

Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými ze vzorků povrchových vod

**Ing. Pavel Pleva (ppleva@ft.utb.cz), Bc. Karolína Ceditlová, Mgr. Petra Jančová, Ph.D.,
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, Fakulta technologická, UTB ve Zlíně.**

ABSTRAKT

Biogenní aminy jsou přirozeně se vyskytující dusíkaté nízkomolekulární látky; jsou produktem běžné metabolické aktivity zvířat, rostlin i mikroorganismů. Na základě řady experimentů bylo prokázáno, že se tyto látky mohou ve velké míře vyskytovat v potravinách, kde za jejich výskytem stojí přítomnost bakterií s dekarboxylasovou aktivitou. Biogenní aminy jsou látky, které na jedné straně zajišťují řadu důležitých funkcí, na druhé straně mohou nadměrná množství způsobovat nežádoucí až toxické účinky. V současné době je v dostupné literatuře velmi málo informací o dekarboxylasové aktivitě bakterií významných v životním prostředí. Práce je zaměřena na studium dekarboxylasové aktivity u bakterií izolovaných ze vzorků povrchových vod (voda ze studánek, rybníků nebo z vodní nádrže). Z 5 vzorků povrchových vod se podařilo izolovat 55 bakteriálních kmenů, z nichž bylo 37 identifikováno metodou MALDI/TOF. Mezi identifikovanými bakteriemi byly v největším zastoupení rody *Pseudomonas* (35 %) a *Acinetobacter* (30 %). Screening dekarboxylasové aktivity kultivační metodou, byl téměř u všech izolovaných bakterií pozitivní. Pro stanovení koncentrace biogenních aminů (tryptaminu, fenylethylaminu, histidinu, tyraminu, putrescinu, kadaverinu, sperminu a spermidinu) byla využita metoda HPLC – UV/Vis. Všechny identifikované kmeny (100 %) produkovaly spermin a spermidin; 70 % identifikovaných kmenů se podílelo na produkci kadaverinu, 30 % na produkci tyraminu a putrescinu, a cca 5 % na produkci histaminu a tryptaminu. Fenylethylamin nebyl produkován žádným izolovaným identifikovaným kmenem. Tyto výsledky dokumentují, že i bakterie významné v životním prostředí vykazují dekarboxylasovou aktivitu a jsou schopny produkovat biogenní aminy v ne zcela zanedbatelných množstvích.

Klíčová slova: biogenní aminy, dekarboxylace, MALDI/TOF, HPLC

BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární dusíkaté sloučeniny. Vznikají dekarboxylací aminokyselin nebo aminací a transaminací aldehydů a ketonů. Vykazují biologickou aktivitu a v organismu se účastní reakcí jako produkty a meziprodukty metabolismu aminokyselin a proteinů (**Smělá et al., 2004**). Biogenní aminy jsou pro organismus nepostradatelné, nicméně ve vysokých koncentracích působí negativně, projevují se vasoaktivně (ovlivňují kontraktilitu cév, díky čemuž mají účinek na krevní tlak) a psychoaktivně (působí jako neurotransmitery v centrálním nervovém systému). Pokročilejší stádium intoxikace se projevuje bolestí hlavy, migrénou, zvracením, bušením srdce, dýchacími potížemi, hypertensí nebo hypotensí (**Musil et al., 1190**).

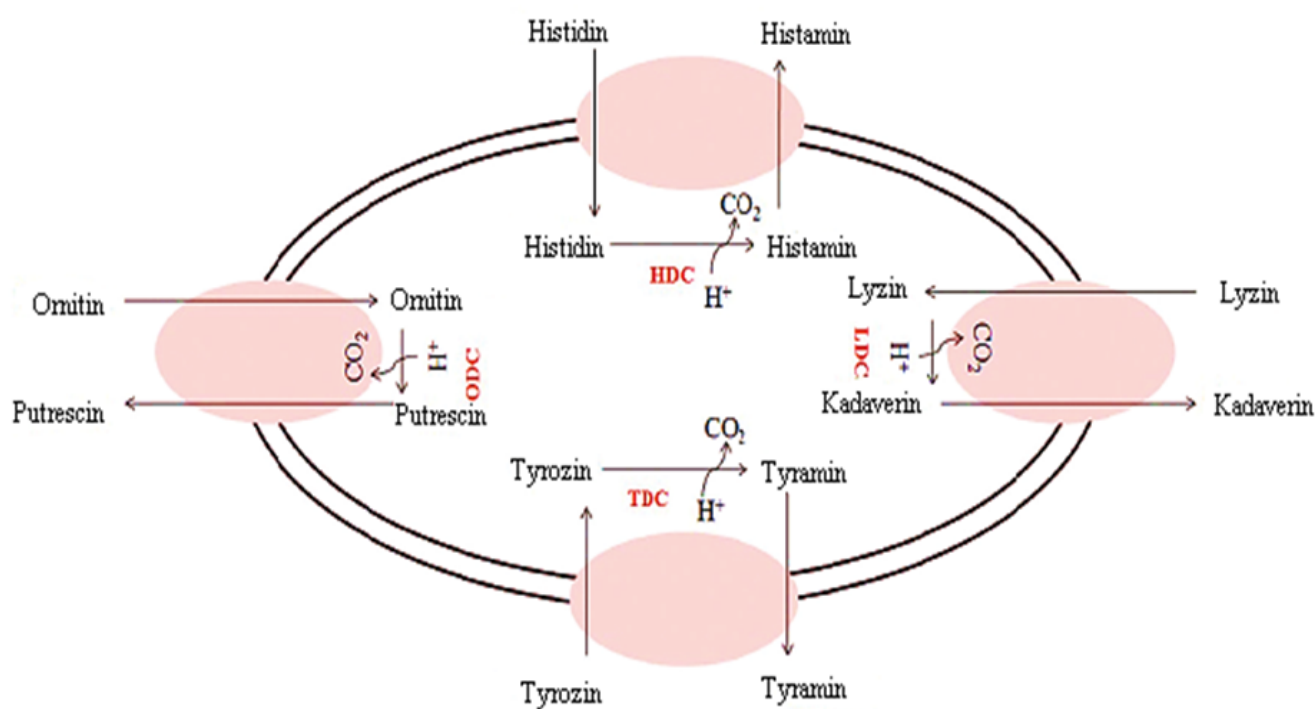
Polde **Karovičová et al., (2003)** není dělení biogenních aminů pevně dané, dle chemické struktury se mohou dělit na:

- alifatické – putrescin (PUT), kadaverin (CAD), agmatin (AGM);
- aromatické – tyramin (TRA), 2-fenylethylamin (PEA);
- heterocyklické – histamin (HIA), tryptamin (TPA);
- polyaminy – spermidin (SPD), spermin (SPM), putrescin (PUT).

Polyaminy jsou syntetizovány živočichy, rostlinami i mikroorganismy. Z fyziologického hlediska jsou důležité v procesech, jako je růst nebo diferenciace buněk. Významným zástupcem polyaminů je spermin, který je růstovým faktorem bakterií (Komprda, 2004).

Vznik biogenních aminů

Biogenní aminy vznikají jako produkty metabolické činnosti rostlin, živočichů i mikroorganismů. Působením dekarboxylas vznikají z aminokyselin při dekarboxylaci. Dalším způsobem vzniku biogenních aminů je transaminace aldehydů a ketonů (Smělá et al., 2004). Dekarboxylace je uskutečňována pomocí specifických enzymů dekarboxylas produkovanými především mikroorganismy. Při dekarboxylaci dochází k odštěpení CO_2 za vzniku bazického aminu (viz obr. 1). Biogenní aminy jsou poměrně reaktivní, podléhají především enzymatickým reakcím, při kterých vznikají příslušné deriváty. Další reakcí, které biogenní aminy podléhají, je oxidativní deaminace, kdy jsou rozkládány na příslušné aldehydy, amoniak a peroxid vodíku. Vlivem působení tepla a časově náročnějšímu skladování vytváří reakcí s triacylglycerolem amidy mastných kyselin. Reakcí sekundárních aminů s oxidy dusíku vznikají nitrosaminy, které jsou karcinogenní. V alkoholických nápojích může vznikat derivát β -karbolinu, a to reakcí aldehydu s tryptaminem. Fenylethylamin, putrescin, kadaverin, spermidin nebo tyramin zase reagují s bílkovinami, přičemž vznikají β -N-substituované deriváty diaminopropionových kyselin (Velíšek, 1999).



Obr. 1: Syntéza BA a jejich transport přes buněčnou membránu (ODC – ornitindekarboxyláza, HDC – histidindekarboxyláza, LDC – lyzindekarboxyláza a TDC – tyrozindekarboxyláza). Upraveno podle (Gardini et al., 2016).

Toxicita biogenních aminů

Protože jsou biogenní aminy ve větší koncentraci pro organismus škodlivé, mohou způsobit intoxikaci organismu. Pokud se do těla dostává větší množství biogenních aminů, oxidační mechanismus není schopen detoxikace a dochází k intoxikaci (Görner et al., 2004).

K nejtoxičtějším aminům řadíme tyramin a histamin. Histamin způsobuje hypotensi a následné bolesti hlavy, křeče a zvracení. Tyramin způsobuje zvýšení krevního tlaku, migrény, krvácení do mozku a může dojít až k selhání srdce. Přesné toxické koncentrace biogenních aminů jsou obtížně stanovitelné a záleží na mnoha dalších faktorech, jako je například snížená aktivita enzymů monoaminoxidasy a

diaminooxidasý nebo aktuální zdravotní stav organismu a jeho stáří (Zeman et al., 209; Sládková, 2016).

Vstup aminů do životního prostředí

Aminy vstupují do životního prostředí několika možnými cestami. Nejčastějším způsobem je šíření aminů jako produktů rozkladu proteinů a dusíkatých sloučenin nebo fekálním znečištěním odpadních vod. Poměrně častým zdrojem kontaminace prostředí je chemický a farmaceutický průmysl. Aminy zde vznikají jako meziprodukty výroby (Bushaw-Newton et al., 1999; Ma Fujun et al., 2012).

Nejčastěji vyskytující se aminy v životním prostředí jsou methylamin, dimethylamin, ethylamin, diethylamin a monoethylamin. V ještě nižších koncentracích se vyskytují morfolin, piperazin, piperidin, pyrrolidin, n-propylamin, n-butylamin nebo methylethylamin (Poste et al., 2014).

Pozornost se věnuje především N-nitrosodimethylaminu, který byl klasifikován jako karcinogen. Vzniká jako vedlejší produkt chloraminace nebo chlorace za působení amoniaku v čistírnách odpadních vod (Bushaw-Newton et al., 1999).

Výsledky produkce biogenních aminů pomocí HPLC – UV/Vis u bakterií identifikovaných MALDI/TOF

Z 5 vzorků povrchových vod bylo izolováno celkem 55 kmenů – 7 kmenů z vodní nádrže Bystřička, 7 kmenů z rybníku Lačnov, 10 kmenů z rybníku Neratov, 16 kmenů ze studánky Prlov a 15 kmenů ze studánky Vápenka. Identifikace bakterií byla provedena metodou MALDI/TOF MS a z původních 55 vzorků bylo spolehlivě identifikováno 37 bakteriálních kmenů. Nejčastěji byly detekovány bakterie rodu *Pseudomonas* (ve 13 vzorcích) a bakterie rodu *Acinetobacter* (v 11 vzorcích). Bylo stanoveno množství jednotlivých biogenních aminů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV/Vis detekcí. Mezi nejčastěji detekované biogenní aminy patřil spermin a spermidin, které produkovaly všechny izolované bakterie. Dalším poměrně často detekovaným biogenním aminem byl kadaverin, který produkovalo 26 kmenů. Produkce tyraminu byla zaznamenána u 11 sledovaných kmenů a produkce putrescinu u 10 sledovaných kmenů. Naopak produkce histaminu byla zaznamenána jen u dvou kmenů a produkce tryptaminu pouze u jednoho kmenu. Poslední stanovovaný biogenní amin, fenylethylamin, neprodukuje žádný z testovaných kmenů. V experimentech bylo zjištěno, že množství jednotlivých vyprodukovaných biogenních aminů nepřekročilo v žádném z testovaných vzorků koncentraci, která by byla nadlimitní z hlediska bezpečnosti pro lidské zdraví. Bylo prokázáno, že v povrchových vodách, které využívají lidé k pití (studánky), nebo ve kterých se koupou (rybníky) či loví ryby (chovné rybníky), jsou přítomny bakterie s významnou dekarboxylasovou aktivitou a je zde velká pravděpodobnost, že v těchto vodách budou přítomny biogenní aminy, jako je např. spermin, spermidin či kadaverin.

Přehled zdrojů:

SMĚLÁ, Dana, Pavla PECHOVÁ, Tomáš KOMPRDA, Bořivoj KLEJDUS a Vlastimil KUBÁŇ.

Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování, Chemické listy, roč. 98, 2004, s. 432-437. ISSN 1213-7103.

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 1. Tábor: OSSIS, 1999, 3 sv. ISBN 80-902391-4-5.

BUSHAW-NEWTON, Karel L. and MORAN, Mary Ann: *Photochemical formation of biologically available nitrogen from dissolved humic substances in coastal marine systems*, 1999, Aquatic Microbial Ecology 18, p. 285-292.

MA, Fujun, Yi WAN, Guanxiang YUAN, Liping MENG, Zaomin DONG and Jianying HU. *Occurrence and source of nitrosamines and secondary amines in groundwater and its Adjacent Jialu River Basin, China*, 2012, Environmental Science & Technology. 46, p. 3236-3243.

POSTE, Amanda E., Merete GRUNG and Richard F. WRIGHT. *Amines and amine-related compounds in surface waters: A review of sources, concentration and aquatic toxicity*, 2014, Science of the Total Environment, 418, p. 274-279.

GÖRNER, Fridrich a Ľubomír VALÍK. *Aplikovaná mikrobiológia požívatín: princípy mikrobiológie požívatín, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatínami*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

ZAMAN Muhammad Z., et al. *A review: Microbiological, physicochemical and health impact of high level of biogenic amines in fish sauce*. American Journal of Sciences, 2009, Volume 6, Issue 6, p. 1199-1211.

SLÁDKOVÁ, Pavla. *Vybrané faktory ovlivňující obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích*. Brno. (https://mnet.mendelu.cz/mendelnet08agro/files/articles/techpot_sladkova.pdf)

MUSIL, Jan a Olga NOVÁKOVÁ. *Biochemie v obrazech a schématech*. 2., zcela přeprac. vyd. Praha: Avicenum, 1990, 394 s.

KAROVIČOVÁ, Jolana a Zlatica KOHAJDOVÁ. *Biogenic Amines in Food*, Bratislava, 2003, Chemical Papers, 59, s. 70-79. Dostupné z: http://www.chempap.org/file_access.php?file=591a70.pdf

KOMPRDA, Tomáš. *Obecná hygiena potravin*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004, 145 s. ISBN 80-7157-757-7.