

徐君明,刘芳,王道营,等. 食品中腐胺合成调控研究进展[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):309-311,390.

食品中腐胺合成调控研究进展

徐君明^{1,2}, 刘芳², 王道营², 诸永志², 张牧烺², 徐为民²

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏南京 210046; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014)

摘要:腐胺属于生物胺中的一种,是二胺类物质。食品中含量较高的腐胺会影响人体健康,通过多种技术手段可检测到食品是否含有腐胺。对国内外食品中腐胺合成途径、影响腐胺合成的因素、腐胺合成基因的鉴定和表达进行了综述,以期控制食品中的腐胺含量,确保食品安全。

关键词:腐胺;合成;途径;基因鉴定;表达

中图分类号: TS201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0309-03

腐胺,别称 1,4-苯二胺,目前在食品(如海产品、畜禽类产品等)中普遍存在,国内外均有相关报道^[1]。国内外对食品中腐胺的检测也做了大量的工作,通常将 TLC 法定性和 HPLC 法定量相结合检测食品中腐胺的含量^[2]。一般来说,食品中腐胺的含量是判断食品受微生物污染水平的指标之一^[3]。腐胺是精胺和亚精胺的前体物质,在生物体内起新陈代谢的作用。有研究资料表明,微量的腐胺是生物活性细胞必不可少的组成部分,在调节核酸与蛋白质的合成及生物膜稳定性方面起着重要作用^[4]。

通常低浓度的腐胺被认为具有生理活性,对人体具有重要的调节作用,如调节人体细胞的生长、分化^[5],也就是说,腐胺在正常细胞和恶性细胞增殖过程中起着重要的调节作用。同时,因为腐胺在人体内具有较高的增殖速度,所以人体中肠道和结肠膜中对腐胺的需求量较大^[6]。但是,当人体中腐胺的含量很高时,就会产生有害作用,如引起高血压和头痛。有关专家研究表明,高含量的腐胺在人体内具有一定的致癌作用,因为腐胺的存在能加剧组胺的毒性,而组胺可与亚硝酸盐反应生成杂环类致癌物质亚硝胺^[7]。此外,腐胺也能促进化学渗透假说中 ATP 的合成^[8]。腐胺的化学结构式见图 1。

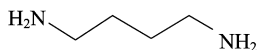


图1 腐胺的化学结构式

1 腐胺的形成机理

腐胺主要由微生物(如铜绿假单胞菌 PAO1、肠杆菌、乳酸菌)产生的脱胺酶催化氨基酸脱羧而产生^[9]。它的产生需要 3 个条件:(1)能分泌氨基酸脱羧酶的微生物(如铜绿假单胞菌 PAO1)的存在;(2)腐胺前体物质(如鸟氨酸、精氨酸)的存在;(3)适宜这些微生物生长和分泌氨基酸脱羧酶的环境

条件^[10]。也就是说,腐胺主要是由微生物在发酵过程中或成熟储藏过程中产生的蛋白酶作用于蛋白质生成游离的氨基酸(如鸟氨酸、精氨酸),而后经过微生物分泌的氨基酸脱羧酶对氨基酸脱羧而形成的^[11]。一般来说,测定食品中的腐胺有 2 种原因:一是食品中的腐胺对人体具有潜在的毒性;二是腐胺可作为衡量食品品质的指标之一^[12]。

2 腐胺的合成途径

食品中腐胺的合成途径主要有:鸟氨酸脱羧酶(ODC)途径,但不是食品中腐败菌产腐胺的主要途径;精氨酸脱羧酶(ADC)途径,是一种间接途径,一般来说是食品中主要合成腐胺的途径;此外还有一些其他途径,下面加以详述。

2.1 ODC 途径合成腐胺

一般来说,食品中的腐胺可以直接由鸟氨酸合成,即鸟氨酸在 ODC 的作用下就能合成腐胺。Heimer 等在对快速增生的蔬菜(西红柿)细胞中鸟氨酸脱羧酶活力的研究结果表明,ADC 是主要合成腐胺的途径,而在哺乳动物细胞中,则通过 ODC 的作用由鸟氨酸直接合成腐胺^[13]。对食品产绿脓假单胞菌中的腐胺生物合成基因鉴定及 ADC 途径中胍基丁胺脱亚氨酶和 N-氨甲酰基腐胺氨基水解酶特性的研究结果表明,腐胺能直接在 ODC 的作用下合成,ODC 受 *speC* 基因的调控,当绿脓假单胞菌 PAO1 中缺乏 *speC* 基因时,就不能有效地合成腐胺^[14-15]。据国内外文献报道,ODC 途径不是植物性食品中腐胺合成的主要途径,其中的机理现在仍不清楚^[16-17]。总的来说,这可能主要是因为植物性食品中鸟氨酸的含量低,而动物性食品中腐胺的含量远远高于植物性食品。一般而言,动物的肝脏能产生较多的鸟氨酸。

2.2 ADC 途径合成腐胺

这是食品中腐胺合成的一种间接途径。基本过程如下: L-精氨酸在 ADC 的作用下生成胍基丁胺,而后胍基丁胺在胍基丁胺脱亚氨酶(AgDI)的作用下生成 N-氨甲酰基腐胺, N-氨甲酰基腐胺通过 N-氨甲酰基腐胺氨基水解酶(N-CPAH)的作用脱去胍基,即可生成腐胺。ADC 途径合成腐胺涉及到的酶有 ADC、胍基丁胺脱亚氨酶(别称胍基丁胺亚氨基水解酶)、N-氨甲酰基腐胺氨基水解酶或腐胺氨甲酰基转移酶^[18-21]。

对食品中产革兰氏阴性细菌的腐胺含量检测的研究结果

收稿日期:2013-01-06

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(12)3082];2012 年苏北科技发展计划(编号:BN2012058)。

作者简介:徐君明(1989—),男,安徽安庆人,硕士研究生,研究方向为食品质量与安全。E-mail:lfklds@yahoo.com.cn。

通信作者:徐为民,博士,研究员,主要从事食品加工与质量控制研究。E-mail:weiminxu2002@yahoo.com.cn。

表明,假单孢菌属和气单孢菌属中腐胺的合成是通过 ADC 途径进行的^[22]。原因之一是在一般的食品发酵过程中,如发酵香肠和发酵肉制品中,假单孢菌属和气单孢菌属分泌的精氨酸含量高。一般来说,ODC 在植物性食品的细胞组织中活性很低,涉及细胞循环和细胞分化的调节,而 ADC 通常与植物性食品中应激反应有关,一般受 *speA* 基因的调控。

对食品产绿脓假单孢菌中腐胺生物合成基因鉴定及 ADC 途径中胍基丁胺脱亚氨酶和 *N*-氨甲酰基腐胺氨水解酶特性的研究结果表明,ADC 途径是间接合成腐胺的途径,并鉴定出了绿脓假单孢菌 PAO1 中的 *speA* 基因,当绿脓假单孢菌 PAO1 中缺乏 *speA* 基因时,就不能合成腐胺^[23]。

2.3 胍基丁胺直接合成腐胺途径

通常在一些产金黄色葡萄球菌的食品(如花生、玉米)中,胍基丁胺可直接在胍基丁胺酶的作用下合成腐胺。也就是说,在一些植物性食品中,胍基丁胺在胍基丁胺酶(别称胍基丁胺脲水解酶)的作用下可直接转变为腐胺^[24]。

2.4 其他途径

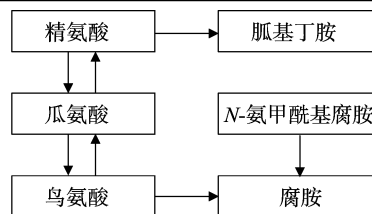
除了上述 3 种常见的食品中腐胺合成的途径以外,也存在着一些其他途径,但是最终都是转换为 ADC 或 ODC 途径来合成腐胺的^[25-27],如动物性食品肝脏中的谷氨酸盐在鸟氨酸乙酰基转移酶的作用下生成鸟氨酸,反应式如下:*N*-乙酰基鸟氨酸 + 谷氨酸盐 → *N*-乙酰谷氨酸盐 + 鸟氨酸,然后鸟氨酸可直接通过 ODC 途径合成腐胺。此外,在动物性食品(如肝脏)中,精氨酸和鸟氨酸可以相互转化,即通常所说的“尿素循环”^[28-29]。首先,鸟氨酸与氨甲酰磷酸合成瓜氨酸,瓜氨酸与天冬氨酸合成精氨琥珀酸,然后精氨琥珀酸裂解成精氨酸和延胡索酸,最后精氨酸在精氨酸合酶的作用下又生成了鸟氨酸^[30]。因此,“尿素循环”途径中的中间产物也可在一定程度上合成腐胺。

发酵食品中产生的瓜氨酸在不同酶的作用下可合成精氨酸和鸟氨酸,之后精氨酸和鸟氨酸可通过 ADC 或 ODC 途径合成腐胺。例如:瓜氨酸在鸟氨酸氨甲酰基转移酶的作用下合成鸟氨酸,鸟氨酸可通过 ODC 合成腐胺;发酵食品中产生的瓜氨酸也可通过合成代谢途径生成精氨酸,之后精氨酸可通过 ADC 途径合成腐胺。

食品中的精氨酸可在精氨酸脱亚氨酶的作用下生成瓜氨酸,瓜氨酸可在鸟氨酸氨甲酰基转移酶的作用下合成鸟氨酸,而后通过 ODC 途径合成腐胺。食品中的鸟氨酸可通过合成代谢途径在酶的作用下依次合成瓜氨酸、精氨酸,然后通过 ADC 途径合成腐胺。此外,在 ADC 途径中,*N*-氨甲酰基腐胺也可在腐胺氨甲酰基转移酶的作用下合成腐胺。腐胺生物合成途径见图 2。

3 影响食品中腐胺合成的因素

一般来说,食品中常见的微生物(如肠杆菌、乳杆菌、假单孢菌)产生腐胺的可能性较大。此外,一些外界环境因素,如 pH 值、温度、生产工艺、贮藏条件及添加剂等,也能影响食品中产腐胺的能力。有文献报道,葡萄糖、果糖对产腐胺能力具有抑制作用,而胍基丁胺的存在能够诱导几乎所有微生物产腐胺的能力^[31]。组胺和酪胺能影响胍基丁胺的合成,从而在某种程度上也能够影响到产腐胺的量。琥珀酸盐、精胺、亚



腐胺合成过程中的酶包括精氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、精氨酸脱亚氨酶、胍基丁胺脱亚氨酶、鸟氨酸氨甲酰基转移酶、*N*-氨甲酰基腐胺氨水解酶、腐胺氨甲酰基转移酶等

图2 腐胺的生物合成途径

精胺对铜绿假单孢菌产腐胺的能力也有一定的影响。也有报道称,吡哆醛 5-磷酸盐、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 对腐胺的合成没有影响。

3.1 原料的特性

食品的原料为腐胺的形成提供底物和反应场所,影响腐胺的形成。因此,任何改变原料品质的条件(pH 值、脂肪、游离氨基酸)都会影响腐胺的形成。

3.2 加工与储藏条件

加工和贮藏条件能够影响底物和酶的浓度以及氨基酸脱羧酶的活性,因此为了控制食品中腐胺的含量,仅仅控制原料是不够的,还需要对加工和贮藏条件进行优化。

3.3 含盐度与添加剂的使用

NaCl 可以通过抑制微生物的生长繁殖和不断破坏位于细菌细胞膜上的氨基酸脱羧酶来降低食品中腐胺的积累。配方中添加糖可以改变食品中的微生物类群,进而影响食品中腐胺的积累。糖的作用是促进发酵剂微生物的生长繁殖,提高其竞争力,从而抑制其他产腐胺的细菌的生长繁殖,降低食品中腐胺的含量。

4 腐胺合成基因鉴定

总的来说,如果控制合成的基因(如 *speA*、*speC*)不能表达,则合成腐胺一系列的酶(如精氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶)将会失活,从而腐胺的合成会受到影响。到目前为止,国外学者对腐胺合成调控基因的鉴定做了大量的工作。主要是应用 PCR 技术来检测腐胺合成基因的扩增片段,并结合琼脂糖凝胶电泳或十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)技术来分离出经 PCR 技术扩增到的基因片段,与标准样品做对照,从而鉴定出腐胺生物合成基因。

PCR 扩增技术使腐胺合成的基因大量地扩增,有效地解决了分子生物学上的难题。这项技术目前几乎应用于各项领域中,在食品领域中的应用也很广泛。它的操作经历了 3 个阶段——变性、退火、延伸,所对应的温度分别是 95、53、72℃,需要 DNA 模板、*Taq* DNA 聚合酶、DNA 引物、4 种脱氧核苷三磷酸,经过大量的重复循环,便可得到大量的基因片段。查阅国内外的资料可知,*speA* 基因编码 ADC,*speC* 基因编码 ODC,*aguA* 基因编码胍基丁胺脱亚氨酶(AgDI),*aguB* 基因编码 *N*-氨甲酰基腐胺氨水解酶(*N*-CPAH),*ptcA* 基因编码腐胺氨甲酰基转移酶,*speB* 基因编码胍基丁胺酶^[32]。

对食品中腐胺生物合成途径中 *N*-氨甲酰基腐胺氨水解酶和腐胺氨甲酰基转移酶的研究结果表明,胍基丁胺通过胍基丁胺脱亚氨酶的作用可产生 *N*-氨甲酰基腐胺,而后在

- 周刊,2006(6):31-33.
- [2] 涂传清,王爱虎. 我国农产品质量安全追溯体系建设中存在的问题与对策[J]. 农机化研究,2011(3):16-20.
- [3] 王以忠,张锐,黄华芳,等. 农产品质量安全溯源用 RFID 温度测量记录系统的研究[J]. 湖北农业科学,2008,47(3):346-347.
- [4] 陈晓东,刘建珍. 基于 RFID 的畜产品溯源系统[J]. 中国科技博览,2008(24):233-234.
- [5] 孟未来. 基于 RFID 的种子质量安全溯源管理系统研究[J]. 辽宁农业科学,2010(6):53-54.
- [6] 李春艳,周德翼. 可追溯系统在食品供应链中的作用与研究[J]. 生态经济,2009(11):131-133.
- [7] 谢丹. 基于无线射频识别(RFID)技术的原料奶品质管理系统关键技术的研究[D]. 浙江:浙江大学生物系统工程与食品科学学院,2007:1-8.
- [8] 杨磊,刘承,张智勇,等. 基于 RFID 可追溯系统的畜产品供应链安全控制研究[J]. 食品安全,2009,45(18):22-25.
- [9] 祝胜林,吴小红,黄显会,等. 基于 RFID 的生猪饲养安全可追溯系统研究与实现[J]. 广东农业科学,2008(7):142-144.
- [10] 马从国,赵德安,刘叶飞,等. 猪肉工厂化生产的全程监控与可溯源系统研制[J]. 农业工程学报,2008,24(9):121-125.
- [11] 周仲芳,游洪,王彭军,等. RFID 技术在活猪检验检疫监督管理中的应用研究[J]. 农业工程学报,2008,24(2):241-245.
- [12] 申光磊,咎林森,段军彪,等. 牛肉质量安全可追溯系统网络化管理的实现[J]. 农业工程学报,2007,23(7):170-173.
- [13] 周晓光,王晓华. 射频识别(RFID)技术原理与应用实例[M]. 北京:人民邮电出版社,2006:31-381.
- [14] 慈新新,王苏滨,王硕. 射频识别(RFID)技术原理与应用[M]. 北京:人民邮电出版社,2007:22-45.
- [15] 尚二莹,孟未来. 基于物联网的种子质量安全溯源管理系统研究[J]. 农业网络信息,2011(9):14-16.
- [16] 王睿,赵龔. RFID 技术及其应用系统构架的研究[J]. 通信技术,2009,42(5):116-118.
- [17] 周晓光,王晓华. 射频识别(RFID)系统设计、仿真与应用[M]. 北京:人民邮电出版社,2008:33-41.
- [18] 周元军. 电子标签技术在动物生产管理中的应用[J]. 黑龙江畜牧兽医,2007(8):57-59.
- [19] Freddy R B E, Luís K A. Tracking and tracing food products with RFID technology: an application for agricultural commodities? [C]//17th Annual Forum and Symposium IAMA Conference. Parma, Italy, 2007.
- [20] Mousavi A, Sarhadi M, Lenk A, et al. Tracking and trace ability in the meat processing industry: a solution[J]. British Journal, 2002, 104(1):7-9.
- [21] Rudolf P M, Berstein B Q. Counterfeit drugs[J]. New England Journal of Medicine, 2004, 350(14):1384-1388.
- [22] Wertheimer A I, Chancy N M, Santella T. Counterfeit pharmaceuticals: current status and future projections[J]. J Am Pharm Assoc, 2003, 43(6):710-718.
- [23] Machaj M. Against both private and public counterfeiting[J]. The American Journal of Economics and Sociology, 2007, 66(5):977-984.
- [24] Wollinger T, Kumar S. Embedded security in cars[M]. Berlin: Springer, 2006:145-165.
- [25] 黄静. 牛肉安全生产全过程可追溯系统的研究与实现[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2011:25.
- [26] 谢菊芳. 猪肉安全生产全程可追溯系统的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2005:58-63.

(上接第 311 页)

- [22] Wunderlichová L, Buňková L, Koutný M, et al. The possibility of detection of putrescine production in gram-negative bacteria—a kick-off study[J]. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2012, 1:848-854.
- [23] Ha B H, Cho K J, Choi Y J, et al. Characterization of arginine decarboxylase from *Dianthus caryophyllus*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42(4):307-311.
- [24] Knott J M, Römer P, Sumper M. Putative spermine synthases from *Thalassiosira pseudonana* and *Arabidopsis thaliana* synthesize thermospermine rather than spermine[J]. FEBS Letters, 2007, 581(16):3081-3086.
- [25] Acosta C, Pérez-Amador M A, Carbonel L J, et al. The two ways to produce putrescine in tomato are cell-specific during normal development[J]. Plant Science, 2005, 168(4):1053-1057.
- [26] Camacho-Cristóbal J J, Maldonado J M, González-Fontes A. Boron deficiency increases putrescine levels in tobacco plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(8):921-928.
- [27] Franco-Mora O, Tanabe K, Tamura F, et al. Effects of putrescine application on fruit set in 'Housui' Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai)[J]. Scientia Horticulturae, 2005, 104(3):265-273.
- [28] 王希成. 生物化学[M]. 2 版. 北京:清华大学出版社, 2001:369-373.
- [29] Bachmann A S, Patil S S. Characterization of ornithine decarboxylase from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and its inhibition by phaseolotoxin[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2003, 63(2):57-63.
- [30] Ivanov I P, Firth A E, Atkins J F. Recurrent emergence of catalytically inactive ornithine decarboxylase homologous forms that likely have regulatory function[J]. J Mol Evol, 2010, 70(3):289-302.
- [31] Landete J M, Arena M E, Pardo I, et al. Comparative survey of putrescine production from agmatine deamination in different bacteria[J]. Food Microbiology, 2008, 25(7):882-887.
- [32] Nakada Y, Itoh Y. Identification of the putrescine biosynthetic genes in *Pseudomonas aeruginosa* and characterization of agmatine deiminase and N-carbamoylputrescine amidohydrolase of the arginine decarboxylase[J]. Microbiology, 2003, 149(Pt 3):707-714.
- [33] Hanzawa Y, Imai A, Michael A J, et al. Characterization of the spermidine synthase-related gene family in *Arabidopsis thaliana*[J]. FEBS Letters, 2002, 527(1/2/3):176-180.
- [34] Imai A, Akiyama T, Kato T, et al. Spermine is not essential for survival of *Arabidopsis*[J]. FEBS Letters, 2004, 556(1/2/3):148-152.
- [35] Landete J, Arena M, Pardo I, et al. The role of two families of bacterial enzymes in putrescine synthesis from agmatine via agmatine deiminase[J]. International Microbiology, 2010, 13(4):169-177.
- [36] Fuell C, Elliott K A, Hanfrey C C, et al. Polyamine biosynthetic diversity in plants and algae[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(7):513-520.
- [37] Bachrach U. The early history of polyamine research[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(7):490-495.