

Bendrųjų lakiųjų azoto bazių ir trimetilamino koncentracijų tyrimai žuvyse

A. Baltušnikienė, A. Šalaševičienė, G. Garmienė

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; lmai@lmai.lt

Nustatyta bendrųjų lakiųjų azoto bazių ir trimetilamino koncentracija žuvų produktuose, įvertintas rezultatų patikimumas ir pagrįstas šių junginių kaip indikatorių panaudojimas nustatant žuvų kokybę. Tyrimams naudoti Islandijos, Norvegijos ir Latvijos šalyse pagaminti žuvų produktai.

Nustatyta žuvų rūšies, sandėliavimo temperatūrų ir biogeninių aminių koncentracijos priklausomybė. Lakiųjų azoto bazių ir trimetilamino koncentracija buvo mažesnė nei reglamentuota Lietuvos norminiuose dokumentuose.

Raktažodžiai: žuvis, žuvies produktai, biogeniniai aminai, lakiųjų aminių bazių azotas, trimetilaminas, trimetilamino oksidas.

Įvadas

Žmogaus racione gausu aminių ir su aminais susijusių junginių. Jie egzistuoja maisto produktuose natyvūs arba susidaro technologinio proceso metu. Kai kurie iš šių junginių pripažinti kenksmingais, kiti – naudingais gyvam organizmui, o trečiųjų, mažiau žinomų – fiziologinis poveikis nenagrinėtas.

Amino junginių kiekis ir įvairovė labai priklauso nuo maisto produktų sudėties, mikrofloros ir technologinių parametrų, kurie skatina mikroorganizmų augimą maisto žaliavų ar produktų sandėliavimo metu, įvairių maisto priedų, temperatūros, drėgnio, brandinimo sąlygų bei pakavimo būdo [1].

Trimetilamino oksidas (TMAO) yra nitrozo junginys, esantis daugelyje jūros žuvų. Trimetilaminas (TMA) gaunamas bakterijoms redukuojant TMAO, ir galimybė jam susidaryti atsiranda tik tada, kai žuvyje yra pakankamai TMAO. TMA yra lakus ir suteikia žuviai gedimo kvapą. TMA koncentracija šviežioje žuvyje yra labai maža, bet produktui gendant, amino kiekis palaipsniui didėja. TMA kiekio nustatymo metodas yra vienas iš labiausiai paplitusių jūros gėrybių šviežumui įvertinti.

Periago M. J. ir kt. [2] stebėjo lakiąsias ir nelakiąsias azoto bases džiovintame ir sūdytame tune (*Thunnus thynnus* L.). Nustatyta, kad sūdytame ir džiovintame procesai žymiai padidino bendrąją lakiųjų azoto bazių, kadaverino, tiramino, feniletilamino ir triptamino koncentraciją. Po 4 savaičių trimetilamino (TMA) koncentracija

išaugo, nors bendrasis lakiųjų azoto bazių (BLAB) kiekis liko tas pats.

Križek M. ir kt. [3], tirdami biogeninių aminių formavimosi karpio (*Cyprus carpio*) skerdenėlėse ir farše kinetiką, nustatė, kad laikymo metu žuvies raumenyse susiformavę biogeniniai aminai nepavojingi sveikatai, nes jusliniai rodikliai perspėja gamintoją ar vartotoją apie galimą histamino toksinę koncentraciją. Nustatyta, kad histamino ir tiramino koncentracija karpio raumenų audinyje yra mažesnė nei skumbrės ar tuno, o putrescinas gali būti naudojamas kaip šios žuvies kokybės žymeklis, nes jo koncentracijos pokyčiai koreliuoja su juslinių rodiklių intensyvumu kitimu. Autoriai nustatė, kad laikymo temperatūra buvo pagrindinis faktorius, lėmęs biogeninių aminių koncentracijos pokyčius žaliavoje.

Biogeniniams aminams nustatyti dažniausiai naudojami šie analitiniai metodai: plonasluoksnė, efektyvioji skysčių, jonų mainų, dujų chromatografija ir kapiliarinė elektrochromatografija. Taip pat sukurti specifinės detekcijos metodai. Šių metodų tikslas – imunofermentinės reakcijos (ELISA), pasitelkiant monokloninius antikūnius arba naudojant biosensorius (elektrocheminius, amperometrinius) kartu su amino oksidazėmis. Tyrimo metodų literatūrinė analizė parodė, kad chromatografinės technikos privalumas yra geras aminių skyrimas ir tikslus nedidelės jų koncentracijos kiekybinis įvertinimas [4]. Metodo trūkumai – ilgas mėginio paruošimo ir analizės laikas, brangi techninė įranga. Pastaruoju metu

mokslo metodologiniuose straipsniuose jaučiama ir pramonės įmonių perdirbėjų įtaka žaliavos tyrimo metodų evoliucijai. Žuvų perdirbimo įmonės vis labiau domina ekonomiškai ir greitai žuvų žaliavos ar produktų šviežumo tyrimo metodai. Imunofermentiniai ir biosensoriniai metodai yra patikimi ir taikomi specifinių aminų „ekspres“ detekcijai, pvz. histaminui [5].

Anot Rodriguez-Jerez J. J. ir kt. [6], žuvyse vykstantys procesai iki *rigor-mortis*, jų trukmė yra tinkamiausias rodiklis, apibūdinantis šios žaliavos kokybę ir jos mitybinę vertę. Be šio rodiklio autorius siūlo taikyti dėl natūralių, autolizės ir mikrobiologinių reakcijų susidariusių aminų koncentracijos nustatymo metodus, kaip antai: bendrųjų lakiųjų azoto bazių azoto (BLAB, 95/149/EC) koncentracijos žuvyse ir žuvų produktuose nustatymas ir trimetilamino (TMA) nustatymas [7, 8].

Yra šie aminų ir jų junginių nustatymo maisto produktuose tikslai. Pirmiausia, siekiama įvertinti šių junginių kritinę koncentraciją, antra, galvojama apie šių junginių kaip indikatorių panaudojimą įvertinant maisto produkto kokybę [9]. Tyrimai su gyvais organizmais ar mikroorganizmais leidžia spręsti apie galimą įtaką žmonių sveikatai.

Darbo tikslas – nustatyti BLAB ir TMA koncentraciją žuvų produktuose, įvertinti rezultatų patikimumą ir pagrįsti šių junginių kaip indikatorių panaudojimą įvertinant žuvų kokybę.

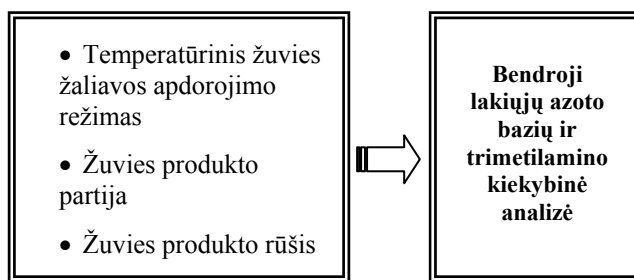
Tyrimų objektai ir metodai

Tirti neperdirbtų žuvų mėginiai: silkės filė (6 partijos, atšaldyta/sušaldyta), silkė, skumbė (po 1 partiją, sušaldytos), Baltijos menkė (1 partija, atšaldyta/sušaldyta). Mėginiai atgabenti iš Islandijos, Norvegijos ir Latvijos.

Bendroji lakiųjų azoto bazių koncentracija nustatyta (BLAB) nusodinant baltymus pagal „Lakiųjų azoto bazių koncentracijos nustatymo tam tikros kategorijos žuvų produktuose“ nurodytą metodiką [7].

Trimetilamino ir BLAB koncentracija nustatyta nenaudojant baltymų nusodinimo pagal metodiką, pateiktą [8] literatūros šaltinyje. 1 paveiksle pateikta eksperimento schema.

Duomenims apdoroti taikytas Stjudento t-testas ir standartinio nuokrypio metodas. Statistikai įvertinta BLAB, TMA koncentracijos ir žuvies produktų rūšies, temperatūrinio apdorojimo, kilmės šalies, partijos (sugavimo laiko) priklausomybė. Tyrimams naudoti kiekvienos partijos 3 lygiagretūs bandiniai.



1 pav. Eksperimento schema

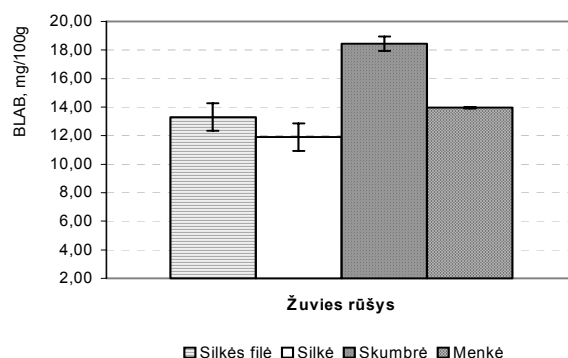
Rezultatai ir jų aptarimas

BLAB koncentracijos tyrimų (taikant baltymų nusodinimą) rezultatai: kilmės šalies, BLAB koncentracijos vidutinė vertė ir standartinis nuokrypis pateikti 1 lentelėje.

1 lentelė. BLAB koncentracija žuvies produktuose

Žuvies rūšis/produktas	Kilmės šalis	BLAB mg/100 g produkto
1. Silkės filė	Islandija	15,35±0,39
2. Silkės filė	Islandija	18,0±1,13
3. Silkės filė	Norvegija	13,30±0,19
4. Silkės filė	Islandija	11,15±0,79
5. Silkės filė	Islandija	12,25±0,26
6. Silkės filė	Islandija	9,80±0,01
7. Silkė	Norvegija	9,40±0,11
8. Silkė	Norvegija	11,90±0,19
9. Skumbė	Norvegija	18,45±0,10
10. Baltijos menkė	Latvija	13,95±0,007

2 paveiksle pateikta bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracijos priklausomybė nuo žuvies produkto rūšies.



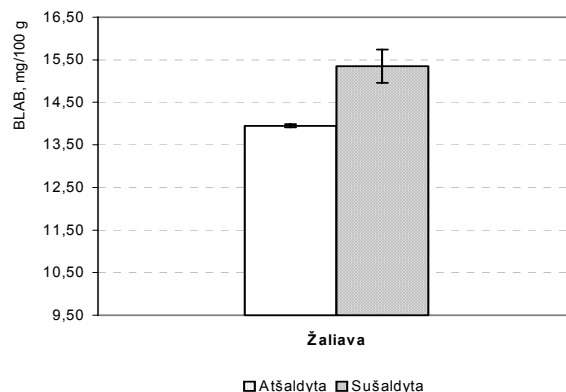
2 pav. Bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracijos priklausomybė nuo žuvies rūšies

BLAB koncentracija žuvies mėginiuose svyravo nuo 9,4 iki 18,45 mg/100 g. Didžiausia BLAB koncentracija 18,45 mg/100 g produkto nustatyta skumbrėje. Lyginant su silkės filė ji buvo 38,7 %, su silke – 55,0 % ir su menke – 32,0 % didesnė. Tyrimų rezultatai rodo, kad BLAB koncentracijos skirtumas tarp skumbrės ir kitų žuvies rūšių produktų yra statistiškai patikimas ($p < 0,05$), todėl galima teigti, kad žuvies rūšis turi įtakos BLAB koncentracijai produkte. Riebiausios žuvies skumbrės lakiųjų azoto bazių koncentracija buvo vidutiniškai 1,4 karto didesnė nei kituose žuvies produktuose.

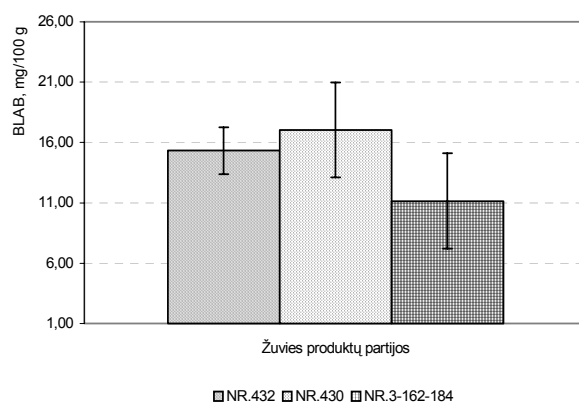
3 paveiksle pateikta BLAB koncentracijos priklausomybės analizė nuo žuvies žaliavos temperatūrinio apdorojimo būdo. Bendrasis lakiųjų azoto bazių kiekis atšaldytos žuvies žaliavoje (silkės filė) svyravo nuo 11,5 iki 13,9 mg/100 g produkto, tuo tarpu sušaldytos žuvies (silkės filė) produktuose BLAB kiekis svyravo nuo 12,25 iki 18,0 mg/100 g. Tyrimo rezultatų reikšmių išsibarstymas sušaldytos žuvies mėginiuose ($p > 0,05$) neleidžia spręsti apie šaldymo aplinkos įtaką biogeninių aminių formavimuisi. Tyrimų rezultatai (3 pav.) rodo, kad žuvies žaliavos transportavimo ir saugojimo metu taikytas temperatūrinis (+4 °C ir -18 °C) režimas neturėjo įtakos BLAB koncentracijai.

Žuvies produkto partijos ir BLAB koncentracijos priklausomybės analizei naudotos skirtingos žuvies produktų partijos atsižvelgiant į žuvies sugavimo laiką.

BLAB koncentracija skirtingose žuvies produktų (silkės filė, sušaldyta) partijose (Islandija) svyravo nuo 11,15 iki 18,0 mg/100 g (4 pav.). Tyrimo rezultatų reikšmių išsibarstymas skirtingų partijų mėginiuose ($p > 0,05$) ir stebėta tendencija leidžia teigti, kad žaliavos sugavimo laikas neturi įtakos biogeninių aminių formavimuisi.



3 pav. Bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracijos priklausomybė nuo žuvies temperatūrinio apdorojimo



4 pav. Bendrojo lakiųjų azoto bazių kiekio palyginimas įvairiose žuvies produktų partijose

Žuvų rūšies ir BLAB bei TMA koncentracijos priklausomybės analizė (nenusodinant baltymų) pateikta 2 lentelėje.

2 lentelė. BLAB ir TMA koncentracija žuvų produktuose

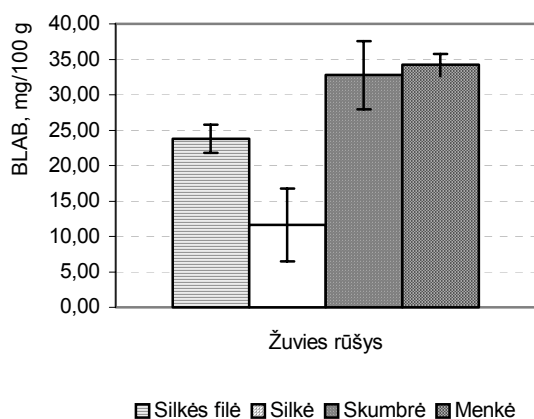
Žuvies rūšis/produktas	Kilmės šalis	BLAB, mg/100 g produkto*	TMA, mg/100 g produkto
1. Silkės filė	Islandija	16,24±9,77	13,86±0,00
2. Silkės filė	Islandija	25,2±0,00	8,39±0,00
3. Silkės filė	Norvegija	23,78±1,96	11,9±1,99
4. Silkės filė	Islandija	25,09±1,90	16,73±3,90
5. Silkės filė	Islandija	20,92±0,01	16,73±1,97
6. Silkės filė	Islandija	23,78±2,00	23,03±4,91
7. Silkė	Norvegija	25,17±1,95	9,78±3,95
8. Silkė	Norvegija	11,63±5,13	9,78±3,95
9. Skumbrė	Norvegija	32,76±4,79	18,88±4,93
10. Baltijos menkė	Latvija	34,20±7,79	19,46±6,83

*vidutinė reikšmės vertė ± standartinis nuokrypis

5 paveiksle pateikta bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracija, gauta tiriant mėginius metodu, kai nenusodinami baltymai.

Didžiausia BLAB koncentracija 34,20 mg/100 g produkto nustatyta Baltijos menkėje. Lyginant su silkės filė nustatyta BLAB koncentracija buvo 35,58 %, su skumbre – 5,32 % ir net 46,82 % didesnė nei silkės mėginiuose. Tyrimų rezultatai rodo, kad BLAB koncentracijos skirtumas tarp menkės ir kitų žuvies rūšių produktų yra statistiškai patikimas ($p < 0,05$), todėl galima teigti, kad žuvies rūšis turi įtakos BLAB koncentracijai produkte.

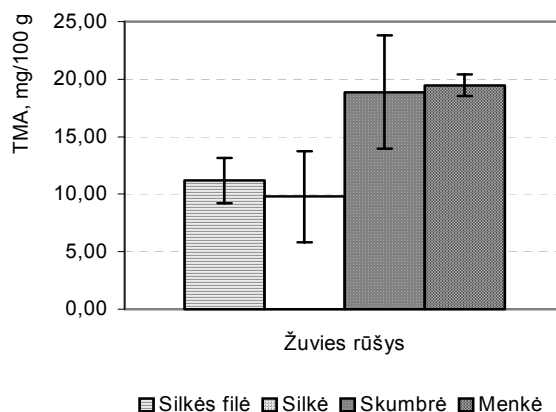
Apibendrinant žuvies rūšies ir BLAB koncentracijos priklausomybės rezultatus, nustatytus metodu, kai nenusodinami baltymai, galima teigti, kad visų žuvies rūšių produktuose lakiųjų azoto bazių koncentracija neviršijo leistinos BLAB koncentracijos – 25–35 mg/100 g produkto.



5 pav. Bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracijos priklausomybė nuo žuvies rūšies

Trimetilamino koncentracijos tyrimo žuvies rūšių mėginiuose duomenys pateikti 6 paveiksle. Didžiausiu trimetilamino kiekiu pasižymėjo skumbrės ir menkės mėginiai, atitinkamai 18,88 ir 19,96 mg/100 g produkto. Silkės filė TMA koncentracija buvo 1,3 karto, o silkėje – 2 kartus mažesnė nei skumbrės ir menkės mėginiuose. Nustatyta TMA koncentracija buvo mažesnė už kritinę TMA koncentraciją (59 mg/100 g), todėl galima teigti, kad šie žuvies mėginiai tinkami realizuoti ir perdirbti.

Didžiausiu trimetilamino kiekiu pasižymėjo Islandijos žuvies mėginiai – 16,73 ir 23,03 mg/100 g produkto. Tyrimo rezultatų reikšmių išsibarstymas žuvies mėginiuose ($p > 0,05$) neleidžia iš esmės spręsti apie sandėliavimo, transportavimo sąlygų laikymąsi skirtingose šalyse ir jų įtaką trimetilamino koncentracijos pokyčiams produkte.

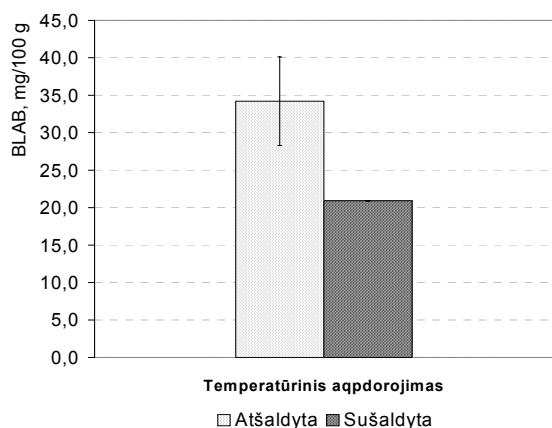


6 pav. Trimetilamino koncentracijos priklausomybė nuo žuvies rūšies

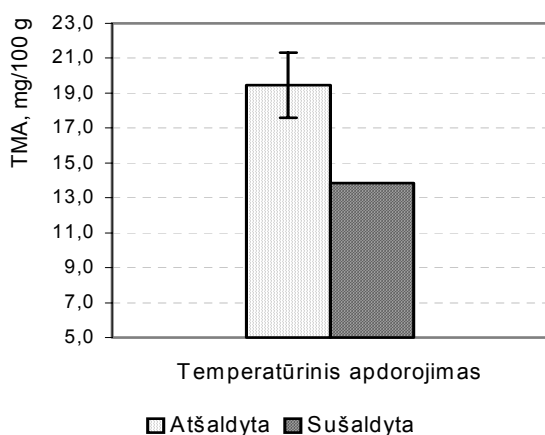
BLAB kiekis atšaldytos žuvies žaliavoje buvo 34,2 mg/100 g produkto, tuo tarpu sušaldytos žuvies produktuose BLAB kiekis svyravo 16,24–25,20 mg/100 g. Tyrimo rezultatai rodo, kad BLAB koncentracijos skirtumas atšaldytos ir sušaldytos žuvies mėginiuose yra statistiškai patikimas ($p < 0,05$). Tai leidžia teigti, kad žaliavai taikytas sušaldymo režimas yra efektyvus. Biogeninių aminių koncentracija yra beveik 1,6 karto mažesnė nei atšaldytoje žuvies žaliavoje. Skirtingai nuo rezultatų, gautų pirmuoju metodu, matyti, kad antruoju metodu gauti rezultatai yra labiau nutolę savo reikšmėmis ir aiškiau atskleidžia BLAB koncentracijos skirtumus atšaldytuose ir sušaldytuose žuvies produktuose (silkės filė). Didžiausias biogeninių aminių kiekis (7 pav.), nustatytas atšaldytoje žuvelyje, rodo, kad žuvies žaliavos transportavimo ir saugojimo metu taikytas temperatūrinis (+4 °C ir –18 °C) režimas turi įtakos BLAB koncentracijai produktuose.

Apibendrinant žuvies žaliavai taikyto temperatūrinio režimo ir BLAB koncentracijos priklausomybės analizės duomenis galima teigti, kad visuose žuvies produktuose lakiųjų azoto bazių koncentracija atitinka leistinas BLAB koncentracijos ribas.

Trimetilamino koncentracijos tyrimo atšaldytuose ir sušaldytuose žuvies mėginiuose duomenys pateikti 8 paveiksle. Didžiausias trimetilamino kiekis tarp atšaldytų žuvų produktų buvo atšaldytoje Baltijos menkėje – 19,46 mg/100 g produkto. TMA koncentracija atšaldytame žuvies produkte buvo nuo 1,4 karto didesnė nei sušaldytuose (silkės filė, Baltijos menkė). Pagal gautus duomenis galima teigti, kad TMA koncentracija susijusi su transportavimo ir sandėliavimo metu naudotu temperatūriniu režimu – TMA kiekis išauga žuvies žaliavai taikant atšaldymo režimą (+4 °C).



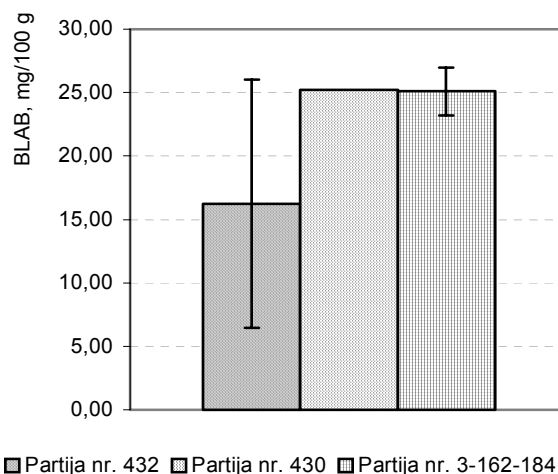
7 pav. Bendrųjų lakiųjų azoto bazių koncentracijos priklausomybė nuo žuvies žaliavos temperatūrinio apdorojimo



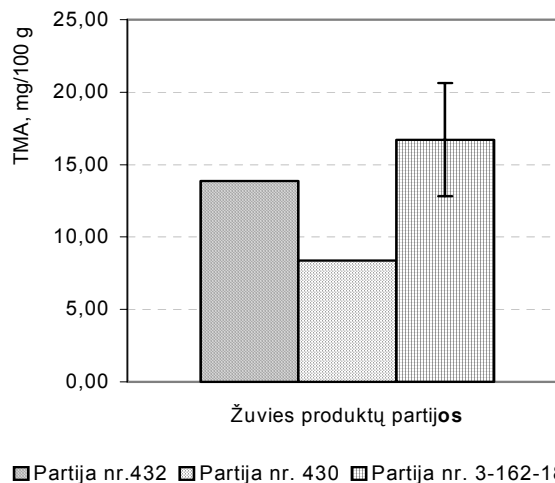
8 pav. Trimetilamino koncentracijos priklausomybė nuo žuvies žaliavos temperatūrinio apdorojimo

BLAB koncentracija skirtingose žuvies produktų partijose (Islandija) svyravo nuo 16,24 iki 25,09 mg/100 g (9 pav.). Tyrimo rezultatų reikšmių išsibarstymas skirtingų partijų mėginiuose ($p > 0,05$) ir stebėta tendencija leidžia teigti kad žaliavos sugavimo laikas neturi reikšmingos įtakos biogeninių aminių formavimuisi.

TMA koncentracija skirtingose žuvies produktų partijose (Islandija) svyravo nuo 8,39 iki 16,73 mg/100 g (10 pav.). Tyrimo rezultatų reikšmių išsibarstymas skirtingų partijų mėginiuose ($p > 0,05$) ir stebėta tendencija neleidžia išsamiai apibūdinti žaliavos sugavimo laiko ir TMA koncentracijos sąsajos.



9 pav. Bendrųjų lakiųjų azoto bazių kiekio palyginimas įvairiose žuvies produktų partijose



10 pav. Trimetilamino kiekio palyginimas įvairiose žuvies produktų partijose

Išvados

1. Statistiškai patikimi rezultatai ($p < 0,05$) gauti nustatant BLAB koncentraciją standartizuotu metodu, kai nusodinami baltymai, skumbrys, menkės, silkės filė ir silkės mėginiuose. Didžiausia BLAB koncentracija – 18,45 mg/100 g nustatyta skumbrys mėginiuose nusodinant baltymus, o taikant metodą, kai baltymai nenusodinami – Baltijos menkės mėginiuose – 34,60 mg/100 g žaliavos.
2. TMA koncentracija ištirtuose žuvų mėginiuose neviršijo kritinės (59 mg/100 g) ribos.
3. Biogeninių aminių formavimuisi įtakos turi žuvies žaliavos rūšis bei temperatūrinis žaliavos apdorojimo režimas.

4. Nenustatytas ryšys tarp BLAB ir TMA koncentracijos tos pačios rūšies, bet skirtingų partijų žuvyse.

Literatūra

1. **Draisci R., Volpe G., Lucentini L., Cecilia A., Federico R. and Palleschi G.** Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies // Food Chemistry. 1998. Vol. 62 (2). P. 225–232.
2. **Periago M. J., Rodrigo J., Ros G., Rodriguez-Jerez J. J., Hernandez-Herrero M.** Monitoring volatile and nonvolatile amines in dried and salted roes of tuna (*Thunnus thynnus* L.) during manufacture and storage // Journal of Food Protection. 2003. No. 66. P. 335–340.
3. **Křižek M., Pavliček T. and Vacha F.** Formation of selected biogenic amines in carp meat // Journal of the Science of Food and Agriculture. 1998. Vol. 82. P. 1088–1093.
4. **Salazar M. T., Smith T. K. and Harris A.** High-performance liquid chromatographic method for determination of biogenic amines in feedstuffs, complete feeds, and animal tissues // Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2003. Vol. 48. P. 1708–1712.
5. **Simon-Sarkadi L.** Comparison between different analytical methods to determine biogenic amines // COST 922 “Health implications of dietary amines”, 1st Workshop on amines and food safety. Book of Abstracts. 2003. P. 21.
6. **Rodriguez-Jerez J. J., Hernandez-Herrero M. M. and Roig-Sagues A. X.** New methods to determine fish freshness in research and industry. 1999. P. 63–69.
7. 95/149/EC: Commission Decision of 8 March 1995 fixing the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used // Official Journal L 097, 29/04/1995. P. 0084–0087.
8. **Головин А. Н.** Контроль производства рыбной продукции. Москва, 1978. 185 с.
9. EUR 20928-COST 922-Health implication of dietary amines. Volume I: Review of current status. Ed. by H. Wallace and A. Hughes. Luxemburg, 2004. 143 p.

Pateikta spaudai 2004 04

Straipsnis parengtas parėmus Lietuvos valstybiniam mokslo ir studijų fondui

A. Baltušnikienė, A. Šalaševičienė, G. Garmienė
INVESTIGATION OF CONCENTRATIONS OF TRIMETHYLANINE AND TOTAL VOLATILE BASIC NITROGEN IN FISH

Summary

There are several reasons for determining amines in foods: 1) their potential toxicity, 2) the possibility of being used as food quality indicators. Biogenic amines of low concentrations are essential for multiple physiological functions, while higher intakes of the amines may cause health related problems.

The aim of this study was to introduce a quantitative determination of the total volatile basic nitrogen (TVB-N) and trimethylamine (TMA) limiting values for certain categories of fish products. Fish samples from Iceland, Norway and Latvia were investigated for the total volatile basic nitrogen (TVB-N) and trimethylamine (TMA).

The dependencies between the formation of amines and fish species as well as the temperature of storage were established. The levels of TVB-N and TMA determined in the study were lower than those permitted in Lithuania.

Keywords: fish, biogenic amines, total volatile basic nitrogen, trimethylamine.

A. Балтушникене, А. Шалашевичене, Г. Гармене

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТРИМЕТИЛАМИНА И ЛЕТУЧИХ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ В ПРОДУКТАХ ИЗ РЫБЫ

Резюме

Имеется ряд причин для выделения биогенных аминов и их соединений в пищевых продуктах. Во-первых, – стремление определить их критические концентрации, во-вторых, – обосновать применение критических концентраций как индикатора, определяющего качество пищевых продуктов.

Цель исследования – количественное определение концентраций триметиламина и летучих азотистых оснований в продуктах из различных видов рыбы, образцы которой получены из Исландии, Норвегии и Латвии.

Достоверно установлено, что концентрация биогенных аминов зависит от вида рыбы и температуры хранения. Однако критическая концентрация в исследованных образцах не превышала предельно допустимого уровня, регламентированного гигиеническими нормами Литвы.