Rapid determination of the quality of whole eviscerated haddock. *Food Tec.* 13:224-228.
- Rehbein, H. og Oehlenschlager, J. (1982). *Arch. fur Lebensmittelhygiene*, 33, 33.
- Reineccius, G.A. (1979). Off-Flavors in Meat and Fish - A REview. *J. Food Sci.* 44(1):12-24.

- Sen Gupta, P., Mondal, A. and Mitra, S.N. (1972). Separation and Quantitative Estimation of Dimethylamine and Trimethylamine in Fish by Paper Chromatography. *J. Inst. Chem. Calcutta.* 44: 49-50.
- Shaw, D.H. and Botta, J.R. (1975). Preservation Studies of Inshore Male Capelin (*Mallotus villosus*) Stored in Ice. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 32(11):2039-2046.
- Shewan, J.M. and Jones, N.R. (1957). Chemical Changes Occuring in Cod Muscle During Chill Storage and their Possible Use as Objective Indices of Quality. *J. Sci. Food Agric.* 8(8):491-498.
- Spencer, R. (1962). Odour and the Assessment of Fish Freshness. *Soap Perfum. Cosmet.* 35:795-799.
- Storey, R.M., Davis, H.K., Owen, D. and Moore, L. (1984). Rapid approximate estimation of volatile amines in fish. *J. Fd. Technol.* 19, 1-10.
- Tozawa, H., Enokihara, K. and Amano, K. (1971). Proposed Modification of Dyer's Methods for Trimethylamine Determination In Cod Fish. In: "Fish Inspection and Quality Control. R. Kreuzer (Editor). Fishing News (Books) Ltd., London. pp. 187-190.
- Vaisey, E.B. (1956). The Non-Enzymatic Reduction of Trimethylamine Oxide to Trimethylamine, Dimethylamine, and Formaldehyde. *Can. J. Biochem. Physiol.* 34(6):1085-1090.
- Vyncke, W. (1995). The determination of total volatile bases in eye fluid as a non-destructive spoilage assessment test for fish. *Archiv fur lebensmittelhygiene*, 46(4): 96-98.
- Waters, M.E. (1964). Comparison of Chemical and Sensory Tests for Assessing Storage Life of Iced Calico Scallops (*Pecten gibbus*). *Fish. Ind. Res.* 2(3):5-10.
- Wong, K. og Gill, T.A. (1987). Enzymatic determination of trimethylamine and its relationship to fish quality. *J. Food Sci.* 52:1-3, 6.

6. VIÐAUKI

Einkunnastigi fyrir mat á ferskleika á soðnum (mögrum) fiski eins og þorski, ýsu og ufsa

Lykt	Bragð	Einkunn
Dauf lykt af sætri, soðinni mjólk, sterkju	Bragð vatnskennt, málmkennt	10
Skelfisk-, þörungalykt, soðið kjöt	Sætt, kjötkennt, einkennandi fyrir tegundina	9
Minnkandi, hlutlaus lykt	Sætt, einkennandi en daufara	8
Sag, timbur, vanilla	Hlutlaust	7
Soðin mjólk, soðnar kartöflur	Bragðlítið (í átt að óbragði)	6
Mjólkurkönnulykt, soðinn þvottur	Aðeins súrt, vottur af óbragði	5
Súr mjólk, mjólkursýra, TMA-lykt	Aðeins beiskt, súrt, vottur af TMA (sigið), óbragði	4
Lykt af edikssýru, smjör-sýru, sápu, rófum	Aðeins beiskt, súrt, TMA (sigið), óbragð	3