

# مطالعه مقدار بار باکتریایی و مقدار آمین های بیوژنیک قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در طول زمان نگهداری در یخ

مسعود رضائی<sup>1\*</sup>، نعیم منتظری جویباری<sup>2</sup>، مهرنوش حیدری<sup>3</sup>

1- دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

2 - دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان

3 - مربی گروه شیلات، مؤسسه آموزش عالی خزر محمودآباد

(تاریخ دریافت: 86/12/7 تاریخ پذیرش: 87/5/12)

## چکیده

تغییرات برخی از ترکیبات ازته غیر پروتئینی در ماهی قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و ارتباط آنها با بار باکتریایی (سرماگرا و سرما دوست، سودوموناس و مزوفیل) در مدت هجده روز نگهداری در زمانهای (صفر، 3، 6، 9، 12، 15 و 18) در یخ مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر پوترسین، کاداورین، هیستامین و بار باکتریایی در طول دوره نگهداری افزایش یافتند ( $P < 0/05$ ). در صورتی که تیرامین در هیچیک از نمونه ها یافت نشد. مقدار پوترسین در طول دوره از 0/4 به 8/97 میکروگرم در گرم افزایش پیدا کرد و گروه سرماگرا و سرما دوستها، بار باکتریایی غالب را تشکیل داده بودند. بر اساس نتایج حاصله پوترسین به عنوان متغیر مستقل بیشترین ارتباط را با گروه باکتریهای سودوموناس و سرماگرا و سرما دوست ( $R = 0/980$ ) نشان داد و معادله رگرسیونی آن به صورت  $[PUT = 0/83 \text{ pse} + 0/69 \text{ psy} + 0/41]$  بدست آمد. همچنین معادله رگرسیونی دیگر بین کاداورین و زمان نگهداری ( $R = 0/955$ ) بصورت  $[CAD = 0/576 \times \text{time} - 3/49]$  بدست آمد. با توجه به نتایج حاصله، هرچند به نظر می رسد که ارزیابی کیفیت قزل آلالی رنگین کمان، با استفاده از مدل ارائه شده، با اندازه گیری یکی از فاکتورهای پوترسین، سودوموناس و یا سنجش باکتریهای سرما دوست تا اندازه خوبی، امکان پذیر می باشد، اما به منظور کنترل دقیق کیفیت این گونه، بررسی توأم این فاکتورها لازم است.

کلید واژگان: آمین های بیوژنیک، بار باکتریایی، نگهداری در یخ، قزل آلالی رنگین کمان، کنترل کیفیت

## 1- مقدمه

مهمترین فاکتور کیفی برای مصرف کننده است که میزان یا درجه فساد را در ماهی یا محصولات آن هنگام نگهداری آنها نشان می دهد [2].

از زمانی که ماهی می میرد، فساد آن شروع می شود و تغییرات پیچیده ای در اثر فعالیت های آنزیمی، شیمیایی و میکروبی رخ می دهد. با مرگ ماهی و تضعیف سیستم ایمنی بدن، باکتریها به راحتی تکثیر یافته و به سرعت به بافتها هجوم می آورند و باکتریهای ویژه فساد با استفاده از مواد حاصل از خود هضمی، رشد و تکثیر می یابند. این ارگانیزمها با تولید

ماهی به دلیل داشتن درصد بالای اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و پروتئین جزء مواد غذایی سریع الفساد است و با نگهداری در شرایط نامناسب، فعالیت های آنزیمی و میکروبی باعث بروز فساد و کاهش کیفیت گوشت ماهی می گردد، لذا کنترل کیفی آن، از اهمیت ویژه ای برخوردار است و قوانین و استانداردهای خاصی را می طلبد. کیفیت حسی و ارزش غذایی ماهی در نتیجه واکنش های شیمیایی (تغییرات پروتئین و چربی، تشکیل آمین های بیوژن و هیپوزانتین) و نیز فساد میکروبی بعد از مرگ کاهش پیدا می کند [1]. تازگی ماهی

\* مسئول مکاتبات: rezai\_ma @modares.ac.ir

گوشت تازه قزل آلابی رنگین کمان حاوی 70 تا 80 درصد آب، 18 تا 20 درصد پروتئین و حداکثر تا 8 درصد چربی است. میزان چربی و آب، با توجه به فصل و نوع جیره غذایی آنها متغیر خواهد بود [8].

با توجه به روند گسترش و توزیع این ماهی در اکثر نقاط کشور و گذشت زمان نگهداری تا زمان رسیدن ماهی از محل صید به فروشگاهها و نهایتاً به مشتری و حتی صادرات آن به کشورهای دیگر، لزوم کنترل کیفی به منظور دستیابی به فاکتورهایی جهت ارزیابی تازگی ماهی چه از لحاظ خصوصیات ظاهری و چه از لحاظ شیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژیکی برای اطمینان از تازگی و سلامت اینگونه ماهیها امری غیرقابل اجتناب تلقی می‌شود. لذا این تحقیق تا حدی می‌تواند زمینه ساز پاسخگویی به این نیاز در امر کنترل کیفی محصولات شیلاتی باشد.

## 2- مواد و روشها

در این مطالعه از ماهیهای قزل آلابی رنگین کمان (*O. mykiss*) پرورش یافته در حوضچه های بتونی یکی از مراکز تکثیر و پرورش حومه شهرستان بروجرد که بطور زنده به تهران منتقل شده بودند، استفاده شد. نمونه‌ها به طور تصادفی از بین ماهیهای هم اندازه و سالم، انتخاب شدند. ماهیها پس از صید داخل مخلوطی از آب و یخ قرار داده شدند تا توسط شوک سرمایی (*Hypothermia*) کشته شوند. سپس بصورت کامل (پاک نشده) داخل جعبه یونولیت (بصورت یک لایه در میان یخ و ماهی به نسبت 3 به 1) قرار داده شدند انتخاب نمونه‌ها جهت آزمونهای میکروبی و شیمیایی بصورت تصادفی صورت گرفت. با همین روند نمونه‌ها در فواصل زمانی صفر، 3، 6، 9، 12، 15، و 18 روز مورد ارزیابی شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند. نسبت 3 به 1 یخ به ماهی با اضافه کردن یخ بطور روزانه در کل دوره ثابت ماند.

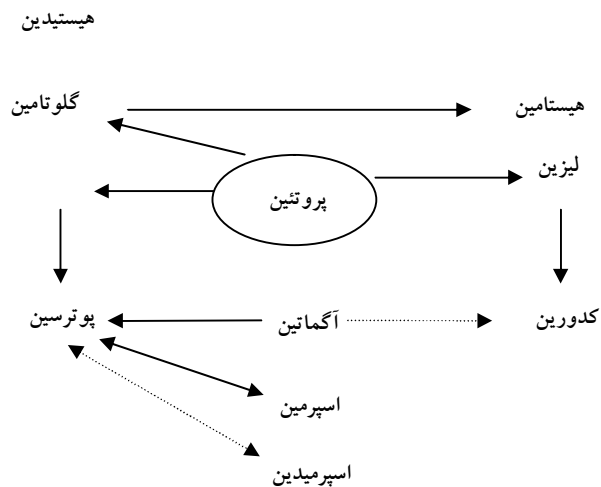
### 2-1 آزمون میکروبی

برای انجام آزمون میکروبی از ناحیه فوقانی خط جانبی هر ماهی، تحت شرایط استریل، با کنار زدن پوست، 5 گرم از گوشت برداشته و داخل ظروف استریل نمونه برداری قرار داده و به آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گوهردشت کرج منتقل شد. سپس با استفاده از روش ارائه شده در استانداردهای ملی ایران، رقت های متوالی 0/01، 0/001 و 0/0001 تهیه شدند [9] و شمارش باکتریهای

متابولیت‌هایی در ماهی باعث بوجود آمدن ترکیبات نامطبوع مرتبط با فساد می‌شوند بطوریکه در اغلب موارد تولید بو یا طعم نامطبوعی حاصل فساد است که توسط متابولیسم باکتریایی رخ می‌دهد؛ گاهی نیز همبستگی بین تعداد کل باکتریها و فساد وجود ندارد چون تنها بخشی از کل فلور در فساد نقش دارند [3].

آمین های بیوژن که یکی از مهمترین شاخص ها برای ارزیابی کیفیت ماهی می باشند، ترکیبات آلی نیتروژنه بازی غیرفرار با وزن ملکولی کم هستند و از دکربوکسیلاسیون باکتریایی آمینو اسیدهای آزاد (با برداشتن گروه آلفاکربوکسیل آنها) ایجاد می‌شوند [2,4].

مهمترین آمین های بیوژن و آمینواسید پیش ساز آنها که در مواد غذایی مطرح می باشند عبارتند از: پوترسین (اورنیتین)، کاداورین (لیزین)، تیرامین (تیروزین)، هیستامین (هیستیدین)، بتافنیل اتیل آمین (فنیل آلانین)، آگماتین (آرژنین)، تریپتامین (تریپتوفان)، اسپرمین و اسپرمیدین که یا از تبدیل پوترسین و گاه در مسیرهای بیولوژیک طبق شکل زیر به یکدیگر تبدیل می‌شوند [5، 6].



شکل 1 مسیرهای بیولوژیک تشکیل برخی از آمین های بیوژن

[5]

ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Rainbow trout*) با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* از خانواده آزاد ماهیان (*Salmonidae*) و از ماهیان پرورشی بسیار با ارزش در بسیاری از نقاط جهان، به ویژه ایران محسوب می‌شود [7]. این ماهی عمدتاً پس از صید به همراه یخ از مراکز پرورشی به بازار مصرف منتقل می‌شود البته در سالهای اخیر نیز بصورت محدودی به شکل زنده نیز به مشتری عرضه می‌شود.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها، با نرم افزار SPSS 12.0 انجام پذیرفت. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح 5 درصد بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمانهای صفر، 3، 6، 9، 12، 15، 18 روز به کار رفت. در صورت وجود اختلاف معنی دار، از آزمون آماری (Least Significant Difference) LSD استفاده شد. سپس مدل پیشگو با استفاده از آزمون آنالیز رگرسیون خطی به روش (Enter Method) و با انجام ترانسفورمسیونهای لازم، با توجه به ارتباط معنی دار بین میزان تولید برخی آمین های بیوژن و بار باکتریایی (متغیرها) موجود و همچنین زمان نگهداری (تیمارها) تعیین گردید.

### 3- نتایج

کروماتوگرام های نمونه های استاندارد، نمونه شاهد، نمونه های ماهی قزل آلائی رنگین کمان در روز صفر و هجدهم به ترتیب در شکل های 2، 3، 4 و 5 آورده شده است. همچنین مقادیر آمین های بیوژنیک در نمونه های نگهداری شده در یخ (مربوط به روزهای صفر، 3، 6، 9، 12، 15 و 18) در شکل 6 نشان داده شده است. از چهار آمین مورد بررسی پوترسین، کاداورین و هیستامین ردیابی شدند و تیرامین در هیچیک از نمونه ها یافت نشد. آزمون آماری حاصل از تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین میانگین مقدار آمین ها در اولین روز (صفر) و آخرین روز نگهداری (هجدهم) افزایش معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ). در این آزمایش پوترسین عمده ترین آمین تشکیل شده بود و به همراه کاداورین با مقادیر اولیه 0/42 و 0/17 میکرو گرم در هر گرم از اولین روز نگهداری قابل ردیابی بودند و تا روز ششم روند افزایشی تقریباً یکنواختی را نشان داد و از روز ششم به بعد در هر نوبت نمونه برداری نیز افزایش معنی داری داشت ( $P < 0/05$ ) در مورد پوترسین افزایش قابل ملاحظه ای از روز نهم به دوازدهم مشاهده شد. طی این سه روز غلظت آن حدوداً سه برابر شد و به 6/62 میکروگرم در گرم رسید. همچنین پس از روز هجدهم، پوترسین با داشتن مقدار 8/55، دامنه تغییرات بیشتری از کدورین با مقدار برابر با 6/63 داشت.

هیستامین، از روز نهم و با مقدار اولیه 0/36 میکروگرم در گرم نمونه ها ردیابی شد و به استثنای روز دوازدهم با روند

مقاوم به سرما (سرماگرا - سرما دوست)، با استفاده از محیط کشت King Agar و انکوباسیون پلیت ها به مدت 48 ساعت در درجه حرارت  $21 \pm 1$  سانتی گراد انجام شد [10] و شمارش باکتریهای سودومونادس، با استفاده از محیط کشت Cetrimide Agar و انکوباسیون پلیت ها به مدت 48 ساعت در درجه حرارت 37 سانتی گراد انجام شد [11].

شمارش باکتریهای مزوفیل (TMC)، با استفاده از محیط کشت آگار مغذی با 1 میلی لیتر از رقت های تهیه شده به روش کشت مخلوط (Pour Plate) و انکوباسیون پلیت ها به مدت 48 ساعت در درجه حرارت 37 سانتی گراد انجام شد [12]. داده های بدست آمده بصورت لگاریتم طبیعی تعداد کلنی های شمارش شده به ازاء هر گرم وزن بدن ( $\text{LogCFU/g} \pm \text{SD}$ ) ارائه شدند.

### 2-2 آزمون شیمیایی

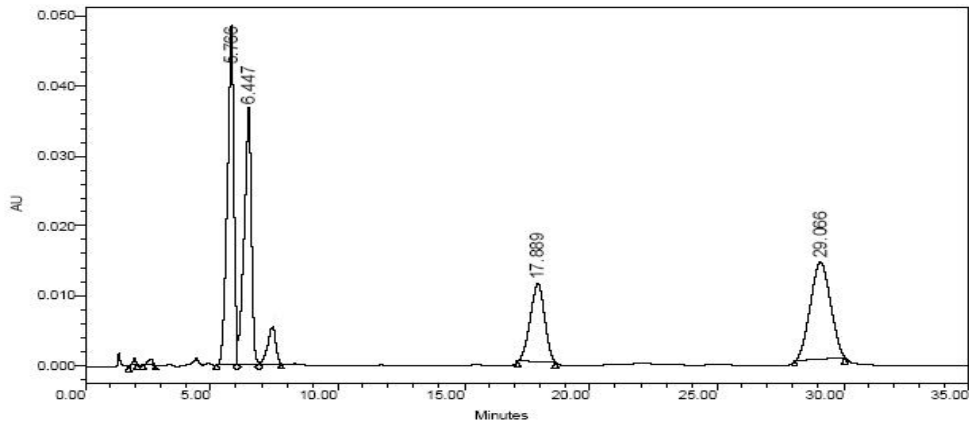
از هر ماهی حدود 100 گرم گوشت (بدون پوست و استخوان) برداشته شد و توسط مخلوط کن همگن گردید. سپس از این مخلوط همگن 3 نمونه 50 گرمی برداشته شد و به ترتیب پس از استخراج با تری کلرو استیک اسید 5 درصد [13]، مشتق سازی با بنزویل کلراید [14] و استفاده از فاز معکوس با سیستم ایزوکراتیک (Isocratic) متانول و آب (به نسبت حجمی 62 و 38) با جریان حلال 1/1 میلی لیتر در دقیقه در درجه حرارت محیط، آمینهای بیوژنیک با استفاده از دستگاه HPLC (مدل Waters1525) اندازه گیری شد. دستگاه HPLC مجهز به ستون ODS (4.60 mm \* 250 و قطر ذرات 5 $\mu\text{m}$ ) با آشکارساز UV (Waters 2487) تنظیم شده در طول موج 254 نانومتر بود. برای بررسی میزان بازیافت آمین های بیوژن به نمونه های مورد آزمون مقدار معینی از استاندارد آمین های بیوژن اضافه شده و تحت شرایط آزمایش استخراج و تزریق شدند. آمین ها بر اساس تطابق زمان ماندگاری (Retention time) پیک های نمونه های مجهول با نمونه های استاندارد و با توجه به سطح زیر منحنی پیک ها با استفاده از منحنی استاندارد مربوطه تعیین غلظت شدند [14].

### 2-3 تجزیه و تحلیل آماری

و در روز ششم نگهداری مقدار آن به 0/99 میکروگرم در گرم رسید. در ادامه نگهداری با شدت بیشتری بر غلظت آن افزوده شد، با این حال جهشی که در پوترسین از روز نهم به دوازدهم وجود داشت در مورد کاداورین مشاهده نشد.

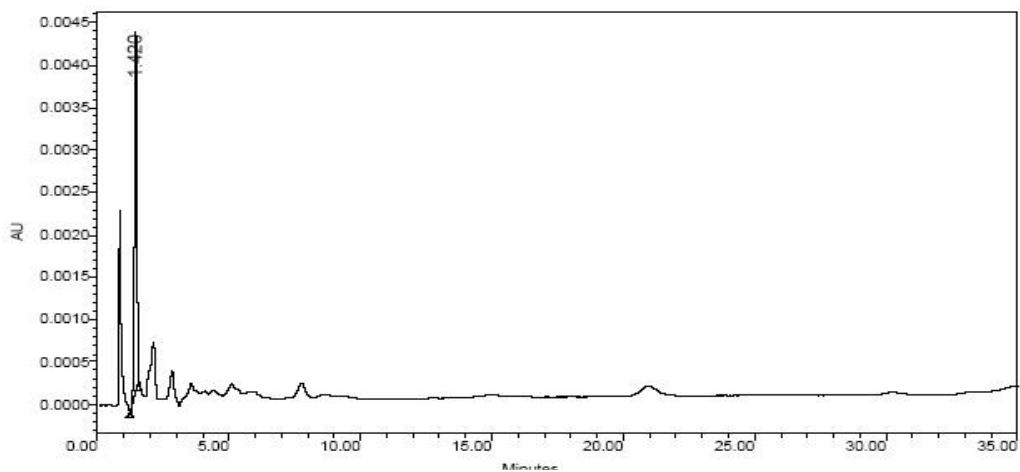
افزایش معنی داری نهایتاً به مقدار 1/61 میکرو گرم نمونه رسید ( $P < 0/05$ ) و نسبت به دو آمین فوق کمترین مقدار را نشان داد.

کاداورین نیز روند افزایش نسبتاً مشابهی با پوترسین نشان داد

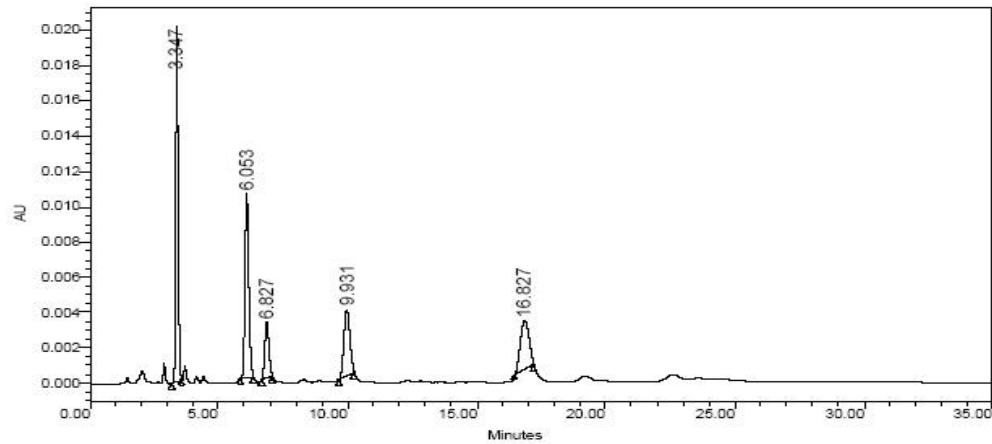


	RT (min)	Peak Type	Area (mV*sec)	% Area	Height	% Height	Integration Type	Points Across Peak	Start Time (min)	End Time (min)	Baseline Start (min)
1	5.766	Putrescine	884663	29.68	48598	41.05	BV	50	5.183	6.033	5.183
2	6.447	Cadaverine	728024	24.43	36779	31.07	VV	50	6.033	6.883	5.183
3	17.889	Histamine	445055	14.93	11305	9.55	BB	88	17.117	18.600	17.117
4	29.066	Tyramine	776999	26.07	13981	11.81	BB	119	28.083	30.067	28.083

شکل 2 کروماتوگرام نمونه های استاندارد (مربوط به غلظت 20 میکروگرم در میلی لیتر، معادل 2 میکرو گرم در نمونه ماهی)



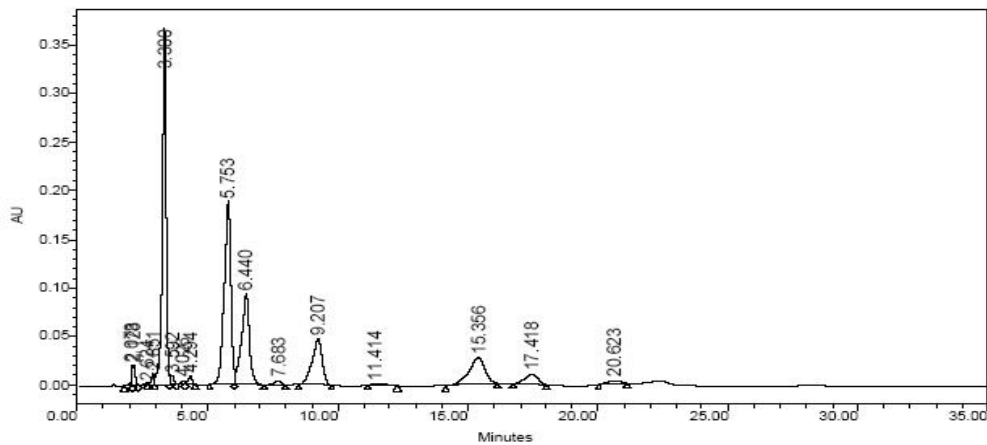
شکل 3 کروماتوگرام نمونه شاهد یا Blank معادل غلظت صفر محلول استاندارد آمین ها



	RT (min)	Peak Type	Area (mV*sec)	% Area	Height (mV)	% Height	Integration Type	Points Across Peak	Start Time (min)	End Time (min)	Baseline Start (min)
1	6.053	Putrescine	108295	26.92	10516	25.95	BB	29	5.850	6.333	5.850
2	6.827	Cadaverine	36843	9.16	3265	8.06	BB	26	6.633	7.067	6.633

شکل 4 کروماتوگرام شاخص نمونه ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*O. mykiss*)

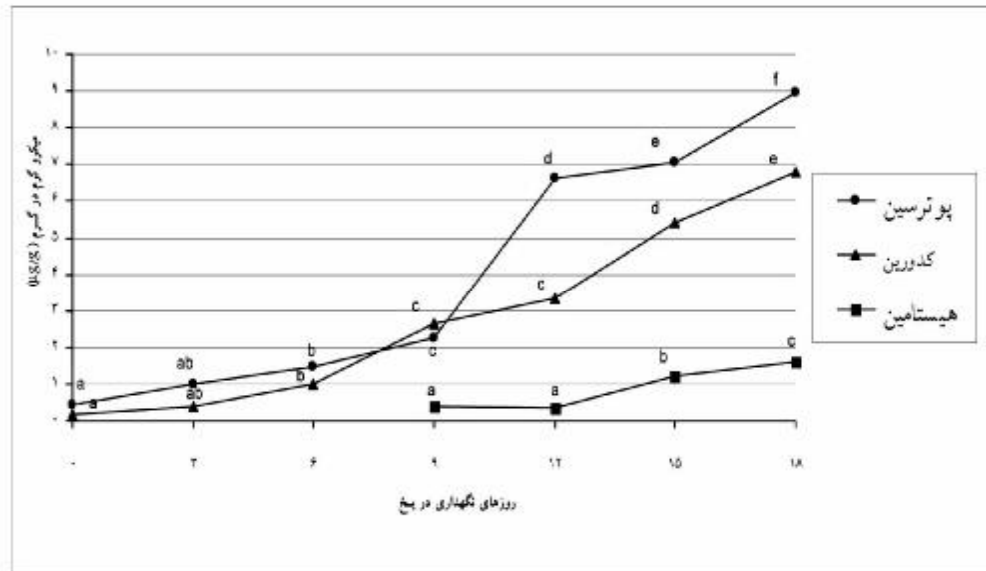
در روز صفر



	RT (min)	Peak Type	Area (mV*sec)	% Area	Height (mV)	% Height	Integration Type	Points Across Peak	Start Time (min)	End Time (min)	Baseline Start (min)
1	5.753	Putrescine	3405534	26.43	188954	22.95	BV	58	5.067	6.033	5.067
2	6.440	Cadaverine	1975088	15.33	94211	11.44	VB	65	6.033	7.133	5.067
3	17.418	Histamine	368211	2.86	10675	1.30	BB	75	16.750	18.000	16.750

شکل 5 کروماتوگرام شاخص نمونه ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*O. mykiss*)

در روز آخر (هجدهم) نگهداری در یخ



شکل 6 تغییرات آمین های بیوژن در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*O. mykiss*) هنگام نگهداری در بیخ. (حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی دار در سطح 0/05 هستند.)

بصورت  $[CAD = 0/576 \times \text{time} - 3/49]$  بدست آمد  
(time: زمان نگهداری به روز و CAD: کادورین).

#### 4- بحث

نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابق با یافته های تحقیقی است که بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان نگهداری شده در بیخ مشاهده گردید [14]. در تحقیقی مشابه بر روی ماهی قزل آلی رنگین کمان کامل و فیله شده، تیرامین به ترتیب 0/2 و 0/4 میکروگرم در گرم در روز هجدهم گزارش شد و این در حالی بود که در همین روز بار سودوموناس به ترتیب در ماهی کامل و فیله شده به 6/2 و 8/2 و بار مزوفیل به 7/2 و 9/2 Log CFU/g رسیده بود [15]. در حالیکه در تحقیق حاضر بار باکتریایی سودوموناس در روز آخر نگهداری 4/88 و مزوفیل Log CFU/g 6/27 بود. عدم ردیابی تیرامین در این تحقیق می تواند به علت تفاوت های موجود بین گونه ای و میزان پایین آمینو اسید پیش ساز آن یعنی تیروزین باشد [16]. در این تحقیق، پوترسین عمده ترین آمین تشکیل شده بود که تحقیقات متعددی نیز این را تأیید می نمایند [15, 17, 18]. پوترسین طی نه روز اولیه نگهداری، روند افزایشی تقریباً یکنواختی را نشان داد و به 2/2 میکرو گرم در گرم رسید و یکبار از روز نهم تا دوازدهم به 3 برابر این میزان یعنی 6/6 میکروگرم در گرم افزایش یافت و همزمان با آن Log CFU/g سودوموناس ها به 3/6 و مزوفیل ها از 3/6 به 4/6 و سرماگرا و

مقادیر لگاریتمی بار باکتریایی گروه سرماگرا و سرمادوست، سودوموناس و مزوفیل در نمونه ها به همراه نتایج آزمون حداقل تفاوت معنی دار در جدول 1 آورده شده است.

مقادیر میانگین بار باکتریایی در تمامی نمونه ها، روند افزایشی را نشان داد و آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه، در آخرین روز نگهداری نمونه ها تغییر معنی دار را نسبت به روزهای اولیه نگهداری نشان داد ( $P < 0/05$ ). از این سه گروه، Log CFU/g باکتریهای گروه سرماگرا و سرمادوستها با مقدار اولیه 2/65 از روز اول قابل مشاهده بودند که مقدار آن طی دو مرحله، در روزهای نهم و هجدهم نگهداری افزایش معنی داری داشت ( $P < 0/05$ ). کلنی سودوموناسها از روز دوازدهم نگهداری نمونه ها در بیخ قابل مشاهده بود و مقدار آن در روز هجدهم اختلاف معنی دار با روز دوازدهم نشان داد ( $P < 0/05$ ). بار باکتریایی مزوفیل ها از روز نهم مشاهده شد و در روز هجدهم بار آنها از 3/62 Log CFU/g به 5/78 رسید.

پوترسین به عنوان متغیر مستقل بیشترین ارتباط را با گروه باکتریهای سودوموناس و سرماگرا و سرمادوست ( $R = 0/98$ ) نشان داد و مدل پیشگو بصورت  $[pse + 0/69 psy + 0/41]$  بدست آمد (PUT = 0/83: سودوموناسها، pse: سرماگرا و سرمادوست، PUT: پوترسین). همچنین مدل رگرسیونی دیگر بین کادورین و زمان نگهداری ( $R = 0/955$ )

مقادیر گزارش شده در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در نمونه‌های کامل و شکم خالی نگهداری شده در یخ [21]، و در نمونه‌های کامل و فیله شده هنگام نگهداری در صفر درجه سانتی‌گراد [14، 15] بالاتر بود که ممکن است به دلیل فعالیت آنزیمی پرتولیتیک شدیدتر در ماهی کامل باشد [18] زیرا در ماهی کامل، دستگاه گوارش حاوی آنزیمهای گوارشی فراوانی است که می‌تواند فرآیند خودهضمی را تشدید کند [4]. معادله رگرسیونی مربوط به کاداورین بیشترین ارتباط این آمین را با زمان (روزهای نگهداری) نشان می‌دهد. یکی از مشکلاتی که در استفاده از شاخص‌هایی شیمیایی وجود دارد اینست که تجزیه مواد تحت تأثیر مجموعه‌ای از عوامل خود هضمی، اکسیداسیون شیمیایی و فعالیت باکتریایی رخ می‌دهد [22]. در تحقیق حاضر نیز امکان دارد که عوامل آنزیمی در مقایسه با عوامل باکتریایی از شدت بیشتری برخوردار بوده و تشکیل کاداورین را بدین طریق موجب شون

سرمادوست به 4/6 رسید. بنابراین افزایش پوترسین می‌تواند به دلیل نقش مهم باکتریهای مزوفیل و سرمادوست‌ها در تشکیل آمین‌ها باشد [19]. همچنین، مطالعات زیادی نشان دادند که سودوموناس‌ها از عوامل اصلی دکربوکسیلاسیون آمینواسیدهای لیزین و اورنیتین هستند و منجر به تشکیل کاداورین و پوترسین می‌شوند [15]. معادله رگرسیونی مربوط به پوترسین، بیشترین ارتباط این آمین را با بار باکتریایی سودوموناس و سرما گراها و سرمادوست‌ها نشان می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که در دماهای پایین آشیانه زیستی ایجاد می‌شوند که عمدتاً مربوط به سرماگرا و سرمادوست‌ها است و فعالیت میکروبی کاهش می‌یابد ولی علت فساد، بیشتر از طرف سرماگرا‌ها به ویژه سودوموناس‌ها است که با شکستن مولکولهای درشت، آنها را به مونومرها مثل آمینواسیدها تبدیل می‌کند [20].

مقادیر کاداورین در نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق از

جدول 1 تغییرات بار باکتریایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) هنگام نگهداری در یخ

نوع بار باکتریایی		زمان نگهداری (روز)
سرما گرا و سرمادوست	مزوفیل	
2/65 ± 0/25	**	صفر
3/00 ± 0/00	-	3
3/15 ± 0/21	-	6
4/56 ± 0/12	-	9
4/62 ± 0/49	3/66 ± 0/45	12
4/95 ± 0/54	3/97 ± 0/05	15
6/11 ± 0/21	5/21 ± 0/31	18
c	b	c

\* اعداد ارائه شده در جدول میانگین ± انحراف معیار حاصل از 3 تکرار می‌باشد. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار است.

\*\* تعداد باکتری‌ها کمتر از  $2 \log$  بود.

یافته تحقیقی است که در آن هیستامین در مدت نگهداری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در صفر درجه سانتی‌گراد از 1 به 4/5 میکروگرم در گرم افزایش یافت [14].

مقدار کم هیستامین در نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق، مطابق با یافته محققین دیگر [15، 21، 23، 24]، می‌تواند به دلیل پایین بودن مقدار باکتریهای انتروباکتریاسه و مقدار کم پیش‌ساز هیستامین یعنی هیستیدین باشد و مغایر با

- methods for preparation of food samples and enumeration of microorganisms in Food. 1st ed., ISIRI. No.356.
- [10] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (1991). Enumeration of psychrotroph and psychrophilic microorganism in food. 2nd ed., ISIRI. No.2629.
- [11] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2000). Meat and meat products-enumeration of *Pseudomonas* spp., ISIRI. No.4791.
- [12] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (1993). Microbiological contamination allowance for kinds of meat. 2nd ed., ISIRI. No.2394.
- [13] Mietz, J. L., and E. Karmas. (1978): Polyamine and histamine content of rockfish, salmon lobster and shrimp as an indicator of decomposition. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 61: 139-145.
- [14] Dawood, A. A., J. Karkalas, R. N. Roy, and C. S. Williams. (1988): The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored Rainbow Trout (*Salmo irideus*). *J. Food Chem.* 27:33-45
- [15] Chytiri, S., E. Paleologos, I. Savvaidis, and M. G. Kontominas. (2004<sub>b</sub>): Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored on ice. *J. Food Protection.* 7(5): 960-965.
- [16] Bodmer, S., C. Imark, and M. Kneubuhl. (1999): Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflamm. Res.* 48:296-300
- [17] Krizek, M., F. Vacha, L. Vorlova, J. Lukasova, and S. Cupakova. (2004): Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum packed flesh of Carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *J. Food Chem.* 88:185-191.
- [18] Paleologos, E. K., I. N. Savvaidis and M. G. Kontominas. (2004): Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Food Microbiol.* 21: 549-557.
- [19] Taylor, S. L., and S. Sumner. (1986): Determination of histamine, putrescine and cadaverine, p. 235-245. In: D. E. Kramer and J. Liston (ed.), *Seafood Quality Determination*. Elsevier, Amsterdam.
- [20] Gray, R., J., H., and T. Sorhang. (1983): Responses regulation and utilization of

## 5- نتیجه گیری

نتیجه آن که در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقادیر آمین های بیوژن طی روزهای نگهداری وجود داشت و همچنین ارتباط خوبی بین میزان بار باکتریایی با آمین بیوژن پوترسین و نیز بین کاداورین با زمان نگهداری وجود داشت که اگرچه ارزیابی کیفیت قزل آلائی رنگین کمان را بر اساس مدل های ارائه شده با اندازه گیری یکی از دو آمین فوق تا حدودی امکان پذیر می سازد اما با توجه به پایین بودن مقادیر آمین های بیوژن در ماهی قزل آلا و اختلاف آن با نتایج بدست آمده توسط سایر محققین می توان ادعان داشت که در این زمینه نیاز به تحقیقات بیشتری می باشد زیرا تغییر در محیط آبی که می تواند نوع باکتریهای موجود روی پوست و آبشش ماهی تازه صید شده را تحت تأثیر قرار دهد، روش کشتن ماهی، اختلاف در مقادیر آمینواسیدهای پیش ساز، سن ماهی، نوع گونه، مقدار چربی، مکان صید، روش صید، فلور باکتریایی خاص منطقه و فصل صید، از عوامل مهم در بروز این اختلاف هستند.

## 6- منابع

- [1] Ozogul, Y., F. Ozogul and C.Gokbulut. (2006): Quality assessment of wild European Eel (*Anguilla Anguilla*) stored in ice. *J. food Chemistry.*95(3): 458-465.
- [2] Connell, J. J. (2002): Quality Control In Fish Industry. Torry Advisory Note No. 58.
- [3] Gram, L., and H. H. Huss. (1996): Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* 33: 121-137.
- [4] Huss, H. H. (1995): Quality And Quality Changes In Freshwater Fish. *FAO Fisheries Technical Paper.* No. 348, Rome.
- [5] Lehane L., and J. Olley. (2000): Histamine fish poisoning (Revisited). *Int. J. Food Microbiol.*, 58: 1-37.
- [6] Nakovich, L. (2003): Analysis of biogenic by GC/FID and GC/MS. M.Sc thesis in chemistry. Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. Virginia. 70 p.
- [7] Vosoghi, G.H. and B. Mostajir, 1998. *Freshwater fish*, Tehran University Publications, 317.
- [8] Mills, A. 2001. *Handling and Processing Rainbow Trout*. Torry advisory note, No.74. Torry Research station.
- [9] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (1997). Standard



- [23] Ozogul, Y., and F. Ozogul. (2004): Effects of slaughtering methods on sensory, Chemical and microbiological quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice and MAP. *Eur. Food Res. Technol.* 219: 211-216.
- [24] Yamanaka, H., K. Shiomi, and T. Kikuchi. (1984): Cadaverine as a potential index of decomposition of Salmonid fishes. *J. Food Hyg Soc. Japan*, 30:170- 174. [Cited by Chytir et al. (2004)].
- microbial activities at low temperature p:1-45  
*In: A. H. Rose (ed.), Food Microbiology Vol.8. Academic press. London.*
- [21] Rodriguez, C. J., I. Besteiro, and C. Pascual. (1999): Biochemical changes in freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *J. Sci. Food Agri.* 79: 1473-1480.
- [22] Fran, G., and G. G. Sims. (1986): Chemical Indices Of Decomposition In Tuna. *In: D. E. Kramer and J. Liston (ed.), Seafood quality determination. Elsevier, Amsterdam.*

## Study of Bacterial Load and Biogenic Amines content in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in ice

Rezaei, M. <sup>1</sup> \*, Montazeri, N. <sup>2</sup>, Heydari, M. <sup>3</sup>

1- Associate Professor, Department of Fisheries, College of Natural resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2- Educated of Fisheries, College of Natural Resources, Azad university, Lahijan, Iran

3- Instructor, Department of Fisheries, Khazar University, Mahmoud Abad, Iran

The biogenic amines content of whole rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and its related bacterial load (psychrotroph and psychrophiles, pseudomonads and mesophiles) were monitored during ice storage in a period of eighteen days (zero, 3, 6, 9, 12, 15 and 18). The levels of putrescine, cadaverine and histamine and bacterial loads increased ( $P < 0.05$ ) during storage but tyramine was not detected in any of the samples. Initial concentration of putrescine was 0.4 and finally reached to 8.97  $\mu\text{g/g}$ , and psychrotroph and psychrophiles were the dominant microorganisms. The best correlations were found among putrescine and psychrotroph and psychrophile and its regression equation derived relating PUT, pse and psy ( $R = .98$ ):  $[\text{PUT} = 0.83 \text{pse} + 0.69\text{psy} + 0.41]$ . In addition another regression equation derived relating CAD and time ( $R = 0.955$ ):  $[\text{CAD} = 0.576 \text{time} - 3.49]$ . It is therefore concluded that although the quality control of Rainbow trout can be approximately estimated by measurement of either putrescine or psychrophiles with the usage of derived equation, but it's much better to evaluate some of these factors simultaneously to accomplish a precise quality assessment.

**Keywords:** Biogenic amines, Bacterial counts, Ice stored, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Quality control

---

\* Corresponding author E-Mail address: [rezaei\\_ma@modares.ac.ir](mailto:rezaei_ma@modares.ac.ir)