

Virtų ir virtų-rūkytų dešrų biogeninių aminių tyrimai

G. Garmienė, A. Šalaševičienė, I. Miliauskienė, G. Zaborskienė, A. Šarkinas

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

Tirti biogeniniai aminorūgštiniai putrescinas, histaminas ir tiraminas Lietuvoje pagamintose virtose ir virtose rūkytose dešrose. Mėginiai tyrimams atrinkti atsitiktiniu būdu prekybos salėse, o taip pat pas gamintojus. Nustatyta, kad ištirtuose mėginiuose biogeninių aminių kiekis smarkiai svyruoja – nuo 8,5 iki 358,0 mg/kg produkto. Dominuojantys aminorūgštiniai yra histaminas ir putrescinas, mažiausiai randama tiramino. Aukščiausios rūšies dešrų mėginiuose biogeninių aminių randama nuo 7,0 iki 93,0 mg/kg produkto. Virtose rūkytose dešrose randama daugiau putrescino ir tiramino nei virtose dešrose. Daugiausiai biogeninių aminių mėginiuose, kurie atrinkti atsitiktiniu būdu prekybos salėse. Produkto laikymo nustatytais sąlygomis metu biogeninių aminių kitimo dinamika priklauso nuo jų pradinio kiekio. Bendra tendencija ta, kad mėginio laikymo pradžioje nustatytas bendro biogeninių aminių kiekio mažėjimas, o po laikymo virš 20 parų – jų didėjimas. Priklausomybės tarp produkto bendro mikrobinio užterštumo ir biogeninių aminių kiekio kitimo dinamikos nenustatyta.

Raktažodžiai: virtos dešros, virtos rūkytos dešros, biogeniniai aminorūgštiniai, putrescinas, histaminas, tiraminas.

Įvadas

Biogeniniai aminorūgštiniai – įprasti maisto produktuose junginiai, dažniausiai susidarantys, mikroorganizmams dekarboksilinant aminorūgštis. Maža šių junginių koncentracija nesukelia vartotojams jokio pavojaus, tačiau jeigu suvartojama daug biogeninių aminių arba sutrinka natūralus šių junginių katabolizmo mechanizmas organizme, pastebimi intoksikacijos reiškiniai [1, 2].

Biogeninių aminių kiekis ir cheminė sudėtis labai priklauso nuo maisto produktų sudėties, mikrofloros ir technologinių parametrų, kurie skatina mikrofloros augimą maisto žaliavų ar produktų laikymo metu, įvairių maisto priedų, temperatūros, drėgumo, brandinimo sąlygų bei pakavimo subtilybių [3–5].

Nustatyta, kad putrescino formavimąsi skatina bakterijų veikla gamybos proceso bei netinkamo laikymo metu, tuo tarpu spermidinas ir sperminas į produktą patenka iš nekokybiškos žaliavos [6].

Konservuojančių cheminių junginių vartojimas mėsos perdirbimo pramonėje – kita saugaus produkto vystymo kryptis. Bandomi sulfitiniai preparatai, kaip antai natrio sulfitas, todėl sumažėja bendras mikroorganizmų skaičius, tačiau biogeninių aminių – tiramino ir putrescino koncentracija yra žymiai didesnė nei įprastuose fermentuotuose produktuose, pagamintuose be konservantų [7].

Produkto sandėliavimo sąlygos taip pat gali paspartinti ar sulėtinti biogeninių aminių susidarymą mėsos produkte. Kaip rodo tyrimų duomenys [8, 9],

kai kurių biogeninių aminių, ypač tiramino, kiekis dešrose jų laikymo metu (22 °C aplinkos temperatūroje) padidėja nežymiai, tačiau bendras biogeninių aminių kiekis padidėja gerokai.

Biogeniniams aminorūgštiniai susidaryti įtakos turi ir terminio apdorojimo sąlygos, pavyzdžiui, aukštesnėje nei 65 °C temperatūroje inaktivuojasi dekarboksilazės [10, 11]. Valgomoji druska (NaCl) atlieka svarbų vaidmenį, lemia vandens aktyvumą, o tuo pačiu ir biogeninių aminių susidarymą. Valgomoji druska gali, pavyzdžiui, paskatinti *Lactobacillus curvatus* augimą, padidindama tiramino koncentraciją [12].

Tokie faktoriai, kaip dešros skersmuo irgi gali lemti biogeninių aminių formavimąsi. Biogeninių aminių koncentracija storesnėse dešrose buvo aukštesnė negu plonesnėse, koncentracija centrinėje dešros dalyje didesnė negu galuose [4]. Tai siejama taipogi su vandens aktyvumu, veikiančiu mikroorganizmų augimą [13].

Darbo tikslas – ištirti biogeninių aminių kieki virtose ir virtose rūkytose dešrose.

Tyrimo objektas ir metodai

Biogeninių aminių tyrimams atrinkti šie mėginiai:

1. Virtų dešrų mėginiai atsitiktiniu būdu atrinkti prekybos tinkle.
2. Virtų ir rūkytų virtų dešrų mėginiai, įvairių gamintojų, bet to paties pavadinimo, atrinkti prekybos tinkle.

3. Vieno gamintojo virtų dešrų mėginiai, atrinkti gamyboje.

Bandiniai laikyti šaldytuve, $(4\pm 2)^\circ\text{C}$ temperatūroje, iki 35 parų.

Biogeninių aminių: tiramino, putrescino ir histamino junginių kiekybinė analizė atlikta efektyviosios skysčių atvirkštinių fazių chromatografijos metodu. Mėginiai homogenizuoti. Biogeniniai aminai ekstrahuoti 0,4 mol/l perchloro rūgštimi. Ekstrakto dalis inkubuota 45 min 40°C dansylchlorido tirpalu (5-dimethylaminonaphtalene-1-sulfonyl chloride). Po inkubacijos, atvėsinus iki kambario temperatūros, dansylchlorido likutis pašalintas 25 % amoniaku. Mėginiai nufiltruoti per 0,45 μm filtrą, išvirkšti po 20 μl ir išanalizuoti efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) sistemoje. ESC sistema – kolonėlė LiChroCART® 125-4 plieninė, eliuentas: B – acetonitrilas, A – amonio acetatas 0,1 mol/l. Analizuojama 28 min, pirmąsias 19 min keičiant eliuento sudėtį nuo 50 % B iki 90 % B (atitinkamai nuo 50 % A iki 10 % A), po to 1 min, paliekant eliuento sudėtį pastovia – 90 % B (10 % A), ir po to, kad būtų užtikrintas kitos analizės medžiagų atskyrimas, 8 min kolonėlė pildoma eliuentu, kurio sudėtis 50 % B ir 50 % A. Debitas visos analizės metu nekinta – 0,9 ml/min, UV detekcija vyksta esant 254 nm. Identifikuota, lyginant

kiekvieno nustatomo amino sulaikymo trukmę su kiekvienos etaloninės medžiagos sulaikymo trukme. Kiekybinė analizė atlikta pagal vidinio standarto metodą, skaičiuojant smailės plotą apibrėžtam etaloninės medžiagos kiekiui. Tyrimų kartotinumai 3–5 kartai, pateikiamos vidutinės reikšmės \pm standartinis nuokrypis. Tirta iš karto paėmus ir vėliau, 15, 20, 35 paras palaikius šaldytuve, $(4\pm 2)^\circ\text{C}$ temperatūroje.

Mikrobiologiniai tyrimai. Bendras bakterijų skaičius nustatytas sėjimo į lėkšteles metodu po 24–48 h inkubavimo 37°C temperatūroje. Bandiniai buvo atrinkti gamyboje.

Rezultatai ir jų aptarimas

Mėginių, atrinktų prekybos tinkle, analizės rezultatai pateikti 1–3 lentelėse.

Ištirtuose virtų dešrų mėginiuose, atrinktuose atsitiktiniu būdu prekybos tinkluose, biogeninių aminių kiekis svyruoja nuo 6 iki 350 mg/kg produkto. Dominuojantis aminas yra putrescinas, kurio yra visuose mėginiuose. Didžiausias histamino kiekis buvo apie 230 mg/kg. Biogeninių aminių kiekiui šiuose mėginiuose turėjo įtakos daug faktorių: skirtinga žaliava, sudėtis, gamybos data. Visi ištirti mėginiai priklauso aukščiausios rūšies virtų dešrų grupei.

1 lentelė. Biogeninių aminių kiekis virtose dešrose

Mėginio Nr.	Putrescinas, mg/kg	Histaminas, mg/kg	Tiraminas, mg/kg	Bendras biogeninių aminių kiekis, mg/kg
1.	10,8 \pm 0,5	3,4 \pm 0,1	–	14,2
2.	20,9 \pm 0,6	149,3 \pm 4,5	187,9 \pm 5,6	358,1
3.	156,3 \pm 4,7	15,4 \pm 0,5	21,4 \pm 0,6	193,1
4.	75,6 \pm 2,3	78,5 \pm 2,3	4,2 \pm 0,1	158,3
5.	41,6 \pm 1,2	2,9 \pm 0,1	0,99 \pm 0,01	45,5
6.	4,8 \pm 0,1	–	1,8 \pm 0,1	6,5
7.	102,5 \pm 3,1	14,5 \pm 0,5	13,5 \pm 0,5	130,5
8.	3,9 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	8,2 \pm 0,1	15,1
9.	74,4 \pm 2,3	94,5 \pm 2,8	39,6 \pm 0,6	208,5
10.	60,0 \pm 1,8	226,8 \pm 6,8	70,0 \pm 2,3	356,8
11.	9,5 \pm 0,5	2,3 \pm 0,1	7,4 \pm 2,3	19,2
12.	27,9 \pm 0,6	20,7 \pm 0,6	131,9 \pm 3,9	180,5
13.	24,7 \pm 0,6	42,5 \pm 1,2	49,3 \pm 1,5	116,5

2 lentelė. Biogeninių aminių kiekis to paties pavadinimo virtose „Daktariškose“, bet įvairių gamintojų dešrose

Rodiklis	1 gamintojas	2 gamintojas	3 gamintojas
Putrescinas, mg/kg	7,7 \pm 0,2	6,9 \pm 0,2	17,3 \pm 0,5
Histaminas, mg/kg	4,4 \pm 0,1	3,7 \pm 0,1	67,7 \pm 2,0
Tiraminas, mg/kg	0,4 \pm 0,01	0,6 \pm 0,01	8,1 \pm 0,2
Bendras biogeninių aminių kiekis, mg/kg	12,5 \pm 0,4	11,2 \pm 0,3	93,1 \pm 2,8

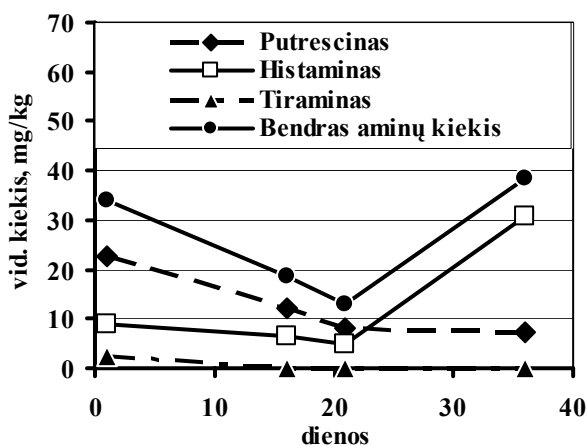
3 lentelė. Biogeninių aminų kiekis to paties pavadinimo virtose rūkytose „Servalato“, bet įvairių gamintojų dešrose

Rodiklis	1 mėginys	2 mėginys	3 mėginys
Putrescinas, mg/kg	25,3±0,7	22,3±0,7	6,2±0,2
Histaminas, mg/kg	32,7±1,0	1,8±0,1	-
Tiraminas, mg/kg	0,5±0,01	3,9±0,1	1,0±0,1
Bendras biogeninių aminų kiekis, mg/kg	58,5±1,7	28,0±0,8	7,2±0,2

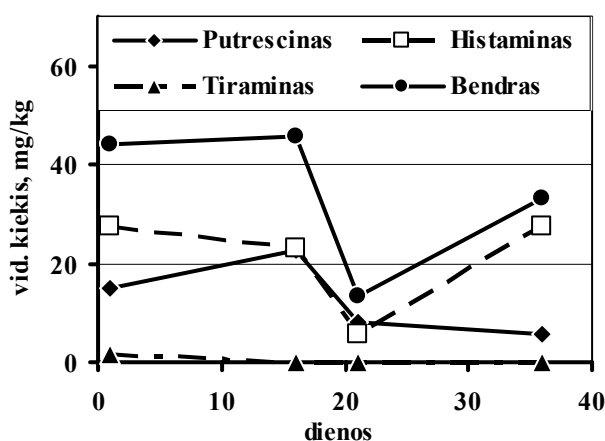
Siekiant išvengti receptūrinių komponentų įtakos biogeniniams aminams susidaryti, buvo susiaurintos mėginių atrankos sąlygos. Tirtos vieno pavadinimo, bet skirtingų gamintojų virtos ir virtos rūkytos dešros. Nustatyta, kad šiuo atveju žymiai susiaurėjo

biogeninių aminų kiekio svyravimo ribos. Dominuojantis aminas yra histaminas.

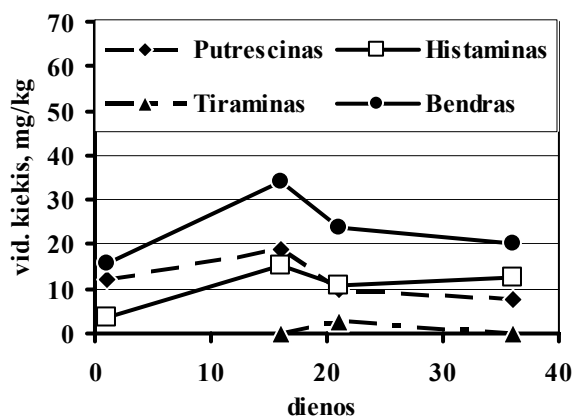
Biogeninių aminų ir bendro bakterinio užterštumo kitimas virtose dešrose, atrinktose gamyboje, parodyta 1–4 paveiksluose.



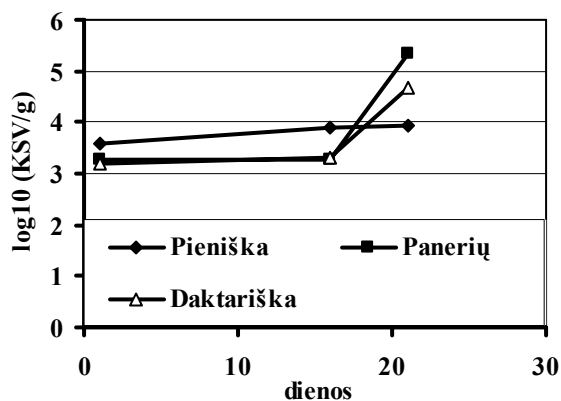
1 pav. Biogeninių aminų kitimas „Pieniškoje“ dešroje per 36 paras po pagaminimo



2 pav. Biogeninių aminų kitimas „Panerių“ dešroje per 36 paras po pagaminimo



3 pav. Biogeninių aminų kitimas „Daktariškoje“ dešroje per 36 paras po pagaminimo



4 pav. Bendro bakterijų skaičiaus pokyčiai virtose dešrose per 21 parą po pagaminimo

Biogeninių aminų kitimas virtų dešrų laikymo metu yra sudėtinga. Eksperimento metu nustatytas skirtingas biogeninių aminų pradinis kiekis, kuris priklausė nuo žaliavos kokybės ir gamybos higienos lygio. Laikymo metu nesikeitė tiramino kiekis. Histamino ir putrescino kiekio dinamika įvairiuose mėginiuose yra skirtinga.

Bendro bakterijų skaičiaus didėjimas per 20 parų „Pieniškoje“ dešroje nedidelis, visą laikotarpį išlieka $0,35 \log_{10}(\text{KVS/g})$, tačiau „Panerių“ ir „Daktariškoje“ dešrose matome staigų augimą po 15 parų, atitinkamai padidėja $2,04 \log_{10}(\text{KVS/g})$ ir $1,5 \log_{10}(\text{KVS/g})$ (4 pav.).

Jeigu pažiūrėtume į biogeninių aminų bendro kiekio pokyčius įvairiose virtose dešrose, atrinktose gamyboje, pastebėtume, kad jų kiekis „Panerių“ ir „Daktariškoje“ dešrose yra jau po 15 parų didžiausias, atitinkamai: $45,7 \text{ mg/kg}$ ir $34,1 \text{ mg/kg}$, bet ilgiau laikant nedidėjo, kai tuo tarpu bendras bakterijų skaičius augo. Šių pavadinimų dešrose bendras biogeninių aminų kiekis per 15 parų po pagaminimo padidėjo, kai tuo tarpu „Pieniškoje“ dešroje sumažėjo gana smarkiai, iki $15,7 \text{ mg/kg}$. Tikėtina, kad tai galėjo nulemti gaminio receptūros skirtumai, nes visos dešros yra aukščiausios rūšies, ir mėsos kiekis jose skiriasi nežymiai. Taigi rezultatai rodo, kad biogeninių aminų susidarymas dešrose yra sudėtingas procesas, lemiamas daugelio veiksnių. Nėra tiesioginės priklausomybės tarp mikrobiologinio užterštumo ir biogeninių aminų kiekio kaitos produkte.

Išvados

1. Biogeninių aminų kiekis ištirtose dešrose, atrinktose prekybos centre, svyruoja nuo $8,5$ iki $358,0 \text{ mg/kg}$ ir dominuoja histaminas.
2. Dešrų laikymo metu nenustatyta priklausomybė tarp bendro mikroorganizmų skaičiaus ir biogeninių aminų kiekio kaitos.

Literatūra

1. **Arnol C. H., Bropw W. D.** Histamine toxicity from fish products // *Adventure Food Research*. 1978. Vol. 24. P. 113–154.
2. **Baley G. S., Williams D. E.** Potential mechanisms for food-related carcinogens and anticarcinogens // *Food Technology*. 1993. Vol. 47. P. 105–118.
2. **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, No. 2. P. 225–23.
3. **Bover-Cid. S., Shoppen S.** Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausage // *Meat Science*. 1999. Vol. 51. P. 305–311.
4. **Bover-Cid. S., Izquierdo-Pulido M.** Changes in biogenic amines and polyamine contents in slightly

fermented sausages manufactured with and without sugar // *Meat Science*. 2001. Vol. 57. P. 215–221.

5. **Kalač P.** Occurrence of biologically active polyamines in foods // COST 922 „Health implications of dietary amines“. Workshop on amines and food safety. Book of Abstracts. 2005. P. 20.
6. **Bover-Cid S., Miguelez-Arrizado M. J., Vidal-Carou M. C.** Biogenic amine accumulation in ripened sausages affected by the addition of sodium sulphite // *Meat Science*. 2001. Vol. 59, No. 4. P. 391–396.
7. **Komprda T., Neznalova J., Standara S., Bover-Cid S.** Effects of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage Poličan // *Meat Science*. 2001. Vol. 59, No 3. P. 267–276.
8. **Edwards R. A., Dainty R. H., Hiband C. M.** Putrescine and cadaverine formation in vacuum packed beef // *Journal Applied Bacteriology*. 1985. Vol. 58. P. 13–19.
9. **Maijala R., Nurmi E.** Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages // *Meat Science*. 1995. Vol. 39. P. 9–22.
10. **Kebarly K. M. K., El-Sonbaty A. H., Badawi R. M.** Effects of heating milk and accelerating ripening of low fat cheese on biogenic amines and free amino acids development // *Food Chemistry*. 1999. Vol. 64. P. 67–75.
11. **Straub B. W., Tichaczek P. S., Kicherer M., Hammes W. P.** Formation of tyramine by *Lactobacillus curvatus* LTH 972 // *Lebensmittel Unters. F. A.* 1994. Vol. 1. P. 9–12.
12. **Eerola S., Maijala R., Roig Sagues A. X., Salminen M., Hirvi T.** Biogenic amines in dry sausages as affected by starter culture and contaminant amine-positive *Lactobacillus* // *Journal Food Science*. 1996. Vol. 61. P. 1243–1246.
13. **Ruiz-Capillas C., Jimenez-Colmenero F.** Biogenic Amines in Meat and Meat Products // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004. Vol. 44. P. 489–499.

Dėkojame Valstybiniam mokslo ir studijų fondui, kuris rėmė šį darbą.

Pateikta spaudai 2006-03

G. Garmienė, A. Šalaševičienė, I. Miliauskienė,
G. Zaborskienė, A. Šarkinas

INVESTIGATION OF BIOGENIC AMINES IN COOKED AND COOKED-SMOKED SAUSAGE

Summary

The amounts of the biogenic amines such as putrescine, histamine and tyramine were found within their expiry date in the cooked and cooked-smoked sausage varieties, produced in Lithuania. Random samples were taken for the investigation from the supermarkets and the producers under determined conditions. The

amounts of biogenic amines in the tested samples varied in the large range from 8.5 mg/kg to 358.0 mg/kg. Having examined the biogenic amines, the highest concentration was discovered of histamine and putrescine; the lowest – of tyramine. The concentration of the biogenic amines ranging from 7.0 to 93.0 mg/kg per product was found in the sausages of the highest quality. Higher quantities of putrescine and histamine were detected in the cooked-smoked sausage compared to the cooked sausages. The highest biogenic amine concentrations were found in the random samples taken from the supermarkets. The biogenic amines concentrations in the samples selected from the producers within the expiry date were dependent on their initial amounts at the beginning of the production. The estimation of the biogenic amines revealed the tendency of the constant decrease in the biogenic amine content during the first stages of the storage followed by the increase after 20 days. The correlation between the total bacteria count and the dynamics of biogenic amines formation was not established.

Keywords: cooked sausage, cooked-smoked sausage, biogenic amine, putrescine, histamine, tyramine.

Г. Гармене, А. Шалашявичене, И. Миляускене,
Г. Заборскене, А. Шаркинас

БИОГЕННЫЕ АМИНЫ В ВАРЕННЫХ И ВАРЕНО-КОПЧЕНЫХ КОЛБАСАХ

Резюме

Представлены результаты исследований биогенных аминов путресцина, гистамина и тирамина в вареных и варено-копченых колбасах, изготовленных в Литве. Исследованию подвергались образцы в пределах их срока годности для употребления. Образцы были отобраны в супермаркете и на местах их производства. Найдено, что в исследованных образцах количество биогенных аминов находится в пределах от 8,5 до 358,0 мг/кг и преобладает в образцах, отобранных в торговой сети. Доминирующим из аминов является гистамин, в наименьших количествах обнаружен тирамин. Однако в образцах продуктов высшего сорта количество биогенных аминов находится в пределах от 7,0 до 93,0 мг/кг, причем в варено-копченых колбасах гистамина и путресцина обнаружено больше, чем в вареных.

Установлено, что при хранении образцов в определенных условиях динамика биогенных аминов зависит от их начальной концентрации в продукте. Не установлена зависимость между содержанием биогенных аминов в продукте и его общим микробным обсеменением.