

BIOGENIC AMINE CONTENT IN STERILIZED AND PASTEURIZED PROCESSED CHEESE

BIOGENNÍ AMINY V STERILOVANÉM A PASTEROVANÉM TAVENÉM SÝRU

Novická K., Komprda T.

Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: katta2@centrum.cz

ABSTRACT

Biogenic amines (tryptamine, phenylethylamine, histamine, tyramine, putrescine, cadaverine, spermidine and spermine) were determined in the samples of processed cheese, a possible effect of heat treatment, storage time and temperature of the samples on amines content was tested. In all cases, tyramine was quantitatively the most important biogenic amine (1,3 – 29,3 mg/kg), the highest level ($P < 0.05$) was found in pasteurized processed cheese stored 22 weeks after processing. In spite of that, neither temperature, nor storage time influenced the amines content significantly and it can be concluded that the processed cheese represents no health hazard regarding biogenic amines content even when stored long-term.

Keywords: tyramine, biogenic amines, processed cheese

ABSTRAKT

Biogenní aminy (tryptamin, fenylethylamin, histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, spermidin a spermin) byly stanovovány ve vzorcích taveného sýra, byl zjišťován možný vliv tepelné úpravy, teploty a doby skladování vzorků na obsah sledovaných aminů. Kvantitativně nejvýznamnějším aminem byl ve všech případech tyramin (1,3 – 29,3 mg/kg), nejvyšší koncentrace ($P < 0,05$) byla zjištěna u pasterovaného taveného sýru skladovaného 22 týdnů při teplotě 8 °C. Teplota ani doba skladování výrazně neovlivnily množství stanovovaných aminů. Na základě experimentu lze konstatovat, že tavený sýr, i v případě dlouhodobého skladování, nepředstavuje z hlediska biogenních aminů zdravotní riziko.

Klíčová slova: tyramin, biogenní aminy, tavený sýr

ÚVOD

Sýry, běžná součást výživy člověka, patří k potravinám s nejvyšším obsahem biogenních aminů.

Biogenní aminy představují skupinu nízkomolekulárních organických bazí, vznikajících nejčastěji dekarboxylací přirozených aminokyselin. Přestože jsou u živočichů potřebné pro řadu fyziologických funkcí, jejich nadměrný příjem potravou může vést k projevům intoxikace (Silla-Santos, 1996). Nejzávažnější zdravotní komplikace jsou spojovány s tyraminem a histaminem. Mohou se projevovat nevolností, dýchacími obtížemi, bolením hlavy, bušením srdce, zvýšením i poklesem krevního tlaku, červenou vyrážkou (Křížek, Kalač, 1996). U některých osob (alergické predispozice, léčba inhibitory monoaminoxidázy) mohou však již relativně nízké hladiny biogenních aminů vést ke zdravotním problémům (Silla-Santos, 1996).

V poslední době poutá pozornost skupina polyaminů (spermin, spermidin, putrescin, kadaverin). Mezi jejich biologické funkce patří mj. účast na buněčném růstu a proliferaci, v popředí zájmu tak stojí jejich možná účast v nádorovém bujení. Polyaminy jsou také považovány za potenciální prekursorů kancerogenních N-nitrososloučenin a aromatických heterocyklů (Kalač, Krausová, 2005).

METODIKA

Tavený sýr použitý v experimentu byl vyroben z Eidamské cihly (o tučnosti 45 %), Moravského bloku, másla, sýřeniny, vody a tavicích solí. Jednotlivé vzorky (jejich popis uvádí tabulka 1) se od sebe nadále lišily způsobem konzervace (pasterace, sterilace), teplotou skladování (8 °C, 25 °C) a dobou skladování (22, 57 týdnů).

Vzorky byly zpracovávány a analyzovány ihned po odebrání z původního obalu. 10 g (± 1 mg) vzorku bylo po přidání 0,5 ml vnitřního standardu (1, 7-diaminoheptan) extrahováno 20 ml 0,1M HCl. 1 ml extraktu (popř. standardu) byl derivatizován dansyl chloridem (5 mg dansyl chloridu na 1 ml acetonu) při 40 °C ve tmě po dobu 1 hodiny. Po derivatizaci bylo přidáno 250 μ l amoniaku pro odstranění přebytku dansyl chloridu. Roztok dansyl chloridu v acetonu a veškeré standardy i extrakty přidání dansyl chloridu byly ihned baleny do hliníkové folie (fotolabilita dansyl chloridu). Po následné extrakci diethyletherem (3x1 ml) byla organická fáze odpařena do sucha proudem dusíku a odparek rozpuštěn v 0,5 ml acetonitrilu (standard v 1 ml acetonitrilu). Po přefiltrování přes membránový filtr (0,45 μ m) byl roztok dávkován na chromatografickou kolonu.

Vlastní separace byla provedena gradientovou elucí s mobilní fází H₂O/acetonitril (0-23 minut : H₂O: 35 – 0 %, acetonitril : 65 – 100 %) při průtoku 0,8 ml.min⁻¹ na koloně Zorbax Eclipse XDB C 18 s předkolonkou Meta Guard ODS-2 s použitím UV detektoru při 254 nm.

S ohledem na několik kroků přípravy vzorku bylo pro kvantitativní stanovení analyzovaných látek použito metody vnitřního standardu. Výpočet koncentrace analytu ve vzorku byl proveden pomocí vztahu $c_x = RF_x \times (c_{IS} \times A_x)/A_{IS}$, kde RF_x je tzv. faktor odezvy (response factor) stanovovaného aminu, A_{IS} je plocha píku vnitřního standardu, A_x je plocha stanovovaného aminu, c_{IS} je koncentrace vnitřního standardu a c_x je koncentrace stanovovaného aminu.

K identifikaci separovaných aminů (histamin, tyramin, tryptamin, putrescin, 2-fenylethylamin, kadaverin, spermin, spermidin) ve vzorcích bylo použito porovnávání retenčních časů standardů a solutů ve vzorku.

Vzorky byly současně podrobeny mikrobiologickému rozboru (stanovení celkového počtu mikroorganismů, laktátových a koliformních bakterií, kvasinek, plísní a anaerobů; Komprda et al., 2004)

Pro statistické zhodnocení bylo použito jednostupňové třídění analýzy rozptylu s využitím programu Unistat, verze 4.53.

Tab.1: Popis analyzovaných vzorků taveného sýra

Označení vzorku	n*	Způsob konzervace	Teplota skladování [°C]	Doba skladování [dny]
S1	2	sterilace	8	150
S2	4	sterilace	8	400
S3	4	sterilace	25	400
P1	2	pasterace	8	150
P2	4	pasterace	8	400

n – počet testovaných vzorků

** - každý vzorek byl testován ve dvojím opakování*

VÝSLEDKY A DISKUZE

Přítomnost biogenních aminů v tavených sýrech je zřejmě dána jejich přenosem ze zrajících sýrů používaných při výrobě. V experimentu jsme sledovali možný vliv tepelné úpravy (pasterace, sterilace), doby (22, 57 týdnů) a teploty (8 °C, 25 °C) skladování vzorků na množství biogenních aminů.

Naměřené koncentrace všech stanovovaných biogenních aminů v analyzovaném taveném sýru uvádí tabulka 2.

Tab. 2: Obsah biogenních aminů

	Biogenní aminy [mg/kg sušiny] (průměr ± střední chyba)				
	Vzorek				
	P1	S1	P2	S2	S3
TRY¹	0,7 ^A ± 0,10	0,0 ^A ± 0,00	0,2 ^A ± 0,10	0,2 ^A ± 0,06	0,8 ^A ± 0,75
PHE²	1,8 ^A ± 1,40	0,2 ^B ± ,00	0,3 ^A ± 0,03	0,7 ^{A,B} ± 0,14	0,3 ^A ± 0,94
HIS³	0,7 ^A ± 0,35	0,0 ^A ± 0,00	0,3 ^A ± 0,21	0,7 ^A ± 0,14	0,4 ^A ± 0,23
TYR⁴	29,3 ^C ± 6,90	1,3 ^A ± 0,05	6,3 ^{A,B} ± 0,56	9,3 ^B ± 0,45	7,7 ^B ± 0,19
PUT⁵	1,0 ^A ± 0,35	0,3 ^A ± 0,05	1,9 ^A ± 0,33	2,2 ^A ± 0,61	1,6 ^A ± 0,60
CAD⁶	0,7 ^{A,B} ± 0,05	0,5 ^A ± 0,05	1,3 ^{A,B} ± 0,29	1,2 ^B ± 0,12	1,0 ^{A,B} ± 0,13
SPD⁷	0,2 ^B ± 0,00	0,2 ^B ± 0,00	0,1 ^A ± 0,00	0,2 ^B ± 0,03	0,1 ^{A,B} ± 0,03
SPM⁸	1,0 ^B ± 0,30	0,0 ^A ± 0,00	0,1 ^A ± 0,13	0,2 ^A ± 0,18	0,3 ^A ± 0,13
BA⁹	35,3 ^C ± 7,15	2,4 ^A ± 0,15	10,4 ^B ± 0,61	14,5 ^B ± 1,06	12,2 ^B ± 1,27
POLY¹⁰	2,8 ^B ± 0,70	0,9 ^A ± 0,10	3,3 ^B ± 0,75	3,7 ^B ± 0,42	3,1 ^B ± 0,47

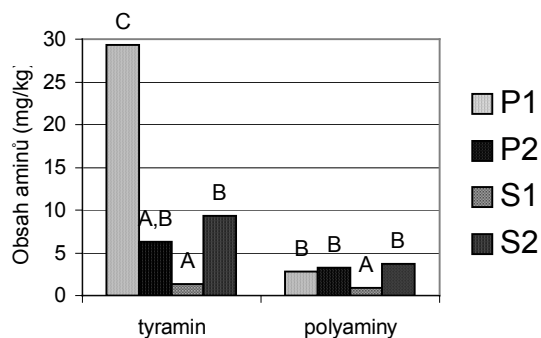
^{A,B,C} - průměry s různými exponenty v rámci každého řádku se liší při $P < 0,05$

¹ tryptamin; ² fenylethylamin; ³ histamin; ⁴ tyramin; ⁵ putrescin; ⁶ kadaverin; ⁷ spermidin; ⁸ spermin;

⁹ suma biogenních aminů; ¹⁰ suma polyaminů

Kvantitativně nejvýznamnějším biogenním aminem byl ve všech případech tyramin. Obsah tyraminu, stejně jako suma polyaminů (kadaverin, putrescin, spermidin, spermin) v pasterovaných a sterilovaných sýrech následně skladovaných 22 nebo 57 týdnů, je uveden v grafu 1. Naměřené hodnoty jsou podstatně nižší ve srovnání s výsledky, které získal El Sayed (1996) u tavených sýrů analyzovaných v Egyptě (tyramin 58,7 mg/kg; spermin 56,0; kadaverin 41,0 a putrescin 21,1 mg/kg).

Graf 1: Obsah tyraminu a polyaminů (kadaverin, putrescin, spermin, spermidin) v pasterovaném a sterilovaném sýru skladovaném při teplotě 8 °C



A, B, C – průměry s různými indexy v rámci každé skupiny se liší při $P < 0,05$

Prokazatelně vyšší hodnoty tyraminu ($P < 0,05$) byly zjištěny u pasterovaného sýra skladovaného 22 týdnů (P1) v porovnání se stejně dlouho skladovaným sýrem sterilovaným (S1; Graf 1). Na základě dostupné literatury (El Sayed, 1996) je však vliv teplené úpravy na již přítomné biogenní aminy nepodstatný. Jednou z příčin rozdílu zjištěného v předkládané práci může být použití odlišných surovin (zrajících sýrů) při výrobě, popř. surovin s odlišným obsahem biogenních aminů a následně jejich nerovnoměrná distribuce do odebraných vzorků.

P1 sýr se rovněž vyznačoval prokazatelně tekutější konzistencí než ostatní vzorky a byla zde zjištěna podstatně vyšší hladina celkového počtu mikroorganismů ($1,3 \times 10^6$ ktj/g) oproti hodnotám celkového počtu mikroorganismů nalezeným v ostatních vzorcích ($2,5 \times 10^0 - 6,5 \times 10^1$ ktj/g). V žádném vzorku taveného sýru nebyly prokázány laktátové bakterie, kvasinky ani plísně, koliformní bakterie byly nalezeny pouze u vzorků skladovaných 52 týdnů, ale jen v zanedbatelném množství (6 – 28 ktj/g). Počet anaerobů se pohyboval v rozmezí 11 – 35 ktj/g.

Rozdílná skladovací teplota sterilovaných sýrů (S2, S3) průkazně neovlivnila ($P > 0,05$) množství tyraminu ani ostatních biogenních aminů (Tab.2).

ZÁVĚR

Kvantitativně nejvýznamnějším biogenním aminem v analyzovaném taveném sýru byl tyramin (1,3 – 29,3 mg/kg), z toxikologického hlediska by však žádný z použitých vzorků nepředstavoval zdravotní riziko. Způsob tepelné úpravy, doba, ani teplota skladování vzorků výrazně neovlivnily množství biogenních aminů. Ve srovnání se souběžně analyzovanými zrajícími sýry (výsledky prezentovány v jiné práci) bylo množství tyraminu a sumy biogenních aminů v tavených sýrech v odpovídajícím časovém intervalu 22 týdnů výrazně nižší.

Na základě dosažených výsledků v experimentu lze konstatovat, že tavené sýry, i když skladované dlouhodobě, nepředstavují z hlediska biogenních aminů zdravotní rizika.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

El-Sayed, M.M. (1996). Biogenic amines in processed cheese available in Egypt. Int. Dairy J. 6, 1079-1086.

Kalač P., Krausová P. (2005). A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chem., 90, 219-230.

Komprda T., Smělá D., Pechová P, Kalhotka L., Štencl J., Klejdus B. (2004). Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. *Meat Sci.*, 67, 607-616.

Křížek M., Kalač P. (1998). Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech J. Food Sci.*, 16, č4, 151-159.

Silla-Santos, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 29, 213-231.