نشریه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز، دوره ۳، شماره ۲، بهار ۱۳۹۳ صفحات ۱۰۲-۹۶

تعیین میزان هیستامین و تیرامین در پنیرهای پاستوریزه لیقوان و فتای یواف طی دوره‌های رسیدن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

جواد مهتدی‌نیا[1] و حسین خادم حقیقیان[2*]

[1] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز،ایران
[2] دانشجوی دکتری تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۳۰

چکیده

مقدمه: آمین‌های بیوژنیک بازهای آلی با وزن مولکولی پایین و فعالیت بیولوژیکی هستند که از دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند. هیستامین و تیرامین در انواع پنیر یافت شده اند. این ترکیبات باعث مشکلاتی مثل ناراحتی تنفسی می گردند. هدف مطالعه ارزیابی تاثیر زمان رسیدن بر روی تولید هیستامین و تیرامین در دو نوع پنیر فتای یواف و پاستوریزه لیقوان بود.

مواد و روشها: نمونه گیری از سالن تولید دو واحد تولید کننده پنیر فتای یواف و لیقوان انجام گرفت و بررسی طی دوره ۲ ماهه و در فواصل زمانی ۱۵ روز در نظر گرفته شد. آمین ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC متصل به شناساگر اسپکتروفلورو متریک شناسایی گردیدند. تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS (Ver16)صورت گرفت. سطح معناداری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: نمونه‌های پنیر لیقوان و یواف در طول دوره بررسی حاوی هیستامین و تیرامین بودند. مقدار آمین‌های مذکور در پنیر لیقوان در تمامی فواصل زمانی مورد بررسی بیشتر از نمونه‌های پنیر فتای یواف بود. بااین حال اختلاف بین میزان هیستامین معنادار ($P<0.05$) و تفاوت در مقدار تیرامین غیر معنادارگزارش گردید. میزان آمین‌های فوق در هر دو پنیر و طی دوره بررسی کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان غذا و دارو بود.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه مقدار آمینها در نمونه‌ها پایین تر از حد مجاز بود ولی به دلیل عوارض جانبی و تداخلات غذا – دارو نیاز به توجه ویژه در کنترل تولید و نگهداری پنیرها احساس میشود.

کلمات کلیدی: پنیر لیقوان، پنیر یواف، تیرامین، هیستامین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

*نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران
۰۶۱۱-۳۷۳۸۳۳۰
E-mail: khademnut@yahoo.com

مقدمه

ایمنی غذا یک بخش ادغام یافته در بهداشت عمومی است که هدف آن تامین سلامت انسان‌ها میباشد.در سالهای اخیر نگرشی جدید در مورد بهداشت و ایمنی غذا به همراه مقبولیت آن برای مصرف کننده باعث افزایش تحقیقات برای کاهش مواد مضر برای سلامتی انسان گشته است.در میان آنها وجود آمین‌های ناشی از فعالیت موجودات زنده(آمین‌های بیوژنیک)درمحصولات تخمیری همانند پنیر وسایر محصولات لبنی توجه زیادی را به خاطر اثرات فیزیولوژیکی درانسان به خود جلب کرده‌اند.[1] آمین‌های بیوژنیک ملکول‌هایی با وزن پایین هستندکه دارای فعالیت بیولوژیکی بوده وعموماً به وسیله دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه تولید می‌شوند.[2] اگر چه این مواد در اغلب غذاها و نوشیدنی‌ها یافت می‌شوندولی غلظت آنها بسیار متفاوت است.[3]

شرایط مورد نیاز برای تولید آنها دسترسی به اسیدآمینه‌های آزاد،وجودمیکروارگانیسم با قدرت دکربوکسیلاسیون وشرایط بهینه برای رشد باکتری می‌باشد.[2] پنیر دارای یک محیط ایده‌آل برای تولید آمین‌های بیوژنیک بوده ولی غلظت آمین‌ها به طور گسترده‌ای وابسته به فاکتورهای متعددی از قبیل زمان رسیدن،گونه‌های باکتری آغازگر و قسمت‌های مختلف پنیرمثل لبه یا وسط آن و میکروفلور آن می‌باشد.[4]

آمین‌های بیوژنیک مثل هیستامین و تیرامین به عنوان مسمومیت بالقوه برای انسان محسوب شده واثرات سمی گزارش شده مربوط به شرایط فیزیولوژیکی فرد و حضور سایر فاکتورهای دیگر مثل داروهایی است که میتوانند فعالیت سینرژیستی یا آنتاگونیستی داشته باشند.[۵]

هیستامین منجر به مسمومیت هیستامینی شده و.باقی مونوآمینها از جمله تیرامین احتمال مسمومیت با هیستامین را افزایش می‌دهد. تیرامین سبب تشدید حملات میگرنی می‌شود. مسمومیت با تیرامین تحت عنوان Cheese Reaction با مصرف مواد غذایی با محتوای بالای تیرامین گزارش شده است.[۶] که این مسمومیت به صورت فشار خون بالا همراه با سردرد شدید بروز می‌کند که گاهاً منجر به خونریزی داخل جمجمه‌ای، درگیری های عصبی، نارسایی قلبی و ادم ریوی می‌شود.[۷]

طی پروسه هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش انسان، مقادیر اندک آمین‌ها به ترکیبات غیر فعال متابولیزه می‌شوند، که این سیستم متابولیزه کننده شامل آنزیم‌های خاصی مانند دی‌آمین‌اکسیداز (DAO) است که باعث دآمیناسیون اکسیداتیو آمین‌ها شده و تولید آلدئید، پراکسید هیدروژن و آمونیاک می‌کنند.[۸] در صورت مصرف مقادیر بالای آمین‌ها، سیستم قادر به حذف تمامی آنها نخواهد بود. اختلالات ژنتیکی، بیماری‌های دستگاه گوارش و مصرف دارو یا الکل می‌توانند سبب کاهش متابولیسم و حذف آمینها شوند.[۷]

در مورد اثر دوره رسیدن مطالعات مختلفی بر روی پنیرهای متفاوت در سطح دنیا صورت گرفته است.در مطالعه‌ای که بر روی ۳ بچ از پنیر فتا با استفاده از روشHPLC انجام گردید، مشخص شد که محتوای آمین های بیوژنیک کل در پنیرهای رسیده ۶۰ روزه ۳۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم و در پنیرهای ۱۲۰ روزه ۶۱۷ میلی‌گرم در هر کیلوگرم پنیر می‌باشد که بیشترین آمین شناسایی شده تیرامین و کمترین غلظت مربوط به تریپتامین و فنیل اتیل آمین بود.[۹]

مقایسه ی آمین های بیوژنیک تولیدی طی تهیه و دوره‌ی رسیدن پنیر ۶۰ روزه‌ی Pecorino در دو حالت ۱- تهیه شده ازشیر خام گوسفندی و ۲- تهیه شده از شیر پاستوریزه، نشان داد که مقدار آمین‌های بیوژنیک کل در حالت اول ۶۹۷ میلی گرم و در حالت دوم ۱۰۸۶ میلی گرم در هر کیلوگرم پنیر است. در این مطالعه از روش HPLC با دتکتورUV/VIS استفاده گردید.[۱۰]

برای آنالیز آمین‌های بیوژنیک از روش‌های مختلفی استفاده میشود.به دلیل در دسترس بودن و حساسیت بالا، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا کاربرد بیشتری دارد.[۱۱]

درمورد اثر دوره‌های رسیدن متفاوت بر محتوای آمین‌های بیوژنیکی پنیرهای لیقوان مطالعه‌ای صورت نگرفته‌است.با توجه به شهرت پنیر لیقوان استان آذربایجان شرقی و شرایط خاص تولید آن و میزان مصرف زیاد آن در استان و در کشورمان،این مطالعه به منظور مقایسه اثردوره‌های رسیدن متفاوت ۶۰ روزه بر محتوای آمین‌های بیوژنیکی پنیرهای سنتی- پاستوریزه لیقوان و پنیرهای یواف استان آذربایجان شرقی طراحی گردیده است.

مواد و روش‌ها

نمونه پنیرهای خریداری شده جهت مطالعه آمین‌های بیوژنیک هیستامین و تیرامین از کارخانجات و کارگاه‌های مورد تائید از طرف مرکز بهداشت لیقوان و معاونت غذا و داروی استان آذربایجان شرقی صورت گرفت. در تهیه این پنیرها استفاده ازشیرخشک به جای شیرطبیعی، استفاده از پودر پنیر، پنیرهای یواف بسته بندی شده دارای آسیب ظاهری مانند فرورفتگی یا بادکردگی نیز به عنوان معیارهای خروج در نظر گرفته شدند. به منظور بررسی تأثیر زمان‌های مختلف رسیدگی بر محتوای هیستامین و تیرامین نمونه‌ها به این شرح عمل گردید: برای انتخاب پنیرلیقوان به کارگاه‌های شهرستان لیقوان مراجعه و نمونه گیری از سالن تولید صورت گرفت. بدین ترتیب که ابتدا برای زمان صفر ،۲ نمونه به صورت تصادفی انتخاب و تحت شرایط مناسب به آزمایشگاه علوم غذایی-کاربردی مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تبریز منتقل و آنالیز آمین‌های بیوژنیک صورت گرفت. مدت انجام مطالعه ۶۰ روزوفواصل انجام کار۱۵ روز در نظر گرفته شد.(زمان ۶۰،۴۵،۳۰،۱۵،۰) برای هر زمان نمونه گیری ۲ نمونه انتخاب وتحت شرایط مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای مطالعه پنیر یواف در یک شیفت کاری به کارخانجات مورد نظر که از شیر طبیعی استفاده می‌کنند و تنها ۳ کارخانه از شیر طبیعی برای تهیه پنیر استفاده میکردند، مراجعه و نمونه گیری از یک سالن تولید به طور تصادفی صورت گرفت. مدت انجام مطالعه۶۰ روزوفواصل انجام

کار۱۵ روز در نظر شد.برای هر زمان نمونه گیری ۲ نمونه انتخاب و تحت شرایط مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شد. در مجموع ۹ مارک پنیر وجود داشت که با درنظر گرفتن ۵ زمان رسیدن و ۲بار نمونه گیری در هر زمان مجموعا ۹۰ نمونه جمع آوری گردید. مقایسه میزان تیرامین وهیستامین باحدمجاز ۱۰۰میلی گرم در هر کیلوگرم بود.[۱۲] برای آنالیز آمین‌های بیوژنیک از روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا استفاده شده است. میزان آمین مورد نظر میانگین ۲ نمونه انتخاب شده بود.

آنالیز

تهیه‌ی محلول‌های استاندارد: برای تهیه محلولهای استوک از هریک از آمین‌هاو نیز استاندارد داخلی، مقدار ۱۰۰ میلی گرم از پودر هر یک دقیقاً در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر وزن شد و با آب مقطر به حجم رسید.[۱۳]

تهیه محلول‌های نمونه

برای استخراج آمین های بیوژنیک از نمونه های پنیر از روش Innocente N و همکاران با تغییر استفاده شد.[۱۳] مقدار ۵۰ گرم از هر نمونه ی پنیر وزن و سپس همگن شد. از هر یک از پنیرهای همگن شده ۱۰ گرم وزن گردید و به فالکون ۵۰ میلی لیتر منتقل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر ۱ و۷- دی آمینوهپتان(1mg/ml) به عنوان استاندارد داخلی اضافه شد.برای استخراج آمینها ۲۰ میلی لیتر اسید کلرئیدریک ۰/۱ مولار به هر یک از فالکونها اضافه شده و توسط شیکر به مدت ۲ دقیقه به هم زده شد. سپس نمونه‌ها در دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع رویی بعد از صاف شدن جمع آوری شد و عمل استخراج روی قسمت جامد با ۲۰میلی لیتر اسیدکلرئیدریک ۰/۱ مولار دوباره انجام شد و مایع جمع آوری شده با مایع قبلی مخلوط شده و با اسید کلرئیدریک ۰/۱ مولار به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد.

مشتق‌سازی:به منظور مشتق سازی هر نمونه ۱۰۰ میکرولیتر از آن برداشته شد و با ۱۰۰ میکرولیتر بافر بورات (pH =۹/۵) مخلوط شد و به عنوان عامل مشتق ساز ۵۰ میکرولیتر اورتو فتال دی آلدئید(OPA) به آن اضافه شد. بعد از گذشت ۲ دقیقه برای متوقف نمودن عمل مشتق سازی ۲۵ میکرولیتر اسید کلرئیدریک ۰/۷ مولار اضافه شد و توسط دستگاه HPLC موردآنالیز واقع گردید.[۱۴]

تزریق به دستگاه HPLC:تزریق توسط اتوسمپلر انجام گرفت (حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود). روش شویش از نوع گرادیانت بوده و فاز متحرک شامل مخلوط بافر فسفات (PH = ۶/۵) و متانول به نسبت ۹۰: ۱۰ (حلال A) و مخلوط متانول و تتراهیدروفوران به نسبت ۳/۷: ۰/۹۹ (حلالB) بود. شیب شویش برای حلال های A و B به ترتیب زیر بود:

از لحظه صفر تا دقیقه ۵ فاز متحرک A ۸۰٪ و فاز متحرک B ۲۰٪، ۵ تا ۱۰ دقیقه فاز متحرک ۵۵A٪ و فاز متحرک ۴۵B٪، ۱۰ تا ۱۵ دقیقه فاز متحرکA ۲۰٪ و فاز متحرکB ۸۰٪، ۱۵ تا ۱۷ دقیقه فاز متحرک ۱۵A٪ و فاز متحرک ۸۵B٪، ۱۷ تا ۲۷ دقیقه فاز متحرک ۱۰A٪و فازمتحرک B ۹۰٪، ۲۷ تا ۳۰ دقیقه فاز متحرکA۶۰٪ و فاز متحرک ۴۰B٪ و از دقیقه ۳۰ ام تا ۳۳ فاز متحرک ۸۰A٪ و فاز متحرک B ۲۰٪.

سرعت پیشروی حلال ۱ml/min بود. برای شناسایی آمین های بیوژنیک مشتق سازی شده از شناساگر فلورسانس استفاده شد. طول موج انگیزشی (Excitation) ۳۳۰ نانومتر و طول موج نشر (Emission) ۴۶۰ نانومتر بود.[۱۳]

در مطالعه حاضر ، جهت ورود اطلاعات و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS (Ver16)استفاده شد.

کلیه متغیرهای کمی مورد مطالعه به صورت میانگین و انحراف معیار به دست آمدند.جهت مقایسه میانگین متغیرهای کمی بین نمونه‌های لیقوان و اولترافیلتره از آزمون غیر عددی Mann-Whitney و جهت مقایسه میانگین متغیرهای کمی در بین نمونه‌های لیقوان یا در بین نمونه‌های اولترافیلتره از آزمون Wilcox on استفاده گردید.سطح معناداری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

هر دو آمین در نمونه‌های پاستوریزه لیقوان در تمام دوره‌های رسیدن بیشتر از نمونه‌های اولترافیلتره بودند.تمامی نمونه‌های

پاستوریزه در تمامی دوره‌های رسیدن دارای آمین بودند. در نمونه‌های پاستوریزه تمام آمین‌ها با افزایش زمان رسیدن ، افزایش یافته و همچنین در نمونه‌های اولترا فیلتره افزایش در میزان آمین‌ها با افزایش زمان رسیدن مشاهده گردید.

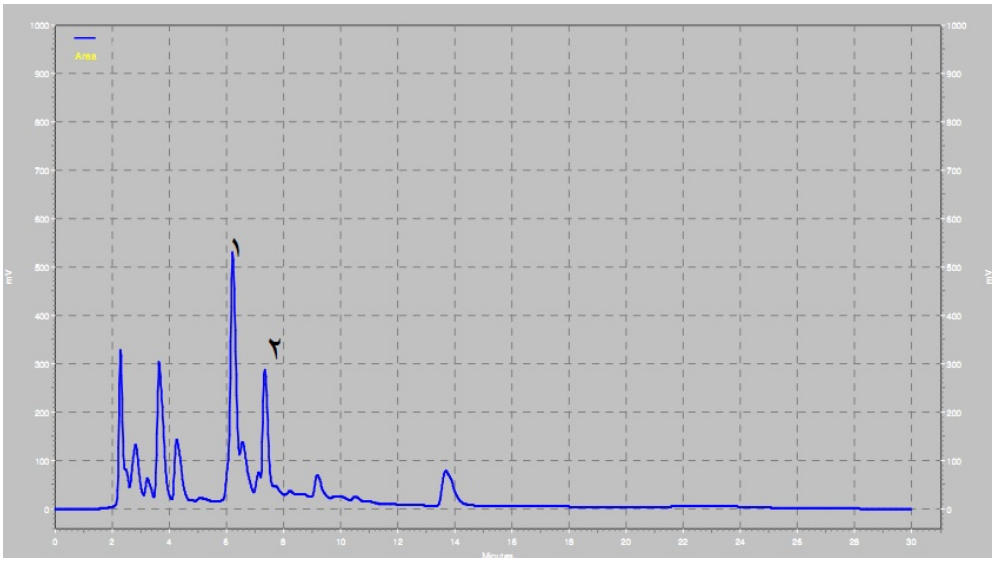
مقایسه آمین‌ها در دوره‌های رسیدن متفاوت در نمونه‌های پاستوریزه نشان داد که با افزایش زمان رسیدن ، میزان آمین‌ها نیز افزایش یافت.مقایسه در دوره‌های رسیدن متفاوت در نمونه‌های اولترافیلتره نشان داد که با افزایش زمان رسیدن ، میزان آمین‌ها نیز افزایش یافت . جدول‌های شماره۱ و ۲ مقایسه هیستامین و تیرامین در نمونه‌های پاستوریزه و نمونه‌های یواف را نشان می‌دهند. مجموع آمین‌های بیوژنیک در روز شصت دوره رسیدن در پنیرهای لیقوان بیشتر از مجموع آمین‌های بیوژنیک در پنیرهای یواف بود. جدول ۳ مجموع آمین‌های بیوژنیک را در روز شصت ام نشان می‌دهد. میزان هیستامین و تیرامین در تمام دوره‌های رسیدن در هر دو نوع نمونه پنیرهای پاستوریزه لیقوان و یواف کمتر از حد مجاز اعلام شده توسط FDA (۱۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم) بود.

جدول ۱. مقایسه هیستامین به مقدار میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه در پنیرهای لیقوان و یواف در دوره‌های رسیدن متفاوت

هیستامین	روز صفر	روز پانزده	روز سی	روزچهل وپنج	روز شصت
نمونه لیقوان	۲/۲۳±۰/۶۳	۲/۸۳±۰/۷۲	۳/۷۳±۰/۵۴	۴/۵۸±۰/۵۹	۶/۰۸±۰/۸۲
یواف	۰/۷۱±۰/۶۱	۱/۳۱±۰/۴۳	۱/۷۸±۰/۲۹	۲/۲۶±۰/۲۷	۳/۰۳±۰/۱۳
P value	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05

جدول ۲. مقایسه تیرامین به مقدار میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه در پنیرهای لیقوان و یواف در دوره‌های رسیدن متفاوت

تیرامین	روز صفر	روز پانزده	روز سی	روزچهل وپنج	روز شصت
نمونه لیقوان	۱/۲۶±۰/۴۱	۱/۸۹±۰/۵۹	۲/۵۱±۰/۸۱	۳/۲۷±۰/۸۵	۴/۲۶±۰/۹۷
یواف	۰/۶۶±۰/۵۷	۱/۳۷±۰/۳۶	۱/۹±۰/۱۹	۲/۵۹±۰/۵۵	۳/۴±۰/۷۲
P value	NS	NS	NS	NS	NS



شکل ۱. نمودار مربوط به آنالیز آمینها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا متصل به شناساگر اسپکتروفلورومتریک

۱:هیستامین ۲:تیرامین

جدول ۳. مجموع آمین‌های بیوژنیک را در روز شصت در نمونه‌های لیقوان و یواف

نوع کارخانه	هیستامین روز شصت	تیرامین روز شصت	مجموع
لیقوان	۳۶/۴۹±۰/۸۲	۲۵/۵۷±۰/۹۷	۶۲/۰۶±۱/۷۹
یواف	۹/۱۱±۰/۱۳	۱۰/۳۲±۰/۷۲	۱۹/۴۳±۰/۸۵

بحث و نتیجه‌گیری

بسیاری از آمین های بیوژنیک دارای اثرات فیزیولوژیک قوی بوده و فعالیت بیولوژیک بالائی دارند و می‌توانند هم دارای اثرات سایکواکتیو و هم وازواکتیو باشند.[۱۵] در مطالعه‌ای که بر روی ۳ بچ از پنیر فتا با استفاده از روش HPLC انجام شد، مشخص شد که محتوای آمین های بیوژنیک کل در پنیرهای رسیده ی ۶۰ روزه ۳۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم و در پنیرهای ۱۲۰ روزه ۶۱۷ میلی گرم در هر کیلوگرم پنیر می‌باشد که بیشتر از مقدار شناسایی شده در هر دو نوع نمونه‌های این مطالعه می‌باشد.[۹] با مقایسه ی آمین های بیوژنیک تولیدی طی تهیه و دوره‌ی رسیدن پنیر ۶۰ روزه‌ی Pecorino در دو حالت ۱- تهیه شده ازشیر خام گوسفندی و ۲- تهیه شده از شیر پاستوریزه ، مقدار آمین‌های بیوژنیک کل را در حالت اول ۶۹۷ میلی گرم و در حالت دوم ۱۰۸۶ میلی گرم در هر کیلوگرم پنیر بدست آوردند. آنها از روش HPLC با دتکتورUV/VIS استفاده کردند.[۱۰] اما مطالعه بر روی پنیرهای دمیوتی مصر در سال ۲۰۰۹ نشان داد که پنیر تهیه شده از شیر خام در مقایسه با پنیر تهیه شده از شیر پاستوریزه شده، مقدار آمین های بیوژنیک بالاتری دارد و پاستوریزاسیون باعث کاهش محتوای نهایی آمین در پنیر می‌شود. میزان آمینهای کل نمونه های پاستوریزه ۱۲/۵± ۵۹/۷ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم بود. پنیرهای پاستوریزه نشده آمین بیشتری از پنیرهای پاستوریزه داشتند. مقایسه ی پنیرهای پاستوریزه و سنتی نشان دهنده ی اختلاف معنی داری ($P<0/05$) در موردTYR و HIS بود که کمتر از مقدار گزارش شده در پنیر Pecorino Abruzzes تهیه شده از شیر پاستوریزه بود.[۱۶]

جداسازی و تعیین مقدار آمین های بیوژنیک در ۳ نوع پنیر شمال غرب ایتالیا (Piedmont) با روش HPLC (با دتکتور اسپکترو فلومتری جرمی) نشان داد که در هر سه نوع پنیر بیشترین میزان آمین‌های بیوژنیک مربوط به هیستامین و تیرامین است. با توجه به نتایج، مقدار آمین‌های مطالعه ما کمتر از آمین‌های موجود در پنیرهای این مطالعه بود. همچنین در این مطالعه دو آمین تیرامین و هیستامین بالاتر از حد مجاز بودند.[۱۷] آمین‌های بیوژنیک در ۱۰ نوع پنیر برزیل با کروماتوگرافی جفت یونی (با دتکتور اسپکتروفلومتریک) جداسازی و تعیین مقدار شدند. مشتق سازی نمونه‌ها به صورت پس ستونی و با OPA انجام شده بود. بیشترین غلظت مربوط به تیرامین (۱۱۱ میلی گرم در هر ۱۰۰گرم پنیر) بود که نسبت به نمونه‌های لیقوان و نمونه‌های اولترافیلتره تیرامین بالاتری داشتند.[۱۸]

تاثیر فاکتورهای مختلف بر روی تشکیل ۴ آمین هیستامین، تیرامین، کاداورین و پوترسین در پنیرهای سفید شور ایرانی بررسی گردید. فاکتورهای مورد مطالعه عبارت بودند از طول مدت رسیدن، دمای رسیدن، مقدار رنت اضافه شده، غلظت آب نمک، نوع نمک و میزان استارتر اضافه شده. مهمترین آمین شناسایی شده کاداورین بود که غلظت بیشترین نسبت به سایر آمین‌ها داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که طول مدت رسیدن بیشترین تاثیر را بر روی تولید آمین در پنیر سفید شور ایرانی دارند. از بین فاکتورهای مورد بررسی، طول مدت رسیدن تنها عامل موثر بر روی تولید تیرامین بود و عوامل دیگر تاثیر چندانی نداشتند.[۱۹]

پنیرهای پاستوریزه لیقوان به طور متوسط پنیرهای ۲ ماهه اند که مانند نمونه های خارجی دوره ی نگهداری خود را در آب نمک طی می‌کنند و آمینهای تولید شده در آنها بیشتر از مقدار تولید شده در پنیرهای اولترافیلتره بود. پنیرهای لیقوان گاها دارای سبزی های مختلف هستند که به منظور بهبود عطر و طعم در هنگام تهیه اضافه می‌شوند، سبزی‌ها می‌توانند شرایط را برای فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها و تولیدآمین مساعد کنند. در مورد اثر آمین های

بیوژنیک بویژه هیستامین و تیرامین بر سلامت انسان و اثرات سمی آنها مطالعات زیادی انجام شده است.حداکثر مقدار مجاز هیستامین و تیرامین ۱۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم در نظر گرفته شده است[۲۰] که با توجه به نتایج از لحاظ وجود هیستامین و از لحاظ وجود تیرامین نمونه های لیقوان و نمونه های اولترافیلتره در حد مجاز بودند. در سالهای ۱۹۸۷و ۱۹۸۸ در نتایج مطالعاتی گزارش گردید که در پنیر گودا ، Lactobacillus buchneri در شیر خام (۶/۵میلی مول هیستامین در هر کیلوگرم)در مقایسه با شیر پاستوریزه (۳/۴میلی مول هیستامین در هر کیلوگرم) هیستامین بیشتری تولید می‌کند.[۲۱]

در سال ۲۰۰۲ گزارش گردید که تجمع آمین‌های بیوژنیک مثل تیرامین و هیستامین طی دوره رسیدگی در پنیر Montasio افزایش می‌یابدو مقدار این آمین‌های بیوژنیک در این پنیر خیلی پایین تر از سطح مسمومیت زایی مطرح شده برای آمین‌های بیوژنیک می‌باشد.[۱۳]

با توجه به کم بودن مدت زمان این مطالعه،امکان بررسی بیشتر در مورد فاکتور زمان رسیدن فراهم نگردید و نیز به علت نامناسب بودن تجهیزات آزمایشگاهی،شرایط مناسبی برای بررسی محتوای میکروارگانیسمی نمونه‌ها وجود نداشت که عدم بررسی این عوامل از محدودیت‌های مطالعه به شمار میرود. همچنین وجود شرایط دشوار برای بررسی و اندازه گیری دقیق نمک در نمونه‌های لیقوان که به طور دستی به پنیر افزوده میشود،امکان بررسی این فاکتور مهم را فراهم نکرد که این عامل هم از محدودیت‌های مقاله به شمار میرود.با توجه به تاثیر عوامل مختلف در شکل گیری آمین های بیوژنیک در پنیرهای لیقوان و اولترافیلتره ، توصیه می‌شود که نقش هر یک از عوامل در تولید آمین های بیونیک دقیقا بررسی شود و از آنجائیکه این عوامل قابل کنترل هستند، بهینه سازی شوند تا پنیرهایی مطلوب با محتوای پایین آمین های بیوژنیک تولید شوند. همچنین اندازه گیری آمین های بیوژنیک در پنیرهای سنتی با لحاظ کردن فاصله ی زمانی زیادتر از دو ماه و در زمان های مختلف صورت گیرد، تا تاثیر زمان بر تولید آنها بررسی گردد.

تمامی نمونه‌های پاستوریزه لیقوان و اولترافیلتره در تمامی دوره‌های رسیدن دارای آمین‌های بیوژنیک بودند. آمین‌های بیوژنیک در نمونه‌های پاستوریزه لیقوان در تمام دوره‌های رسیدن بیشتر از نمونه‌های اولترافیلتره بودند. در نمونه‌های لیقوان آمین‌ها با افزایش زمان رسیدن ، افزایش یافته و این افزایش در تمامی موارد معنادار بود.در نمونه‌های پنیرهای اولترا فیلتره افزایش در میزان آمین‌های بیوژنیک با افزایش زمان رسیدن مشاهده گردید. این افزایش معنادار نبود.

مقایسه نمونه‌های پاستوریزه لیقوان و نمونه‌های اولترافیلتره نشان داد که اختلاف معناداری در میزان هیستامین در تمام دوره‌های رسیدن وجود داشته ولی تفاوت بین میزان تیرامین معنادار نبود. در تمامی دوره‌های رسیدن در هر دو نوع نمونه‌ها میزان آمین‌های بیوژنیک هیستامین و تیرامین پایین تر از حد مجاز بود.

با توجه به اینکه مقدار آمینها در نمونه‌ها پایین تر از حد مجاز بود ولی به دلیل عوارض جانبی و تداخلات غذا – دارو نیاز به توجه ویژه در کنترل تولید و نگهداری پنیرها احساس میشود.

تشکر و قدردانی

در خاتمه از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز از بابت حمایت مالی جهت اجرای این پایان نامه و اساتید و کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تبریز که در این مطالعه نهایت همکاری را داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Marcobal A, Polo M, Martın-Alvarez P, Moreno-Arribas M. Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. Food research international 2005;38(4):387-94.
2. Bover Cid S, Miguélez-Arrizado MJ, Becker B, Holzapfel WH, Vidal-Carou MC. Amino acid decarboxylation by< i> Lactobacillus curvatus</i> CTC273 affected by the pH and glucose availability. Food microbiology 2008;25(2):269-77.
3. Draisci R, Volpe G, Lucentini L, Cecilia A, Federico R, Palleschi G. Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies. Food chemistry 1998;62(2):225-32.

4. Halász A, Baráth Á, Simon-Sarkadi L, Holzapfel W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science & Technology 1994;5(2):42-9.

5. Roig-Sagués AX, Molina AP, Hernández-Herrero M. Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. European Food Research and Technology 2002;215(2):96-100.

6. Pintado AI, Pinho O, Ferreira IM, Pintado MME, Gomes AM, Malcata F. Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. International Dairy Journal 2008;18(6):63140.

7. Dadáková E, Křížek M, Pelikánová T. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). Food Chemistry 2009;116(1):365-70.

8. Gardini F, Zaccarelli A, Belletti N, Faustini F, Cavazza A, Martuscelli M, et al. Factors influencing biogenic amine production by a strain of< i> Oenococcus oeni</i> in a model system. Food Control 2005;16(7):609-16.

9. Valsamaki K, Michaelidou A, Polychroniadou A. Biogenic amine production in Feta cheese. Food chemistry 2000;71(2):259-66.

10. Martuscelli M, Gardini F, Torriani S, Mastrocola D, Serio A, Chaves-López C, et al. Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese. International dairy journal 2005;15(6):571-8.

11. Moret S, Smela D, Populin T, Conte LS. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. Food Chemistry 2005;89(3):355-61.

12. Leszczynska J, Wiedlocha M, Pytasz U. The histamine content in some samples of food products. Czech journal of food sciences 2004;22(3):81-6.

13. Innocente N, Biasutti M, Padovese M, Moret S. Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. Food chemistry 2007;101(3):1285-9.

14. Leuschner RGK, Kurihara R, Hammes WP. Formation of biogenic amines by proteolytic enterococci during cheese ripening. Journal of the Science of Food and Agriculture 1999;79(8):1141-4.

15. Maintz L, Novak N. Histamine and histamine intolerance. The American Journal of Clinical Nutrition 2007;85(5):1185-96.

16. Elsanhoty RM, Mahrous H, Ghanaimy GA. Chemical, microbial counts and evaluation of biogenic amines during the ripening of Egyptian soft Domiati cheese made from raw and pasteurized buffaloes milk. International Journal of Dairy Science 2009;4(2):80-90.

17. Gosetti F, Mazzucco E, Gianotti V, Polati S, Gennaro M. High performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of biogenic amines in typical Piedmont cheeses. Journal of Chromatography A. 2007;1149(2):151-7.

18. Vale S, Glória MBA. Biogenic amines in Brazilian cheeses. Food Chemistry 1998;63(3):343-8.

19. Aliakbarlu JJ, Alizadeh M, Razavi-Rohani SM, Agh N. Biogenic amines in Iranian white brine cheese: modelling and optimisation of processing factors. International Journal of Dairy Technology 2011;64(3):417-24.

20. Novella-Rodríguez S, Veciana-Nogués M, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou M. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. Journal of Food Science 2003;68(3):750-6.

21. Joosten H. Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese, 3: factors influencing the amounts formed. Netherlands Milk and Dairy Journal 1987;41.