تعیین مقدار هیستامین پنیرهای کوپه در استان آذربایجان‌غربی با روش HPLC

سید مهدی رضوی روحانی[۱]، حسن حسن زاد آذر[۲*]، جواد علی اکبرلو[۳]

۱- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات و سلامت مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- اداره نظارت و کنترل مواد غذایی و آشامیدنی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: h.hassanzadazar@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۳ پذیرش نهایی: ۹۲/۷/۶)

چکیده

هیستامین به عنوان یک آمین هتروسیکلیک اولیه در فیزیولوژی بدن انسان بویژه در سیستم عصبی و به‌صورت یک واسطه شیمیایی و نوروترانسمیتر نقش مهمی را ایفا کرده و در بسیاری از مواد غذایی و نوشیدنی‌ها مانند پنیر، شیر، گوشت، ماهی، آبجو، شراب و سبزیجات یافت می‌شود. افزایش میزان هیستامین در مواد غذایی اغلب به استفاده از مواد خام با کیفیت پایین، آلودگی، فرآوری و یا نگه‌داری نامناسب ماده غذایی مربوط بوده و به همین علت مقدار هیستامین به‌عنوان شاخص خوبی برای بررسی کیفیت بهداشتی ماده غذایی و نشانگر درجه تازگی یا فساد غذا کاربرد دارد. هیستامین می‌تواند باعث برخی علائم مانند قرمزی صورت، عرق کردن، تپش قلب، سردرد، راش های قرمز روشن، سوزش دهانی در مصرف‌کنندگان حساس گردد. پنیر محیط ایده‌آلی را برای تولید محصولات پروتئولیتیک یعنی اسیدهای آمینه آزاد و آمین‌های بیوژنیک از جمله هیستامین را فراهم می‌نماید. هدف از این مطالعه تعیین مقدار هیستامین موجود در پنیر کوپه به‌عنوان یکی از انواع پنیرهای سنتی پرطرفدار در آذربایجان غربی تهیه شده از شیر خام گوسفندی و برخی اوقات شیر خام گاو، می باشد. آزمایش انجام شده به روش HPLC بر روی ۷۰ نمونه پنیر سنتی کوپه نشان داد، کمترین مقدار هیستامین در پنیر کوپه ۲/۴۳ ppm و بالاترین مقدار مشاهده شده در این نوع پنیر ۱۱۰۲/۲۴ ppm بود. میانگین مقدار هیستامین در کل نمونه‌های مورد مطالعه ۱۵۰/۸۹ ± ۳۰۴/۲۳ بود. اساس تولید هیستامین در پنیر و سایر فرآورده‌های غذایی وجود و رشد میکروارگانیسم‌های دکربوکسیلاز- مثبت در آنهاست، بنابراین ارائه راهکارهایی که جمعیت این دسته از میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهد در کاهش مقدار آمین‌های بیوژنیک از جمله هیستامین مؤثر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: هیستامین، پنیر سنتی کوپه، HPLC، آذربایجان‌غربی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آمین‌های بیوژنیک بازهای آلی با وزن مولکولی پایین هستند که فعالیت بیولوژیکی داشته و عمدتا توسط میکروارگانیسم‌ها و از طریق دکربوکسیلاسیون آنزیمی اسیدهای آمینه تولید می‌شوند (Halasz et al., 1994). هیستامین، تیرامین، پوتریسین، تریپتامین، کاداورین، اسپرمین و۲- فنیل اتیل آمین از جمله آمین‌های بیوژنیک هستند. این نوع از آمین‌ها در مواد غذایی مختلف وجود دارند (Santos, 1996). هیستامین به‌عنوان یک آمین هتروسیکلیک اولیه در فیزیولوژی بدن انسان بویژه در سیستم عصبی و به‌صورت یک واسطه شیمیایی و نوروترانسمیتر نقش مهمی را ایفا می‌کند (Zhang and Sun, 2004). این ترکیب در ماست سل‌ها و بازوفیل-های خون محیطی ذخیره می‌شود. هیستامین در ایجاد پاسخ‌های آلرژیک و التهابی، تنظیم خواب و ترشح اسید معدی نقش دارد. گرچه سلول‌های خاص در بدن انسان توانایی تولید هیستامین را دارند، اما در بسیاری از مواد غذایی و نوشیدنی‌ها مانند پنیر، شیر، گوشت، ماهی، آبجو، شراب و سبزیجات نیز یافت می‌شوند (Svarc-Gajic and Stojanovic, 2011). مقدار هیستامین تشکیل‌شده در ماده غذایی بستگی به ترکیب ماده غذایی، فلور میکروبی و سایر پارامترهایی که روی رشد میکروب‌ها در طول فرآیند و نگه‌داری ماده غذایی تأثیر دارند (مانند افزودنی‌های ماده غذایی، دما، رطوبت، دوره رسیدن و نوع بسته‌بندی) بستگی دارد (Svarc-Gajic and Stojanovic, 2011). افزایش میزان هیستامین اغلب به استفاده از مواد خام با کیفیت پایین، آلودگی، فرآوری و یا نگه‌داری نامناسب ماده غذایی مربوط بوده و به همین علت مقدار هیستامین به‌عنوان شاخص خوبی برای بررسی کیفیت بهداشتی ماده غذایی و نشانگر درجه تازگی یا فساد غذا کاربرد دارد (Aygun et al., 1999; Leuschner et al., 1999). پنیر محیط ایده‌آلی را برای تولید محصولات پروتئولیتیک یعنی اسیدهای آمینه آزاد و آمین‌های بیوژنیک از جمله هیستامین را فراهم می‌نماید که بدلیل داشتن فلور میکروبی خاص، به‌وسیله فعالیت باکتریائی، اثرات سینرژیستی بین میکروارگانیسم‌ها، pH، غلظت نمک، و بطور غیرمستقیم توسط در دسترس بودن آب، درجه حرارت نگه‌داری و زمان رسیدن تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Vale and Gloria,1997; Standra et al., 2000). حضور این ترکیب در پنیر می‌تواند باعث برخی مشکلات از جمله تهوع، ناراحتی تنفسی، قرمزی صورت، عرق کردن، تپش قلب، سردرد، راش‌های قرمز روشن، سوزش دهانی، افزایش یا کاهش فشار خون در مصرف‌کنندگان حساس گردد. اثرات سمی و فیزیولوژیکی نامطلوب و شدت آن به حساسیت فردی، مصرف همزمان الکل، مصرف برخی از داروها (داروهای مهارکننده مونوآمین اکسیداز) و تقویت توسط سایر آمین‌ها بستگی دارد (Stratton et al., 1991; Tsai et al., 2005). تولید نیتروزآمین‌ها، که کارسینوژن‌های بالقوه‌ای هستند، یک خطر توکسیکولوژیکی اضافی مرتبط با آمین‌های بیوژنیک را بویژه در فرآورده‌های گوشتی که حاوی نمک‌های نیتریت و نیترات به‌عنوان عوامل عمل‌آوری هستند ایجاد می‌نماید (Scanlan, 1983; Shalaby, 1996). مقادیر کم هیستامین در پنیر و سایر مواد غذایی خطر چندانی روی سلامتی انسان ندارد. هیستامین به همراه سایر آمین‌های بیوژنیک تیرامین، پوترسین، تریپتامین، کاداورین، و ۲- فنیل اتیل

Archive of SID
www.SID.ir

آمین در انواع مختلف پنیر یافت شده‌اند (Santos,1996). همه آمین‌ها سمیت یکسانی ندارند، هیستامین، تیرامین و ۲- فنیل اتیل آمین نگرانی اصلی هستند (Shalaby, 1996).

پنیر یک محیط ایده‌آل را برای تولید آمین‌ها فراهم می‌نماید، اما غلظت آمین‌ها بطور گسترده‌ای متنوع است و بستگی به فاکتورهایی مثل واریته پنیر، دوره نگه‌داری و میکروفلور آن دارد (Joosten, 1988; Van Boekel and Arentsen-Stasse, 1987). مطالعات زیادی در ایران و جهان در خصوص مقدار آمین‌های بیوژنیک و از جمله هیستامین در انواع پنیر صورت گرفته است (Novella-Rodriguez et al., 2002; Schirone et al., 2011; Ladero et al., 2009; Martuscelli et al., 2005; Aliakbarlu et al., 2011).

پنیر سنتی کوپه از پنیرهای سنتی تهیه شده از شیر خام گوسفندی و گاها تهیه شده از شیر گاوی و یا مخلوطی از هر دو می‌باشد. این نوع پنیر از عطر و طعم و روش تولید خاص و منحصر بفرد خود برخوردار است. برای تولید پنیر، شیر خام دوشیده شده از یک پارچه تمیز به‌عنوان صافی عبور داده شده، پس از مایه-زنی با رنین و تشکیل لخته، آبگیری لخته‌ها با دست و استفاده از یک پارچه تمیز انجام می‌شود. قالب‌های پنیر تازه آماده شده در آب نمک ۳- ۵ ٪ از ۲ روز الی ۲ ماه نگه‌داری می‌شوند. قالب‌های پنیر کامل با چرخ گوشت یا هاون چرخ و یا خرد و در ادامه مخلوط کردن پنیر خرد شده با نمک درشت به میزان ۷ درصد انجام می‌شود، انتقال مخلوط آماده شده به کوزه گلی به‌صورت کاملا لبریز و فشرده انجام و درب کوزه ابتدا با پارچه تمیز و سپس گل پوشانده شده، و پس از آن کوپه یا کوزه بصورت سر و ته به زیر خاک در محلی که سایه بوده و تبادلات هوایی و رطوبتی در خاک متعادل باشد، به طوریکه نفوذ هوا به حداقل برسد انتقال داده می‌شود. پنیرها پس از ٤ ماه آماده مصرف خواهند بود. تکنیک‌های متعددی برای شناسایی آمین‌های بیوژنیک در مواد غذایی ابداع شده‌اند که از جمله آنها کروماتوگرافی لایه نازک TLC، گازکروماتوگرافی GC، کروماتوگرافی تعویض یونی IEC، کروماتوگرافی مایع با کیفیت بالا HPLC و ELISA را می‌توان نام برد (Svarc-Gajic´and Stojanovic, 2011). تکنیک HPLC از روش‌های بسیار قابل اعتماد برای اندازه‌گیری آمین‌های بیوژنیک می‌باشد (Aygun et al., 1999). هدف از این مطالعه بررسی مقدار هیستامین موجود در پنیر کوپه به‌عنوان یکی از انواع پنیرهای سنتی پرطرفدار در آذربایجان غربی با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی مایع با کیفیت بالا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها: تعداد ۷۰ نمونه پنیر کوپه یا کوزه تهیه شده از شیر گوسفندی، از فروشگاه‌های ۱۲ شهر استان آذربایجان غربی خریداری (جدول ۱) و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال‌یافته و تا زمان انجام آزمایش در داخل فریز در دمای ۲۰ – درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. تمامی نمونه‌های پنیر با توجه به قابلیت مصرف و در نظر گرفتن طی دوره رسیدن، از فروشگاه‌ها خریداری شدند. تاریخ تولید تمامی نمونه‌ها در حدود چهار ماه قبل از تاریخ خرید آنها در بهمن ماه سال ۱۳۹۰ بود و دوره رسیدن پنیرها به پایان رسیده و همه نمونه‌ها آماده مصرف بودند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- تعداد نمونه‌های پنیر خریداری شده از شهرهای مختلف

شهر	شاهیندژ	تکاب	میاندوآب	نقده	اشنویه	پیرانشهر	سردشت	مهاباد	ماکو	سلماس	خوی	ارومیه
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۸	۵	۸	۵	۹

آماده‌سازی نمونه: آماده‌سازی نمونه‌ها با انجام اصلاحات جزئی در روش (Moret and Conte, 1996) از طریق استخراج اسیدی و مشتق‌سازی صورت گرفت. مقدار ۱۰ گرم از هر نمونه مستقیماً در لوله سانتریفو ژ وزن گردید به آن ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار حاوی استاندارد داخلی (۱ و ۷- دی آمینو هپتان، mg/L10) اضافه شد. سپس لوله‌های نمونه به‌مدت ۲ دقیقه با استفاده از هموژنایزر (Heidolph Diax 900) هموژن گردید. سوسپانسیون حاصل در دور g ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در ٤ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. مایع رویی هر لوله جمع‌آوری گردیده و رسوب باقی‌مانده مجدداً با همان شرایط فوق سانتریفوژ و مایع رویی حاصل با قبلی مخلوط شده و با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به منظور مشتق‌سازی نمونه‌ها، ۱ میلی‌لیتر استخراج آلی با دو قطره اسید کلریدریک ۱ مولار مخلوط شده و تحت شرایط خلا خشک گردید (Laborota 4003 Heidolph instruments). سپس ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۱ مولار، ۵۰۰ میکرولیتر محلول اشباع بی‌کربنات سدیم و ۱ میلی‌لیتر از محلول دانسیل کلراید ۵ (mg/ml) به آن اضافه شده و به انکوباتور منتقل گردید و به‌مدت یک ساعت در دمای ٤۰°C نگه‌داری شد. در نهایت پس از خشک کردن تحت شرایط خلا ۲ میلی‌لیتر استو نیتریل به آن اضافه شد، محلول حاصل فیلتر شده (Varian, Bond Elut C18) و به ستون کروماتوگرافی تزریق گردید (Moret & conte,1996; Aliakbarlu et al., 2011). مراحل فوق برای استاندارد هیستامین نیز انجام گرفت، به این ترتیب که در ابتدا از استاندارد هیستامین (Sigma, Germany)، محلول استوک ۱۰۰ ppm تهیه و سپس رقت‌های ۱۰ ppm، ۲۰ و ۳۰ از محلول استوک تهیه شد و پس از مشتق‌سازی و فیلتراسیون به ستون کروماتوگرافی تزریق گردید و سطح زیر پیک‌های حاصل محاسبه گردید. همین غلظت‌ها به نمونه پنیر اضافه شده (spike) و مراحل فوق تکرار و مقدار هیستامین در نمونه اسپایک شده اندازه‌گیری شد. از روی مقایسه مقادیر محاسبه شده برای نمونه، استاندارد هیستامین و نمونه اسپایک شده با استاندارد، درصد ریکاوری معادل ۹۵٪ بدست آمد.

شرایط کروماتوگرافی: جهت اندازه‌گیری هیستامین با HPLC از ستون (EC 150/4.6 Nucleodur C18 (Gravity.5µm (Silica for powerful LC separation) استفاده شد. فاز متحرک ترکیبی از آب و استونیتریل بوده و پیک‌های تولیدی دستگاه در ۲٥٤ نانومتر شناسایی و ارزیابی شدند. برنامه شیب غلظت مورد استفاده با سرعت جریان (flow-rate) ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه در جدول ۲ نشان داده شده است.

www.SID.ir

سپس استخراج با حلال آلی (بوتانول) هم انجام گردید، به این صورت که در یک لوله آزمایش ۵ میلی‌لیتر استخراج اسیدی را با ۵ میلی‌لیتر بوتانول مخلوط کرده و به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. این کار سه بار تکرار شد. استخراج آلی با NaCl اشباع شده و با سود به ۱۱/۵= pH رسانده شد.

جدول ۲- برنامه شیب غلظت مورد استفاده برای آنالیز آمین‌های بیوژنیک

زمان (دقیقه)	استونیتریل (٪)	آب (٪)
۰	۵۰	۵۰
۱	۵۰	۵۰
۵	٦۵	۳۵
٦	۷۵	۲۵
۱۰	۸۰	۲۰
۱۵	۹۰	۱۰

آنالیز آماری: مطالعه به‌صورت توصیفی انجام شده است. کلیه آزمایشات با دو بار تکرار و محاسبات آماری نتایج حاصل از آزمایشات با استفاده از میکروسافت MINITAB ver. 16 و بررسی آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA در سطح P_{value} <۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفته است.

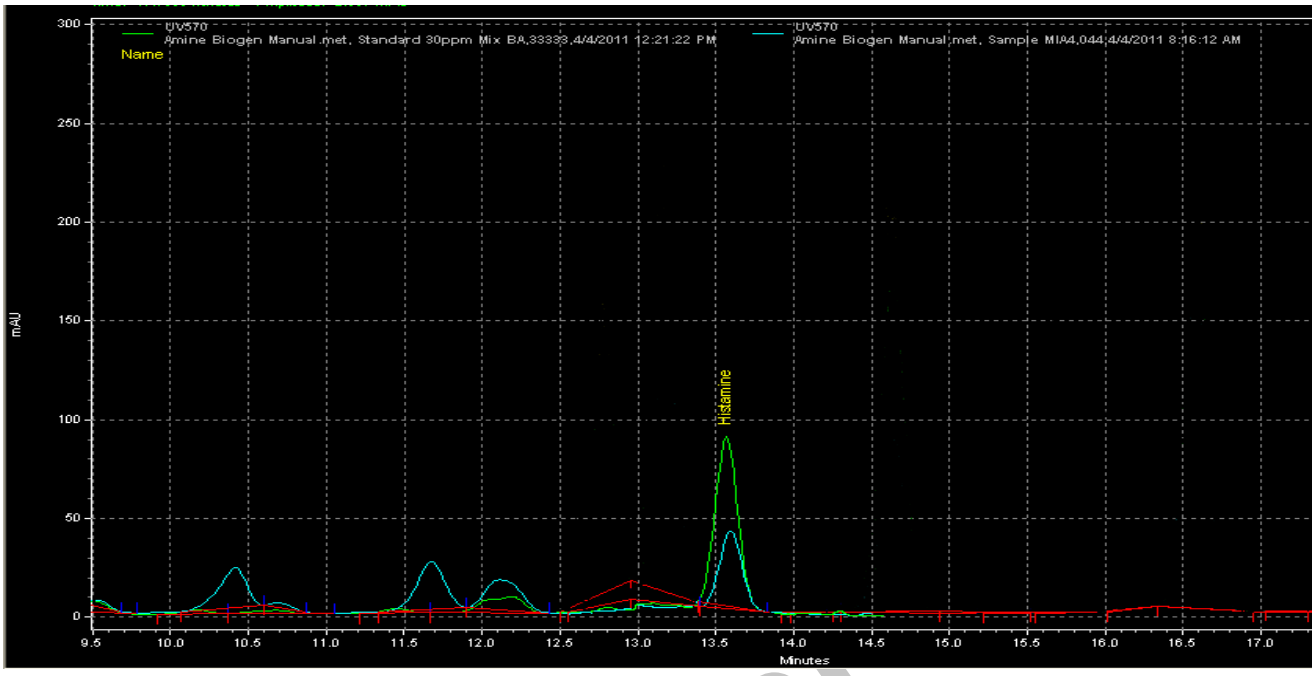
یافته‌ها

میانگین، بیشینه و کمینه مقدار هیستامین بدست آمده از انجام آزمایش برای نمونه‌های پنیر کوپه در جدول ۳ نشان داده شده است. نمونه پیک‌های به‌دست آمده در طول موج ۲۵٤ نانومتر در مقایسه با استاندارد تزریقی به دستگاه در شکل ۱ نشان داده شده است. در نمونه‌های مورد آزمایش کمترین مقدار هیستامین در پنیرهای کوپه ۲/٤۳ ppm و بالاترین مقدار مشاهده شده در این نوع پنیر ۱۱۰۲/۲٤ ppm بود. میانگین مقدار هیستامین در کل نمونه‌های مورد مطالعه ۱۵۰/۸۹ ppm ± ۳۰٤/۲۳ بود.

جدول ۳- مقدار هیستامین در ۷۰ نمونه پنیر کوپه (ppm)

	هیستامین
انحراف معیار ± میانگین	۳۰٤/۲۳ ±۱۵۰/۸۹
بیشینه	۱۱۰۲/۲٤
کمینه	۲/٤۳

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- گراف سبز رنگ، پیک به‌دست آمده از استاندارد تزریقی با غلظت ppm ۳۰، گراف آبی رنگ پیک به‌دست آمده از یک نمونه تزریقی

بحث و نتیجه‌گیری

مقادیر بالای هیستامین در پنیر سنتی کوپه و بیشینه ۱۱۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و میانگین بالای ۱۵۰/۸۹ ± ۳۰٤/۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرمی در نمونه‌های مورد مطالعه نشانگر وجود شرایط مستعدکننده تولید هیستامین در این نوع پنیر طی عملیات تولید و دوره رسیدن و نگه‌داری پنیر می‌باشد. تولید هیستامین در مواد غذایی عمدتا ناشی از دکربوکسیلاسیون میکروبی اسید آمینه هیستیدین و یا کاتالیز واکنش دکربوکسیلاسیون ناشی از آنزیم‌های دکربوکسیلاز اندوجنوس (Endogenous decarboxylase) و یا فعالیت میکروبی غیرکنترل شده میکروبی است (Fernandes et al., 2001) . مقادیر بالای ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیستامین در ماده غذایی باعث مسمومیت غذایی مشابه مسمومیت اسکومبروئیدی ناشی از مصرف ماهیان آلوده خانواده اسکومبروئید (تن ماهیان) می‌شود (Aygün et al., 1999). جذب هیستامین در دامنه ٤٠-۸ میلی‌گرم، ١٠٠-٤٠ میلی‌گرم و بالاتر از ١٠٠ میلی‌گرم به ترتیب باعث مسمومیت خفیف، متوسط و شدید می‌گردد (Parente et al., 2001). نشان داده شده است که حداکثر مقدار مجاز هیستامین در مواد غذایی بایستی در محدوده ١٠٠-٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم باشد (Nout, 1994). نتایج انجام شده بر روی انواع پنیر در ترکیه با استفاده از متد HPLC نشان داد که مقدار آمین‌های بیوژنیک در پنیرهای رسیده بسیار بالاتر از پنیرهای تازه است (Durlu-Ozkaya, 2002). یافته‌های بدست آمده با یافته‌های سایر محققین انجام شده روی انواع دیگر پنیر مطابقت داشت (Ehsani et al., 2012; Pinho and Ferreire, 2001). وجود مقادیر بالای هیستامین در پنیرهای کوپه می‌تواند ناشی از فعالیت آنزیمی پروتئازهای میکروارگانیسمی باشد که از نقطه نظر کیفی

Archive of
www.SID.ir

مهم است. تولید هیستامین به درجه پروتئولیز بستگی دارد (Sumner et al., 1990). ترکیب باکتریولوژیک شیر گوسفندی مورد استفاده در تولید هیستامین از اهمیت خاصی برخوردار است. و هر نوع تغییر در ترکیب مزبور و بر همین اساس وجود مقادیر بالای هیستامین می‌تواند دلالت بر نبود کیفیت بهداشتی شیر مورد استفاده برای تولید پنیر بوده باشد.

در بین میکروارگانیسم‌های دکربوکسیلاز مثبت بسیاری از سویه‌های انتروباکتریاسه و برخی از لاکتوباسیلوس‌ها و پدیوکوکس‌ها و انتروکوکوس‌ها فعال هستند. آمین‌های بیوژنیک از جمله هیستامین در طی نگه‌داری و فرآوری مواد غذایی از طریق دکربوکسیلاسیون حرارتی یا دکربوکسیلاسیون آنزیمی باکتریایی روی اسیدهای آمینه آزاد توسط باکتری‌های باسیلوس، کلستریدیوم، هافنیا، کلبسیلا، مورگانلا مورگانی، پروتئوس، لاکتوباسیلوس‌ها مثل *لاکتوباسیلوس بوخنری* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس برویس* در پنیر، رشد انتروباکتریاسه و انترو کوکوس در ماهی، گوشت و فرآورده‌های آنها تولید می‌شوند (Halasz et al., 1994). در پنیرهای حاوی مقادیر بالای اسید آمینه آزاد، حتی با تعداد کم لاکتوباسیلوس‌های دکربوکسیله‌کننده، آمین‌ها به سرعت تجمع می‌یابند (Halasz et al., 1994). بررسی انجام شده در پنیرهای سنتی ساخته‌شده مانند پنیر لیقوان از شیر گوسفندی نشان داده است که اکثریت جمعیت میکروبی لاکتوکوکوسی در نمونه‌های پنیر با انتروکوکوس‌ها بوده و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس برویس* نیز در جمعیت لاکتوباسیلی میکروفلور موجود در پنیر گوسفندی وجود داشته است (Navidghasemizad et al., 2009). علاوه بر کیفیت اولیه شیر گوسفندی مورد استفاده در تولید پنیر کوپه و روش تهیه سنتی آن، مدت زمان رسیدن بالای پنیر و نگه‌داری پنیر هنگام عرضه در سطح فروشگاه‌ها به نوبه خود در افزایش مقدار آمین‌های بیوژنیک به‌ویژه هیستامین در پنیر نقش دارند (Novella-Rodriguez et al., 2002; Ehsani et al., 2012). زمانی‌که آمین‌های بیوژنیک تولید شدند، نابودی آنها توسط پاستوریزاسیون یا پختن مشکل است. بنابراین، تولید آمین‌های بیوژنیک بایستی از طریق کاربرد بهداشت قوی هم در مواد خام و هم در محیط تولید، همراه با مهار میکروارگانیسم‌های فساد کنترل شود (Santos, 1996).

اساس تولید هیستامین در پنیر و سایر فرآورده‌های غذایی وجود و رشد میکروارگانیسم‌های دکربوکسیلاز مثبت در آنهاست، بنابراین ارائه راهکارهایی که جمعیت این دسته از میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهد در کاهش مقدار آمین‌های بیوژنیک از جمله هیستامین مؤثر خواهد بود. صرف نظر از روش تولید سنتی پنیر کوپه و لزوم رعایت بهداشت در کلیه مراحل تولید، نگه‌داری پنیر رسیده مورد مصرف در سرما در مراکز عرضه و فروش پنیر کوپه و همچنین تا زمان مصرف به منظور مهار رشد و افزایش جمعیت میکروارگانیسم‌ها، مهمترین عامل پیشگیری در افزایش هیستامین است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیریت محترم مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی معاوت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به جهت حمایت مالی از طرح تحقیقاتی حاضر و از ریاست محترم پژوهشکده

Archive of SID
www.SID.ir

آرتمیای دانشگاه ارومیه جناب آقای دکتر علی احسانی سپاسگزاریم.
به جهت مساعدت‌های علمی و عملی ایشان بسیار

منابع

- Aliakbarlu, J., Alizadeh, M., Razavi rohani, S.M. and Agh, N. (2011). Biogenic amines in Iranian white brine cheese: modelling and optimisation of processing factors. International Journal of Dairy Technology, 64(3): 417-424
- Aygun, O., Schneider, E., Scheuer, R., Usleber, E., Gareis, M. and Märtlbauer, E. (1999) Comparison of ELISA and HPLC for the determination of histamine in cheese. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 47: 1961–1964.
- Durlu-Ozkaya, F. (2002). Biogenic amine content of some Turkish cheeses. Journal of Food Processing and Preservation, 26: 259-65.
- Ehsani, A., Mahmoudi, R. and Khodayarii, M. (2012). Histamine Levels in 3 Types of Iranian Cheese by Ion-Exchange Chromatography. Walailak journal of Science and Technology, 9(3): 281-285.
- Fernandes, J.O., Judas, I.C., Oliveira, M.B., Ferreira, I.M.P.L.V.O. and Ferreira, M.A. (2001). A GC–MS method for quantitation of histamine and other biogenic amines in beer. Journal Chromatography Supplement, 53: S-327–S-331.
- Halasz, A., Barath, A., Simon-sarkadi, L. and Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends of food science and technology, 5: 42-49.
- Joosten, H.M.L.J. (1988). The biogenic amines contents of Dutch cheese and their toxicological significance. Netherlands Milk and Dairy Journal, 42: 25–42.
- Ladero, V., Fernández, M. and Alvarez, M.A. (2009). Effect of post-ripening processing on the histamine and histamine-producing bacteria contents of different cheeses. International Dairy Journal, 19: 759-762.
- Leuschner, R.G., Kurthara, M. and Hammes, W.P. (1999). Formation of biogenic amines by proteolytic enterococci during cheese ripening. Journal of Food Science and Food agriculture, 79: 1141-1144.
- Martuscelli, M., Gardini, F., Torriani, S., Mastrocola, D., Serio, A., Chaves-Lopez, C., Schirone, M. and Suzzi G. (2005). Production of biogenic bmines during the ripening of "Pecorino Abruzzese" cheese. International Dairy Journal, 15 (6-9): 571-578.
- Moret, S. and Conte, L.S. (1996). High-performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in foods. An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristics. Journal of Chromatography A, 729: 363-369.
- Navidghasemizad, S., Hesari, J., Saris, P. and Nahaei, M.R. (2009). Isolation of Lactic acid bacteria from Lighvan cheese, a semihard cheese made from raw sheep milk in Iran International Journal of Dairy Technology, 62: 262-264.
- Nout, M.J.R. (1994). Fermented foods and food safety. Food research International, 27: 291-298.
- Novella-Rodriguez, S., Vegianan-Nogues, M.T., Truillo-Mesa, A.J. and Vidal-Carou, M.C. (2002). Profile of biogenic amines in goat cheese made from pasteurized and pressurized milk. Journal of Food Science, 67: 2940-2944.
- Parente, E., Martuscelli, M., Gardini, F., Grieco, S., Crudele, M.A. and Suzzi, G. (2001). Evolution of microbial populations and biogenic amines production in dry sausages produced in southern Italy. Journal of applied microbial, 90: 882-891.
- Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Mendes, E., Oliveira, B.M. and Ferreira, M. (2001). Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amines contents during storage of Azeitao cheese. Food Chemistry, 75: 287–291.

Archive of SID
www.SID.ir

- Santos, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in food. International Journal of Food Microbiology, 29: 213-231.
- Scanlan, R.A. (1983). Formation and occurrence of nitrosamines in foods. Cancer Research, 43: 2435–2440.
- Shalaby, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research Intrnational, 29: 675-690.
- Schirone, M., Tofalo, R., Mazzone, G., Corsetti, A. and Suzzi, G. (2011). Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. Food Microbiology, 28: 128-136.
- Standra, S., Vesela, M. and Dardak, M. (2000). Determination of biogenic amines in cheese by ion exchange chromatigraohy. Nahrung, 44: 28 – 31.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W. and Taylor, S.L. (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods: A review. Journal of Food Protection, 54: 460–470
- Sumner, S.S., Roche, F. and Taylor, S.L. (1990). Factors controlling histamine production in Swiss cheese implicated with lactobacillus buchneri. Journal of Dairy Science, 73: 3050-3058.
- Svarc-Gajic, J. and Stojanovic, Z. (2011). Determination of histamine in cheese by chronopotentiometry on a thin film mercury electrode. Food Chemistry, 124: 1172–1176.
- Tsai, Y.H., Kung, H.F., Lee, T.M., Chen, H.C., Chou, S.S., Wei, C.I. and Hwang, D.F. (2005). Determination of histamine in canned mackerel implicated in a food borne poisoning. Food Control, 16: 579–585.
- Vale, S.R. and Gloria, M.B. (1997). Determination of biogenic amines in cheese. Journal of AOAC International, 80: 1006-1012.
- Van Boekel, M.A. and Arentsen-Stasse, A.P. (1987). Determination of aromatic amines and their precursors in cheese by high performance liquid chromatography. Journal of chromatography, 389(1): 267-272.
- Zhang, L.Y. and Sun, M.X. (2004). Determination of histamine and histidine by capillary zone electrophoresis with pre-column naphthalene-2, 3-dicarboxaldehyde derivatization and fluorescence detection. Journal of Chromatography A, 1040(1): 133–140.

Archive of SID

www.SID.ir

Histamine determination in Koopeh cheese in West-Azerbaijan province by HPLC

Razavi Rohani, S.M.[1], Hassanzadazar, H.[2*], Aliakbarlu, J. [3]

1-Professor, Food Hygiene and Quality Control Department, Veterinary Faculty, Urmia University. Food and Beverage Research Center, Urmia University of Medical science, Urmia, Iran.
2- Food and beverage supervision and control office, Food and Drug Deputy, Urmia University of Medical science, Urmia, Iran.
3- Assistant Professor, Food Hygiene and Quality Control, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.
*Corresponding author email: h.hassanzadazar@yahoo.com
(Received: 2012/12/23 Accepted: 2013/9/28)

Abstract

Histamine as a primary heterocyclic amine has an important role in human physiology particularly in nervous system as a chemical mediator and neurotransmitter that was found in many foods such as cheese, milk, meat, fish, beer, wine and vegetables. Increasing of histamine concentration in foods is often related to low quality of raw materials, contamination, improper food processing or storage. Therefore, the amount of histamine content is used as a good indicator of hygienic quality in foods and the degree of freshness or spoilage of foods. Histamine can cause symptoms in sensitive consumers such as: redness of face, sweating, palpitations, headache, oral burning and bright red rashes. Cheese provides an ideal environment for the production of proteolytic releases of free amino acids and biogenic amines such as histamine. The aim of this study was to evaluate the amount of histamine in Koopeh cheese as one of the most popular types of traditional cheeses made from raw sheep milk or sometimes cow milk in West-Azerbaijan province, Iran. Experiments conducted by HPLC method on 70 samples of traditional Koopeh cheese revealed that the least amount of histamine was 2.43 ppm and the highest value was estimated at 1102.24 ppm. The average amount of histamine in cheese samples was 304.23 ± 150.89 ppm. Histamine production in cheese and other foods is based on the presence and growth of decarboxylase-positive microorganisms. Therefore, providing guidelines that reduce the population of these types of microorganisms will be effective on decreasing the amount of biogenic amines and histamine in particular.

Key words: Histamine, Traditional Koopeh cheese, HPLC, West-Azerbaijan

Archive of SID

www.SID.ir