

روش‌های کاهش آمین‌های بیوژن در پنیر

منصوره محمدی^۱، مرتضی مشایخ^۲، رضا محمدی^۱، عبدالرضا محمدی^۳، سید امیر محمد مرتضویان^۴^۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران^۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران^۳- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: ab.mohammadi@sbm.ac.ir^۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

در سال‌های اخیر تقاضای مصرف کنندگان برای ایمنی غذایی و محصولات سالم‌تر، بررسی روی غذاهای حاوی ترکیبات مضر را افزایش داده است. در میان این ترکیبات سمی، حضور آمین‌های بیوژن (BAS) در غذاهای تخمیری نظیر پنیر، به علت اثرات فیزیولوژیکی نامناسب در انسان، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. بعد از ماهی، پنیر رایج‌ترین غذای مرتبط با مسمومیت هیستامینی است. هدف از این مطالعه، ارائه راهکارهایی برای کاهش آمین‌های بیوژن در پنیر می‌باشد. روش‌های کنترل برای به تأخیر انداختن تشکیل BAS در پنیر شامل بهبود کیفیت شیر خام، به کارگیری روش‌های تشخیص سریع آلودگی باکتریایی، پاستوریزاسیون شیر خام، فشار هیدروستاتیک بالا، استفاده از باکتریوسین‌ها یا استارترهای تولید کننده باکتریوسین، استارترهای پاساژ داده نشده، استارترهای آمین منفی، افزودنی‌ها، کنترل شرایط رسیدگی، پرتودهی، بسته بندی مناسب و آنزیم‌ها یا میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده BAS می‌باشند. این روش‌ها، تشکیل BAS را در پنیر عمده‌تاً از طریق بازدارندگی فعالیت باکتری یا آنزیم دکربوکسیلازی تولید کننده BAS به تأخیر می‌اندازند. استفاده از باکتری‌ها یا آنزیم‌های اکسید کننده آمین نیز برای حذف BAS تشکیل شده بهترین گزینه می‌باشند. کنترل موثر آمین‌های بیوژن ممکن است به ترکیبی از چند روش نیاز داشته باشد که اغلب تحت عنوان تکنولوژی هردل توصیف می‌شود. به نظر می‌رسد اگر مواد خام کیفیت خوبی داشته باشند، موثرترین عامل در کنترل BAS استارترها هستند.

واژگان کلیدی: آمین بیوژن، لبنی، کشت استارتر، باکتریوسین، بسته بندی، فشار هیدروستاتیک بالا

مقدمه

شوند (۲). بسیاری از عوامل نظیر کیفیت شیر خام، دانسیته باکتریایی، دسترسی آمینواسیدهای آزاد، PH، رطوبت، فرآیند تولید، کشت استارتر استفاده شده و شرایط رسیدگی اثرات معنی‌داری روی افزایش BAS دارند. پنیر یک محیط ایده‌آل برای تولید BAS است، اما غلظت BAS در پنیر بسته به عوامل مختلف مثل وارسته، سن و میکروفلور بسیار متفاوت است (۴).

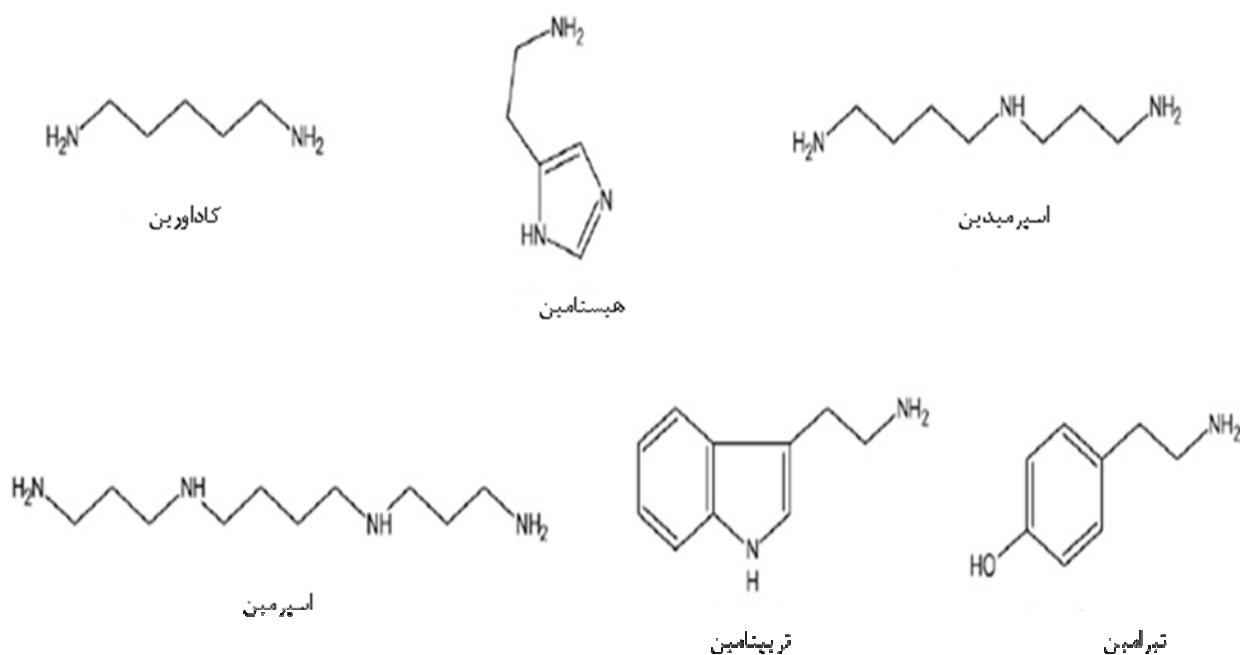
BAS عمده‌تاً توسط میکروارگانیسم‌ها از طریق دکربوکسیلاسیون آنزیمی آمینواسیدها تولید می‌شوند. در بین میکروارگانیسم‌های دکربوکسیلاز مثبت، بسیاری از استرین‌های اشرشیاکلاهی، سالمونلا، شیگلا، انتروباکتریاسه‌آ، کلبسیلا، لیستریا، سیتروباکتر، انتروکوکوس‌ها، پیدیوکوکوس‌ها، لاکتوباسیلوس‌ها، لاکتوکوکوس‌ها،

آمین‌های بیوژن (BAS) ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم دارای خاصیت بازی با ساختار آلیفاتیک (پوتریسین، کاداورین، اسپرمین، اسپرمیدین)، آروماتیک (تیرامین و -۲- فنیل اتیل آمین) و یا هتروسیکلیک (تریپتامین و هیستامین) هستند که طی فعالیت‌های متابولیسم سلولی نظیر دکربوکسیلاسیون آنزیمی و ترانس آمیناسیون آلدئیدها و کتون‌ها در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و یا جانوران سنتز و تجزیه می‌شوند (۱-۳).

آمین‌های بیوژن در انواع مختلف غذاهای نوشیدنی و تخمیری خصوصاً غذاهای غنی از پروتئین نظیر پنیر یافت می‌شوند (۱). طی رسیدگی پنیر، تجزیه کازئین منجر به تجمع آمینواسیدهای آزاد می‌شود که می‌توانند با فعالیت‌های دکربوکسیلاسیون باکتریایی تبدیل به BAS

بنابراین BAS ممکن است معرف‌های سودمندی برای فساد باشند (۵).

حدود ۲۰ نوع BAS در پنیر یافت می‌شوند که انواع رایج‌تر آن عبارتند از هیستامین، تیرامین، ۲-فنیل اتیل آمین، پوتری سین، کاداورین، تریپتامین، اسپرمین و اسپرمیدین. شکل ۱ ساختار مولکولی برخی از BAS رایج‌تر در پنیر را نشان می‌دهد (۱، ۳، ۷).



شکل ۱. ساختار مولکولی آمین‌های بیوژن

افزایش فشار خون که با سردرد شدید همراه است و بعد از مصرف پنیرهایی با محتوای TYA بالا دیده می‌شود (۸، ۲، ۱).

شدت علائم بالینی وابسته به مقدار و نوع BAS مصرف شده، حساسیت شخصی و میزان فعالیت سم‌زدایی در روده و دستگاه گوارش می‌باشد. سم‌زدایی BAS پس از هضم توسط مونو و دی آمین اکسیدازها انجام می‌شود. زمانی که پنیر با مقدار بالای BAS وارد مجرای روده می‌شود، بسته به حضور ترکیبات بازدارنده آمین اکسیدازها و نیز حساسیت فردی، می‌تواند اثرات سمی خود را اعمال نمایند (۹). هم‌چنین آمین‌ها در حضور نیتريت می‌توانند تبدیل به نیتروزآمین شوند که سرطان‌زا است (۵).

محدودیت‌های قانونی برای BAS: از آن جایی که اثرات سمی BAS وابسته به نوع آمین مصرفی، حضور ترکیبات بازدارنده و کارایی مکانیسم‌های سم‌زدایی هر فرد می‌باشد،

سودوموناس، استرپتوکوکوس‌ها و لاکتوباسیلوس به طور ویژه فعالند. تولید BAS در پنیر اغلب مربوط به LAB غیر استارتر و انتروباکتریاسه‌آ (انتروکوکوس فکالیز و انتروکوکوس فائسیم) می‌باشد (۴-۶).

لاکتوباسیلوس‌ها نقش عمده‌ای در تولید هیستامین، تیرامین و پوتری سین ایفا می‌کنند. انتروکوکوس‌ها تولید کنندگان اصلی تیرامین هستند. انتروباکتریاسه‌آ نماینده ساخت پوتری سین و کاداورین حتی در مقادیر کم هستند.

اثرات توکسیکولوژیک: BAS به عنوان بخشی از متابولیسم طبیعی میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات سنتز می‌شوند و در مقادیر کم برای برخی فعالیت‌های بیولوژیک نظیر تقسیم سلولی و تکثیر، تنظیم عملکرد نوکلئیک اسیدها، سنتز پروتئین، تکامل هوش، رشد و تولید مجدد سلول‌های عصبی، انتقال سیناپسی، کنترل فشار خون و عکس‌العمل‌های آلرژیک و در گیاهان برای واکنش‌های استرس اسمزی یا حرارتی، تقسیم سلولی، گل دهی و نیز به عنوان ترکیبات شیمیایی و فیزیکی در مقابل جانوران علف خوار و پاتوژن‌ها حائز اهمیت‌اند. اما در غلظت‌های بالا می‌توانند اثرات زیان‌آوری ایجاد نمایند؛ نظیر اثرات مستقیم یا غیر مستقیم روی رگ‌ها و سیستم عصبی انسان، خارش یا جوش پوستی، سردرد، حالت تهوع، فشار خون کم یا زیاد، تپش قلب، خون‌ریزی داخل مغزی، شوک آنافیلاکسی، سرطان کولون و سینه و cheese reaction (یک بحران

در یک مطالعه باکتری‌های تولید کننده تیرامین با PCR اندازه‌گیری شدند و رابطه خوبی بین نتایج این روش و اندازه‌گیری تیرامین با HPLC به دست آمد. بنابراین، این روش‌ها می‌توانند به تکمیل شناسایی و اندازه‌گیری BAS برای جلوگیری از تجمع BAS کمک نمایند (۱۱).

(۳) پاستوریزاسیون شیر خام اولیه: جدول ۱ محتوای BAS در پنیر رسیده تولید شده با شیر پاستوریزه و پنیر رسیده تولید شده با شیر خام را نشان می‌دهد (۱۲). بسیاری از میکروارگانیسم‌های تولید کننده آمین، طی پاستوریزاسیون از بین می‌روند. لازم به ذکر است که با پاستوریزاسیون BAS تشکیل شده تخریب نمی‌شوند (۴). ولی احتمال تشکیل BAS در شیر خام بسیار کم است و عمده BAS در مرحله رسیدگی پنیر ایجاد می‌شوند. بنابراین هرچه بار میکروبی شیر کمتر باشد، تشکیل BAS در مرحله رسیدگی کمتر خواهد بود. بنابراین پاستوریزاسیون شیر به علت کاهش بار میکروبی سبب کاهش در محتوای BAS نهایی در پنیر می‌شود (۱۳).

(۴) استفاده از فشار هیدروستاتیک بالا (HHP): HHP یک روش نگهداری غیر حرارتی است که با آسیب به غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها آن‌ها را غیر فعال می‌کند. مطالعات نشان دادند که زمانی که HHP برای مواد خام یا محصول نهایی تخمیر به کار گرفته می‌شود، کاهش تعداد باکتری‌ها ممکن است جلوی تشکیل BAS را بگیرد (جدول ۲). بازدارندگی تشکیل BAS وابسته به میزان فشار به کار گرفته شده است. مثلاً در طول رسیدگی پنیر، یک تیمار کم فشار ۵۰ MPa به مدت ۷۲ ساعت، محتوای BAS را افزایش داد، در حالی که یک تیمار با فشار بالا ۴۰۰ MPa به مدت ۵ دقیقه یا ۴۰۰ MPa به مدت ۵ دقیقه به علاوه ۵۰ MPa به مدت ۷۲ ساعت، یک کاهش ملایم را نشان داد (جدول ۲). نتایج مشاهده شده احتمالاً به این علت است که با تیمار کم فشار اولیه، اسپورها فعال می‌شوند و اگر تیمار بعدی برای کاهش میکروارگانیسم‌ها انجام نشود، منجر به افزایش تولید BAS می‌شود، در حالی که اعمال فشار بالا سبب شوک شدید به میکروارگانیسم‌ها شده و سپس اعمال فشار کم، با کاهش میکروارگانیسم‌های آسیب دیده باقیمانده سبب کاهش تولید BAS می‌شود. از طرفی، استفاده از فشار هیدروستاتیک بالا رسیدگی پنیر را تسریع نموده و طول رسیدگی را کاهش می‌دهد که این به کاهش BAS کمک می‌نماید (۱۴، ۱۵).

مشخص کردن آستانه دقیق سمیت BAS در اشخاص بسیار سخت است. دریافت بیش از ۴۰ میلی گرم آمین بیوژن در هر وعده غذایی به طور بالقوه سم در نظر گرفته شده است (۵)، (۴). در حال حاضر، تنها آمین بیوژنی که حدود max در EU و USA برای آن تعیین شده است، هیستامین است. براساس USDA غلظت هیستامین بالاتر از ۵۰۰ ppm سبب بروز مسمومیت هیستامینی می‌شود. قوانین اروپا سطح هیستامین را در ماهی تازه تا ۲۰۰ ppm و برای محصولات شیلات نمک سود شده تا ۵۰۰ ppm محدود کردند. اطلاعات قطعی و روشنی در مورد غلظت‌های هیستامین یا BAS دیگر برای پنیر در دسترس نیست. مقادیر آستانه ۱۰۰ ppm برای تیرامین و ۳۰ ppm برای فنیل اتیل آمین پیشنهاد شده‌اند. غلظت‌های بالای ۱۲۵ ppm TYA برای افراد نرمال سمی در نظر گرفته شده است. توجه به این نکته ضروری است که همیشه بیش از یک نوع BAS در غذا وجود دارد و حداکثر سطح BAS کل ۹۰۰ - ۷۵۰ ppm پیشنهاد شده است (۹)، (۸).

روش‌های کاهش و جلوگیری از تشکیل BAS در پنیر

(۱) بهبود کیفیت شیر خام: به منظور کاهش آلودگی شیر خام اولیه، می‌توان از آموزش به دامداران، رعایت شرایط بهداشتی در دامداری‌ها و در زمان دوشیدن شیر، کاهش دما در طول ذخیره شیر خام، و استفاده از تجهیزات بهداشتی هنگام دوشیدن و نگهداری شیر خام استفاده نمود. توصیه می‌شود تجهیزات شیردوشی بعد از هر بار دوشش به طور کامل ضدعفونی شوند تا از انتقال و افزایش آلودگی میکروبی جلوگیری شود. کاهش دما در طول نگهداری شیر خام نیز با کاهش رشد میکروبی و فعالیت آنزیم‌ها، سبب کاهش میزان آمین‌های بیوژن در محصول نهایی می‌شود (۱۰).

(۲) تشخیص سریع آلودگی باکتریایی با استفاده از روش‌های تشخیص سریع نظیر هیبریدیژاسیون DNA و Real Time quantitative PCR: با تشخیص سریع حضور میکروارگانیسم‌های تولید کننده BAS هم می‌توانیم با فرآیندهای مناسب مثل پاستوریزاسیون آن‌ها را از بین ببریم و هم در صورت لزوم به روش‌های مختلف از رشد و تولید BAS توسط آن‌ها جلوگیری نمائیم. مثلاً با کاهش دما در طول رسیدگی یا با استفاده از باکتریوسین‌ها و افزودنی‌های مناسب که در ادامه به آن‌ها اشاره خواهد شد.

جدول ۱. محتوای آمین‌های بیوژن در انواع مختلف پنیر

نمونه	TY	HI	PHE	TR	PU	CA
پنیر نرسیده n=20	nd ^a -0.6 ^b 0.0 (0.0) ^{1c}	nd ¹	nd ¹	nd ¹	nd-3.1 0.0 (0.4) ¹	nd-1.5 0.0 (0.2) ¹
پنیر رسیده تهیه شده از شیر پاستوریزه n=20	nd-301.4 7.2 (128.9) ¹²	nd-163.6 4.0 (4.0) ¹²	nd-32.0 2.6 (4.6) ²	nd-45.1 0.9 (3.0) ¹	nd-611.7 5.0 (51.6) ²³	nd-710.1 8.0 (16.0) ¹
پنیر رسیده تهیه شده از شیر خام n=20	nd-609.4 125.5 (77.7) ²³	nd-391.4 18.3 (21.1) ³	nd-29.7 0.0 (6.5) ²	nd-33.8 0.3 (6.6) ¹²	nd-670.1 8.1 (62.5) ²	0.9-368.5 29.5 (26.2) ¹
پنیر بزغاله n=20	nd-830.5 8.5 (6.3) ¹²	nd-88.4 1.3 (2.3) ¹	nd-11.7 0.3 (1.1) ¹	nd-17.4 0.6 (1.8) ¹	nd-191.8 4.1 (8.0) ¹	nd-88.7 0.7 (1.8) ¹
پنیر آبی n=20	nd-1585.4 14.4 (39.8) ³	nd-376.6 6.6 (9.9) ²³	nd-39.7 3.4 (3.0) ²	nd-128.8 3.2 (3.9) ²	3.0-257.2 18.0 (10.2) ¹³	nd-2101.4 11.3 (67.0) ²

^a nd = شناخته نشده ^b محدوده (مینیمم- ماکسیمم) ^c میانه (quartile deviation)

¹⁻³ مقادیر در همان ستون دلالت بر این دارند که اعداد بالانس یک ستون متفاوت نیستند ($p > 0.05$).

جدول ۲. کاهش آمین‌های بیوژن از طریق فشار هیدروستاتیک بالا

نوع غذا	HHP به کار رفته	شرایط نگهداری	زمان نگهداری	کاهش در تشکیل BAs	مرجع
رسیدگی پنیر بزغاله	۴۰۰ MPa به مدت ۵ دقیقه و ۵۰ MPa به مدت ۷۲ ساعت در ۱۴ °C	رسیده در ۱۴ °C و رطوبت نسبی ۶۸٪	۲۸ روز	تیرامین از ۱۰.۳ به ۱.۶ ppm کاهش یافت	(Novella-Rodriguez and others 2002)
خمیر گوشت، مواد خام برای تخمیر سوسیس	۲۰۰ MPa در ۱۷ °C به مدت ۱۰ دقیقه	۱۲ °C، رطوبت نسبی < ۹۵٪ به مدت ۱۰ روز، رطوبت نسبی ۸۰٪ تا پایان رسیدگی	۲۱ روز	سطوح پوتریسین و کاداورین کاهش یافت (۸۸٪ و ۹۸٪ کاهش در مقایسه با کنترل)	(Latorre-Moratalla and others 2007)
سوسیس خشک- عمل آوری شده (Chorizo)	۳۵۰ MPa به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۰ °C	۲ °C	۱۶۰ روز	کاهش در تیرامین (۱۷٪)، پوتریسین (۸.۷٪) و کاداورین (۱۲.۵٪)	(Ruiz-Capillas and others 2007)
تن Yellowfin و mahi-mahi	۳۰۰-۴۰۰ MPa به مدت ۵ دقیقه	۴.۴ °C	۱۲ روز	کاهش باکتری تولید کننده هیستامین (<i>Morganella morganii</i>) و فعالیت هیستیدین دکربوکسیلازی آنها	(Bolton and others 2009)

۵) استفاده از باکتریوسین‌ها: در حال حاضر، نایسین تنها باکتریوسینی است که به عنوان نگهدارنده برای استفاده مستقیم در غذای انسان تصویب شده است. نایسین یک پلی‌پپتید تولید شده توسط استرین لاکتیک اسید باکتری خوراکی لاکتوکوکوس لاکتیس ESI 561 می‌باشد که از سال ۱۹۶۹ برای استفاده به عنوان ترکیب ضد میکروبی توسط WHO/FAO تایید شد. غشاء سیتوپلاسمی هدف اولیه نایسین است. مکانیسم عمل نایسین به این صورت است که با لیپید II (یک مولکول پیش‌ساز در تشکیل دیواره سلولی)

تشکیل کمپلکس داده و سپس این کمپلکس، خودش را به غشاء سیتوپلاسمی وارد کرده و تشکیل منافذ می‌دهد که اجازه خروج ترکیبات سلولی ضروری را می‌دهد و سبب بازداری یا مرگ باکتری می‌شود. باکتری‌های گرم منفی به علت تراوایی کمتر دیواره سلولی، به نایسین مقاوم‌ترند. در مورد اسپورها نیز به نظر می‌رسد نایسین با گروه‌های سولفیدریل روی سطح اسپورها باند می‌شود (۱۶، ۱۷). مناسب بودن نایسین به عنوان یک نگهدارنده غذایی به علت مشخصات زیر است: غیر سمی است، در باکتری‌ها

بیشتر در دماهای کمتر رخ می‌دهد. بنابراین اگر نگهداری در دماهای بالا مد نظر است، میزان بیشتری افزودن نایسین نیاز است. برای نمونه، تولید یک cheese spread پاستوریزه فرآوری شده ($10.5 - 8.5^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۰ - ۵ دقیقه در PH ۵.۸ - ۵.۶) سبب از دست رفتن اولیه ۳۰ - ۲۰٪ می‌شود، بقای نایسین بعد از ۳ هفته نگهداری، در 20°C حدود ۸۰٪، در 25°C حدود ۶۰٪ و در 30°C حدود ۴۰٪ می‌شود. جدول ۳ به طور خلاصه، گروه‌های غذایی اصلی را که در آن‌ها فساد یا بیماری‌زایی توسط نایسین کنترل می‌شود نشان می‌دهد. در پنیر، بسته به فرمولاسیون، درصد رطوبت، چربی، سدیم کلراید و افزودنی‌ها، شرایط فرآوری و... سطح نایسین مورد نیاز متفاوت است (۱۶).

مقاومت عرضی ظاهری که ممکن است روی معالجه آنتی بیوتیکی اثر بگذارد ایجاد نمی‌کند و نیز استرین تولید کننده L لاکتیس safe است و به سرعت هضم می‌شود. پایداری نایسین در یک سیستم غذایی در طول نگهداری وابسته به ۳ فاکتور است: دما، طول نگهداری و PH. نایسین در محیط اسیدی پایدارتر است و با افزایش PH، حلالیت آن کاهش می‌یابد. اگرچه، به علت میزان کم نایسین استفاده شده در غذا، حلالیت مشکلی ایجاد نمی‌کند. هم‌چنین نایسین یک محصول به شدت پایدار است که هیچ فعالیتی طی ۲ سال نگهداری تحت شرایط خشک و زیر 25°C ، نشان نمی‌دهد. از دست رفتن فعالیت نایسین در دماهای پاستوریزاسیون به طور معنی‌داری پایین است. اما به طور کلی بقای نایسین

جدول ۳. سطوح افزودن نوعی نایسین و نیسپلین در کاربردهای غذایی

کاربرد غذایی	ارگانیسم هدف اصلی	سطح نایسین (mg/kg) یا سطح نیسپلین (mg/l)	سطح نیسپلین (mg/l)
پنیر فرآوری شده	گونه‌های کلستریدیوم گونه‌های باسیلوس	۵-۱۵	۲۰۰-۶۰۰
شیر و محصولات شیر پاستوریزه	گونه‌های کلستریدیوم گونه‌های باسیلوس	۰/۲۵-۱۰/۰	۱۰-۴۰۰
سوپ‌های سرد پاستوریزه	باسیلوس سرئوس کلستریدیوم پاستوریانوم	۲/۵-۶/۲۵	۱۰۰-۲۰۰
Crumpets	باسیلوس سرئوس	۴-۶/۲۵	۱۵۰-۲۵۰
غذاهای کنسرو شده (اسید بالا)	کلستریدیوم بوتولینوم و ترموساکارولیتیکوم	۲/۵-۵/۰	۱۰۰-۲۰۰
پنیر ریکوتا	لیستریا مونوسایتوژنز	۲/۵-۵/۰	۱۰۰-۲۰۰
سوسیس پخته شده نوع اقلیمی	لاکتیک اسید باکتری‌ها، پروکوتریکس ترموسفاکتا، لیستریا مونوسایتوژنز	۵-۲۵	۲۰۰-۱۰۰۰
سس‌های غوطه‌وری	لاکتیک اسید باکتری‌ها	۱/۲۵-۶/۲۵	۵۰-۲۵۰
چاشنی‌های سالاد	لاکتیک اسید باکتری‌ها	۱/۲۵-۵	۵۰-۲۰۰
آبجو: Pitching yeast wash	لاکتیک اسید باکتری‌ها مثل لاکتوباسیلوس، پدیوکوکوس	۲۵/۰-۳۷/۵	۱۰۰۰-۱۵۰۰
پس از تخمیر		۰/۲۵-۱/۲۵	۱۰-۵۰

می‌باشد (۲۰). چندین مطالعه عنوان کرده‌اند که تخریب پروتئولیتیکی نایسین و واکنش بینابینی آن با اجزاء غذایی ممکن است منجر به کاهش فعالیت ضد میکروبی آن شود. نتایج نشان داده است که افزودن نایسین به شیر بدون چربی و شیری که دارای ۱۲/۹٪ چربی می‌باشد، به ترتیب باعث کاهش ۳۳٪ و ۸۸٪ در میزان فعالیت آن می‌شود. از آن‌جا که پروتئین و چربی اجزاء معمول فرآورده‌های لبنی می‌باشند، استفاده مستقیم این آنتی‌میکروب در این فرآورده‌ها محدود

نایسین روی طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها و اسپور آن‌ها مانند لیستریا، انتروکوکوس، استافیلوکوکوس، استرپتوکوکوس، زیرگونه‌های باسیلوس هوازی اختیاری و بسیاری از میکروارگانیسم‌های دیگر موثر است (۱۹، ۱۸، ۱۶). از این‌رو تولید BAs در پنیر می‌تواند با نایسین در سطوح ۲۰ - ۵ mg/kg کنترل شود (۱۶). طبق کمیته FAO/WHO حداکثر میزان اجازه داده شده جهت کاربرد در شیر ۱۲/۵mg/kg نایسین خالص در هر کیلوگرم از فرآورده

دی استی لاکتیس (UL 719)، پنیر بدون نایسین دارای لاکتوباسیلوس کازئی، پنیر دارای تولید نایسین به صورت *in situ* به همراه لاکتوباسیلوس کازئی و پنیر دارای نایسین لیپوزومی همراه با لاکتوباسیلوس کازئی بودند. نتایج نشان دادند پنیر دارای گونه نایسینوزنیک بسیار اسیدی بوده و مزه تندی دارد، هم‌چنین میزان پروتئولیز و پپتیدهای هیدروفیل و هیدروفوب آن بالا می‌باشد. این امر می‌تواند به قدرت بالای آنزیمی گونه نایسینوزنیک و استاترتر کالچرهای لاکتوکوکوسی دیگر نسبت داده شود. وارد ساختن لاکتوباسیلوس کازئی در پنیر دارای گونه نایسینوزنیک کیفیت عطر و طعم پنیر را افزایش داده و مزه تند آن را کاهش داد. پنیری که دارای نایسین انکپسوله بود تغییر زیادی در مشخصات پروتئولیز، رئولوژی و حسی نداشت. بهترین نتایج در نتیجه وارد سازی لاکتوباسیلوس کازئی در پنیر دارای نایسین انکپسوله بدست آمد که بالاترین کیفیت عطر و طعم فرآورده حاصل شد. این مطالعه با قدرت، استفاده از نایسین انکپسوله لیپوزومی را به عنوان یک ابزار قوی جهت کنترل پاتوژن‌ها در پنیر بدون اثرات جانبی روی ویژگی‌های حسی و رئولوژیکی تأیید می‌نماید (۲۷).

۶) استفاده از کشت استاترتر تولید کننده باکتریوسین: اگرچه پاستوریزاسیون شیر و فرآیندهای بهداشتی بعدی خطر لاکتوباسیل‌ها را کاهش می‌دهد، اما آزمایشات تولید پنیر با لاکتوباسیلوس بوخنری St2A (یک تولید کننده HIA) نشان دادند که آلودگی شیر فقط با تعداد کمی CFU/ml از لاکتوباسیلوس بوخنری St2A سبب تولید مقادیر معنی‌دار BAs می‌شود. از این رو می‌توان از کشت‌های استاترتر تولید کننده باکتریوسین استفاده نمود. در یک پژوهش، سه تولید کننده باکتریوسین به عنوان استاترتر مورد ارزیابی قرار گرفتند: لاکتوباسیلوس لاکتیس ESI 561، انتروکوکوس فکاليس INIA 4-07، انتروکوکوس فکاليس EFS 2. سه ظرف با هر استاترتر تهیه شد. St2A در سه سطح ۱۰^۹، ۱۰^۸ و ۱۰^۷ cfu/ml به آن‌ها و نیز به کنترل‌ها اضافه شد. در پنیرهای کنترل، بعد از ۴ هفته رسیدگی، St2A به سطوح ۱۰^۶ × ۱.۵، ۱۰^۷ × ۳ و ۱۰^۸ × ۱.۱ CFU/g رسید. در پنیرهای ساخته شده با استاترترهای تولید کننده باکتریوسین، St2A زیر حد تشخیص CFU/g ۱۰۰ باقی ماند. به نظر می‌رسد سرکوبی مشاهده شده توسط فعالیت باکتریوسین‌ها ایجاد شده باشد؛ از آن‌جایی که رشد L. بوخنری St2A زمانی که شیر با یک گونه باکتریوسین

می‌شود (۲۱). از طرف دیگر، نایسین به شرایط قلیایی حساس بوده و به دلیل واکنش با اسیدهای آمینه غیر اشباع و ایجاد یکسری از ترکیبات اضافی قابلیت کاربرد آن جهت اضافه کردن مستقیم به مراتب کاهش می‌یابد (۲۲). جهت غلبه بر این محدودیت‌ها میکروانکپسولاسیون نایسین داخل لیپوزوم به طور موثر به کار گرفته شده است که می‌تواند باعث ایجاد حالت بافیری در مقابل تغییرات pH، دما و قدرت یونی و آزاد سازی موثر آن به ماتریکس پنیر در طول رسیدگی و نیز حفاظت باکتری‌های استاترتر کالچر و غیر استاترتر کالچر طی عمل تخمیر فرآورده‌های لبنی شود و از این طریق در ایجاد عطر و طعم مطلوب نقش داشته باشد (۲۳، ۲۴). چندین مطالعه نشان داده‌اند انکپسولاسیون نایسین در لیپوزوم‌ها می‌تواند فعالیت و پایداری آن را در بافت پنیر افزایش دهد. اثرات ممانعتی نایسین انکپسوله شده در مقایسه با تولید *in situ* نایسین توسط لاکتوکوکوس لاکتیس روی لیستریا اینوکوا طی رسیدن پنیر چدار بررسی شد. نتایج ۳ و $\log 1/5$ کاهش در شمارش لیستریا اینوکوا را به ترتیب برای نایسین انکپسوله شده و استاترتر تولید کننده نشان داد. هم‌چنین بعد از ۶ ماه دوره رسیدن تعداد لیستریا اینوکوا در مورد نایسین انکپسوله شده به کمتر از CFU/g ۱۰ با ۹۰٪ فعالیت نایسین رسید، در حالی که در مورد نایسین تولید شده توسط استاترتر این میزان CFU/g ۱۰۴ با ۱۲٪ فعالیت نایسین بود (۲۵). از آن‌جا که نایسین فقط دارای اثر ممانعتی روی باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد، بنابراین محدوده فعالیت آن می‌تواند طی کوانکپسولاسیون نایزین و عوامل شلاته کننده افزایش یابد. بیشترین اثر در مورد کوانکپسولاسیون EDTA مشاهده شده است (۲۳). به نظر می‌رسد استفاده توأم از نایسین انکپسوله شده و دمای پایین روش موثری جهت کنترل لیستریا مونوسایتوجنس در شیر باشد که نشان‌دهنده اهمیت تکنولوژی هردل در ایمنی غذا می‌باشد. طبق مطالعه Malheiros و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر نایسین (در هر دو حالت آزاد و انکپسوله) و دمای یخچال فاکتور موثری جهت کنترل لیستریا مونوسایتوجنس در شیر بوده و تعداد آن را از $\log CFU/ml 4/5$ به کمتر از حد قابل تشخیص طی ۱۴ روز می‌رساند (۲۶).

Benech و همکاران در سال ۲۰۰۳، استفاده از ۵ نوع ترکیب باکتریایی مختلف را طی رسیدن پنیر چدار بررسی کردند. گروه‌های مورد بررسی شامل پنیر بدون نایسین، پنیر دارای تولید نایسین به صورت *in situ* (توسط لاکتوباسیلوس

خودداری نموده و از استارترهای پاساژ داده نشده استفاده نمود (۳۱).

۸) **استفاده از استارترهای آمین منفی:** استفاده از کشت‌های استارتر آمین منفی (دارای عدم توانایی برای دیکربوکسیله کردن آمینواسیدها به BAS) می‌تواند تشکیل BAS را کاهش دهد. مشخص شده ایزوله‌های پنیر manchego از لاکتوباسیلوس پلاننتاروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی باکتری‌های آمین منفی هستند (به جز یک ایزوله از L. پاراکازئی که مشخص شد TYA تولید می‌کند). تلقیح استارترهای مخلوط آمین منفی نیز یک اثر سینرژیست در کنترل BAS می‌گذارد و به کاهش تجمع BAS کمک می‌کند (۱۴).

۹) **استفاده از افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های غذایی:** افزودنی‌ها و نگهدارنده‌ها حاوی ترکیبات ضد میکروبی مختلفی‌اند که با بازداری رشد میکروبی و بازداری تولید آمین می‌توانند تشکیل BAS را در محصولات کاهش دهند. انواع مختلفی از نگهدارنده‌ها برای پنیر به کار گرفته شده‌اند. به عنوان مثال، انواع مغزها مانند گردو و انواع سبزیجات مانند سبزیجات معطر، گوجه، آویشن، پونه، سیر و...؛ که حاوی ترکیبات ضد میکروبی مختلفی می‌باشند. همچنین در پنیر می‌توان از برخی ادویه‌ها نظیر فلفل سیاه استفاده نمود. ترکیبات ادویه‌ها نظیر تیمول جلوی تشکیل BAS را می‌گیرند. تیمول یک مونوترپن فنولی است که خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی دارد و یک ترکیب اصلی آویشن و پونه است. اگرچه آویشن یک طعم نسبتاً تند ناخوشایندی دارد که ممکن است توسط مصرف کننده به عنوان یک جزء فرمولاسیون پذیرفته نشود. سیر یکی از رایج‌ترین گیاهانی است که در جهان به عنوان عامل طعم دهنده استفاده می‌شود. Allicin فعال‌ترین جزء در سیر است که زمانی که بوته سیر فشرده می‌شود، از Allin توسط Allinase E تشکیل می‌شود و فعالیت ضد باکتریایی دارد. معایب استفاده از نگهدارنده‌ها و افزودنی‌ها، نبود دانش در دسترس در مورد میزان اثربخشی آن‌ها در مقابل BAS در پنیر و عدم پذیرش مصرف کننده در برخی افزودنی‌ها می‌باشد (۱۴).

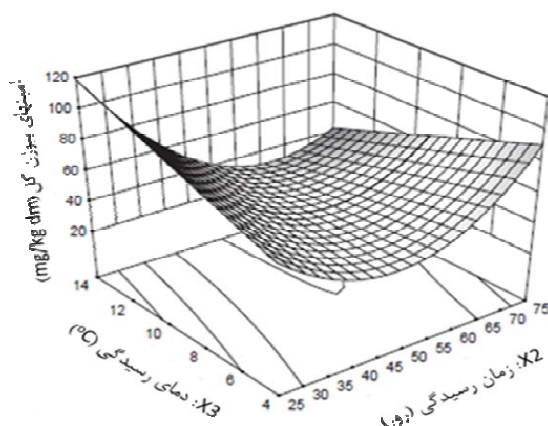
۱۰) **کنترل شرایط رسیدگی:** براساس جدول ۴ دوره تولید BAS در یک پنیر فتا با دوره رسیدگی ۱۲۰ روز، از ۱ تا ۱۵ روز و از ۶۰ تا ۱۲۰ روز می‌باشد. این ممکن است توسط دماهای بالای رسیدگی تا ۱۵ روز و فراوانی آمینواسیدهای آزاد بعد از ۶۰ روز به ترتیب توضیح داده شود. از ۱۵ تا ۶۰

منفی کشت داده شد، بازداری نشد. HIA فقط در پنیر کنترل یافت شد و بسته به میزان تلقیح حدود ۱۷۷، ۱۹۴ و ۲۱۴ mg/kg بود. در حالی که در پنیرهای ساخته شده با استارترهای تولید کننده باکتریوسین، هیچ هیستامینی قابل شناسایی نبود. L. بوخری St2A حساس‌ترین استرین‌های لاکتوباسیلوس از پانل ارزیابی شده بود و آزمایشات بیشتری برای تاثیرگذاری بر علیه استرین‌های با حساسیت کمتر نیاز است (۲۸).

لاکتیک اسید باکتری‌ها به طور گسترده‌ای در غذاهای تخمیری استفاده می‌شوند و به طور معمول به عنوان GRAS شناخته می‌شوند. ثابت شده که بسیاری از استرین‌های LAB تولید کننده باکتریوسین، در مقابل میکروارگانیزم‌های بیماریزا و عامل فساد در محصولات غذایی موثرند. استفاده از LAB با منشا لبنی به علت سازگاری با سوبسترا بهترین انتخاب به عنوان کشت استارتر برای محصولات لبنی می‌باشد. اثرات سینرژیست استرین‌های تولید کننده باکتریوسین روی رشد لیستریا مونوسایتوژنز در شیر skim بررسی شده است. زمانی که L. مونوسایتوژنز همراه با استرین‌های تولید کننده باکتریوسین در کشت رشد کرد، جمعیت L. مونوسایتوژنز در مقایسه با کنترل، بعد از ۲۴ ساعت به میزان تقریباً $\log 4$ کاهش یافت. بنابراین با استفاده از استارترهای تولید کننده باکتریوسین می‌توان از رشد میکروارگانیزم‌ها و تشکیل BAS در پنیر جلوگیری نمود (۲۹).

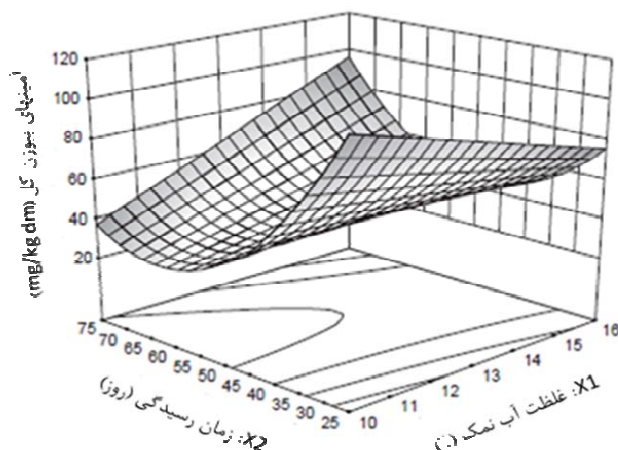
در بسیاری از مطالعات استفاده از استارتر کالچر تولید کننده نایسین به جای نایسین آزاد در فرآورده‌های لبنی با بروز مشکلاتی همراه است؛ از جمله ظهور پاتوژن‌های مقاوم به نایسین، کاهش سرعت اسیدی سازی لخته، افزایش پیوسته لاکتوز باقیمانده و جلوگیری از رشد باکتری‌های مسئول ایجاد عطر و طعم در فرآورده‌های تخمیری (۳۰، ۲۵). بنابراین نتایج تکنولوژیکی و ایمنی کاربرد این میکروارگانیزم‌ها و خواص ارگانولپتیک پنیر با استفاده از آن‌ها باید بررسی شوند.

۷) **جلوگیری از پاساژ دادن متوالی و استفاده از استارتر پاساژ داده نشده:** در صورت پاساژ دادن متوالی کشت‌های استارتر، احتمال آلودگی ثانویه و نیز باکتریوفاژ و جهش‌های نامطلوب در استارتر مورد نظر افزایش می‌یابد. این تغییرات، ممکن است سبب افزایش تولید BAS شوند. بنابراین توصیه می‌شود که از پاساژ دادن زیاد استارترها



شکل ۲. نمودار صفحه‌ای نشان دهنده اثر متقابل زمان رسیدگی و دمای رسیدگی روی محتوای کلی آمین‌های بیوژن در پنیر سفید ایرانی رسیده در آب نمک

شکل ۳ اثر متقابل غلظت آب نمک و زمان رسیدگی را روی محتوای BAS نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل نشان داده شده است، در نمونه‌های پنیر جوان محتوای BAS با افزایش غلظت نمک به علت کاهش میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد. در حالی که در نمونه‌های پنیر رسیده، افزایش غلظت آب نمک، احتمالاً به علت افزایش دکربوکسیلاسیون آنزیمی، اثر مثبتی روی تجمع BAS دارد. به طور کلی به نظر می‌رسد که غلظت بالای نمک برای تولید BAS مطلوب نیست (۳۲).



شکل ۳. نمودار صفحه‌ای نشان دهنده اثر متقابل زمان رسیدگی و غلظت آب نمک روی محتوای کلی آمین‌های بیوژن در پنیر سفید ایرانی رسیده در آب نمک

(۱۱) پرتودهی: پرتودهی از طریق رادیولیز BAS و نیز به وسیله کاهش میکروارگانیسم‌های تولید کننده BAS می‌تواند BAS را در غذاها کنترل نماید. هم‌چنین این احتمال می‌تواند وجود داشته باشد که اشعه، فعالیت آنزیم‌های

روز تولید BAS به آهستگی صورت می‌پذیرد که نشان می‌دهد PH کم و غلظت بالای نمک در پنیر فتا شرایط مطلوبی برای دکربوکسیلاسیون آمینواسیدها ایجاد نمی‌کند و سطح BAS را نسبتاً کم نگه می‌دارد (۴). دوره‌های رسیدگی طولانی سبب افزایش تشکیل آمین می‌شوند. از این رو تشکیل BAS می‌تواند توسط کاهش طول دوره رسیدن کنترل شود، اما واضح است که این مسئله برای توسعه طعم نامطلوب بوده بنابراین توصیه نمی‌شود (۲۸).

جدول ۴. آمین‌های بیوژن در پنیر فتا در طول رسیدگی

آمین‌ها (mg/kg)	سن (روز)						
	۱	۳	۱۵	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰
تیرامین	۰.۰۰	۵.۱۲	۱۴.۰	۱۵.۸	۱۵.۲	۲۰.۴	۲۴.۶
هیستامین	۲.۴۰	۰.۰۰	۲۵.۹	۳۸.۲	۴۷.۰	۷۶.۴	۸۴.۶
پوترسین	۱.۶۲	۲.۵۱	۳۶.۲	۵۳.۶	۷۷.۷	۱۵۳	۱۹۳
کاداورین	۰.۲۷	۶.۷۷	۶۳.۰	۶۷.۹	۴۴	۶۰.۲	۸۲.۸
تریپتامین	۴.۳۹	۶.۲۴	۴۰.۱	۳۲.۷	۲۱.۸	۳.۵۳	۵.۷۴
فنیل اتیل آمین	۳.۵۱	۰.۷۷	۳.۳۲	۳.۰۲	۷.۰۴	۳.۷۷	۴.۹۴
کل	۱۲.۲	۲۱.۴	۲۷۳	۳۲۴	۳۳۰	۵۰۱	۶۱۷

^a مقادیر میانگین

اثرات همزمان فاکتورهایی نظیر زمان رسیدگی (۷۵ – ۲۵ روز)، دمای رسیدگی (۴ – ۱۴ °C) و غلظت آب نمک (۱۳ – ۱۰٪) نیز روی محتوای BAS پنیر سفید ایرانی رسیده در آب نمک مطالعه شده است.

شکل ۲ اثر متقابل دما و زمان رسیدگی را روی محتوای BAS پنیر سفید ایرانی نشان می‌دهد. در زمان‌های اولیه رسیدگی، محتوای BAS با افزایش دمای رسیدگی افزایش یافت، در حالی که در زمان‌های بالای رسیدن، با افزایش دمای رسیدن، محتوای BAS کاهش یافت. این اثر متناقض دمای رسیدگی، می‌تواند به تغییرات بافتی لخته پنیر در طول زمان نسبت داده شود. در مراحل اولیه زمان رسیدگی، لخته سفت و محکم است و BAS تولید شده، در ماتریکس پنیر تجمع می‌یابد. اما با افزایش زمان رسیدن و نرم شدن بافت پنیر، BAS تولید شده، از لخته به آب نمک انتشار می‌یابد و افزایش دما اثر مثبتی روی سرعت انتشار دارد. اما با توجه به افزایش تشکیل BAS با افزایش دما در مراحل اولیه، توصیه می‌شود در طول رسیدگی، برای جلوگیری از فعالیت‌های پروتئولیتیک و دکربوکسیلازی باکتری‌ها و کاهش تشکیل BAS دماهای کم به کار بروند.

میکروفلور، شرایط محیطی نظیر دما، و هم‌چنین مخلوط گازی استفاده شده می‌باشد (۱۴).

۱۳) استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده BAS و یا میکروارگانیسم‌های تولید کننده این آنزیم‌ها: جایی که کنترل میزان BAS از طریق روش‌های دیگر سخت است و برای حذف BAS تشکیل شده، استفاده از میکروارگانیسم‌ها یا آنزیم‌های اکسیدکننده نظیر مونو و دی آمین اکسیدازها برای کاهش سطح BAS در پنیر یک روش کنترل بالقوه می‌باشد. این باکتری‌ها شامل میکروکوکوس واریانس، ناترینماگاری، بروی باکتریوم لینن، ویرگی باسیلوس SK 33، لاکتوباسیلوس ساکنی، لاکتوباسیلوس کورواتوس و S. گزیلوس می‌باشند که می‌توانند در مرحله فرآوری پنیر برای تجزیه BAS و یا به عنوان استارتر استفاده شوند. استفاده از بروی باکتریوم لینن، HIA را به میزان ۷۰٪ و TYA را به میزان ۵۵٪ در پنیر Munster در طول ۴ هفته رسیدگی کاهش داد. به منظور تعیین اثر بخشی آنزیم در تجزیه BAS در ماتریکس‌های غذایی مختلف نیز، به بررسی فعالیت DAO در شرایط مختلف دما، PH، غلظت DAO و... نیاز می‌باشد (۱۴).

مدل سازی میکروبی: دما، زمان، PH، a_w و غلظت نمک روی تولید BAS تاثیر می‌گذارند. این‌ها می‌توانند برای گونه‌های میکروبی تولید کننده BAS در غذاها مدل سازی شوند. این مدل‌ها می‌توانند به طراحی و توسعه شرایط برای محدود کردن تولید آمین‌ها و بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌های تولید کننده آمین‌ها کمک کنند. با کمک مدل سازی می‌توان شدت تاثیر هر فاکتور موثر و نیز مهم‌ترین فاکتور موثر را شناسایی نمود. اگرچه بسیاری از گونه‌های باکتریایی قادر به تولید BAS هستند و بنابراین مدل سازی کلی برای تمام این گونه‌ها، پیچیده و زمان‌بر خواهد بود. از آنجایی که مدل سازی محدودی روی باکتری‌های تشکیل دهنده BAS گزارش شده است، به توسعه مدل‌های جدید یا بهبود مدل‌های فعلی از طریق محاسبات بعدی نیاز است (۱۴).

نتیجه گیری

تشکیل BAS با فساد مرتبط است و عملیات بهداشتی ضعیف را نشان می‌دهد. یک فاکتور ضروری در تشکیل BAS در غذا، حضور استرین‌های باکتریایی با توانایی دگروکسیله کردن آمینواسیدها و نیز دسترسی به سوپستراهای آمینواسیدی است. روش ابتدایی برای کنترل

دگروکسیلازی را بازدارندگی نماید، اگرچه این به بررسی نیاز دارد. مطالعات نشان داده که با افزایش دوز اشعه، تجزیه BAS افزایش می‌یابد. البته استفاده از دوزهای خیلی بالا ممکن است طعمی تحت عنوان "طعم اشعه دهی" (irradiation taste) ایجاد نماید. اشعه گاما تشکیل برخی BAS را کاهش و تشکیل برخی دیگر را افزایش می‌دهد و شاید به این علت است که اشعه، ساختار و خواص فیزیولوژیک آنزیم‌هایی که تولید BAS می‌کنند را تغییر می‌دهد، ولی به طور کلی، اشعه محتوای کلی BAS را کاهش می‌دهد. برخی مقاومت‌های مصرف کننده برای استفاده از اشعه وجود دارد. محصولات رادیولیز BAS در غذاهای اشعه دیده و اثرات بیولوژیکی آن‌ها به مطالعه نیاز دارد (۱۴).

۱۲) بسته بندی: دوره نگهداری و روش بسته بندی اثرات معنی‌داری روی تشکیل BAS و کیفیت پنیر کاشار نشان دادند. استفاده از بسته بندی خلا و دمای کم (4°C) در نگهداری پنیر کاشار تشکیل فیل ایل آمین، کاداورین و هیستامین را در پنیر کاشار محدود نمود. برای توسعه shelf life پنیر کاشار، ارزیابی اثرات شرایط نگهداری و روش بسته بندی روی ویژگی‌های شیمیایی و بیوشیمیایی از مهم‌ترین موارد است (۳۳). نگهداری از طریق بسته بندی معمولاً شامل تغییر مخلوط گازی محیط اطراف محصول است. در مقایسه با بسته بندی هوا، بسته بندی‌های فعال، وکیوم و MAP از طریق بازدارنده فعالیت آنزیمی و یا باکتری‌های تولید کننده آمین، به طور موثرتری تشکیل آمین‌های بیوژن را بازدارنده نموده و یا به تأخیر می‌اندازند. به این منظور باید ابتدا پروفایل میکروبی ماده مورد نظر مشخص شود و سپس بر اساس هوازی یا بی‌هوازی بودن میکروارگانیسم‌های تولید کننده BAS در محصول مورد نظر، تغییرات گازی مناسب اعمال شود.

به تازگی یک روش بسته بندی جدید توسعه یافته شامل ترکیب اسیدهای آلی محصول با CO_2 در head space است که در محصول حل می‌شوند تا یک وکیوم ایجاد شود. به این محصولات، $\text{CO}_2 - \text{vacuum packed}$ products گفته می‌شود. این به عنوان یک روش موثر برای بازدارنده رشد میکروبی و کاهش تولید BAS روی سالمون استفاده شد. هم‌چنین می‌توان از ترکیب MAP و انجماد و دیفراسه یا MAP همراه ترکیبات ضد میکروبی (مثل $\text{Na}_2\text{Ca EDTA}$) اثر سینرژیستی روی کنترل تولید BAS گذاشت. موفقیت بازدارنده BAS در انواع مختلف بسته بندی، وابسته به نوع

BAs استارترها هستند. هم‌چنین به منظور تجزیه BAs تشکیل شده، استفاده از باکتری‌ها و آنزیم‌های اکسید کننده آمین‌ها، بهترین گزینه هستند. روش‌هایی که در حال حاضر بیشتر در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند، پاستوریزاسیون و استفاده از نایسین یا استارتر تولید کننده باکتریوسین‌ها می‌باشند. به نظر می‌رسد مناسب‌ترین روش استفاده از نایسین آن‌کپسوله شده در لیپوزوم باشد. سایر روش‌ها به تناسب شرایط تا حدی مورد استفاده بوده‌اند، ولی با توجه به پتانسیل خوب این روش‌ها در جلوگیری از BAs توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری روی آن‌ها صورت پذیرد.

BAs در غذاها عموماً کنترل دما می‌باشد. اما از آن‌جایی که برخی باکتری‌هایی که تشکیل BAs می‌دهند، می‌توانند در زیر ۵ °C رشد کنند، سرد کردن شیر خام یا کاهش دما در طول رسیدگی، به تنهایی همیشه BAs را کنترل نمی‌کند و بنابراین، روش‌های کنترل دیگری نیز لازم است بررسی شوند. گاهی نیز می‌توان از ترکیب چند روش استفاده کرد (تکنولوژی هردل). روش‌های کنترل، تشکیل BAs را در غذاها عمدتاً از طریق بازداري فعالیت باکتری یا آنزیم دکتروکسیلازی تولیدکننده BA به تأخیر می‌اندازند. اگر مواد خام کیفیت خوبی داشته باشند، موثرترین عامل در کنترل

References

1. Mardiana Saaid, Bahruddin Saad, Noor Hasani Hashim, Abdussalam Salhin Mohamed Ali, Muhammad Idris Saleh, Determination of biogenic amines in selected Malaysian food, *Food Chemistry* 113, 2009, 1356–1362.
2. N. Innocente, M. Biasutti, M. Padovese, S. Moret, Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract, *Food Chemistry* 101, 2007, 1285–1289.
3. H.K. Mayer, G. Fiechter, E. Fischer, A new ultra-pressure liquid chromatography method for the determination of biogenic amines in cheese, *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217: 3251–3257.
4. Konstantina Valsamaki, Alexandra Michaelidou, Anna Polychroniadou, Biogenic amine production in Feta cheese, *Food Chemistry* 71, 2000, 259–266.
5. Silvana Vale & M. Beat & A. Glhia, Biogenic amines in Brazilian cheeses, *Food Chemistry*, 1998, Vol. 63, No. 3, 343–348.
6. M. Martuscelli, F. Gardini, S. Torriani, D. Mastrocolaa, A. Serio, C. Chaves-Lopez, et al., Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese, *International Dairy Journal* 15, 2005, 571–578.
7. F. Gosetti, E. Mazzucco, V. Gianotti, S. Polati, M.C. Gennaro, High performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of biogenic amines in typical Piedmont cheeses, *Journal of Chromatography A*, 2007, 1149: 151–157.
8. Tao Tang, Kun Qian, Tianyu Shi, Fang Wang, Jianqiang Li, Yongsong Cao, Qiongbo Hu, Monitoring the contents of biogenic amines in sufu by HPLC with SPE and pre-column derivatization, *Food Control* 22, 2011, 1203–1208.
9. Victor Ladero, Marina Calles, María Fernández and Miguel A. Alvarez, Toxicological Effects of Dietary Biogenic Amines, *Current Nutrition & Food Science*, 2010, 6: 145–156.
10. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, editors. *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Inc, 2000. p. 206–235.
11. Mari'a Fernandez, Daniel M Linares, Beatriz del Río, Victor Ladero and Miguel A Alvarez, HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms, *Journal of Dairy Research*, 2007, 74: 276–282.
12. S. Novella-Rodriguez, M.T. Veciana-Nogues, M. Izquierdo-Pulido, and M.C. Vidal-Carou, Distribution of Biogenic Amines and Polyamines in Cheese, *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, 2003, Vol. 68, Nr. 3, 750–755.
13. Sonia Novella-Rodriguez, M Teresa Veciana-Nogue's, Artur X Roig-Sague's, Antonio J Trujillo-Mesa and M Carmen Vidal-Carou, Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk, *Journal of Dairy Research*, 2004, 71: 245–252.
14. Aishath Naila, Steve Flint, Graham Fletcher, Phil Bremer, and Gerrit Meerdink, Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches, *Journal of Food Science*, 2010, Vol. 75, Nr. 7, 139–150.
15. Sonia Novella-Rodriguez, M. Teresa Veciana-Nogues, Jordi Saldo, and M. Carmen Vidal-Carou,

- Effects of High Hydrostatic Pressure Treatments on Biogenic Amine Contents in Goat Cheeses during Ripening, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50: 7288-7292.
16. J. Delves-Broughton, Nisin as a food preservative, *Food Australia*, 2005, 57 (12): 525-527.
17. Elke Ruhr and Hans-g. Sahl, Mode of Action of the Peptide Antibiotic Nisin and Influence on the Membrane Potential of Whole Cells and on Cytoplasmic and Artificial Membrane Vesicles, *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 1985, Vol. 27, No. 5, 841-845.
18. Grattepanche F, Miescher-Schwenninger S, Meile L, Lacroix C, Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities, *Dairy Sci Technol*, 2008, 88: 421-444.
19. Sobrino-Lopez A, Martin-Belloso O, Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products, *International Dairy Journal*, 2008, 18: 329-43.
20. Arauz LJ, Jozala AF, Mazzola PG, VessoniPenna TC, Nisin biotechnological production and application, a review. *Trends Food Sci Technol*, 2009, 20: 146-154.
21. Jung DS, Bodyfelt FW, DaeschelMA, Influence of Fat and Emulsifiers on the Efficacy of Nisin in Inhibiting *Listeria monocytogenes* in Fluid Milk. *J Dairy Sci*, 1991, 75: 387-93.
22. Liu W, Hansen JA, Some Chemical and Physical Properties of Nisin, a Small-Protein Antibiotic Produced by *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56: 2551-58.
23. Taylor TM, Bruce BD, Weiss J, Davidson PM, *Listeria Monocytogenes* and *Escherichia coli* O157, H7 Inhibition in vitro by Liposome-Encapsulated Nisin and Ethylene Diaminetetraacetic acid. *J Food Safety*, 2008, 28: 183-97.
24. Mozafari MR, Johnson C, Hatziantoniou S, Demetzos C, Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology. *J Liposome Res*, 2008, 18: 309-27.
25. Benech RO, Kheadr EE, Lacroix C, Fliss I, Antibacterial Activities of Nisin Z Encapsulated in Liposomes or Produced In Situ by Mixed Culture during Cheddar Cheese Ripening. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 5607-5619.
26. Malheiros PS, Sant'Anna V, Micheletto YMS, Silveira MP, Brandelli A, Nanovesicle encapsulation of antimicrobial peptide P34, physicochemical characterization and mode of action on *Listeria monocytogenes*. *J Nanopart Res*, 2011, 13: 3545- 52.
27. Benech RO, Kheadr EE, Lacroix C, Fliss I, Impact of nisin producing culture and liposome encapsulated nisin on ripening of *Lactobacillus* added Cheddar cheese. *J Dairy Sci*, 2003, 86: 1895-909.
28. H Joosten and M Nunez, Prevention of histamine formation in cheese by bacteriocin-producing lactic Acid bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(4):1178.
29. Sofia Cosentino, Maria Elisabetta Fadda, Maura Deplano, Roberta Melis, Rita Pomata, and Maria Barbara Pisano, Antilisterial Activity of Nisin-Like Bacteriocin Producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Isolated from Traditional Sardinian Dairy Products, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, Volume 2012, Article ID 376428, 8 pages.
30. Barnby-Smith FM, Bacteriocins, applications in food preservation. *Trends Food Sci Technol*, 1992, 3: 133-137.
31. Robinson RK, editor. *Dairy Microbiology Handbook*. 3th ed. John Wiley and Sons, Inc, New York. 2002. p. 39-123
32. Javad Aliakbarlu, Mohammad Akizadeh, Seyed Mehdi Razavi-Rohani and Naser Agh, Biogenic amines in Iranian white brine cheese: modeling and optimisation of processing factors, *International Journal of Dairy Technology*, 2011, Vol 64, No 3, 417-424.
33. S. Andiç , Y. Tunçtürk , and H. Genççelep, The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese, *Journal of Dairy Science*, 2011, Vol. 94 No. 4, 1668-1678.

Procedures of reduction of BAs in cheese

Mohammadi M¹, Mashayekh M², Mohammadi R², Mohammadi A^{*3}, Mortazavian AM⁴

1. Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences, Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. *Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences, Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: ab.mohammadi@sbmu.ac.ir
4. Associate Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences, Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

In recent years, the demand of consumers for food safety as well as healthier products has promoted the investigation for food with harmful compounds. Among these toxic compounds, the presence of biogenic amines (BAs) in fermented foods, such as cheese have received considerable interest due to their undesirable physiological effects in humans. After fish, cheese is the next most commonly implicated food associated with histamine poisoning. The aim of this study was to present procedures for reduction of biogenic amines in cheese. Control measures for delaying biogenic amines formation in cheese include improvement the raw milk quality, employment of quick detection methods of bacterial contamination, pasteurization of raw milk, high hydrostatic pressure, use of bacteriocins or bacteriocin producing starters, not passaged starters, amine negative starters, additives, control the ripening conditions, irradiation, appropriate packaging, and biogenic amines oxidizing MOs or enzymes. These methods delay biogenic amines formation in cheese primarily through the inhibition of bacteria or the decarboxylase enzyme activity responsible for amine production. The use of amine oxidizing bacteria and enzymes are the best options to eliminate already formed biogenic amines. Effective control of biogenic amines may require a combination of several factors that often described as hurdle technology. The control of biogenic amines with starters is likely to be most effective with good quality raw material.

Keywords: Biogenic amine, Dairy, Starter culture, Bacteriocin, Packaging, High hydrostatic pressure