

# SELECTED FACTORS INFLUENCING BIOGENIC AMINE CONTENT IN FERMENTED MEAT PRODUCTS

## VYBRANÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH

**Sládková P., Petirová E., Komprda T., Dohnal V., Kaláb J.**

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: sladkopavla@seznam.cz, komprda@mendelu.cz

### ABSTRACT

The objectives of the study was to evaluate an effect of selected factors (2 producers, 2 starter cultures, 2 diameters of products and 2 spice mixtures) on growth of bacteria with supposed ability to form biogenic amines (genus *Enterococcus*, lactic acid bacteria [LAB], total anaerobic counts [TAC]). The samples were taken during fermentation (0 – 28 days) and during storage until 112 days. Respective Czech national norms (ČSN) were used to determine the microorganisms. Biogenic amines (tyramine, histamine, phenylethylamine, cadaverine, putrescine, spermidine, spermine) were determined by the HPLC method. At the end of fermentation (28<sup>th</sup> day), the tyramine content exceeded the toxicological limit of 100 mg kg<sup>-1</sup> in all products, varied between 145 – 285 mg kg<sup>-1</sup> and was influenced (P<0.05) by producer and starter culture, respectively. TAC were significantly (P<0.05) influenced by producer, *Enterococcus* counts by starter culture. Tyramine content was negatively correlated (P<0.05) to TAC (r = -0.19) and enterococci (r = -0.33). Non-existent or negative correlations between biogenic amine content and the TAC, LAB, and *Enterococcus* counts, respectively, indicate that the ability to decarboxylate amino acids is characteristic only to selected strains of respective microorganisms. Therefore we recommend to use the methods of molecular biology (detection of sequences of genes for respective decarboxylases with PCR) to identify the producers of biogenic amine in fermented products. These data are currently being analysed.

**Key words:** biogenic amine, tyramine, HPLC, *Enterococcus*

## ÚVOD

Fermentovaným trvanlivým masným výrobkem (FTMV) rozumíme podle vyhlášky 326/2001 výrobek tepelně neopracovaný určený k přímé spotřebě, u kterého v průběhu fermentace, zrání, sušení popřípadě uzení za definovaných podmínek došlo ke snížení vodní aktivity vody na hodnotu  $a_w$  (max.) = 0,93, s minimální dobou trvanlivosti 21 dní při teplotě plus 20°C .

Biogenní aminy (BA), jsou nízkomolekulární bazické dusíkaté látky vznikající v potravinách a potravinových surovinách nejčastěji dekarboxylací aminokyselin působením dekarboxylačních enzymů. Mezi základní podmínky vzniku biogenních aminů patří přítomnost aminokyselinového substrátu, výskyt mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou a nastolení vhodných podmínek pro růst a množení mikroorganismů (Křížek et al., 1998). Některé biogenní aminy mají v organismu člověka a živočichů významné fyziologické funkce (zdroj dusíku, prekurzory některých hormonů aj.). Z pohledu hygieny slouží biogenní aminy jako indikátor stupně kažení potravin. Z toxikologického hlediska mohou být BA prekurzory karcinogenních N-nitroso sloučenin. Mezi toxikologicky nejvýznamnější biogenní aminy patří tyramin a histamin (Bover-Cid et al., 2000). Tyramin zvyšuje krevní tlak, způsobuje u rizikových konzumentů migrenózní bolesti hlavy, krvácení do mozku a selhání srdce. Toxikologický limit je 100 mg kg<sup>-1</sup>.

Některé biogenní aminy (spermidin, spermin) se účastní regulace buněčného růstu a díky těmto vlastnostem jsou studovány v souvislosti s procesem karcinogeneze.

Organismus člověka má k dispozici detoxikační mechanismy, které ale nejsou dostačující v případě některých konzumentů (alergici, pacienti konzumující inhibitory monoaminoxidázy [MAO]) nebo při příliš vysokém příjmu biogenních aminů v potravě.

## MATERIÁL A METODIKA

V rámci pokusu byly analyzovány FTMV od dvou různých výrobců (K a R). U výrobků byly použity dvě různé kořenící směsi s označením P (paprikáš) a H (herkules). Při výrobě salámů byly dále použity dvě různé startovací kultury *Pediococcus pentosaceus* (C) a *Lactobacillus curvatus* + *Staphylococcus carnosus* (F). Fermentované salámy byly vyráběny o dvou průměrech: 7 cm (S), resp. 4,5 cm (U). Bylo porovnáno celkem 16 kombinací výrobků (KPCU – RHFS). Vzorky byly odebírány po dobu 5 měsíců, v průběhu zrání (0 – 28 dní) a následně do 112 dne skladování. Stanovení rodu *Enterococcus*, celkového počtu mikroorganismů a bakterií mléčného kvašení bylo provedeno v mikrobiologické laboratoři ústavu Technologie potravin dle příslušných ČSN. Bakterie mléčného kvašení (LAB) byly izolovány na MRS agar (NOACK) a inkubovány při 30 °C po dobu 72 hodin, celkové počty mikroorganismů (CPM) na Plate Count Agar (PCA; NOACK) při 30 °C po dobu 72 hodin a enterokoky na Slanetz-Bartley agaru s TTC suplementem (NOACK) při 37 °C po dobu 48 hodin. Obsah tyraminu, histaminu, fenyletylaminu, kadaverinu, putrescinu, spermidinu, sperminu byl stanoven vysokotlakou kapalinovou chromatografií s ÚV detekcí po derivatizaci dansylchloridem (Smělá et al., 2004). V rámci pokusu byly stanoveny pomocné ukazatele pH,

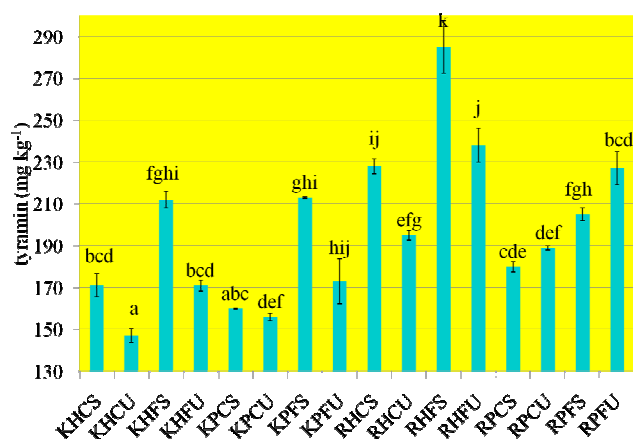
$a_w$ , obsah sušiny. Při zpracování výsledků bylo použito jednostupňové třídění analýzy rozptylu, a dále regresní a korelační analýza.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

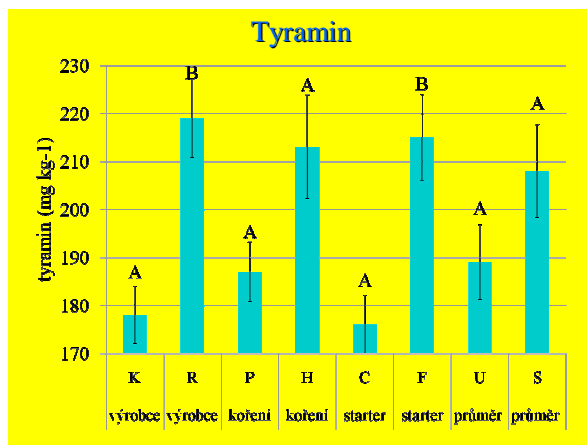
Obsah tyraminu po ukončení zrání (28. den) byl ovlivněn kalibrem (průměrem) střeva FTMV (obr. 1). Salámy naražené do střev širšího kalibru obsahovaly u většiny vzorků více ( $P < 0,05$ ) tyraminu ve srovnání s kalibrem užších střev. Předkládané výsledky potvrzují údaje Bover-Cid et al. (1999). Obsah tyraminu ve všech výrobcích překračoval po ukončení zrání toxikologický limit  $100 \text{ mg kg}^{-1}$ . Pohyboval se v rozmezí  $145 - 285 \text{ mg kg}^{-1}$  a byl ovlivněn ( $P < 0,05$ ) výrobcem, resp. startovací kulturou (obr. 2). Hypotéza o vlivu koření směsi na produkci tyraminu se nepotvrdila (rozdíl mezi C- a F-salámy byl neprůkazný, z obrázku 2 je však patrná silná tendence koření směsi P snižovat obsah tyraminu ve srovnání s kořením H). Celkový počet mikroorganismů byl průkazně ( $P < 0,05$ ) ovlivněn výrobcem, počet enterokoků startovací kulturou (obr. 3, 4).

Obsah tyraminu byl v negativním vztahu ( $P < 0,05$ ) k celkovému počtu mikroorganismů ( $r = -0,19$ ) i k počtu enterokoků ( $r = -0,33$ ). Ostatní biogenní aminy měly podobné vztahy, tj. záporné nebo neprůkazné korelace. Korelační koeficienty obsahu polyaminů spermidinu a sperminu na jedné straně a počtů CPM, LAB a enterokoků na straně druhé byly sice kladné a relativně vysoké (rozmezí  $+0,25$  až  $+0,48$ ), tyto biogenní aminy se ale netvoří působením bakterií. Z výsledků korelační analýzy tedy plyne, že vysvětlení obsahu biogenních aminů na základě celkových počtů aerobních MO, LAB, resp. enterokoků není možné.

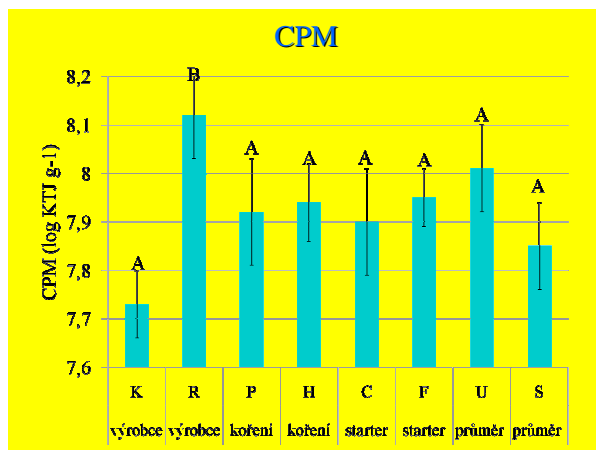
Obr. 1. Porovnání obsahu tyraminu v jednotlivých kombinacích výrobků po ukončení zrání (28. den) [ $n = 2$ ; průměry označené různými písmeny se průkazně ( $P < 0,05$ ) liší]



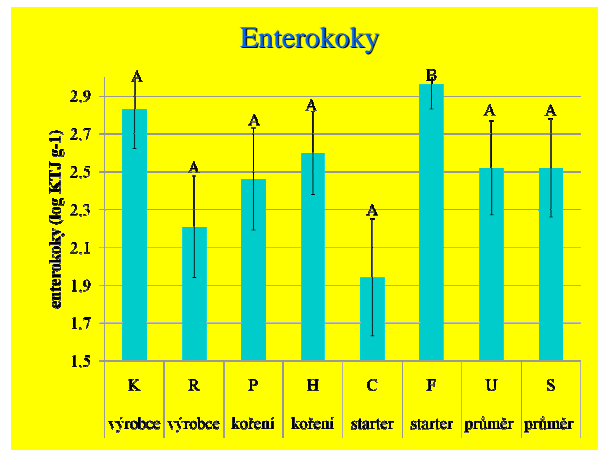
Obr. 2. Vliv sledovaných faktorů na obsah tyraminu (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání,  $n = 16$ ; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ( $P < 0,05$ ) liší]



Obr. 3. Vliv sledovaných faktorů na celkový počet mikroorganismů (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání,  $n = 16$ ; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ( $P < 0,05$ ) liší]



Obr. 4. Vliv sledovaných faktorů na rod *Enterococcus* (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání,  $n = 16$ ; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ( $P < 0,05$ ) liší]



## ZÁVĚR

Neexistující nebo záporné korelace mezi obsahem biogenních aminů a počty CPM, LAB, resp. enterokoků naznačují, že schopnost dekarboxylovat aminokyseliny je vlastnost pouze vybraných kmenů v rámci druhů příslušných MO, proto je pro identifikaci producentů biogenních aminů ve fermentovaných výrobcích vhodné použít metody molekulární biologie, detekce sekvencí genů pro příslušné dekarboxylázy pomocí PCR (toto testování probíhá v současné době na mikrobiálních kulturách izolovaných ze sledovaných výrobků).

## LITERATURA

Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carau M.C. (2000): Influence of hygienic quality of raw material on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausage. *J. Food Prot.* 63, 1544-1550

Bover-Cid S., Schopen M., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carau M.C. (1999): Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausage. *Meat Sci.* 51, 305-311

Křížek M., Kalač P. (1998): Biogenic amines in foods and their roles in human nutrition. *Czech J. Food Sci.*, 16, 151-159

Smělá D., Pechová P., Komprda T., Klejdus B., Kubáň V. (2004): Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické listy*, 98: 432-437