

OLGA ŚWIDER, MICHAŁ WÓJCICKI, MAREK ŁUKASZ ROSZKO

AMINY BIOGENNE – OSZACOWANIE RYZYKA SPOŻYCIA I MOŻLIWOŚCI OGRANICZENIA ICH FORMOWANIA W ŻYWNOSCI FERMENTOWANEJ

Streszczenie

Zapewnienie bezpieczeństwa żywności to jedno z najważniejszych zadań wielu instytucji o zasięgu międzynarodowym. Ich działalność obejmuje współpracę w zakresie kontroli i analizy jakości produktów spożywczych, mającą na celu ochronę zdrowia konsumentów i racjonalne gospodarowanie dostępnymi zasobami. Obecność amin biogennych w żywności to zagadnienie niejednokrotnie podejmowane przez liczne organizacje, zarówno w kontekście ustalania limitów zawartości tych związków w produktach spożywczych (FDA, EFSA), jak i wskazywania kierunków dalszych badań (EFSA). Dostarczenie amin biogennych z dietą może wywołać szereg niekorzystnych reakcji w organizmie. Obecność tych związków w żywności wynika głównie z aktywności metabolicznej drobnoustrojów wchodzących w skład produktu. W związku z tym wielu naukowców podjęło próbę stworzenia Indeksu Amin Biogennych jako wskaźnika jakości i/lub świeżości wybranych produktów (głównie mięsa i ryb), w których działalność mikroorganizmów jest niepożądana i wpływa na obniżenie jakości produktu, przez co skraca termin jego przydatności do spożycia. Produkty fermentowane stanowią grupę żywności, w której ryzyko formowania amin jest szczególnie wysokie, a obecność i rozwój mikroorganizmów stanowią podstawę procesu ich wytwarzania. Będące potencjalnym zagrożeniem drobnoustroje mogą stać się sojusznikami w ograniczaniu zawartości amin biogennych w żywności fermentowanej. Dobór kultur starterowych o znanych właściwościach i/lub odpowiednie ukierunkowanie metabolizmu stosowanych mikroorganizmów przez dodatek substancji roślinnych oraz zapewnienie optymalnych warunków środowiska stanowią dobrą strategię.

Słowa kluczowe: aminy biogenne, Indeks Amin Biogennych, bezpieczeństwo żywności, żywność fermentowana

Wprowadzenie

Aminy biogenne (BAs, ang. *Biogenic Amines*) występują naturalnie w organizmie człowieka, gdzie pełnią wiele ważnych funkcji. Regulują m.in. temperaturę ciała, wy-

Mgr inż. O. Świder, dr hab. inż. M. Ł. Roszko, prof. IBPRS, Zakład Bezpieczeństwa i Analizy Chemicznej Żywności, mgr inż. M. Wójcicki, Zakład Mikrobiologii, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. W. Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa. Kontakt: olga.swider@ibprs.pl

dzielanie soków żołądkowych, ciśnienie krwi, reakcje immunologiczne czy aktywność układu nerwowego [9]. Aminy biogenne obecne są również w produktach spożywczych, a dostarczone z dietą nazywane są aminami egzogennymi. Najczęściej występujące BAs w żywności to: histamina, tyramina, kadaweryna, putrescyna, spermina, spermidyna, agmatyna, tryptamina i β -fenyloetyloamina, a źródło tych związków stanowią takie produkty, jak: mięso, ryby, sery, wina, produkty sojowe czy warzywa [41]. W produktach spożywczych związki te mogą występować naturalnie, np. spermidyna i spermina w mięsie, jak również być formowane przez mikroorganizmy, głównie w procesie dekarboksylacji wolnych aminokwasów. Wobec powyższego żywność o dużej zawartości prekursorów oraz zawierająca mikroflorę zdolną do ich dekarboksylacji stanowi korzystne środowisko do produkcji amin [2, 41]. Zarówno wśród bakterii Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich oraz drożdży znanych jest wielu producentów amin biogennych. W moszczu gronowym za formowanie tych związków odpowiedzialne są pleśnie z gatunku *Botrytis cinerea* [13]. W organizmie aminy dostarczone z żywnością rozkładane są w jelicie cienkim głównie przez enzymy monoaminooksydazę (MAO), diamionooksydazę (DAO) i poliaminooksydazę (PAO) [36].

Niniejsza praca przybliży problem występowania amin biogennych w żywności, ze szczególnym uwzględnieniem produktów fermentowanych. Przedstawione zostały stosowane obecnie rozwiązania ukierunkowane na ograniczenie formowania tych związków w procesie fermentacji.

Ryzyko wynikające z dostarczenia z dietą nadmiaru amin biogennych

Za najbardziej toksyczne aminy biogenne uznawane są histamina i tyramina [49]. Histamina może działać psychoaktywnie i naczynioaktywnie, wywołując biegunki, duszności, wysypki, bóle głowy czy powodować obniżenie ciśnienia krwi [4, 18, 36]. W raporcie podsumowującym liczbę zatruć histaminą w wyniku spożycia ryb, przeprowadzonym na podstawie danych z 13 lat (2001 - 2013) w Australii, jako najczęściej występujące objawy wskazano biegunki i wysypkę. W około połowie przypadków pojawiły się nudności, wymioty, gorączka oraz ból brzucha. Zaczerwienienie ciała lub twarzy dotyczyło ponad 5 % przypadków, natomiast dreszcze, pieczenie lub opuchlina skóry – ok. 8 % zatruć. W nielicznych przypadkach nastąpiła niewydolność oddechowa lub trudności w oddychaniu [21]. Nadmierna podaż tyraminy może skutkować ostrymi bólami głowy, krwotokami oraz podwyższonym ciśnieniem krwi, które może doprowadzić do niewydolności serca. Dodatkowo amina ta poprzez ułatwienie adhezji bakteryjnych patogenów do enterocytów nabłonka jelita zwiększa podatność gospodarza na infekcje. β -fenyloetyloamina i tryptamina wykazują działanie wazoaktywne, które skutkuje takimi objawami, jak nadciśnienie czy zawroty i bóle głowy. W wyniku połączenia amin z azotynami powstają nitrozoaminy o potencjalnych

Tabela 1. Zawartości amin biogennych w wybranych produktach fermentowanych
 Table 1. Content of biogenic amines in selected fermented products

Produkt fermentowany Fermented product	Zawartość amin biogennych Content of biogenic amines	Metoda analityczna Analytical method	Źródło Reference
Wino białe White wine	Tyramina ND ÷ 1,24 mg/l Histamina 0,20 ÷ 3,00 mg/l β-fenyletyloamina ND ÷ 3,82 mg/l Tryptamina 0,08 ÷ 0,14 mg/l β-fenyletyloamina NQ ÷ 1,75 mg/l Agmatyna NQ ÷ 5,18 mg/l Kadaweryna 0,33 ÷ 9,90 mg/l Histamina NQ ÷ 3,16 mg/l Putrescyna 0,84 ÷ 25,40 mg/l Spermidyna NQ ÷ 1,03 mg/l Spermina NQ ÷ 1,37 mg/l Tyramina 0,22 ÷ 34,99 mg/l	RP-HPLC	[33]
Wino czerwone Red wine	Spośród ośmiu analizowanych amin biogennych w największych ilościach występowała tyramina, a następnie putrescyna i kadaweryna. Zawartość amin w przedziale 5 ÷ 20 mg/l wykryto w prawie połowie z 74 badanych próbek; 20 ÷ 50 mg/l w ponad 30 %; > 50 mg/l w 16 %; ok. 120 mg/l w 4 %.	HPLC-FLD	[34]
Cydr Cider	Spośród ośmiu analizowanych amin biogennych w największych ilościach występowała tyramina, a następnie putrescyna i kadaweryna. Zawartość amin w przedziale 5 ÷ 20 mg/l wykryto w prawie połowie z 74 badanych próbek; 20 ÷ 50 mg/l w ponad 30 %; > 50 mg/l w 16 %; ok. 120 mg/l w 4 %.	HPLC	[26]
Miód pitny / Mead	Obecne: putrescyna, spermina, spermidyna, tyramina Putrescyna 209,99 ÷ 531,06 mg/kg Kadaweryna 28,33 ÷ 169,09 mg/kg histamina 41,89 ÷ 45,21 mg/kg Tyramina 59,85 ÷ 384,99 mg/kg Spermidyna 1,57 ÷ 6,54 mg/kg Spermina 20,01 ÷ 26,02 mg/kg	TLC	[39]
Produkty z mięsa wieprzowego – <i>Nham</i> Pork meat products – <i>Nham</i>	Putrescyna 23 ÷ 830 mg/kg Kadaweryna ND ÷ 2035 mg/kg Histamina ND ÷ 840 mg/kg Tyramina ND ÷ 691 mg/kg	HPLC-DAD	[37]
Produkty rybne Fish products		RP-HPLC	[28]

Produkty mleczne – sery dojrzewające i pleśniowe / Milk products – ripened and blue cheeses	Histamina ND ÷ 115,97 mg/100g Tyramina ND ÷ 159,70 mg/100g Putrescyna ND ÷ 84,00 mg/100g Kadaweryna ND ÷ 126,80 mg/100g Tryptamina ND ÷ 31,22 mg/100g Putrescyna 11 ÷ 197 ppm Kadaweryna ND ÷ 118 ppm Histamina ND ÷ 103 ppm Tyramina ND ÷ 86 ppm	UHPLC-TUV	[31]
Produkty warzywne Vegetable products	Tryptamina ND ÷ 9,71 mg/kg Fenyloetyloamina 2,38 ÷ 11,76 mg/kg Putrescyna 2,69 ÷ 14,09 mg/kg Kadaweryna ND ÷ 1,31 mg/kg Histamina ND ÷ 24,42 mg/kg Tyramina ND ÷ 66,66 mg/kg Spermidyna ND ÷ 28,31 mg/kg Spermina ND ÷ 2,85 mg/kg	RP-HPLC	[28]
Produkty sojowe – <i>miso</i> Soy products – <i>miso</i>		HPLC-UV-Vis	[5]

Objaśnienia / Explanatory notes:

RP-HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa w układzie faz odwróconych / reversed-phase high-performance liquid chromatography; HPLC-FLD – wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem fluorescencyjnym / high-performance liquid chromatography with fluorescence detection; TLC – cienkowarstwowa chromatografia cieczowa / thin-layer chromatography; HPLC-DAD – wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem DAD / high-performance liquid chromatography with diode array detection; UHPLC-TUV – ultra wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem TUV / ultra-high-performance liquid chromatography with tunable UV detector; HPLC-UV-Vis – wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem UV-Vis / high-performance liquid chromatography with UV-Vis detector; ND – poniżej limitu detekcji / below limit of detection; NQ – poniżej granicy oznaczalności / below limit of quantification.

właściwościach kancerogennych. Putrescyna i kadaweryna potęgują działanie histaminy, gdyż działają jako inhibitory diaminooksydazy (DAO) i N-metylotransferazy histaminowej (HMT) odpowiedzialnych za jej rozkład [4, 36]. Podobne właściwości wykazuje alkohol. Spożywanie wina lub innych produktów bogatych w aminy wraz z alkoholem zwiększa ryzyko wystąpienia niekorzystnych objawów. Ponadto szczególnie ostrożność w kontekście obecności amin w diecie powinny zachować osoby z genetycznie obniżoną aktywnością aminooksydaz oraz przyjmujące leki będące inhibitorami monoaminooksydaz (MAOI). Ilość BAs, która skutkuje niekorzystnymi objawami jest kwestią indywidualną i podlega działaniu wielu czynników, co powoduje trudności w ustaleniu prawnych limitów zawartości tych związków w produktach spożywczych [25]. W tab. 1. przedstawiono zawartości amin biogennych w wybranych produktach fermentowanych.

Limity prawne oraz Indeks Amin Biogennych jako wskaźniki bezpieczeństwa

Obecnie jedynie zawartość histaminy w sosie rybnym oraz produktach rybołówstwa wytwarzanych z gatunków ryb o podwyższonej zawartości histydyny jest regulowana Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 2073/2005 [35]. W 2011 roku EFSA opublikowała raport dotyczący kontroli zawartości amin biogennych w żywności fermentowanej, w którym podkreślono potrzebę m.in. prowadzenia dalszych badań dotyczących toksyczności amin oraz zgromadzenia danych o konsumpcji fermentowanej żywności celem oszacowania kryteriów bezpieczeństwa w zakresie zawartości histaminy w produktach innych niż ryby [8].

W produktach, takich jak ryby, mięso czy ich niefermentowane przetwory Indeks Amin Biogennych (BAI, ang. *Biogenic Amine Index*) może stanowić indikator jakości rozumianej jako świeżość produktu oraz zachowanie zasad higieny w procesie produkcji i dystrybucji, a także wskaźnik skuteczności przeprowadzonych procesów, mających na celu ograniczenie rozwoju mikroflory i zakonserwowanie produktu [41]. Wskaźnik ten jako pierwszy wprowadzili w 1977 r. Mietz i Karmas [32], a jego celem było oszacowanie jakości ryb. W późniejszym czasie wielu autorów wykorzystywało indeks w podobnym celu, modyfikując równanie w zależności od produktu, do którego miał być zastosowany. W żywności fermentowanej obecność i rozwój mikroorganizmów stanowi podstawę procesu produkcyjnego, dlatego zastosowanie BAI w znaczeniu takim, jak opisane powyżej byłoby jedynie częściowo zasadne. W przypadku fermentowanych warzyw Indeks Amin Biogennych zastosowano jako wskaźnik ryzyka wystąpienia niepożądanych objawów po spożyciu produktu [41]. Ryzyko to jest w pewnym stopniu związane z zachowaniem dobrych praktyk higienicznych w procesie produkcji. W dużej mierze zależy od jakości zastosowanego surowca, w szczególności składu mikroflory autochtonicznej i dostępności aminokwasów. Ważne są także

Tabela 2. Zastosowanie indeksów BAI w ocenie produktów
Table 2. Applying BAIs to assess products

Matryca żywnościowa Food matrix	Równanie / Equation	Cel zastosowania BAI Purpose of using BAI index	Źródło Reference
Puszkowany tuńczyk / Canned tuna	$(HIS + KAD + PUT) / (1 + SPD + SPM)$	Oszacowanie jakości / Quality assessment	[32]
Mięso drobiowe / Poultry meat	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie świeżości i jakości Freshness and quality assessment	[44]
Kalamarnica zwyczajna / Common squid	AGM lub AGM + KAD	Oszacowanie jakości / Quality assessment	[46]
Mięso ryb z rodziny lososiowatych Salmonid fishes meat	KAD	Oszacowanie jakości / Quality assessment	[47]
Gotowana peklowana łopatką wieprzowa Cooked, cured pork shoulder	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie świeżości Freshness assessment	[16]
Tuńczyk / Tuna	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie jakości / Quality assessment	[43]
Mięso drobiowe i przetwory z mięsa drobiowego Poultry meat and poultry meat products	SPD / SPM	Oszacowanie jakości / Quality assessment	[38]
Morszczak śródziemnomorski Mediterranean hake	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie świeżości i/lub zanieczyszczenia mikrobiologicznego Assessment of freshness and/or of microbial contamination	[3]
Mięso indyjskie pakowane w atmosferze ochronnej Turkey meat under modified atmosphere packaging	$PUT + KAD + TYR$	Oszacowanie świeżości Freshness assessment	[11]
Wieprzowina / Pork	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie świeżości i jakości Freshness and quality assessment	[7]
Fermentowane warzywa Fermented vegetables	$HIS + TYR + PUT + KAD$	Oszacowanie ryzyka wystąpienia niepożądanych objawów po spożyciu Risk assessment of adverse health effects after consumption	[41]

Objaśnienia / Explanatory notes:

HIS – histamina / histamine; KAD – kadaweryna / cadaverine; PUT – putrescyna / putrescine; SPD – spermidyna / spermidine; SPM – spermina / spermine; TYR – tyramina / tyramine; AGM – agmatyna / agmatine.

warunki środowiskowe, takie jak pH, temperatura czy stężenie NaCl, które wpływają na ogólny metabolizm mikroorganizmów oraz ich aktywność enzymatyczną. Mogą również modulować działanie enzymów niezależnie od żywotności komórek, które je wytworzyły [13]. Wybrane Indeksy Amin Biogennych przedstawiono w tab. 2.

Możliwości ograniczania zawartości amin biogennych w żywności fermentowanej

Fermentowana żywność stanowi potencjalne źródło toksycznych amin biogennych, dlatego prowadzone są badania nad możliwością ograniczenia produkcji tych związków przez mikroorganizmy. Ze względu na charakter produktów fermentowanych zabiegi technologiczne, takie jak: pakowanie próżniowe (VP), pakowanie w modyfikowanej atmosferze ochronnej (MAP), ciśnieniowanie czy obróbka cieplna, mające na celu ograniczenie aktywności lub całkowitą inaktywację drobnoustrojów, nie znajdują zastosowania. Dodatkowo ze względu na wiele korzyści zdrowotnych, jakie wynikają ze spożywania żywności fermentowanej, pożądane przez konsumentów walory sensoryczne [41] oraz tradycyjne, często chronione receptury, dobór odpowiedniej metody redukcji zawartości amin stanowi duże wyzwanie [42].

Jednym z kluczowych czynników wpływających na zawartość amin biogennych w produktach fermentowanych jest charakterystyka obecnej w nich mikroflory. Dobrym sposobem jest wykorzystanie kultur starterowych o znanych właściwościach, np. bakterii probiotycznych, które nie wykazują zdolności do tworzenia amin [40]. Zdolność do degradacji amin biogennych jest specyficzna nie dla całych rodzajów czy gatunków bakterii, ale dla poszczególnych szczepów. Zastosowanie mikroorganizmów wykazujących zdolność do produkcji aminooksydaz lub sam dodatek enzymów degradujących aminy może być skuteczną metodą ograniczania zawartości amin w produktach, które zostały wytworzone z surowców lub półproduktów będących źródłem amin, a ich mikroflora autochtoniczna wykazuje zdolność do dekarboksylacji wolnych aminokwasów [23]. Oprócz mono- i diaminooksydaz istotną rolę w degradacji amin biogennych w żywności mogą odegrać enzymy z grupy wielomiedziowych oksydaz (MCO) wytwarzane przez bakterie fermentacji mlekowej [14]. Geny kodujące enzymy z tej grupy zidentyfikowano w wielu szczepach LAB należących do gatunków, takich jak: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. fermentum* i *Lb. paraplantarum*, wyizolowanych z tradycyjnych włoskich serów [15] oraz *Lactobacillus plantarum* i *Pediococcus acidilactici*, wyizolowanych z wina [6]. Zhao i wsp. [49] wykazali, że szczepy *Staphylococcus carnosus* M43 i *P. acidilactici* M28 pochodzące z fermentowanej pasty sojowej nie tylko są zdolne do degradacji amin, ale również przyczyniają się do kształtowania pożądanego smaku produktu [49].

Innym rozwiązaniem mającym na celu ograniczanie formowania amin w produktach fermentowanych są roślinne dodatki w postaci ziół, przypraw, ekstraktów czy

Tabela 3. Wybrane sposoby ograniczania zawartości amin biogennych w fermentowanej żywności
 Table 3. Selected strategies for reducing the content of biogenic amines in fermented food

Matryca żywnościowa Food matrix	Sposób ograniczania amin biogennych / Method for reducing biogenic amines formation	Efekt ograniczania amin biogennych Effect of reducing biogenic amines	Źródło Reference
Fermentowane kielbasy wieprzowe Fermented pork sausages	Kultury starterowe: 1. <i>Pediococcus pentosaceus</i> + <i>Staphylococcus xylosum</i> 2. <i>Lactobacillus farciminis</i> + <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Istotne zmniejszenie zawartości tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny ($p < 0,001$) po zastosowaniu <i>Lb. farciminis</i> + <i>S. saprophyticus</i>	[27]
Fermentowana pasta sojowa Fermented soybean paste	Kultury starterowe: 1. <i>Staphylococcus carnosus</i> M43 2. <i>Pediococcus acidilactici</i> M28 3. <i>Staphylococcus carnosus</i> M43 + <i>Pediococcus acidilactici</i> M28	Zmniejszenie zawartości sumy 8 amin w porównaniu z próbą kontrolną, w tym: o 33,18 % – <i>P. acidilactici</i> M28, o 30,94 % – <i>S. carnosus</i> M43 i o 39,69 % – <i>P. acidilactici</i> M28 + <i>S. carnosus</i> M43). Redukcja zawartości histaminy o odpowiednio: 4,49, 8,39 i 8,32 %. Istotne zmniejszenie zawartości tyraminy ($p < 0,05$)	[49]
Fermentowane kielbasy wieprzowe Fermented pork sausages	Kultury starterowe: 1. <i>Staphylococcus carnosus</i> + <i>Lactobacillus sakei</i> (komercyjna kultura starterowa) 2. <i>Enterococcus thailandicus</i> 3. <i>Enterococcus faecalis</i> 4. <i>Enterococcus thailandicus</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	Ograniczenie zawartości kadaweryny w porównaniu z próbą kontrolną (fermentacja spontaniczna). Największą redukcję uzyskano po zastosowaniu <i>E. thailandicus</i> + <i>E. faecalis</i> ($p < 0,05$)	[20]

<p>Fermentowany sos rybny Fermented fish sauce</p>	<p>Kultury starterowe: 1. <i>Staphylococcus carnosus</i> FS19 2. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FS05</p>	<p>Redukcja zawartości sumy czterech amin biogennych w porównaniu z próbą kontrolną o odpowiednio: 15,9 i 12,5 % po zastosowaniu <i>S. carnosus</i> FS19 i <i>B. amyloliquefaciens</i> FS05. Redukcja zawartości histaminy o odpowiednio: 27,7 i 15,4 %, putrescyny – 10,2 i 13,5 %, kadaweryny – 6,2 i 11,6 % oraz tyraminy – 22,4 i 10,9 %</p>	<p>[48]</p>
<p>Wino Wine</p>	<p>Kultura starterowa: 1. <i>Lactobacillus casei</i> IFI-CA 52</p>	<p>Redukcja zawartości histaminy, tyraminy i putrescyny o odpowiednio: 54, 55 i 65 % w podłożu doświadczalnym w porównaniu z próbą kontrolną. Redukcja zawartości histaminy, tyraminy i putrescyny o odpowiednio: 17,6, 15,3 oraz 7,6 % w modelowym winie po fermentacji malolaktycznej</p>	<p>[12]</p>
<p>Sery dojrzewające Ripened cheeses</p>	<p>Kultury starterowe: 1. <i>Lactobacillus casei</i> 4a 2. <i>Lactobacillus casei</i> 5b</p>	<p>Redukcja w podłożu doświadczalnym zawartości histaminy o odpowiednio: 47,9 i 43,64 %, a tyraminy – 36,22 i 40,55 % po zastosowaniu szczepów <i>L. casei</i> 4a i <i>L. casei</i> 5b. W modelowym serze dodatek któregośkolwiek z tych szczepów ograniczył tworzenie tyraminy do wartości poniżej 0,2 mM, nawet jeśli równocześnie dodawano szczep <i>E. durans</i> 655, który wykazuje zdolność do produkcji tyraminy. W produktach, w których kulturą starterową były <i>E. durans</i> 655 lub <i>E. durans</i> 655 + <i>L. casei</i> EM116 (szczep niewykazujący zdolności do redukcji amin biogennych), zawartość tyraminy była na poziomie odpowiednio powyżej 1,6 oraz 1,4 mM. W modelowym serze dodatek <i>L. casei</i> 4a lub <i>L. casei</i> 5b ograniczył tworzenie histaminy do wartości poniżej 1 mM, nawet jeśli równocześnie dodawano szczep <i>L. parabuchneri</i> DSM 5987, który wykazuje zdolność do produkcji histaminy. W produktach, w których jako kulturę starterową zastosowano tylko <i>L. parabuchneri</i> DSM 5987 lub <i>L. parabuchneri</i> DSM 5987 + <i>L. casei</i> EM116, zawartość histaminy po 4 miesiącach dojrzewania wynosiła odpowiednio: 5,1 mM oraz 4,7 mM</p>	<p>[17]</p>
<p>Fermentowane kielbasy wieprzowe Fermented pork sausages</p>	<p>Kultury starterowe: 1. <i>Lactobacillus plantarum</i> 2. <i>Staphylococcus xylosum</i> 3. <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Staphylococcus xylosum</i></p>	<p>Łagodna redukcja zawartości tyraminy (21 %), histaminy (25 %) i kadaweryny (22 %) po zastosowaniu <i>S. xylosum</i>, w porównaniu z produktem kontrolnym. <i>S. xylosum</i> + <i>L. plantarum</i> efektywnie zredukowały zawartość tryptaminy, fenyletyloaminy, putrescyny, kadaweryny, histaminy i tyraminy o odpowiednio: prawie 100, 100, 86, 63, 82 i 43 %. Podobne rezultaty osiągnięto przy zastosowaniu jedynie <i>L. plantarum</i> ($p > 0,05$)</p>	<p>[45]</p>

Fermentowany bekon Fermented bacon	Kultura starterowa: 1. <i>Lactobacillus curvatus</i> G-1	Istotna redukcja całkowitej zawartości amin biogennych. W produkcie kontrolnym suma zawartości analizowanych amin biogennych wynosiła 1 044,04 mg/kg. W modelowym produkcie z dodatkiem <i>Lb. curvatus</i> G-1 osiągnięto ponad trzykrotnie mniejszą ich zawartość (318,19 mg/kg)	[24]
Czarna fasola – <i>douchi</i> Black beans – <i>douchi</i>	Kultura starterowa: 1. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 2. <i>Lactobacillus casei</i> Shirota 3. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	Ograniczenie formowanie tyraminy do zawartości poniżej limitu detekcji, przy czym ważną rolę odegrał nie tylko skład mikroorganizmów, ale również warunki środowiska, tj. dostępność tlenu i temperatura	[10]
Kapusta kiszona Sauerkraut	Dodatki roślinne: 1. Cebula – 350 g/kg 2. Kminek – 10 g/kg	Fermentacja w temp. 18 °C: redukcja zawartości kadaweryny i tyraminy w obu wariantach w porównaniu z próbą kontrolną oraz fenylotyloaminy w wariantach z dodatkiem cebuli. Fermentacja w temp. 31 °C: redukcja zawartości tryptaminy w obu wariantach oraz putrescyny w wariantach z dodatkiem cebuli	[30]
<i>Tarhana</i> – fermentowany produkt zbożowy <i>Tarhana</i> – fermented grain product	Dodatek ekstraktu roślinnego: 1. Ekstrakt z pestek winogron w stężeniach 4, 8 lub 16 g/kg	Istotna redukcja zawartości putrescyny przy dodatku ekstraktu na poziomie 8 lub 16 g/kg (odpowiednio o 84 i 90 %), kadaweryny (do wartości poniżej limitu detekcji) i ogólnej zawartości analizowanych amin biogennych (o odpowiednio 77 i 83 %) w porównaniu z próbą kontrolną (bez dodatku ekstraktu) po 6 miesiącach fermentacji	[1]
Fermentowana pasta sojowa Fermented soybean paste	Dodatek substancji roślinnych: 1. Ekstrakt z pestek grejfruta (300 mg/kg) 2. Katechiny (3g/kg): 2.1. Epikatechina 2.2. Galusan epikatechiny 2.3. Epigallokatechina 2.4. Galusan epigallokatechiny	Skuteczna redukcja zawartości putrescyny, spośród 8 analizowanych amin biogennych, po zastosowaniu dodatku ekstraktu z pestek grejfruta. Po zastosowaniu galusanu epikatechiny, epikatechiny, galusanu epigallokatechiny oraz epigallokatechiny redukcja zawartości putrescyny i kadaweryny wynosiła odpowiednio: 60, 64, 73 i 76 %	[22]

<p>Fermentowana kielbasa z baraniny Fermented mutton sausage</p>	<p>Dodatek ekstraktów przypraw: 1. Anyż 2. Amomum tsaoko (roślina podobna do imbiru) 3. Goździki 4. Cynamon chiński 5. Koper włoski 6. Liść laurowy 7. Gałka muszkatołowa</p>	<p>Największa redukcja zawartości tyraminy (o 18,7 %) w porównaniu z próbą kontrolną po zastosowaniu ekstraktu z goździków. Redukcja zawartości histaminy, spermidyny i putrescyny (o odpowiednio: 24,4, 27,5 i 19,3 %) po dodaniu ekstraktu z cynamonu chińskiego, a β-fenyloetyloaminy i tryptaminy – po dodaniu ekstraktu z goździków (o odpowiednio: 21,8 i 24,6 %) ($p < 0,05$)</p>	<p>[19]</p>
<p><i>Myeolchi-jeot</i> – fermentowane sardele <i>Myeolchi-jeot</i> – fermented anchovies</p>	<p>Dodatek etanoloowych ekstraktów przypraw: 1. Imbir 2. Czosnek 3. Szczyptor 4. Czerwona papryka 5. Goździki 6. Cynamon</p>	<p>Redukcja zawartości amin biogennych po zastosowaniu ekstraktów w ilości (w porównaniu z próbą kontrolną): 1) imbir: 1,0 ml – redukcja putrescyny o 12,77 %, 0,5 ml – redukcja tyraminy o 26,27 % i 0,1 ml – redukcja spermidyny o 27,17 %; 2) czosnek: 1 ml (ok. 16 %) – redukcja zawartości putrescyny, kadaweryny, histaminy i tyraminy o odpowiednio: 11,2, 18,4, 11,7 i 30,9 %; 0,5 ml (ok. 8 %) – redukcja spermidyny o 17,4 %. W doświadczeniu modelowym całkowita zawartość analizowanych amin biogennych w produkcie z dodatkiem ekstraktu z czosnku była o 8,7 % mniejsza niż w produkcie kontrolnym; 3) szczyptor: 0,5 ml – redukcja tyraminy o 33,28 %, 1,0 ml – redukcja spermidyny o 10,87 %; 4) czerwona papryka: 0,5 ml – redukcja kadaweryny, tyraminy i spermidyny o odpowiednio: 10,73, 32,49 i 27,34 %; 5) goździki: 0,1 ml – redukcja tyraminy o 28,30 %, 1,0 ml – redukcja spermidyny o 28,30 %; 6) cynamon: 0,1 ml – redukcja putrescyny o 20,57 %, i 0,5 ml – redukcja tyraminy o 23,66 % ($p < 0,05$)</p>	<p>[29]</p>

olejków eterycznych. Jest to korzystny sposób, gdyż może stanowić jednocześnie pożądanym przez konsumentów dodatek sensoryczny, wzbogacić produkt o cenne, prozdrowotne składniki oraz w naturalny sposób zakonserwować produkt, wydłużając czas jego przydatności do spożycia [13]. W tab. 3. przedstawiono wybrane sposoby ograniczania formowania amin biogennych w fermentowanej żywności oraz osiągnięte efekty.

Podsumowanie

Obecność amin biogennych wynika głównie z aktywności metabolicznej drobnoustrojów wchodzących w skład produktu. Spożycie takiej żywności może wywołać szereg niekorzystnych reakcji w organizmie. U większości konsumentów objawy po spożyciu produktów zawierających aminy biogenne są jednak łagodne i nie zagrażają życiu. Często nie są kojarzone z przyczyną, czyli bezpośrednim dostarczeniem tych związków z dietą, dlatego poziom amin biogennych w żywności pozostaje niedoszacowany. Przeprowadzenie badań konsumenckich dotyczących spożycia żywności fermentowanej, uwzględniających m.in. rodzaj i wielkość porcji oraz występujące po jej spożyciu reakcje organizmu, przyczyniłoby się znacznie do oceny skali tego zagadnienia. Zgromadzone dane mogłyby stanowić podstawę do określenia limitów zawartości amin biogennych w produktach nieobjętych dotąd wymaganiami w tym zakresie. Poszukiwanie rozwiązań technologicznych, które mają na celu ograniczenie zawartości amin biogennych w żywności fermentowanej stanowi w ostatnich latach przedmiot zainteresowania wielu badaczy. Główne kierunki działań obejmują zastosowanie kultur starterowych niewytwarzających dekarboksylaz lub produkujących enzymy degradujące aminy oraz modulowanie metabolizmu drobnoustrojów poprzez wzbogacenie produktów w roślinne dodatki technologiczne.

Badania zostały sfinansowane w ramach działalności statutowej IBPRS-PIB nr 127-01 pt. „Wpływ wybranych czynników na ograniczanie występowania amin biogennych w fermentowanych warzywach”.

Literatura

- [1] Akan S., Ocak Ö.Ö.: Evaluation of storage time and grape seed extract addition on biogenic amines content of tarhana: A cereal-based fermented food. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2019, 111, 861-868.
- [2] Alvarez M.A., Moreno-Arribas M.V.: The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, 39 (2), 146-155.
- [3] Baixas-Nogueras S., Bover-Cid S., Veciana-Nogués M.Y., Mariné-Font A., Vidal-Carou M.C.: Biogenic amine index for freshness evaluation in iced Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). *J. Food Protect.*, 2005, 68 (11), 2433-2438.

- [4] Bankerroum N.: Biogenic amines in dairy products: Origin, incidence, and control means. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2016, 15 (4), 801-826.
- [5] Byun B.Y., Mah J.H.: Occurrence of biogenic amines in miso, Japanese traditional fermented soybean paste. *J. Food Sci.*, 2012, 77(12), 216-223.
- [6] Callejón S., Sendra R., Ferrer S., Pardo I.: Identification of a novel enzymatic activity from lactic acid bacteria able to degrade biogenic amines in wine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2014, 98, 185-198.
- [7] Cheng W., Sun D.W., Cheng J.H.: Pork biogenic amine index (BAI) determination based on chemometric analysis of hyperspectral imaging data. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2016, 73, 13-19.
- [8] EFSA: Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA J.*, 2011, 9(10), #2393.
- [9] Ekici K., Omer A.K.: Biogenic amines formation and their importance in fermented foods. *BIO Web Conf.*, 2020, 17, #00232.
- [10] Fong F.L.Y., Lam K.Y., Lau C.S., Ho K.H., Kan Y.H., Poon M.Y., El-Nezami H., Sze E.T.P.: Reduction in biogenic amines in douchi fermented by probiotic bacteria. *PLoS ONE*, 2020, 15(3), #0230916.
- [11] Fraqueza M.J., Alfaia C.M., Barreto A.S.: Biogenic amine formation in turkey meat under modified atmosphere packaging with extended shelf life: Index of freshness. *Poultry Sci.*, 2012, 91 (6), 1465-1472.
- [12] García-Ruiz A., González-Rompinelli E.M., Bartolomé B., Moreno-Arribas M.V.: Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, 148 (2), 115-120.
- [13] Gardini F., Özogul Y., Suzzi G., Tabanelli G., Özogul F.: Technological factors affecting biogenic amine content in foods: A review. *Front. Microbiol.*, 2016, 7, #1218.
- [14] Góralczyk-Bińkowska A., Jasińska A., Długoński J.: Charakterystyka i kierunki wykorzystania enzymów z grupy wielomiedziowych oksydaz. *Post. Mikrobiol.*, 2019, 58 (1), 7-18.
- [15] Guarcello R., Angelis M.D., Settanni L., Formiglio S., Gaglio R., Minervini F., Moschetti G., Gobetti M.: Selection of amine-oxidizing dairy lactic acid bacteria and identification of the enzymes and gene involved in the decrease of biogenic amines. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2016, 82 (23), 6870-6880.
- [16] Hernández-Jover T., Izquierdo-Pulido M., Veciana-Nogués M.T., Vidal-Carou M.C.: Biogenic amines sources in cooked cured shoulder pork. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44 (10), 3097-3101.
- [17] Herrero-Fresno A., Martínez N., Sánchez-Llana E., Díaz M., Fernández M., Martín M.C., Ladero V., Alvarez M.A.: *Lactobacillus casei* strains isolated from cheese reduce biogenic amine accumulation in an experimental model. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, 157 (2), 297-304.
- [18] Huang L., Wang Y., Li R., Wang Q., Dong J., Wang J., Lu S.: Thyme essential oil and sausage diameter effects on biogenic amine formation and microbiological load in smoked horse meat sausage. *Food Bioscience*, 2021, 40, #100885.
- [19] Jia W., Zhang R., Shi L., Zhang F., Chang J., Chu X.: Effects of spices on the formation of biogenic amines during the fermentation of dry fermented mutton sausage. *Food Chem.*, 2020, 321, #126723.
- [20] Kim H.S., Lee S.Y., Hur S.J.: Effects of different starter cultures on the biogenic amine concentrations, mutagenicity, oxidative stress, and neuroprotective activity of fermented sausages and their relationships. *J. Funct. Food.*, 2019, 52, 424-429.
- [21] Knope K.E., Sloan-Gardner T.S., Stafford R.J.: Histamine fish poisoning in Australia, 2001 to 2013. *Commun. Dis. Intell. Q. Rep.*, 2014, 38, 285-293.
- [22] Lee J.-Y., Kim Y., Her J.-Y., Kim M.K., Lee K.G.: Reduction of biogenic amine contents in fermented soybean paste using food additives. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2018, 98, 470-476.

- [23] Li B., Lu S.: The importance of amine-degrading enzymes on the biogenic amine degradation in fermented foods: A review. *Process Biochem*, 2020, 99, 331-339.
- [24] Li L., Wen X., Wen Z., Chen S., Wang L., Wei X.: Evaluation of the biogenic amines formation and degradation abilities of *Lactobacillus curvatus* from Chinese bacon. *Front. Microbiol.*, 2018, 9, #1015.
- [25] Linares D.M., del Rio B., Redruello B., Ladero V., Martin M.C., Fernandez M., Ruas-Madiedo P., Alvarez M.A.: Comparative analysis of the *in vitro* cytotoxicity of the dietary biogenic amines tyramine and histamine. *Food Chem.*, 2016, 197, Part A, 658-663.
- [26] Lorencová E., Salek R.N., Buňková L., Szczybrochová M., Černíková M., Buňka F.: Assessment of biogenic amines profile in ciders from the Central Europe region as affected by storage time. *Food Bioscience*, 2021, 41, #100957.
- [27] Lu S., Xu X., Zhou G., Zhu Z., Meng Y., Sun Y.: Effect of starter cultures on microbial ecosystem and biogenic amines in fermented sausage. *Food Control*, 2010, 21 (4), 444-449.
- [28] Ly D., Mayrhofer S., Schmidt J.M., Zitz U., Domig K.J.: Biogenic amine contents and microbial characteristics of Cambodian fermented foods. *Foods*, 2020, 9 (2), #198.
- [29] Mah J.H., Kim Y.J., Hwang H.J.: Inhibitory effects of garlic and other spices on biogenic amine production in Myeolchi-jeot, Korean salted and fermented anchovy product. *Food Control*, 2009, 20 (5), 449-454.
- [30] Majcherczyk J., Surówka K.: Effects of onion or caraway on the formation of biogenic amines during sauerkraut fermentation and refrigerated storage. *Food Chem.*, 2019, 298, #125083.
- [31] Mayer H.K., Fiechter G.: UHPLC analysis of biogenic amines in different cheese varieties. *Food Control*, 2018, 93, 9-16.
- [32] Mietz J.L., Karmas E.: Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *J. Food Sci.*, 1977, 42 (1), 155-158.
- [33] Perestrelo R., Bordiga M., Locatelli M., Silva C., Câmara J.S.: Polyphenols, biogenic amines and amino acids patterns in Verdelho wines according to vintage. *Microchem. J.*, 2020, 153, #104383.
- [34] Preti R., Vieri S., Vinci G.: Biogenic amine profiles and antioxidant properties of Italian red wines from different price categories. *J. Food Compos. Anal.*, 2016, 46, 7-14.
- [35] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. U. L* 338, s. 1-26, z 22.12.2005 z późn. zm.
- [36] Ruiz-Capillas C., Herrero A.M.: Impact of biogenic amines on food quality and safety. *Foods*, 2019, 8 (2), #62.
- [37] Santyanont P., Chantarasakha K., Tepkasikul P., Srimarut Y., Mhuantong W., Tangphatsornruang S., Zo Y.-G., Chokesajjawatee N.: Dynamics of biogenic amines and bacterial communities in a Thai fermented pork product *Nham*. *Food Res. Int.*, 2019, 119, 110-118.
- [38] Silva C.M.G., Glória M.B.A.: Bioactive amines in chicken breast and thigh after slaughter and during storage at 4 ± 1 °C and in chicken-based meat products. *Food Chem.*, 2002, 78 (2), 241-248.
- [39] Silva I.P., Dias L.G., da Silva M.O., Machado C.S., Paula V.M.B., Evangelista-Barreto N.S., de Carvalho C.A.L., Estevinho L.M.: Detection of biogenic amines in mead of social bee. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2020, 121, #108969.
- [40] Stadnik J.: Aminy biogenne w wyrobach mięsnych surowo dojrzewających. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 3 (88), 5-15.
- [41] Świder O., Roszko M.Ł., Wójcicki M., Szymczyk K.: Biogenic amines and free amino acids in traditional fermented vegetables – dietary risk evaluation. *J. Agric. Food Chem.*, 2020, 68 (3), 856-868.
- [42] Świder O., Wójcicki M.: Aminy biogenne w fermentowanej żywności. [on line]. *FoodFakty*. Dostęp w Internecie [20.02.2021]: <https://foodfakty.pl/aminy-biogenne-w-fermentowanej-zywnosci>

- [43] Veciana-Nogués M.T., Mariné-Font A., Vidal-Carou M.C.: Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45 (6), 2036-2041.
- [44] Wortberg B., Woller R.: Zur Qualität und Frische von Fleisch und Fleischwaren im Hinblick auf ihren Gehalt an biogenen Aminen. *Fleischwirtschaft*, 1982, 62 (11), 1457-1463.
- [45] Xie C., Wang H.H., Nie X.K., Chen L., Deng S.-L., Xu X.-L.: Reduction of biogenic amine concentration in fermented sausage by selected starter cultures. *CyTA – Journal of Food*, 2015, 13 (4), 491-497.
- [46] Yamanaka H., Shiomi K., Kikuchi T.: Agmatine as a potential index for freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). *J. Food Sci.*, 1987, 52 (4), 936-938.
- [47] Yamanaka H., Shiomi K., Kikuchi T.: Cadaverine as a potential index for decomposition of salmonoid fishes. *Food Hyg. Safety Sci.*, 1989, 30 (2), 170-174.
- [48] Zaman M.Z., Bakar F.A., Jinap S., Bakar J.: Novel starter cultures to inhibit biogenic amines accumulation during fish sauce fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, 145 (1), 84-91.
- [49] Zhao J., Niu C., Du S., Liu C., Zheng F., Wang J., Li Q.: Reduction of biogenic amines formation during soybean paste fermentation by using *Staphylococcus carnosus* M43 and *Pediococcus acidilactici* M28 as starter culture. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2020, 133, #109917.

BIOGENIC AMINES – CONSUMPTION RISK ASSESSMENT AND PROSPECTS OF LIMITING THEIR FORMATION IN FERMENTED FOODS

S u m m a r y

Ensuring food safety is currently one of the most important missions of many internationally active institutions. Their activities include the cooperation in the field of controlling and analysing the quality of food products in order to protect consumer health and to rationally manage available resources. The presence of biogenic amines in food is a subject raised many times by numerous organizations, both in the context of setting limits of the content of these compounds in food (FDA, EFSA) and pointing out directions of future research (EFSA). If provided with the diet, biogenic amines can cause a number of unfavourable reactions in the body. The occurrence of these compounds in food results mainly from the metabolic activity of microorganisms in the product. Therefore many scientists attempted to create a Biogenic Amine Index as an indicator of the quality and/or freshness of selected products (mainly meat and fish), in which the activity of microorganisms is undesirable, contributes to a reduction in the quality of product and therefore reduces its shelf life. Fermented foods are a group of products, where the risk of amine formation is particularly high, but where the presence and growth of microorganisms constitute a basis of the process of producing them. While being a potential threat, the microorganisms can become allies in reducing the content of biogenic amines in fermented foods. A good strategy is to select starter cultures with known properties and/or to appropriately modulate the metabolism of microorganisms by adding plant substances and ensuring optimal environmental conditions.

Key words: biogenic amines, Biogenic Amine Index, food safety, fermented food ☒