

Štúdium rastu a produkcie biogénnych amínov niektorými mikroorganizmami za modelových podmienok

GABRIEL GREIF, MÁRIA GREIFOVÁ, JÁN DVORAN, JOLANA KAROVIČOVÁ, VIOLA BUCHTOVÁ

Slovak Technical University, Faculty of Chemical Technology, Bratislava, Slovak Republic

Abstract

GREIF G., GREIFOVÁ M., DVORAN J., KAROVIČOVÁ J., BUCHTOVÁ V. (1999): Study of the growth and production of biogenic amines by some microorganisms in model conditions. Czech J. Food Sci., 17: 15–21.

The study was aimed at the growth of selected strains from the family *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella pneumoniae*) in meat-peptone (MPB) broth and cabbage juice at different cultivation temperatures, and at the production of biogenic amines (cadaverine, putrescine, histamine). Bacterial growth was evaluated on the basis of specific growth rate (μ_m) and lag phase (λ) calculated from growth curves. Cadaverine was produced as the first amine in MPB and cabbage juice by all studied strains at the cultivation temperatures and at living cell densities 10^6 KTJ/cm³. Putrescine was produced by *E. coli* only in both substrates at the cultivation temperatures. Histamine was produced by *E. coli* at 18 °C in cabbage juice and by *Enterobacter aerogenes* in both substrates at the cultivation temperatures.

Key words: cadaverine; putrescine; histamine; *Escherichia coli*; *Enterobacter aerogenes*; *Klebsiella pneumoniae*

Súhrn

GREIF G., GREIFOVÁ M., DVORAN J., KAROVIČOVÁ J., BUCHTOVÁ V. (1999): Štúdium rastu a produkcie biogénnych amínov niektorými mikroorganizmami za modelových podmienok. Czech J. Food Sci., 17: 15–21.

Sledovali sme rast vybraných kmeňov z čeľade *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* a *Klebsiella pneumoniae*) v mäsopeptónovom bujíne (MPB) a kapustovej šťave pri rôznych teplotách kultivácie a produkciu biogénnych amínov (kadaverín, putrescín, histamín). Rast baktérií bol hodnotený na základe špecifickej rastovej rýchlosťi (μ_m) a lag fázy (λ) vypočítaných z rastových kriviek. Všetky sledované kmene produkovali v MPB a kapustovej šťave pri zvolených teplotách a pri denzitách živých buniek 10^6 KTJ/cm³ ako prvý kadaverín. Putrescín bol produkovaný len *E. coli* v oboch substrátoch pri zvolených teplotách kultivácie. Histamín produkovali *E. coli* pri 18 °C v kapustovej šťave a *Enterobacter aerogenes* pri použitých teplotách v oboch substrátoch.

Kľúčové slová: kadaverín; putrescín; histamín; *Escherichia coli*; *Enterobacter aerogenes*; *Klebsiella pneumoniae*

Biogénne amíny (BA) patria k prirodzeným antinutričným faktorom, hygienicky významným vo výžive. Sú potrebné pre rad základných funkcií, ako sú napr. regulácia nukleových kyselín, syntéza bielkovín, stabilizácia membrán, kontrola krvného tlaku. Na druhej strane ich vysoké koncentrácie môžu zapríčiniť toxické efekty (DAVÍDEK 1995).

BA v potravinách môžu pochádzať z dvoch zdrojov. Sú prirodzenou súčasťou bunkových štruktúr rastlín alebo môžu vznikať v procese výroby a skladovania potravín ako výsledok metabolického pôsobenia mikroorganizmov. BA sa tak stávajú indikátorom mikrobiálnej kontaminácie a ich koncentrácia môže byť jedným z ukazovateľov kvality potravín (SCHNELLER *et al.* 1997). Pri ich sledovaní

sa sústredí pozornosť predovšetkým na stanovenie histamínu, putrescínu, kadaverínu, tyramínu, tryptamínu, spermínu, spermidínu v rybích produktoch, syroch, fermentovaných mäsových a zeleninových výrobkoch, pive a víne (HALÁSZ *et al.* 1994; SHALABY 1996).

Faktory, vplývajúce na tvorbu BA v potravinách, sú:

- prítomnosť voľných aminokyselín,
- prítomnosť pyridoxalfosfátu,
- priažnivé podmienky pre rast mikroorganizmov produkujúcich dekarboxylázy.

Mikroorganizmy, ktoré produkujú dekarboxylázy, môžu byť prirodzene prítomné v produktoch, alebo môžu byť vnesené pred technologickým spracovaním, počas neho alebo po ukončení výroby. Dekarboxylázy boli nájdené

u baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*, rodov *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* a mnoha iných.

Baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae* (hlavne *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) ako kontaminujúca mikroflóra sú zodpovedné za tvorbu kadaverínu, putrescínou a histamínu v potravinách. Tieto kmene sú súčasťou črevnej mikroflóry človeka a hospodárskych zvierat. Vyskytujú sa aj v prírodnom prostredí. Pretože tieto baktérie sú termolabilné, je ich prítomnosť v mliekarenských výrobkoch dôsledkom buď nedostatočného pasterizačného režimu, alebo zlej hygienu a sanitáciu v závode. Bol dokázaný zvýšený obsah kadaverínu a putrescínou v syroch vyrobených z mlieka kontaminovaného týmito baktériami (ANTILA *et al.* 1984; ABD-ALLA *et al.* 1996).

Pri skladovaní čerstvej zeleniny a čerstvých šalátov z listovej zeleniny bol zistený zvýšený obsah putrescínou, pričom sa predpokladala súvislosť medzi prítomnosťou populácie *Enterobacteriaceae*, ktorá tvorí 90 % prítomnej mikroflóry, a produkciou putrescínou (SIMON-SARKADI *et al.* 1994).

Vzťah medzi zložením mikroflóry a obsahom BA bol študovaný aj u iných potravín, ako sú mäso (BUNCIC *et al.* 1990; TEODOROVIC *et al.* 1994), kyslá kapusta (KÜNSCH *et al.* 1990; GREIF *et al.* 1994; HALÁSZ *et al.* 1994), pivo a víno (ZEE *et al.* 1983; STRAUB *et al.* 1995).

Cieľom našej práce bolo za modelových podmienok sledovať schopnosť vybraných druhov mikroorganizmov (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) produkovať biogénne amíny v mäsopeptónovom bujóne (MPB) a kapustovej šťave pri rôznych teplotách kultivácie. Okrem toho sme stanovili počty sledovaných mikroorganizmov v zvolených časových intervaloch v každom substráte a pri každej teplote platňou kultivačnou metódou za účelom výpočtu parametrov rastových kriviek – špecifickej rastovej rýchlosťi (μ_m) a lag fázy (λ).

MATERIÁL A METÓDY

Použité mikroorganizmy. *Escherichia coli* (izolovaná z čerstvého kravského mlieka, potvrdená biochemickými testami); *Enterobacter aerogenes* CCM 2531; *Klebsiella pneumoniae* subs. *pneumoniae* CCM 4415

Príprava inokula a kultivácia substrátu. Z dvadsať-hodinovej kultúry vyrastenej na šíkmom GTK agare bola pripravená suspenzia baktérií vyšetrovaného kmeňa vo fyziologickom roztoku (0,85% NaCl a 0,1% peptón) o hustote 3×10^8 KTJ/m³, ktorá zodpovedá I. zákalovému stupňu Mc Farlandovej zákalovej stupnice Desiatkovým riedením bolo pripravené inokulum, ktoré bolo aplikované (1 cm³) do 10 cm³ sterilného mäsopeptónového bujónu (MPB), resp. sterilnej kapustovej šťavy v skúmvákach. Vstupná koncentrácia mikroorganizmov bola 10³ KTJ/cm³, resp. 10⁵ KTJ/cm³ (pri teplotách 6 a 10 °C).

Podmienky kultivácie:	stacionárna kultivácia
<i>Escherichia coli</i>	MPB, teplota 10, 15, 20, 30, 37 °C kapustová šťava, teplota 6 a 18 °C
<i>Enterobacter aerogenes</i>	MPB, teplota 20 a 30 °C MPB s prídavkom lyzínu a histidínu (0,05 a 0,07%), teplota 20 a 37 °C kapustová šťava, teplota 20 a 30 °C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MPB, teplota 10, 20, 25, 30 a 37 °C kapustová šťava, teplota 10, 20, 30 °C

Vzorky boli odoberané v zvolených časových intervaloch, pričom každý odber bol uskutočnený z novej skúmvavky.

Stanovenie počtu mikroorganizmov. Počty mikroorganizmov (KTJ/cm³) pre *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* a *Klebsiella pneumoniae* boli stanovené kultivačnou metódou na Petriho miske (rozterom 0,2 cm³) na VČŽL agare podľa STN ISO 4832.

Stanovenie pH. pH bolo merané na prístroji Radelkis OP 211/1

Stanovenie amínov. Amíny boli stanovené po odstredení (9 000 g, 10 min) v supernatante vo forme dansylderivátov metódou HPLC (GREIF *et al.* 1997)

Výpočet charakteristík rastu mikroorganizmov

Rastové charakteristiky μ_m (špecifická rýchlosť rastu) a λ (lag fáza) boli určené z rastovej krivky:

$$\frac{dN}{d\tau} = kN \quad [1]$$

a vypočítané z parametrov fitovacej krivky:

$$y = \frac{a}{1 + \exp(-(x - b/c))} \quad [2]$$

$$\mu_m = \frac{a}{4c} \quad [3]$$

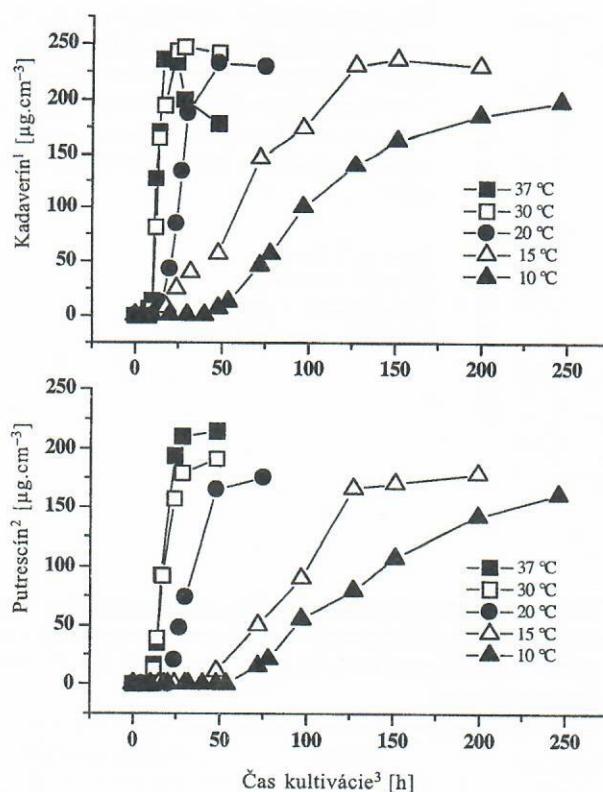
$$\lambda = b - 2c \quad [4]$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Produkcia amínov *Escherichia coli*

Pri hodnotení produkcie biogénnych amínov (kadaverín, putrescín, histamín) kmeňom *Escherichia coli* v MPB pri teplotách 10, 15, 20, 30, 37 °C a kapustovej šťave (6 a 18 °C) sme vychádzali z toho, že tento kmeň je schopný rásť na uvedených substrátoch (GREIF *et al.* 1995, 1996), ako aj z počtom *E. coli* nachádzajúcich sa na surovej kapuste, resp. šalátovej zelenine a surovinách živočíšneho pôvodu (mäso, mlieko), ktoré sa môžu meniť v závislosti od teploty a spôsobu skladovania, ale aj hygienu a sanitácie technologického procesu pri spracovaní.

Namerané výsledky (obr. 1 a 2) ukazujú, že *E. coli* produkuje enzým lyzín dekarboxylázu (L-lyzín karboxylyáza;



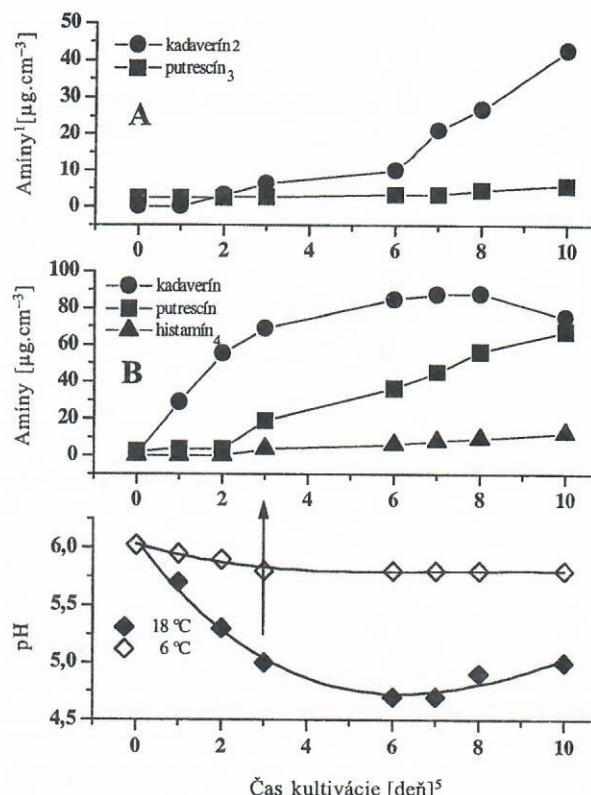
¹cadaverine; ²putrescine; ³time of cultivation

Obr. 1. Produkcia kadaverínu a putrescínu kmeňom *Escherichia coli* v MPB pri rôznych teplotách kultivácie – Cadaverine and putrescine production by *Escherichia coli* in MPB at different cultivation temperatures

EC 4.1.1.18), v dôsledku čoho vzniká kadaverín. Maximálna koncentrácia kadaverínu v MPB produkovaného *E. coli* pri teplote 37 °C bola v 16. hodine kultivácie (238 μg/cm³). Podľa publikácií (STEIN 1956; GERDES, LEISTNER 1979; BERGMEYER 1983; SIGMA 1996) optimum pre činnosť L-lyzín dekarboxylyázy produkowanej mikroorganizmami je pri teplote 37 °C a pH 5,2–7,0. Pri nižších teplotách kultivácie (30, 20, 15, 10 °C) sa čas dosiahnutia maximálnej koncentrácie kadaverínu predlžoval, ale koncentrácia kadaverínu nepresiahla 248 μg/cm³ (obr. 1).

Pri teplote optimálnej (z intervalu nami použitých teplôt – 37 °C) pre rast *E. coli* bola v 8. hodine kultivácie v MPB zistená koncentrácia kadaverínu 10⁶ KTJ/cm³. Vysledky ďalej ukázali (obr. 3), že čas, v ktorom bola vytvorená mernateľná koncentrácia kadaverínu (v MPB) bol o cca 6 hodín dlhší, pri nami sledovaných teplotách (10, 15, 20, 30, 37 °C), ako čas lag fázy a denzita buniek bola na hladine 10⁶ KTJ/cm³.

Produkcia kadaverínu, putrescínu a histamínu *E. coli* v kapustovej šťave je uvedená na obr. 2. Koncentrácia kadaverínu významne vzrástla už po 1. dni kultivácie pri teplote 18 °C a maximálnu hodnotu dosiahla v 7. deň (87 μg/cm³)

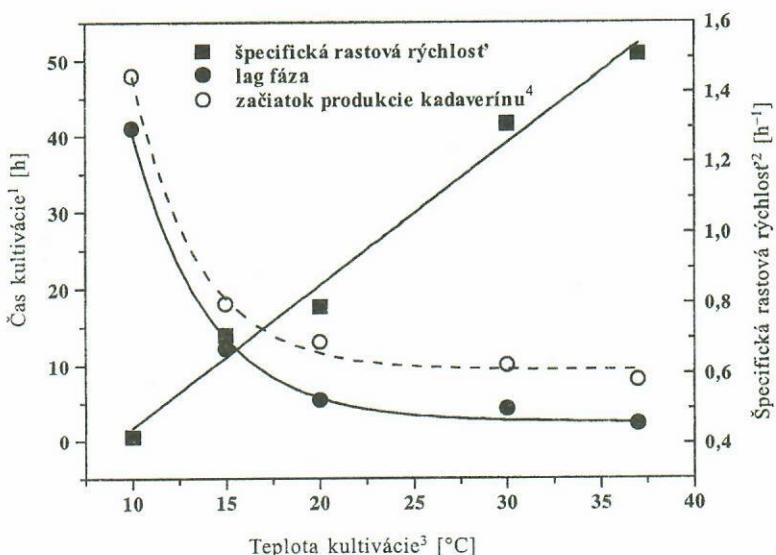


¹amine; ²cadaverine; ³putrescine; ⁴histamine; ⁵time of cultivation [day]

Obr. 2. Vplyv teploty kultivácie (A) 6 °C, (B) 18 °C na produkciu amínov kmeňom *Escherichia coli* v kapustovej šťave a zmeny pH – The effect of cultivation temperatures (A) 6 °C, (B) 18 °C on amine production by *Escherichia coli* in cabbage juice and on pH variations

(obr. 2B). V ďalších dňoch kultivácie (8. a 10.) bol sledovaný pokles koncentrácie kadaverínu. Pri teplote 6 °C bola maximálna koncentrácia kadaverínu nameraná na 10. deň (42,9 μg/cm³). Aj napriek tomu, že pri teplote 6 °C bola produkcia kadaverínu *E. coli* v kapustovej šťave značne spomalená (obr. 2A), nie je zanedbatelná. Pri teplote kultivácie 6 °C neboli nami zaznamenané významné rast *E. coli* v použitom substráte, avšak produkciu kadaverínu je možné odôvodniť skutočnosťou, že prežívajúce bunky boli schopné produkcie kadaverínu. Vstupná denzita buniek *E. coli* pri tejto teplote bola 8,3 × 10⁵ KTJ/cm³.

Pokles koncentrácie kadaverínu v sledovaných pokusoch (obr. 1, 2B) bol závislý od použitéj teploty a substrátu. Je ho možné odôvodniť jednak znižením koncentrácie substrátu (lyzín) a jednak prítomnosťou enzymu diamino-oxidáza (DAO) (EC 1.4.3.6), ktorý sa uvoľňuje z odumretých buniek pri ich rozpadze (lyze). DAO dehydrogenujú kadaverín cez imín, pričom dva odobrané atómy vodíka za spoluúčasti kyslíka tvoria peroxid vodíka. Z imínu sa hydrolyzou uvoľňuje amoniak a vzniká aldehyd (ω -aminováleraldehyd), ktorý následne spontánne cyklizuje na Δ^1 -piperideín.



Obr. 3. Závislosť špecifickej rastovej rýchlosťi, lag fázy a začiatku produkcie kadaverínu od teploty kultivácie pre *Escherichia coli* v MPB
– Relations of specific growth rate, lag phase and onset of cadaverine production to cultivation temperatures for *Escherichia coli* in MPB

¹time of cultivation

²specific growth rate

³temperature of cultivation

⁴onset of cadaverine production

Produkcia putrescínu *E. coli* v MPB a kapustovej šťave je na obr. 1 a 2. Ako sa ukázalo, dôležitým faktorom ovplyvňujúcim produkciu putrescínu, ale aj histamínu kmeňom *E. coli*, je hodnota pH substrátu. Na tretí deň kultivácie pri teplote 18 °C, v dôsledku produkcie organických kyselín (mliečna, octová, pyrohroznová, mrvacia), hodnota pH kapustovej šťavy inokulovanej *E. coli* poklesla na 5 (obr. 2B) a došlo k významnému zvýšeniu koncentrácie putrescínu. Optimálna hodnota pH pre L-ornitín dekarboxylázu (EC 4.1.1.25) produkovanú *E. coli* je 5–5,2 (ASKAR, TREPTOW 1986; FLUKA 1989). Putrescín môže však byť tvorený aj z arginínu cez medzistupne agmatín alebo carbamylputrescín (ASKAR, TREPTOW 1986). Cez dekarboxylázu arginínu (EC 4.1.1.19) vzniká najprv agmatín. *E. coli* môže hydrolyzovať agmatín cez ureohydrolázu (EC 3.5.1.5) priamo na putrescín. Skutočnosť, že putrescín vznikal aj z arginínu, potvrdili analýzy aminokyselín a amoniaku vo vzorkách. Pokusy ukázali, že putrescín bol tvorený kmeňom *E. coli* pri denzítach buniek 10^9 KTJ/ml. Namerané hodnoty koncentrácií putrescínu nemusia však zodpovedať poklesu koncentrácie ornitínu, resp. arginínu vzhľadom na to, že vznikal v čase odumierania buniek (činnosť DAO). Okrem toho putrescín je prekurzorom pri syntéze polyamínov (spermín, spermidín) (KRÍŽEK, KALAČ 1998).

Niekteré amíny sú posudzované ako potenciálne karcinogény. Zahrievaním putrescínu môže vznikať pyrrolidín, z kadaverínu piperidín. Tieto produkty za určitých podmienok môžu byť nitrozované ako sekundárne aminoskupiny agmatínu, spermínu a spermidínu (FAZIO *et al.* 1973; DAVÍDEK 1995; SHALABY 1996).

Produkcia amínov kmeňom *Enterobacter aerogenes*

Charakteristiky rastu *Enterobacter aerogenes* v MPB a kapustovej šťave pri sledovaných teplotách sú uvedené v tab. 1. Vplyv substrátu sa výraznejšie prejavil pri teplote 20 °C, keď dĺžka lag fázy v kapustovej šťave bola cca 2,5krát dlhšia ako v MPB. Aj špecifická rastová rýchlosť

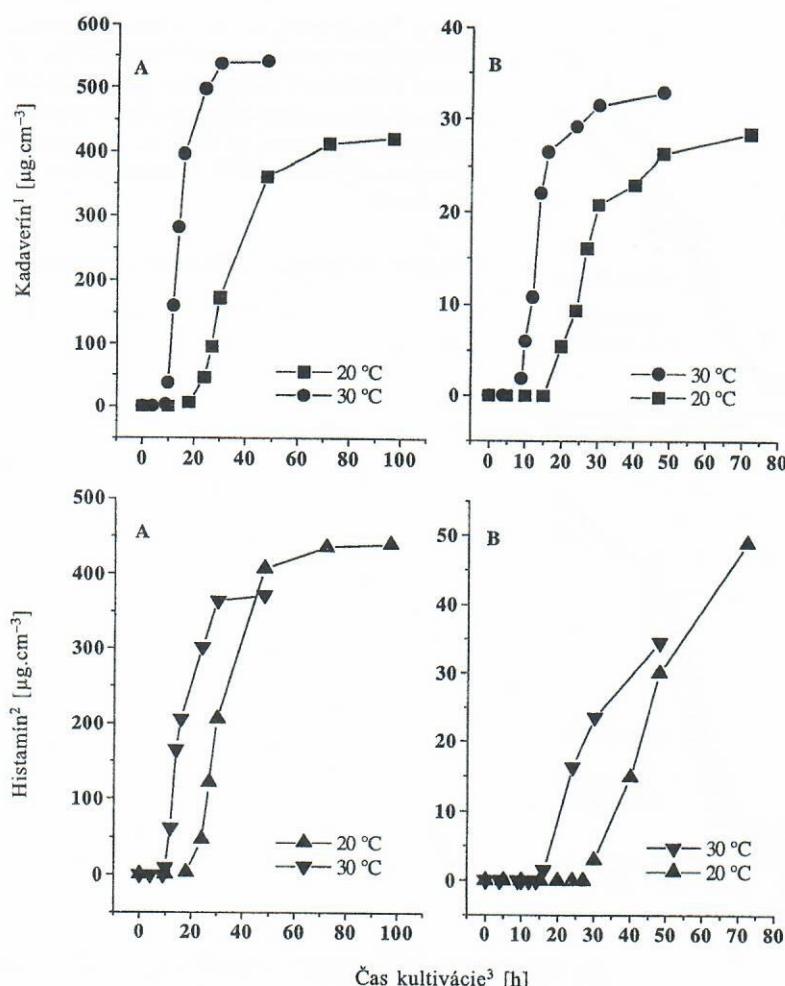
Tab. 1. Charakteristiky rastu – špecifická rastová rýchlosť (μ_m) a lag fáza (λ) pre *Enterobacter aerogenes* – Growth characteristics – specific growth rate (μ_m) and lag phase (λ) for *Enterobacter aerogenes*

Teplota ¹ [°C]	MPB		Kapustová šťava ²	
	λ [h]	μ_m [h ⁻¹]	λ [h]	μ_m [h ⁻¹]
20	4,7	0,81	12,4	0,71
30	2,4	1,59	3,9	1,31
37	1,9	1,85	–	–

¹temperature; ²cabbage juice

lost' bola nižšia v kapustovej šťave (aj napriek prítomnosti glukózy) ako v MPB, čo je možné odôvodniť prítomnosťou inhibítarov.

Pri hodnení produkcie amínov kmeňom *Enterobacter aerogenes* vidieť, že tento kmeň produkoval kadaverín a histamín v oboch nami použitých substrátoch (MPB a sterilná kapustová šťava) (obr. 4–5). Aj v tomto prípade bol kadaverín produkovaný ako prvý a merateľné koncentrácie v MPB bolo možné stanoviť v 9. hodine pri 30 °C a v 20. hodine pri 20 °C, keď denzita buniek bola na hladine 10^6 KTJ/cm³. Aj napriek prípadku lizínu (0,1%) do MPB bola maximálna koncentrácia kadaverínu (536,1 µg/cm³) dosiahnutá v 30. hodine pri 30 °C a v 72. hodine kultivácie bola koncentrácia 421,5 µg/cm³. Nezadbatelná nie je ani produkcia histamínu, ktorý vzniká z histidínu dekarboxyláciou pomocou enzymu L-histidín dekarboxyláza (EC 4.1.1.22). Najvyššie koncentrácie histamínu v MPB (s prípadom 0,1% histidínu) boli 437 µg/cm³ pri 20 °C v 97. hodine a 381 µg/cm³ pri 30 °C v 48. hodine kultivácie. Výsledky poukazujú na vhodnejšie podmienky pre produkciu histamínu kmeňom *Enterobacter aerogenes* pri nižších teplotách kultivácie v oboch použitých substrátoch (obr. 4). Ako uvádzajú TAYLOR *et al.* (1978), za produkciu histamínu v mliečne fermentovanej kapuste je zodpovedný práve *Enterobacter aerogenes*. S týmto



Obr. 4. Produkcia kadaverínu a histamínu kmeňom *Enterobacter aerogenes* v MPB (A) a kapustovej šťave (B) pri rôznych teplotách kultivácie MPB bol s prídatkom 0,1% lizínu a 0,1% histidínu – Cadaverine and histamine production by *Enterobacter aerogenes* in MPB (A) and cabbage juice (B) at different cultivation temperatures (0.1% of lysine and 0.1% of histidine were added to MPB)

¹cadaverine; ²histamine; ³time of cultivation

tvrdením je možné súhlasit len čiastočne vzhľadom na skutočnosť, že podstatná časť koncentrácie histamínu v kyslej kapuste je tvorená na konci fermentácie, kedy pH substrátu má hodnotu 3,7–3,5. Kmeň *Enterobacter aerogenes* je schopný prežívať v substráte len do pH 4,2 a môže byť teda zodpovedný za produkciu histamínu len v prvom štádiu kvasenia kapusty.

Pri teplote kultivácie 37 °C bola maximálna koncentrácia kadaverínu dosiahnutá v 16. hodine pri rozdielnych koncentráciach substrátu (obr. 5). Významný je pokles kadaverínu pri tejto teplote v nasledujúcich hodinách kultivácie (obr. 5), čo je možné pripisať činnosti DAO, avšak podstatný vplyv DAO na histamín v tomto prípade nebol zistený. Je možné teda predpokladať vyššiu afinitu DAO ku kadaverínu než k histamínu a táto skutočnosť môže byť vysvetlením zistení niektorých autorov (GRANERUS 1968; LYONS *et al.* 1983; HUI, TAYLOR 1985; TAYLOR 1986), že po súčasnom orálnom príjme histamínu, kadaverínu a putrescínu (ryby, syry) bola zistená vyššia koncentrácia histamínu v krvi, ako keď bol histamín prijatý samostatne.

Produkcia amínov kmeňom *Klebsiella pneumoniae*

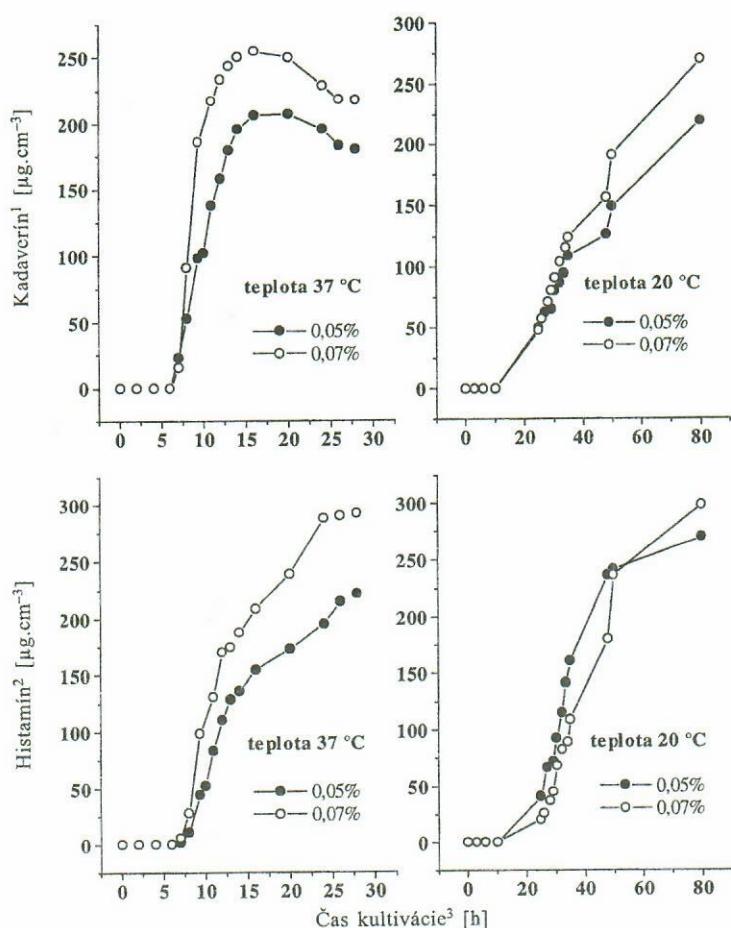
Rast a produkcia amínov kmeňom *Klebsiella pneumoniae* bol sledovaný v MPB (pri teplote 10, 20, 25, 30, 37 °C) a kapustovej šťave (10, 20, 30, 37 °C) (tab. 2, obr. 6).

Výsledky ukazujú, že kmeň *Klebsiella pneumoniae* produkoval v nami použitých substratoch pri zvolených podmienkach kultivácie len kadaverín. Aj napriek nie významným rozdielom v hodnotách špecifickej rastovej rýchlosťi pri 30 a 37 °C v MPB je viditeľný vplyv teploty na produkciu kadaverínu. Najvyššia koncentrácia kadaverínu bola dosiahnutá pri teplote 37 °C v MPB aj kapustovej šťave (obr. 6) v 30. hodine kultivácie. V nasledujúcich hodinách kultivácie nastal určitý pokles koncentrácie kadaverínu

Tab. 2. Charakteristiky rastu – špecifická rastová rýchlosť (μ_m) a lag fáza (λ) pre *Klebsiella pneumoniae* – Growth characteristics – specific growth rate (μ_m) and lag phase (λ) for *Klebsiella pneumoniae*

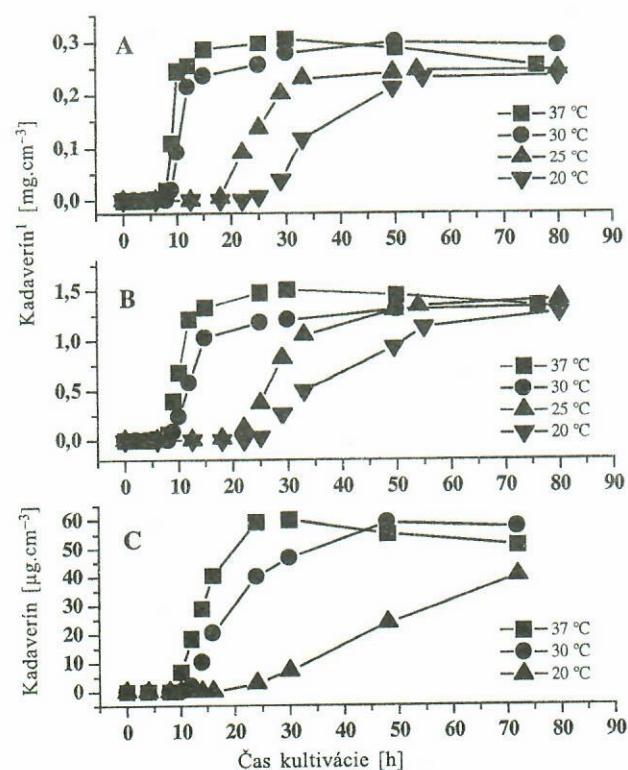
Teplota ¹ [°C]	MPB		Kapustová šťava ²	
	λ [h]	μ_m [h^{-1}]	λ [h]	μ_m [h^{-1}]
10	nebol zaznamenaný rast ³			
20	8,6	0,72	8,9	0,42
25	7,3	1,41	–	–
30	3,5	1,89	3,8	1,05
37	1,3	1,96	1,4	1,13

¹temperature; ²cabbage juice; ³no growth occurred



Obr. 5. Produkcia kadaverínu a histamínu kmeňom *Enterobacter aerogenes* v MPB s príďavkom lizínu a histidínu pri rôznych teplotách kultivácie – Cadaverine and histamine production by *Enterobacter aerogenes* in MPB with lysine and histidine additions at different cultivation temperatures

¹cadaverine; ²putrescine; ³time of cultivation



pri tejto teplote vo všetkých substrátoch, čo je možné pripísťať pôsobeniu DAO z lyzovaných buniek.

Významný vplyv substrátu na rast *Klebsiella pneumoniae* (ale aj *E. coli* a *Enterobacter aerogenes*) a produkciu kadaverínu bol pozorovaný v kapustovej šťave. Špecifická rastová rýchlosť v nej poklesla približne na polovicu a koncentrácia kadaverínu bola nižšia ako 100 µg/cm³. Je to možné odôvodniť jednak vplyvom látok nachádzajúcich sa v kapuste (ide predovšetkým o sírne zlúčeniny – glukozinoláty) a jednak nízkou koncentráciou lizínu v substráte.

Pri teplote kultivácie 10 °C neboli nami zaznamenané rast *Klebsiella pneumoniae* v použitých substrátoch, avšak kadaverín sa našiel (v koncentrácií do 10 (µg/cm³) v dôsledku toho, že prežívajúce bunky boli schopné produkcie kadaverínu. Vstupná denzita buniek *Klebsiella pneumoniae* pri tejto teplote bola $5,8 \times 10^5$ KTJ/cm³. V literatúre sa objavujú zmienky o produkcií kadaverínu a histamínu kmeňom *Klebsiella pneumoniae* pri tejto aj nižších teplotách (BARANOWSKI *et al.* 1985; SANTOS *et al.* 1996).

¹cadaverine; ²time of cultivation

Obr. 6. Produkcia kadaverínu kmeňom *Klebsiella pneumoniae* v MPB (A), MPB + 0,1% lizínu (B) a kapustovej šťave (C) pri rôznych teplotách kultivácie – Cadaverine production by *Klebsiella pneumoniae* in MPB (A), MPB + 0.1% of lysine (B) and in cabbage juice (C) at different cultivation temperatures

Literatúra

- ABD-ALLA E. A. M., KAWTHER EL-SHAFEI I. G. A., SHARAF O. M. (1996): Changes in mikroflora and biogenic amines of some market processed cheeses during storage. *Egypt. J. Dairy Sci.*, **24**: 217–226.
- ANTILA P., ANTILA V., MATILLA J., HAKKARAINEN H. (1984): Biogenic amines in cheese. II. Factors influencing the formation of biogenic amines, with particular reference to the quality of milk used in cheese making. *Milchwissenschaft*, **39**: 400–404.
- ASKAR A., TREPTOW H. (1986): Biogene Amine in Lebensmitteln. Stuttgart, E. Ulmer Verlag: 191.
- BARANOWSKI J. D., BRUST P. A., FRANK H. A. (1985): Growth of *Klebsiella pneumoniae* UH-2 and properties of its histamine decarboxylase system in resting cells. *J. Food Biochem.*, **9**: 349–360.
- BERGMAYER H. U. (1983): Methods of Enzymatic Analysis. 3rd Ed.: 245.
- BUNCIC S., SMILJANIC P., TEODOROVIC V. (1990): Biogenic amines in meat and meat products. *Technol. Mesa*, **31**: 60–66.
- DAVÍDEK J. (Ed.) (1995): Natural Toxic Compounds of Foods. Formation and Changes during Food Processing and Storage. London-Tokyo, Boca Rabon, CRC Press: 268.
- FAZIO T., WHITE R. H., DUSOLD L. R., HOWARD J. W. (1973): Nitrosopyrrolidine in cooked bacon. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **56**: 919–921.
- FLUKA (1989): Katalog 16 „Chemika-Biochemika“. Buchs, Schwiz, Fluka Chemie AG: 1504 s.
- GERDES H. J., LEISTNER E. (1979): Stereochemistry of reaction catalyzed by L-lysine-decarboxylase. *Phytochemistry*, **18**: 771–774.
- GRANERUS G. (1968): Effect of oral histamine, histidine and diet on urinary excretion of histamine, methylhistamine, and 1-methyl-4-imidazoleacetic acid in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **22**: 49–58.
- GREIF G., DRDÁK M., GREIFOVÁ M. (1994): Possibilities of reduction of biogenic amines in vegetable substrate by controlled fermentation. In: Proc. 7th Int. Congr. Bacteriol. Appl. Microbiol., Prague, Czech Rep., 3–8 July: 110.
- GREIF G., DRDÁK M., GREIFOVÁ M. (1995): Determination of biogenic amines produced by some strains of bacteria. In: Proc. EURO FOOD CHEM VII. Viena, Austria, 18–20 September: 355–360.
- GREIF G., GREIFOVÁ M. (1996): Modelovanie rastu baktérií ako funkcia teploty a produkcia amínov. In: Zbor. ČSSM: Mikrobiologie potravín 1996. Třešť, Česká republika, 30. 5.–1. 6.: 33–42.
- GREIF G., GREIFOVÁ M., DRDÁK M. (1997): Stanovenie biogénnych amínov v potravinách živočíšneho pôvodu metódou HPLC. *Potrav. Vědy*, **15**: 119–129.
- HALÁSZ A., BARÁTH A., SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W. (1994): Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trend Sci. Technol.*, **5**: 42–49.
- HUI J. I., TAYLOR S. L. (1985): Inhibition of *in vivo* histamine metabolism in rats by foodborne and pharmacologic inhibitors of diamine oxidase, histamine N-methyl transferase, and monoamine oxidase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **8**: 241–249.
- KŘÍŽEK M., KALAČ P. (1998): Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech J. Food Sci.*, **16**: 151–159.
- KÚNSCH U., SCHÄRER H., PULVER D., TEMPERLI A. (1990): Formation of biogenic amines during sauerkraut fermentation. *Food Biotechnol.*, **4**: 605–608.
- LYONS D. E., BEERY J. T., LYONS S. A., TAYLOR S. L. (1983): Cadaverine and aminoguanidine potentiate the uptake of histamine *in vitro* in perfused intestinal segments of rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **7**: 445–458.
- MAYER K., PAUSE G. (1972): Biogene amine in sauerkraut. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **5**: 108–112.
- SANTOS SILLA M. H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **29**: 213–231.
- SCHNELLER R., GOOD P., JENNY M. (1997): Influence of pasteurised milk, raw milk and different ripening cultures on biogenic amino concentrations in semi-soft cheeses during ripening. *Z. Lebensmittel-Untersch. Fors.*, **204**: 265–272.
- SHALABY A. R. (1996): Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.*, **29**: 675–690.
- SIGMA (1996): Katalof Biochemikalien, Organische Verbindungen für die Forschung und Diagnostika. Diesenhofen, Deutschland, SIGMA-OLDRICH Vertriebs GmbH: 2531s.
- SIMON-SARKADI L., HOLZAPFEL W. H., HALASZ A. (1994): Biogenic amine content and microbial contamination of leafy vegetables during storage at 5 °C. *J. Food Biochem.*, **17**: 407–418.
- STEIN I. (1956): Chémia a technológia enzymov. I. diel. Bratislava, SVTL: 392.
- STRAUB B. W., KICHERER M., SCHILCHER S. M., HAMMES W. P. (1995): Formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Z. Lebensmittel-Untersuch. Fors.*, **201**: 79–82.
- TAYLOR S. L. (1986): Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Crit. Rev. Toxicol.*, **17**: 91–128.
- TAYLOR S. L., LEATHERWOOD M., LIEBER E. R. (1978): Histamine in sauerkraut. *J. Food Sci.*, **43**: 1030–1031.
- TEODOROVIC V., BUNCIC S., SMILJANIC D. (1994): A study of factor influencing histamine producing in meat. *Fleischwirtschaft*, **74**: 181–183.
- ZEE J. A., SIMARD R. E., HEUREUX X. L., TREMBLEY J. (1983): Biogenic amines in wines. *Amer. J. Ecol. Viticul.*, **34**: 6–9.
- STN ISO 4832 (1997): Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií. Bratislava.

Došlo 28. 9. 1998

Prijato k publikaci 28. 10. 1998

Kontaktná adresa

Ing. GABRIEL GREIF, Slovenská technická univerzita, Chemickotechnologická fakulta, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 59 32 55 59, fax: + 421 7 49 31 98, e-mail: greifo@chelin.chtf.stuba.sk