بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

۹۳۷۹۹۷۹

پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه، منجمد و حرارت دیده

اساتید راهنما:

دکتر مهدی زارعی

دکتر علی فضل آرا

استاد مشاور:

دکتر حسین نجف زاده

نگارش:

فروغ ذوالفقار کرهرودی

خرداد ماه ۱۳۹۳

«چهلمین سالگرد تأسیس دانشکده دامپزشکی اهواز گرامی باد»

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه‌ی دکتری عمومی)

پایان‌نامه‌ی خانم **فروغ ذوالفقار کرهرودی** دانشجوی رشته **دامپزشکی** از دانشکده **دامپزشکی** به شماره دانشجویی **۸٦۷۹۲۰** تحت عنوان: **تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده** جهت اخذ مدرک **دکتری عمومی دامپزشکی** در تاریخ **۱۳۹۳/۰۳/۳۱** توسط هیأت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه **ممتاز** به تصویب رسید.

	اعضای هیأت داوران	**مرتبه علمی**	**سمت**	**امضا**
	مهدی زارعی	دانشیار	استاد راهنمای اول	
	علی فضل آرا	استاد	استاد راهنمای دوم	
	حسین نجف زاده	استاد	استاد مشاور	
	سیاوش مکتبی	دانشیار	استاد داور	
	محمد راضی جلالی	استاد	استاد داور	
	مهدی پورمهدی	دانشیار	استاد ناظر	
۲	مهدی زارعی	دانشیار	مدیر گروه	
۳	محمدحسین راضی جلالی	دانشیار	معاون پژوهشی دانشکده	
٤	عبدالرحمن راسخ	استاد	مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه	

گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: **تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه، منجمد و حرارت دیده**

اینجانب **فروغ ذوالفقار کرهرودی** دانشجوی **دکترای عمومی رشته‌ی دامپزشکی** دانشکده **دامپزشکی** دانشگاه شهید چمران به شماره دانشجویی **۸٦۷۹۲۰** تحت راهنمایی **دکتر مهدی زارعی** و **دکتر علی فضل آرا** و مشاوره آقای **دکتر حسین نجف زاده** گواهی می‌دهم که:

۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تایید می‌کنم.

۲- در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آن‌ها را در منابع ذکر نموده‌ام.

۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان‌نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.

٤- در تدوین متن پایان نامه، شیوه‌نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده‌ام.

۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز (Shahid Chamran University of Ahvaz) به چاپ خواهد رسید.

٦- حقوق معنوی تمامی افرادی که در این پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.

۷- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آن‌ها، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور موازین و اصول اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.

در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هر گونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضییع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارات وارده خواهم بود.

فروغ ذوالفقار کرهرودی

۱۳۹۳/۰۳/۳۱

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

این پایان نامه را در کمال افتخار تقدیم می نمایم به:

کوهی از صبر و استقامت، **پدر عزیزم**

و

دریایی از سخاوت و مهربانی، **مادر و خواهر نازنینم**

و

همراه همیشگی ام، **همسرم**

گرچه ناقابل است ولی باشد که ذره ای از الطاف بی انتهایتان را

جبران نموده باشم....

تشکر و سپاس

از اساتید راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر **زارعی** و جناب آقای دکتر **فضل آراو** جناب آقای دکتر **نجف زاده** که همواره با صبر و مهربانی مرا راهنمایی نموده و مرا مرهون لطف و محبت خود قرار داده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر **راضی جلالی** و جناب آقای دکتر **مکتبی** که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل کردند و جناب آقای دکتر **پور مهدی** نماینده تحصیلات تکمیلی، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

همچنین تقدیر و تشکر می کنم از کلیه اساتید محترمی که در طول این دوره تحصیلی افتخار شاگردیشان را داشتم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده..... ۱

فصل اول: مقدمه و هدف..... ۳

فصل دوم: مروری بر منابع

الف- تغییرات پس از صید در ماهی..... ۸

الف-۱- جمود نعشی..... ۹

الف-۲- اتولیز یا خودهضمی..... ۱۰

الف-۳- اکسیداسیون چربی‌ها..... ۱۱

الف-٤- تغییرات باکتریولوژیک..... ۱۳

ب- آمینهای بیوژنیک..... ۱۷

ب-۱- مسمومیت هیستامینی..... ۱۸

ب-۲- علائم بالینی..... ۱۹

ب-۳- تشخیص..... ۲۰

ب-٤- درمان..... ۲۱

ب-۵- ماهیان دخیل در مسمومیت هیستامینی..... ۲۲

ب-٦- محدودیت‌های نظارتی..... ۲۳

ب-۷- اپیدمیولوژی مسمومیت هیستامینی..... ۲٤

ب-۸- تشکیل هیستامین و کنترل آن..... ۲٦

ب-۹- باکتری‌های تولید کننده هیستامین..... ۲٦

ب-۱۰- کنترل شکل‌گیری هیستامین ۲۷
ب-۱۰-۱- نگهداری ماهی در دمای پایین ۲۷
ب-۱۰-۲- اقدامات بهداشتی ۲۹
ب-۱۱- عوارض سمی هیستامین ۲۹
ب-۱۲- متابولیستم هیستامین ۳۰
ب-۱۳- احتمال مسمومیت زایی هیستامین ۳۱
ب-۱٤- روش‌های اندازه‌گیری هیستامین در ماهی ۳۳
ب-۱٤-۱- روش AOAC ۳۳
ب-۱٤-۲- سایر روش‌های اندازه‌گیری هیستامین ۳۳
ب-۱۵- شناسایی باکتری‌های مولد هیستامین ۳٤
ب-۱٦- استاندارد و مقررات مربوط به هیستامین ۳۵

فصل سوم: مواد و روش کار

الف- مواد مورد نیاز ۳۸
ب- وسایل مورد نیاز ۳۸
ج) روش کار ۳۹
ج-۱- تهیه ماهی ۳۹
ج-۲- تهیه محلول‌های مورد نیاز جهت عصاره‌گیری ۳۹
ج-۳- عصاره‌گیری از ماهی و استخراج هیستامین ٤۰
ج-٤- اندازه‌گیری میزان هیستامین ٤۱

فصل چهارم: نتایج

الف- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه ٤٤

ب- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی منجمد ٤٦

ج- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی کنسرو شده ٤٨

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری ٥٥

پیشنهادات..... ٥٦

منابع و مآخذ..... ٥٨

چکیده انگلیسی..... ٦٣

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ٤-١- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه..... ٤٥

جدول ٤-٢- درصد بازیابی هیستامین به‌وسیله حلال‌های مختلف در ماهی تازه..... ٤٦

جدول ٤-٣- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی منجمد..... ٤٧

جدول ٤-٤- درصد بازیابی هیستامین به‌وسیله حلال‌های مختلف در ماهی منجمد ٤٨

جدول ٤-٥- تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی کنسرو شده ٤٩

جدول ٤-٦- درصد بازیابی هیستامین به‌وسیله حلال‌های مختلف در ماهی کنسرو شده..... ٥٠

نام خانوادگی: ذوالفقار کرهرودی	**نام:** فروغ	**شماره دانشجویی:** ۸۶۷۹۲۰
عنوان پایان‌نامه: تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه گیری هیستامین در ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده		
اساتید راهنما: دکترمهدی زارعی، دکترعلی فضل آرا		
استاد مشاور: دکتر حسین نجف زاده		
درجه تحصیلی: دکترای حرفه‌ای	**رشته:** دامپزشکی	
دانشگاه: شهید چمران اهواز	**دانشکده:** دامپزشکی	**گروه:** بهداشت مواد غذایی
تاریخ فراغت از تحصیل: تیرماه ۱۳۹۳	**تعداد صفحه:** ۶۳	

کلید واژه‌ها: هیستامین، آمین های بیوژنیک، متانول، اتانول، اسید کلریدریک، تری کلرواستیک اسید

روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری هیستامین در مواد غذایی به‌خصوص ماهی مورد استفاده قرار گرفته است. مرحله‌ی استخراج هیستامین از بافت ماهی به دلیل ضرورت بازیابی کامل هیستامین موجود در نمونه، بسیار حائز اهمیت است. بر اساس اطلاعات در دسترس، از حلال‌های مختلفی نظیر آب، متانول، اتانول، اسید کلریدریک و تری‌کلرواستیک اسید جهت استخراج هیستامین از ماهی استفاده شده است. اما مطالعات محدودی به تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین پرداخته‌اند. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر مقایسه کارایی ۶ نوع حلال مختلف در استخراج هیستامین از ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده، به منظور تعیین بهترین روش آماده‌سازی نمونه برای اندازه‌گیری هر چه دقیق‌تر هیستامین است. برای رسیدن به این هدف متانول ۷۵ درصد، متانول ۷۵ درصد - اسید کلریدریک ۰/۴ نرمال، اتانول ۷۵ درصد، اتانول ۷۵ درصد- اسید کلریدریک ۰/۴ نرمال، اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال و تری‌کلرواستیک اسید ۵ درصد به منظور استخراج هیستامین از ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده بر اساس روش فلورومتریک ارائه شده توسط AOAC مورد استفاده قرار گرفتند. میزان بازیابی مقادیر مشخص هیستامین افزوده شده به نمونه قبل از استخراج، مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، حلال استخراج کننده‌ی متانول ۷۵ درصد-اسید کلریدریک ۰/۴ نرمال بیشترین بازیابی هیستامین از ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده را نشان داد. بنابراین جهت اندازه‌گیری هر چه دقیق‌تر هیستامین در ماهی، استفاده از محلول استخراج کننده حاوی ۷۵ درصد متانول و ۰/۴ نرمال اسید کلریدریک توصیه می‌گردد.

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه و هدف

هیستامین یکی از آمین‌های بیوژنیک[1] مهم می‌باشد که علاوه بر اینکه به‌طور طبیعی در پاره‌ای از مواد غذایی وجود دارد، امکان تولید آن در فرآورده‌های غذایی که حاوی اسید آمینه آزاد هیستیدین باشند، وجود دارد. هیستامین در نتیجه دکربوکسیلاسیون آنزیمی که بوسیله آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز[2] باکتریایی صورت می‌پذیرد، در مواد غذایی حاوی اسید آمینه آزاد هیستیدین تولید می‌گردد. تولید این ترکیب در انواع مواد غذایی گوشتی به‌ویژه مواد غذایی دریایی، همچنین در پنیر و غذاهای تخمیری گزارش شده است. باکتری‌های متعددی از خانواده *انتروباکتریاسه*، همچنین گونه‌هایی از جنس‌های *لاکتوباسیلوس*، *ویبریو*، *کلستریدیوم* توانایی تولید آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز و در نتیجه تبدیل هیستیدین به هیستامین را دارند. (Kim و همکاران، ۲۰۰۱؛ Lehane و Olley، ۲۰۰۰؛ Hernandez-Jover، ۱۹۹۷).

مصرف مقادیر زیاد هیستامین همراه با غذا باعث بروز علائم مسمومیت هیستامینی در فرد می‌گردد. مسمومیت هیستامینی یک بیماری ملایم با تنوع علایم کلینیکی می‌باشد علائم بالینی این مسمومیت به سه دسته جلدی، گوارشی و عصبی تقسیم می‌شود. هیستامین ترکیبی بسیار پایدار

1. Biogenic amines
2. Histidine decarboxylase

است و در صورت تولید در مواد غذایی، به‌وسیله پروسه‌هایی نظیر پخت، انجماد و فرایندهایی هم‌چون کنسروسازی و دودی کردن از بین نمی‌رود. از این رو جهت حفظ سلامت مصرف-کنندگان تنها راه پایش مداوم و اندازه‌گیری میزان هیستامین در مواد غذایی به‌ویژه مواد غذایی دریایی نظیر ماهی می‌باشد (Lehane و Olley، ۲۰۰۰؛ FDA، ۲۰۰۱).

جهت اندازه‌گیری هیستامین از روش‌های متعددی در منابع مختلف استفاده شده است. روش قدیمی اندازه‌گیری هیستامین، روش کروماتوگرافی لایه نازک[1] بوده است که امروزه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش استاندارد و مرجع برای اندازه گیری هیستامین، روش ارائه شده بوسیله AOAC[2] می‌باشد (AOAC، ۲۰۰۰). این روش برای اندازه‌گیری میزان هیستامین در کنسروهای ماهی ابداع گردیده است. اساس این روش بر مبنای ایجاد مشتق فلورسنس هیستامین و اندازه‌گیری میزان فلورسنس می‌باشد. در این روش از متانول ۷۵ درصد برای عصاره‌گیری و استخراج هیستامین از نمونه استفاده می‌گردد و سپس این عصاره از ستون کروماتوگرافی تعویض یون عبور داده می شود. محلول بیرون آمده از ستون کروماتوگرافی با ترکیب اُ- فتال‌دی‌آلدئید[3]، مخلوط شده تا مشتق فلورسنت هیستامین ایجاد شود. مقدار هیستامین موجود در نمونه با اندازه-گیری میزان فلورسنس ایجاد شده توسط آن به‌وسیله دستگاه فلورومتر مشخص می‌گردد (AOAC، ۲۰۰۰).

علاوه بر روش فوق تاکنون از روش‌های مختلفی نظیر الایزا[4]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[5] و کروماتوگرافی گاز-مایع[6] جهت اندازه‌گیری این ترکیب در تحقیقات مختلف استفاده شده است.

1. Thin-layer chromatography (TLC)
2. Association of Official Analytical Chemists (AOAC)
3. O-phthaladehyde
4 . Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
5 . High performance liquid chromatography (HPLC)
6 . Gas-liquid chromatography (GLC)

صرف‌نظر از نوع روش، اولین مرحله در کلیه روش‌های اندازه‌گیری هیستامین استخراج هیستامین از ماده غذایی می‌باشد. با مطالعه منابع مختلف مشخص می‌شود که محققین مختلف در تحقیقات خود با توجه به نوع ماده غذایی مورد آزمایش از حلال‌های مختلفی جهت استخراج هیستامین استفاده کرده‌اند بدون اینکه میزان کارایی آن حلال در استخراج هیستامین از آن نوع خاص غذا را مورد ارزیابی قرار دهند. متانول، اتانول، اسید پرکلریک، اسید کلریدریک و تری-کلرواستیک اسید هر کدام در غلظت‌های مختلف و یا به‌صورت ترکیبی توسط محققین مختلف مورد استفاده قرار گرفته است (Moret و Conte، ۱۹۹٦؛ Lehane و Olley، ۲۰۰۰). این در حالی است که در روش مرجع AOAC، حلال مورد اشاره جهت استخراج هیستامین از کنسروهای ماهی تن محلول متانول ۷۵ درصد می‌باشد (AOAC، ۲۰۰۰).

با توجه به این‌که استخراج کامل هیستامین از مواد غذایی، از جمله مراحل مهم و تأثیرگذار در اندازه‌گیری دقیق این ترکیب محسوب می‌گردد و نیز این‌که، علی‌رغم وجود تفاوت-هایی در روش‌های استخراج هیستامین در منابع مختلف، اطلاعات بسیار محدودی در زمینه تأثیر نوع بافت ماده غذایی و نوع حلال مورد استفاده برای استخراج هستامین وجود دارد، بنابراین تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تأثیر نوع حلال استخراج کننده بر اندازه‌گیری هیستامین در ماهی تازه، منجمد و حرارت دیده صورت گرفت.

در این تحقیق بر اساس مطالعه منابع در دسترس، ٦ نوع حلال مختلف شامل متانول ۷۵ درصد، متانول ۷۵ درصد – اسید کلریدریک ۰/٤ نرمال، تری‌کلرواستیک اسید ۵ درصد، اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال، اتانول ۷۵ درصد و اتانول ۷۵ درصد– اسید کلریدریک ۰/٤ نرمال، به عنوان محلول‌های استخراج کننده هیستامین از ماهی تازه، منجمد و کنسرو شده استفاده گردید. در این

تحقیق از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان[1] به دلیل امکان دسترسی به ماهی تازه و غیرمنجمد استفاده گردید. همچنین به منظور ارزیابی توانایی حلال مورد استفاده در بازیابی[2] هیستامین افزوده شده به نمونه طبیعی، مقدار هیستامین علاوه بر نمونه‌های طبیعی، در نمونه‌هایی با مقادیر مشخص هیستامین افزوده شده نیز اندازه‌گیری گردید.

فروغ ذوالفقار کرهرودی

خرداد ۱۳۹۳

1. *Oncorhynchus mykiss*
2 . Recovery

فصل دوم

مروری بر منابع

فصل دوم: مروری بر منابع

الف- تغییرات پس از صید در ماهی

بلافاصله پس از صید و خارج کردن ماهی از آب، مجموعه تغییراتی در بدن ماهی آغاز می‌شود که در اثر این تغییرات، کاهش قابل توجه‌ای در اختصاصات کیفی محصول ایجاد می‌گردد. اگرچه این تغییرات به تدریج ظاهر می‌گردند ولی سرعت پیشرفت آن‌ها متفاوت بوده و تحت تأثیر مستقیم فرآیندهای پس از صید قرار دارد. از این رو عدم توجه به شرایط نگهداری پس از صید باعث بروز تغییرات نامطلوب[1] در اختصاصات کیفی ماهی شده و در ادامه منجر به ظهور علائم فساد[2] می‌گردد. استرس و آسیب‌های مکانیکی در هنگام صید، ساختار و ترکیب شیمیایی بدن ماهی، فصل و منطقه صید، pH و دمای نگهداری از جمله فاکتورهایی هستند که سرعت این تغییرات را تحت تأثیر قرار می‌دهند (رضوی شیرازی، ۱۳۸٦؛ Connell، ۱۹۹۵؛ Venugopal، ۲۰۰٦).

1. Deterioration
2. Spoilage

با توجه به فسادپذیری خاص ماهی و سرعت بالای تغییرات کیفی در ماهی، مهم‌ترین موضوع در عمل‌آوری یا عرضه محصولات با کیفیت، جلوگیری از بروز تغییرات یا کاهش سرعت آن‌هاست که این خود مستلزم آگاهی از حدود و نحوه پیشرفت و شدت تأثیر تغییرات بر فاکتورهای کیفی محصول است. کیفیت ماهی در هنگام خروج از آب نیز خود تحت تأثیر عواملی قرار دارد که این عوامل به تنهایی یا توأماً قادرند در کیفیت ماهی صید شده تأثیر داشته باشند، از جمله این عوامل می‌توان به محل صید، فصل، زمان صید و تغذیه اشاره نمود (رضوی شیرازی، ۱۳۸٦؛ Venugopal، ۲۰۰٦).

الف-۱- جمود نعشی

از جمله نخستین تغییراتی که پس از صید در بدن ماهی بروز می‌نماید سفت شدن[1] یا سخت شدن عضلات است که به آن جمود پس از مرگ[2] می‌گویند. ماهیچه‌های ماهی زنده حالت الاستیکی و کش‌سان دارد اما بلافاصله بعد از مرگ دچار یک‌سری تغییرات می‌گردد که در نتیجه آن، همه‌ی بدن غیرقابل انعطاف و سخت می‌شود. آغاز جمود نعشی به دما و نوع ماهی بستگی دارد(Connell، ۱۹۹۵؛ Huss، ۱۹۹۵). ذخیره گلیکوژنی عضلات ماهی نیز در آغاز روند جمود- نعشی نقش مهمی دارد، تجزیه گلیکوژن برای تولید انرژی از دو طریق صورت می‌گیرد اول گلیکولیز هوازی از طریق مسیر آمبدون- میرهوف[3] که نیازمند اکسیژن است و دوم گلیکولیز بی‌هوازی که در غیاب اکسیژن انجام می‌شود. با صید و مرگ ماهی فعالیت قلب متوقف می‌شود و پروسه گلیکولیز بی‌هوازی فعال می‌شود، در واقع توقف تنفس هوازی باعث فعال شدن اکسیداسیون گلیکوژن به صورت بی‌هوازی می‌شود که در نهایت منجر به تولید اسیدلاکتیک،

1. Stiffness
2. Rigor mortis
3. Embden meyerhof pathway

پیرووات و آدنوزین تری‌فسفات[1] می‌شود. فعال شدن تنفس بی‌هوازی باعث خواهد شد تا pH نهایی عضله پایین آمده و در حدود ٦/٨ – ٦/٥ شود. به تدریج و با کاهش میزان ATP یک انقباض بدون بازگشت در عضله ایجاد می‌گردد. در این حالت بین اکتین و میوزین که دو پروتئین اصلی انقباضی عضله هستند، ارتباط دائمی رخ می‌دهد و کمپلکس اکتومیوزین ایجاد می‌گردد. در نتیجه بدن ماهی به تدریج سخت می‌شود. شروع جمود نعشی از ناحیه دم بوده و به طرف سر ماهی گسترش می‌یابد (Huss، ١٩٩٥؛ Venugopal، ٢٠٠٦). در واقع جمود نعشی طی مدت چند ساعت یا چند روز بعد از مرگ به صورت تابعی از نحوه فرآیند، آماده‌سازی و جابه‌جایی محصول اتفاق می‌افتد. اگر ماهی بعد از صید سرد نگردد، جمود نعشی سریع‌تر و با شدت بیشتری ایجاد می‌گردد. ممکن است تعدادی از رشته‌های عضلانی به دلیل انقباض شدید پاره شوند. این حالت مخصوصاً در شرایطی که آماده‌سازی و جابه‌جایی محصول به نحو نامناسبی انجام می‌شود، اتفاق می‌افتد (Huss، ١٩٩٥؛ Venugopal، ٢٠٠٦).

الف-٢- اتولیز یا خودهضمی[2]

اتولیز یا خودهضمی مجموعه فرآیندهایی است که پس از صید در بدن ماهی آغاز می‌گردد. این فرآیندها به وسیله‌ی آنزیم‌های موجود در عضلات و دیگر ارگان‌های بدن انجام شده و در نهایت منجر به شکسته شدن بسیاری از ترکیبات درون‌بافتی از جمله نوکلئوتیدها و پروتئین‌ها می‌گردد. تجزیه ATP در طی روند اتولیز در عضلات با مجموعه‌ای از واکنش‌های شیمیایی همراه است که طی آن آدنوزین تری‌فسفات به ترتیب به آدنوزین دی‌فسفات[3]، آدنوزین-

1. Adenosine triphosphate (ATP)
2. Autolysis
3. Adenosine diphosphate (ADP)