

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

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 شده‌اند. این ترکیبات باعث مشکلاتی مثل ناراحتی تنفسی می‌گردند. هدف مطالعه ارزیابی تأثیر زمان رسیدن بر روی تولید هیستامین و تیرامین در دو نوع پنیر فتای یواف و پاستوریزه لبقوان بود.

مواد و روشها: نمونه‌گیری از سالن تولید دو واحد تولید کننده پنیر فتای یواف و لبقوان انجام گرفت و بررسی طی دوره ۲ ماهه و در فواصل زمانی ۱۵ روز در نظر گرفته شد. آمین‌ها 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.

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

نتیجه‌گیری: 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 لبقوان، پنیر یواف، تیرامین، هیستامین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

جواد مهتدی‌نیا^۱ و حسین خادم حقیقیان^{۲*}

^۱ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ دانشجوی دکتری تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

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

مقدمه

وعموماً به وسیله دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه تولید می‌شوند.^۱ اگر چه این مواد در اغلب غذاها و نوشیدنی‌ها یافت می‌شوند ولی غلظت آنها بسیار متفاوت است.^۳

شرایط مورد نیاز برای تولید آنها دسترسی به اسید آمینه‌های آزاد، وجود میکروارگانیسم با قدرت دکربوکسیلاسیون و شرایط بهینه برای رشد باکتری می‌باشد.^۲ 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 پنیر مثل لبه یا وسط آن و میکروفلور آن می‌باشد.^۴

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) در محصولات تخمیری همانند پنیر و سایر محصولات لبنی توجه زیادی را به خاطر اثرات فیزیولوژیکی در انسان به خود جلب کرده‌اند.^۱ آمین‌های بیوژنیک ملکول‌هایی با وزن پایین هستند که دارای فعالیت بیولوژیکی بوده

برای آنالیز آمین‌های بیوژنیک از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. به دلیل در دسترس بودن و حساسیت بالا، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا کاربرد بیشتری دارد.^{۱۱}

در مورد اثر دوره‌های رسیدن متفاوت بر محتوای آمین‌های بیوژنیک پنیرهای لیقوان مطالعه‌ای صورت نگرفته است. 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 اثر دوره‌های رسیدن متفاوت ۶۰ روزه بر محتوای آمین‌های بیوژنیک پنیرهای سستی - 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 تأیید از طرف مرکز بهداشت لیقوان و معاونت غذا و داروی استان آذربایجان شرقی صورت گرفت. در تهیه این پنیرها استفاده از شیر خشک به جای شیر طبیعی، 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 پنیر لیقوان به کارگاه‌های شهرستان لیقوان مراجعه و نمونه گیری از سالن تولید صورت گرفت. بدین ترتیب که ابتدا برای زمان صفر، ۲۰ 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 روز و فواصل انجام کار ۱۵ روز در نظر گرفته شد. (زمان ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰) برای هر زمان نمونه گیری ۲ نمونه انتخاب و تحت 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 مطالعه ۶۰ روز و فواصل انجام

آمین‌های بیوژنیک مثل هیستامین و تیرامین به عنوان مسمومیت بالقوه برای انسان محسوب شده و اثرات 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، درگیری‌های 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 دامیناسیون اکسیداتیو آمین‌ها شده و تولید آلدئید، پراکسید هیدروژن و آمونیاک می‌کند.^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.^۹

در مورد اثر دوره رسیدن مطالعات مختلفی بر روی پنیرهای متفاوت در سطح دنیا صورت گرفته است. در مطالعه‌ای که بر روی ۳ بیج از پنیر فتا با استفاده از روش HPLC انجام گردید، مشخص شد که محتوای آمین‌های بیوژنیک کل در پنیرهای رسیده ۶۰ روزه ۳۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم و در پنیرهای ۱۲۰ روزه ۶۱۷ میلی گرم 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 آمین‌های بیوژنیک تولیدی طی تهیه و دوره‌ی رسیدن پنیر ۶۰ روزه Pecorino در دو حالت ۱- تهیه شده از شیر 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 دکتور UV/VIS استفاده گردید.^{۱۰}

آلدئید (OPA) به آن اضافه شد. بعد از گذشت ۲ دقیقه برای متوقف نمودن عمل مشتق سازی ۲۵ میکرولیتر اسید کلریدریک ۰/۷ مولار اضافه شد و توسط دستگاه HPLC مورد آنالیز 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 (حلال B) 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 A ۵۵٪ و فاز متحرک B ۴۵٪، ۱۰ تا ۱۵ دقیقه فاز متحرک A ۲۰٪ و فاز متحرک B ۸۰٪، ۱۵ تا ۱۷ دقیقه فاز متحرک A ۱۵٪ و فاز متحرک B ۸۵٪، ۱۷ تا ۲۷ دقیقه فاز متحرک A ۱۰٪ و فاز متحرک B ۹۰٪، ۲۷ تا ۳۰ دقیقه فاز متحرک A ۶۰٪ و فاز متحرک B ۴۰٪ و از دقیقه ۳۰ تا ۳۳ فاز متحرک A ۸۰٪ و فاز متحرک B ۲۰٪.

سرعت پیشروی حلال ۱ ml/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 داده ها 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 نمونه های لیقوان و اولترافیلتره از آزمون غیر عددی Mann-Whitney و جهت مقایسه میانگین متغیرهای کمی در بین نمونه های لیقوان یا در بین نمونه های اولترافیلتره از آزمون Wilcoxon استفاده گردید. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

هر دو آمین در نمونه های پاستوریزه لیقوان در تمام دوره های رسیدن بیشتر از نمونه های اولترافیلتره بودند. تمامی نمونه های

کار ۱۵ 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 در نظر گرفتن ۵ زمان رسیدن و ۲ بار نمونه گیری در هر زمان مجموعاً ۹۰ نمونه جمع آوری گردید. مقایسه میزان تیرامین و هیستامین با حد مجاز ۱۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم بود.^{۱۲} برای آنالیز آمین های بیوژنیک از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شده است. میزان آمین مورد نظر میانگین ۲ نمونه انتخاب شده بود.

آنالیز

تهیه محلول های استاندارد: برای تهیه محلول های استوک از هریک از آمین ها و 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 محلول های 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 فالكون ۵۰ میلی لیتر منتقل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر ۱ و ۷- دی آمینو هپتان (1mg/ml) به عنوان استاندارد داخلی اضافه شد. برای استخراج آمینها ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به هر یک از فالكونها اضافه شده و توسط شیکر به مدت ۲ دقیقه به هم زده شد. سپس نمونه ها در دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی بعد از صاف شدن جمع آوری شد و عمل استخراج روی قسمت جامد با ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار دوباره انجام شد و مایع جمع آوری شده با مایع قبلی مخلوط شده و با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد.

مشتق سازی: 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

جدول‌های شماره ۱ 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.

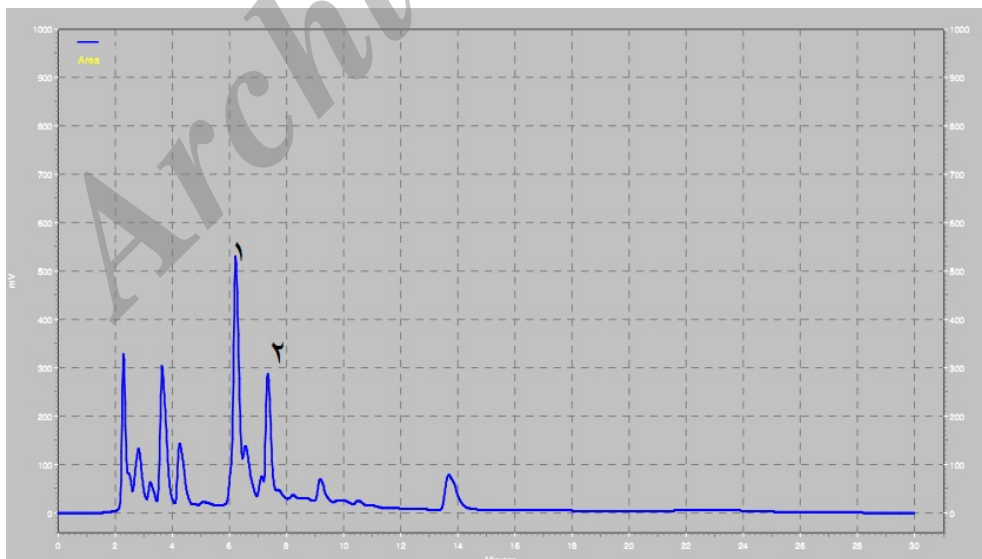
پاستوریزه در تمامی دوره‌های رسیدن دارای آمین بودند. در نمونه‌های پاستوریزه تمام آمین‌ها با افزایش زمان رسیدن، افزایش یافته و همچنین در نمونه‌های اولترا فیلتره افزایش در میزان آمین‌ها با افزایش زمان رسیدن مشاهده گردید. مقایسه آمین‌ها در دوره‌های رسیدن متفاوت در نمونه‌های پاستوریزه نشان داد که با افزایش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

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	روز چهل و پنج	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	روز چهل و پنج	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 اسپکتروفلورومتریکی
 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 آمین‌های بیوژنیک دارای اثرات فیزیولوژیک قوی بوده و فعالیت بیولوژیک بالایی 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 آمین‌های 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 آمین‌های بیوژنیک تولیدی طی تهیه و دوره‌ی رسیدن پنیر ۶۰ روزه‌ی Pecorino در دو حالت ۱- تهیه شده از شیر 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 دتکتور UV/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 آمین‌های بیوژنیک بالاتری دارد و پاستوریزاسیون باعث کاهش محتوای نهایی آمین در پنیر می‌شود. میزان آمین‌های کل نمونه‌های 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 مورد TYR و HIS بود که کمتر از مقدار گزارش شده در پنیر Pecorino Abruzzes تهیه شده از شیر پاستوریزه بود.^{۱۶}

جداسازی و تعیین مقدار آمین‌های 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 اسپکتروفلومتریکی) 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 ۱۰۰ گرم 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 نمونه‌های 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 سبزی‌های مختلف هستند که به منظور بهبود عطر و طعم در هنگام تهیه اضافه می‌شوند، سبزی‌ها می‌توانند شرایط را برای فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها و تولید آمین مساعد کنند. در مورد اثر آمین‌های

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 نمونه های پاستوریزه لیقوان و اولترافیلتره در تمامی دوره های رسیدن دارای آمین های بیوژنیک بودند. آمین های بیوژنیک در نمونه های پاستوریزه لیقوان در تمام دوره های رسیدن بیشتر از نمونه های اولترافیلتره بودند. در نمونه های لیقوان آمین ها با افزایش زمان رسیدن، افزایش یافته و این افزایش در تمامی موارد معنادار بود. در نمونه های پنیرهای اولترا فیلتره افزایش در میزان آمین های بیوژنیک با افزایش زمان رسیدن مشاهده گردید. این افزایش معنادار نبود.

مقایسه نمونه های پاستوریزه لیقوان و نمونه های اولترافیلتره نشان داد که اختلاف معناداری در میزان هیستامین در تمام دوره های رسیدن وجود داشته ولی تفاوت بین میزان تیرامین معنادار نبود. در تمامی دوره های رسیدن در هر دو نوع نمونه ها میزان آمین های بیوژنیک هیستامین و تیرامین پایین تر از حد مجاز بود.

با توجه به اینکه مقدار آمینها در نمونه ها 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 می گردد.

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 ۱۹۸۷ و ۱۹۸۸ در نتایج مطالعاتی گزارش گردید که در پنیر گودا، *Lactobacillus buchneri* در شیر خام (۶/۵ میلی مول هیستامین در هر کیلوگرم) در مقایسه با شیر پاستوریزه (۳/۴ میلی مول هیستامین در هر کیلوگرم) هیستامین بیشتری تولید می کند.^{۲۱}

در سال ۲۰۰۲ گزارش گردید که تجمع آمین های بیوژنیک مثل تیرامین و هیستامین طی دوره رسیدگی در پنیر Montasio افزایش می یابد و مقدار این آمین های بیوژنیک در این پنیر خیلی پایین تر از سطح مسمومیت زایی مطرح شده برای آمین های بیوژنیک می باشد.^{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 میکروارگانسمی نمونه ها وجود نداشت که عدم بررسی این عوامل از محدودیت های مطالعه به شمار میرود. همچنین وجود شرایط دشوار برای بررسی و اندازه گیری دقیق نمک در نمونه های لیقوان که به طور دستی به پنیر افزوده میشود، امکان بررسی این فاکتور مهم را فراهم نکرد که این عامل هم از محدودیت های مقاله به شمار میرود. با توجه به تاثیر عوامل مختلف در شکل گیری آمین های بیوژنیک در پنیرهای لیقوان و اولترافیلتره، توصیه می شود که نقش هر یک از عوامل در تولید آمین های بیوژنیک دقیقاً بررسی شود و از آنجائیکه این عوامل قابل کنترل هستند، بهینه سازی شوند تا

References

- Marcobal A, Polo M, Martín-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.
- Bover Cid S, Miguélez-Arrizado MJ, Becker B,

Holzappel WH, Vidal-Carou MC. Amino acid decarboxylation by *Lactobacillus curvatus* CTC273 affected by the pH and glucose availability. *Food microbiology* 2008;25(2):269-77.

- 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):631-40.
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 *Oenococcus oeni* 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.