

## بررسی ارتباط بین میزان پوترسین و هیستامین با جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی و سایکروتروف‌ها در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) عرضه شده در شیراز

علی قربانی رنجبری<sup>۱\*</sup>، رزا اکرمی<sup>۳</sup>، رضا شریفی راینی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، کازرون، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سمنان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، سمنان، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: dr\_alighornani@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۲/۶/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۴/۹/۱۰)

### چکیده

آمین‌های بیوژن مولکول‌های کوچک آلی با ساختار آروماتیک و هیدروسیکلیک می‌باشند. این ترکیبات توسط آنزیم‌های دکربوکسیلاز باکتریایی از اسیدآمین‌ها آزاد مواد غذایی شکل می‌گیرند. هدف مطالعه حاضر بررسی امکان استفاده از پوترسین و هیستامین به‌عنوان شاخص مناسب جهت ارزیابی تازگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. برای این منظور غلظت‌های هیستامین و پوترسین ماهیان ننگه‌داری شده در یخ برای دوره ۱۸ روزه و با فواصل زمانی ۳ روزه به‌وسیله دستگاه HPLC تعیین گردید. در این بررسی هیستامین در اولین و سومین روز نگهداری تشخیص داده نشد؛ اما پوترسین در روز ۳ به  $1/30 \pm 0/03$  میکروگرم در گرم رسید. غلظت اولیه هیستامین و پوترسین به‌ترتیب  $0/7$  و  $1/3$  میکروگرم در گرم بود و در انتهای دوره به‌ترتیب به  $13/5$  و  $18$  میکروگرم در گرم رسید که به لحاظ آماری معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) بود. طبق یافته‌های مطالعه، بین جمعیت باکتری‌های مزوفیل و هیستامین و نیز بین جمعیت باکتری‌های سایکروتروف و مقدار پوترسین رابطه معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) وجود داشت ( $p < 0/05$ ). بنابراین تغییرات سطوح پوترسین و هیستامین می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی تازگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد.

واژه‌های کلیدی: هیستامین، پوترسین، بار میکروبی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، شیراز

## مقدمه

پوترسین در نتیجه دکربوسیکلاسیون اورنتین به وجود آمده و به عنوان یک شاخص در مورد ارزیابی تازگی ماهی مطرح می‌باشد و در مراحل اولیه فساد گوشت ماهی ظاهر می‌شود ( Dawood *et al.*, 1988; Fernandez-Salguero and Mackie, 1987; Yamanaka, 1989). از طرفی هیستیدین نیز یک ماده پیش‌ساز یا پیش‌ماده‌ای برای آنزیم دکربوکسیلاز است که به وسیله باکتری‌هایی که به باکتری‌های مولد فساد معروف هستند تبدیل به هیستامین می‌شود ( Love, 1980). به محض ورود هیستامین به جریان خون، اثرات سمی بروز می‌نماید. در روده انسان آنزیم‌های دی‌آمین اکسیداز (DAO) و هیستامین-N-متیل ترانسفراز HMT وجود دارد که هیستامین را به محصولات بی‌ضرر تبدیل می‌کند، هر چند در مورد غلظت‌های بیشتر هیستامین ظرفیت DAO و HMT برای جمعیت سم‌زدایی هیستامین محدود شده و به محض ورود هیستامین به جریان خون، سبب بروز اثرات سمی می‌شود ( Taylor, 1986). پوترسین و کاداورین می‌توانند این واکنش آنزیمی را متوقف ساخته و بنابراین سمیت هیستامین را تقویت نمایند (Eitenmiller *et al.*, 1980). ماهیان تازه معمولاً دارای میزان کمی هیستامین (کمتر از ۰/۱ گرم در ۱۰۰ کیلوگرم وزن بدن) می‌باشند ( Frank *et al.*, 1981). به همین دلیل در سال‌های اخیر مقدار آمین‌های بیوژن به عنوان یکی از فاکتورهای مهم و با ارزش در سنجش فساد ماهی قلمداد می‌شود ( Krizek *et al.*, 2004). با توجه به ارزش اقتصادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و شیوه رایج و متداول استفاده از یخ در سردسازی، نگهداری و عرضه این ماهیان، مطالعه حاضر به بررسی ارتباط بین میزان پوترسین و هیستامین با جمعیت باکتری‌های مزوفیل و سایکروفیل در ماهیان

ماهی به دلیل داشتن درصد بالایی از اسید چرب غیراشباع و پروتئین جزو مواد غذایی فسادپذیر است و با نگهداری در شرایط نامناسب، فعالیت آنزیمی و میکروبی باعث بروز فساد و کاهش کیفیت گوشت ماهی می‌گردد. لذا کنترل کیفی آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و قوانین و استانداردهای خاصی را می‌طلبد. کیفیت حسی و ارزش غذایی ماهی در نتیجه واکنش‌های شیمیایی (تغییرات پروتئین و چربی، تشکیل آمین‌های بیوژن و هیپوزانتین) و نیز فساد میکروبی بعد از مرگ کاهش پیدا می‌کند (Ozogul *et al.*, 2006). باکتری‌های مختلفی که قادر به دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه می‌باشند در محیط ایزوله عضله ماهی وجود دارند ( Taylor, 1986; Yoshinaga, and Frank, 1982). این میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های مزوفیلیک و سایکروتروف بوده و بیشتر آن‌ها دارای آنزیم دکربوکسیلاز می‌باشند. هیستامین از مهم‌ترین آمین‌های بیوژن است که بیشتر از دکربوکسیلاسیون باکتریایی به وجود می‌آید. از طرفی، هیستامین به صورت غالب در ایجاد سم در غذا نقش دارد و آمین‌های مشابه مانند پوترسین و کاداورین در تشدید و ازدیاد حالت منفی هیستامین معروفند ( Bjeldanes *et al.*, 1976; Love, 1980). مفهوم خاص تخریب ارگانیکی (SSO: Specific Spoilage Organisms) کمک قابل ملاحظه‌ای به درک مفهوم فساد غذایی در ماهی می‌نماید. فساد ارگانسمی غذای دریایی تولید آمونیاک، آمین‌های بیوژن، اسیدهای آلی و ترکیبات گوگردی حاصل از اسیدهای آمینه و استات از لاکتات و هیپوگزانتین از تنزل تولیدات در ATP تولید می‌شود.

میکروبی، نمونه‌های ۱/۵ میلی‌لیتری از رقت‌های ( ۰/۱ % آب-پیتون ) همگن ماهی در سطح محیط کشت جامد پخش شدند. سپس محیط‌های کشت در دمای ۲۰ و ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند تا به ترتیب باکتری‌های سایکروتروف و مزوفیل شمارش شوند. پس از ۴۸ ساعت دوره انکوباسیون، داده‌های میکروبیولوژیکی جمع‌آوری شده و به لگاریتم تعداد واحدهای شکل کلونی (log cfu) تبدیل شدند (Ghorbani ranjbary *et al.*, 2014).

#### آزمون‌های شیمیایی

کروماتوگرافی مایع شامل تولی Shimadzu مدل 10AD برای HPLC بوده که مجهز به دستگاه آشکارساز طول موج‌های متغیر قابل رویت فرابنفش در طول موج ۲۵۴ نانومتر می‌باشد. جمع‌آوری داده‌ها و انجام تغییرات بر روی آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار اتوماتیک شیمادزو CLSS-VP برای کارماتوگرافی انجام شد. برای انحلال کامل محلول‌ها از یک مخلوط‌کننده VelpSyntifik استفاده شد. برای تفکیک آمین‌های بیورنی از نمونه‌های ماهی از سانتریفیوژ با حداکثر سرعت (سوروال RC-5B) استفاده شد (Dawood *et al.*, 1986; Mitz and Karmas, 1978).

#### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصله از بررسی نمونه‌ها در زمان‌های مختلف با نرم‌افزار SPSS17 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. روش تحلیل واریانس یک‌طرفه جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصله به کار رفت.

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداخته است.

#### مواد و روش‌ها

در این بررسی حضور آمین‌های بیورن هیستامین و پوترسین و تغییرات جمعیت باکتریای سایکروتروف و مزوفیل‌ها در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول ۱۸ روز نگهداری در یخ بررسی شد. ماهی تازه قزل‌آلای رنگین‌کمان از مراکز پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سطح شهر شیراز در فصل پاییز سال ۱۳۹۱ جمع‌آوری و سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. میانگین طول و وزن ماهی‌ها به ترتیب برابر با ۲۶۰ میلی‌متر و ۳۵۰ گرم بود. ماهی‌ها تحت شرایط یخ‌گذاری در جعبه‌های عایق‌بندی شده که مجهز به خروجی‌هایی برای خارج ساختن آب حاصل از ذوب یخ بود ذخیره شدند. یخ‌های جایگزین اضافه شده و در نتیجه دما به صورت یکنواخت حفظ شد. نسبت یخ به ماهی (۳ به ۱) در طول آزمایش ثابت نگه داشته شد. برای اندازه‌گیری میزان هیستامین و پوترسین در طول دوره به‌طور تصادفی در بازه زمانی صفر تا ۱۸ روز به فاصله ۳ روز مقداری از عضله دو نمونه ماهی برداشت شد و جهت اندازه‌گیری بار میکروبی کلی، مزوفیلی و ساکروفیلی و همچنین مقادیر هیستامین و پوترسین مورد بررسی قرار گرفت.

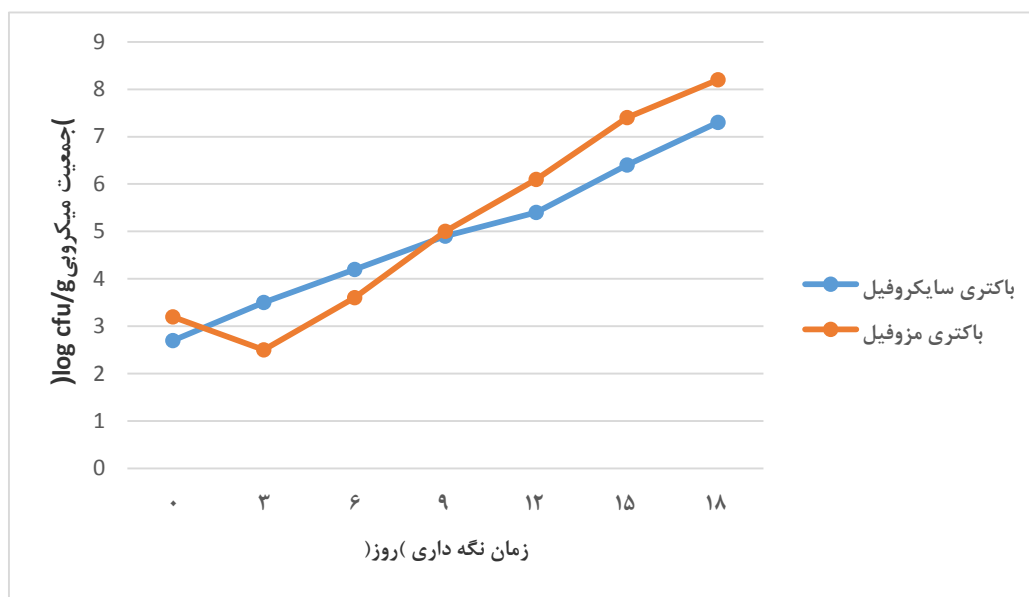
#### آزمون‌های میکروبی

نمونه‌های ۲۵ گرمی از عضله پستی هر ماهی نمونه‌گیری و با ۲۲۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل همگن شد و توالی رقت‌های سریال هر نمونه همگن با همان سرم فیزیولوژی تهیه شدند. برای تعیین بار

## یافته‌ها

تغییرات حاصل در کل شمارش باکتریایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره نگهداری در نمودار شماره (۱) نشان داده شده است. مجموع باکتری‌های مزوفیلی در ماهی تازه، ذخیره شده در یخ به اندازه ۰/۵ واحد لگاریتمی از روز صفر تا ۳ کاهش یافته و سپس

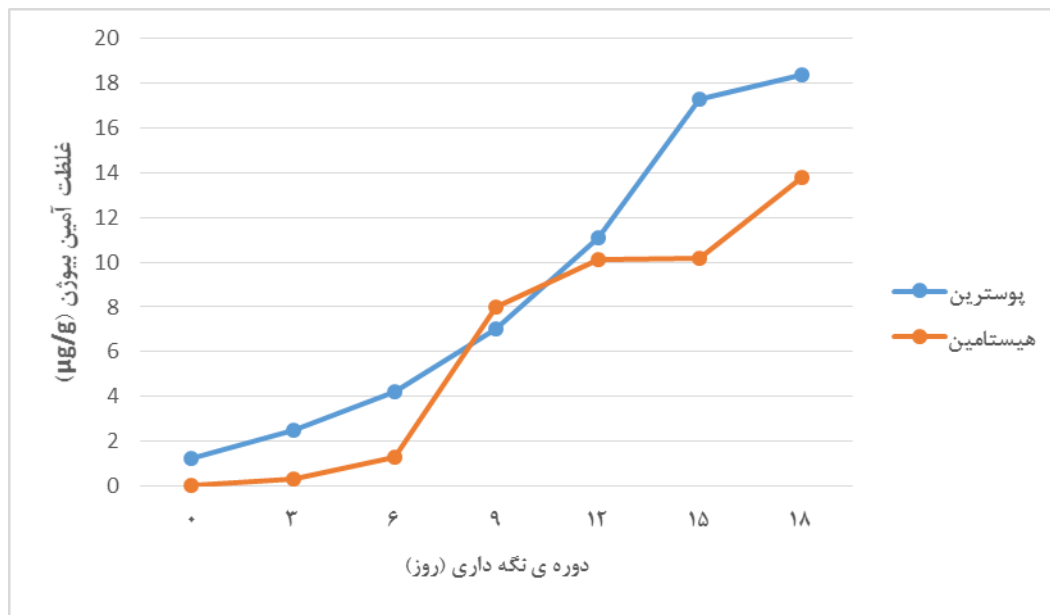
به طور ثابت تا  $4 \log \text{ cfu/g}$  در ۶ روز نگهداری افزایش یافت. جمعیت باکتری‌های ساکروتروف ابتدا کمتر از باکتری‌های مزوفیلی بود اما روند سریع‌تری نسبت به باکتری‌های مزوفیلی افزایش و در روز ۱۸ نگهداری به  $8 \text{ cfu}^{-1}$  رسید.



نمودار (۱) - جمعیت باکتری‌های مزوفیل و ساکروتروف (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی دوره نگهداری

از لحاظ آماری مجموع جمعیت باکتری‌های مزوفیلی و ساکروتروفي در روز ۱۵ و ۱۸ تفاوت معنی‌داری نداشت. اما تجزیه آماری تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ). بین جمعیت باکتریایی در روز ۱ و ۱۸ مشاهده شد. هم‌چنین مشخص گردید همبستگی معنی‌داری ( $R = 0.98$ ) بین باکتری‌های ساکروتروفي و غلظت پوترسین وجود دارد. اما در مورد هیستامین این همبستگی بین جمعیت باکتری‌های مزوفیل مشاهده گردید.

غلظت‌های پوترسین و هیستامین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در یخ به مدت ۱۸ روز در نمودار شماره (۲) نشان داده شده است. پوترسین در روز صفر نگهداری آشکار نشد و برای اولین بار در روز ۳ ذخیره ردیابی شد. سطح این آمین در طول ۱۸ روز افزایش یافت؛ تجزیه آماری، تفاوت‌های معنی‌داری را بین اولین و آخرین روز نگهداری نشان داد ( $p < 0.05$ ).



نمودار (۲) - مقادیر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) آمین‌های بیوژن پوترسین و هیستامین در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگه‌داری شده در یخ

ردیابی هیستامین در روز سوم نگه‌داری را می‌توان به‌واسطه کاهش باکتری‌های مزوفیل ناشی از شوک سرمایی در طی این سه روز دانست. به‌عبارت دیگر با افزایش جمعیت باکتریایی مزوفیل، مقادیر هیستامین ابتدا با شدت کمتر سپس در مقادیر بالای باکتری‌های مزوفیل با شدت بیشتر افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). با افزایش بار باکتریایی ساکروفیت، مقدار پوترسین در عضله نگه‌داری شده در یخ افزایش یافته و از رابطه معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) برخوردار بود. در تحقیق مشابه، ایجاد آمین‌های بیوژن و رابطه آن‌ها با تغییرات حسی و بار میکروبی کل و بخش صاف‌شده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگه‌داری شده در یخ نشان داد که غلظت پوترسین در طول ۱۸ روز یعنی هنگامی که باکتری‌های سایکروتروفی به تعداد  $10^7$  cfu/g رسیدند افزایش یافت (Chytiri et al., 2004). هرچند گزارشاتی در دست است که نشان می‌دهند انواع و سطوح آمین‌های بیوژن

آمین بیوژن هیستامین در روز ۱۸ نگه‌داری در هر نوبت نمونه‌برداری، به استثناء روز ۱۵ افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). همچنین مشخص شد، بیشترین افزایش میانگین غلظت این آمین مربوط به روز ۹ و ۱۸ بود و بیشترین جهش مربوط به روز ۶ به ۹ بود. نتایج حاصل از تعیین غلظت هیستامین نشان داد که میانگین غلظت هیستامین در روز ۱۵ در مقایسه با میانگین غلظت روز ۱۲ تغییر معنی‌داری نداشته است ( $p < 0/001$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

در آزمایش‌های انجام گرفته بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگه‌داری شده در یخ، هیچ‌یک از آمین‌های بیوژن مورد بررسی در روز اول نگه‌داری ردیابی نشد که دلیل احتمالی آن عدم فعالیت باکتری‌ها تحت شرایط خاص ذخیره در این تحقیق می‌باشد. از طرفی عدم

تولید آمین بیوژن در ارتباط با باکتری‌های مزوفیل به‌وضوح مشاهده می‌گردد که دمای نگه‌داری عامل اصلی تعیین‌کننده در میزان سلامت و کیفیت آن گونه آبری خواهد بود، زیرا درجه حرارت مناسب سبب رشد نوع باکتری متناسب با آن دما می‌گردد و به تبع آن آمین بیوژن مورد نظر بر اثر فعالیت آن نوع باکتری تولید خواهد شد. از طرفی گزارش‌های محققین حاکی از این است که باکتری‌های تولیدکننده هیستامین می‌توانند محدوده دمایی بالا و پایین را تحمل کنند و حتی در شرایط نگه‌داری در یخ و در بعضی مواقع در حالت انجماد سبب تولید هیستامین در مقادیر کم می‌شوند. هر چند که در این تحقیق گونه‌های مختلف باکتریایی شناسایی نگردید ولی به نظر می‌رسد که برخی از این باکتری‌های تولیدکننده هیستامین که قادر به تحمل شرایط دمایی پایین هستند توانستند با بقای خود میزان اندکی هیستامین را در نگه‌داری ماهیان در یخ ایجاد نمایند و این میزان هیستامین در انتهای دوره بسیار پایین‌تر از حد مجاز استاندارد جهانی تشخیص داده شد.

### سپاس‌گزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکتر رضا قربانی و بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون و راهنمائی‌های اساتید ارجمند سرکار خانم دکتر گیتی کریم و جناب آقای دکتر محمد حسین مرحمتی‌زاده مراتب قدردانی و سپاس به‌عمل می‌آید.

شکل گرفته به میکروفیلور و جمعیت باکتری بستگی دارد (Veciana-Nogues *et al.*, 1997) داهر و سیمارد در نشان دادند که در مورد گوشت گاو شمارش باکتریایی سایکروفیلی همبستگی خوبی با ایجاد پوترسین دارد (Daher and Simard, 1985). که با نتایج به‌دست آمده در این آزمایش در مورد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سازگار می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های سایکروفیل و مزوفیل در تشکیل آمین‌های بیوژن نقش مهمی دارند (Taylor and Sumner, 1986). در خصوص هیستامین در تحقیق حاضر مشخص گردید که مقدار هیستامین به جمعیت باکتری‌های مزوفیل بستگی دارد. دمای مناسب برای رشد این باکتری‌ها در حدود ۲۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس است، هرچند که بعضی از این باکتری‌های تولیدکننده هیستامین دمای مطلوب پایین‌تر از ۱۰ درجه سلسیوس دارند (مانند بعضی از گونه‌های ویبریو). بنابراین سطوح هیستامین بالا در غذاهای دریایی نشان می‌دهد که فرایند خنک‌سازی توقف پیدا کرده یا این‌که به‌طور ناقص اعمال شده است. طی مطالعه‌ای در مورد ماهیان پلاژیک این نتیجه حاصل شد که تعداد زیادی از ماهیان پلاژیک دریایی به‌خصوص آن‌هایی که شنای مستمر و سرعت بالایی دارند نسبت عضله تیره آن‌ها بیشتر توسعه یافته است که این ماهیان، سریع‌تر در معرض فساد قرار گرفته و مسمومیت با آن‌ها نیز به دلیل داشتن عضلات تیره و دارای غلظت بالایی از آمینو اسید هیستدین هستند بیشتر خواهد بود (Taylor and Sumner, 1987). بر اساس گزارش‌های محققین در خصوص

## منابع

- Bjeldanes, L.F., Shutz, D.E. and Morris, M.M. (1978). Etiology of scombroid poisoning. Fcadvanine potentiation of histamine toxicity in guinea pigs. *Food and Cosmetics Toxicology*, 16: 157-162.
- Chytiri, S., paleologos, E., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. (2004). Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater Rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) stored on ice. *Journal of Food Protection*, 67: 960-965.
- Dawood A.A., Karkalas J., Roy, R.N. and Williams, C.S. (1988). The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored Rainbow trout. *Food Chemistry*, 27: 33-45.
- Daher, N.S. and Simard, R.E. (1985). Putrefactive amine changes in relation to microbial counts of ground beef during storage. *Journal of Food Protection*, 48: 54-58.
- Eitenmiller, R., Orr, J. and Wallis, W. (1980). Histamine formation in fish: microbiological and biochemical condition. From *Chemistry and Biochemistry of Marine food Products*, Publisher- AVI, USA.
- Frank, H.A., Yoshinaga, D.H. and Nip, W.K. (1981). Histamine formation and honeycombing during decomposition and honeycombing during decomposition of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, at elevated temperatures. *Marine Fisheries Reviews*, 43: 9-14.
- Fernandez-Salguero, J. and Mackie, I.M. (1987). Comparative rates of spoilage of fillets and whole fish during storage of haddock (*Melanogrammes aegiefinus*) and herring (*Clupea herengus*) as determined by the formation of non-volatile amines. *International Journal of Food Science & Technology*, 22: 385-390.
- Ghorbani Ranjbary, A., Ghorbani Ranjbary, N., Golchin meneshadi, A. and Ghorbani Ranjbary, Z. (2014). Study of the changes in microbial load, putrescine and histamine in muscles of *Otolithes ruber* during storage in ice. *Journal Management*, 1: 1-7.
- Krizek, M., Vorlova, L., Lukasova, J. and 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.
- Love, R.M. (1980). *The Chemical Biology of Fishes. Histidine Vol. 2*, San Francisco, pp: 380-385.
- Mitz, J.L. and Karmas, E. (1978). Chemical quality index of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 42: 155-158.
- Ozogul, Y., Ozogul, F. and Gökbulut, C. (2006). Quality assessment of wild European Eel (*Anguilla Anguilla*) stored in ice. *Food Chemistry*, 95: 458-465.
- Taylor, S.L. and Sumner, S.S. (1986). Determination of histamine, cadaverine and putrescine. In: *seafood quality determination* (D.E. Kramer and J. Liston Eds.). *Proceedings of an International Symposium*. Elsevier Science Publishers, New York, pp. 90-94.
- Taylor, S.L. (1986). Histamine Food Poisoning: toxicology and clinical aspects. *Toxicology*, 17: 91-117.
- Taylor, S.L. and Sumner, S.S. (1987). Determination of histamine, putrescine and cadaverine. (Kramer, D.E. & Liston, J. Eds.) *Seafood Quality Determination*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Netherlands, pp. 50-61.
- Veciana-Nogues, M.T., Marine-Font, A. and Vidal-Carou, M.C. (1997). Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 2036-2041.
- Yoshinaga, D.H. and Frank, H.A. (1982). Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Appl. Environ. Microbiology*, 44: 447- 452.
- Yamanaka, H. (1989). Changes in polyamines and amino aside in scallop adductor muscle during storage. *Journal of Food Science*, 54: 1113-1115.

## Relationship between putrescine and histamine contents with the populations of aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Shiraz market

Ghorbani ranjbary, A.<sup>1,2\*</sup>, Akrami, R.<sup>3</sup>, Sharifi Rayeni, R.<sup>2</sup>

1- PhD Candidate, Department of Biotechnology, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Young Researcher and Elit Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

3- Young Researcher and Elit Club, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

\*Corresponding author email: dr\_alighornani@yahoo.com

(Received: 2013/9/2 Accepted: 2015/12/1)

### Abstract

Biogenic amines are small organic molecules with an aromatic and hydrocyclic structure. These compounds are formed due to the decarboxylation of foods' free amino acids by microbial enzymes. The aim of present study was to investigate the possibility of using putrescine and histamine contents as an indicator to assess the freshness of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Therefore, using HPLC the concentrations of putrescine and histamine was determined in cold-stored rainbow trout samples. The samples were analysed every 3 days from day 0 to 18. Based on results, histamine was not detected at the first and third days of the storage, however putrescine was estimated at  $1.30 \pm 0.03$   $\mu\text{g/g}$ . Initial concentrations of histamine and putrescine were 0.7 and 1.2  $\mu\text{g/g}$  respectively. These parameters reached to 13.5 and 18  $\text{mg/g}$  at the end of 18 days of storage which was statistically significant ( $p < 0.05$ ). Moreover, a direct and significant relationship was observed between the load of aerobic mesophilic bacteria and histamine contents in the fish samples. Similar relation ( $p < 0.05$ ) was found between the load of psychrotrophic bacteria and putrescine content. Consequently, histamine and putrescine concentrations could be used as an indicator to assess the freshness of rainbow trout.

**Key words:** Histamine, Putrescine, Bacterial load, Biogenic amines, *Oncorhynchus mykiss*