Aminy biogenne w serach podpuszczkowych dojrzewających jako zagrożenie zdrowia konsumentów

ANNA MADEJSKA, MIROSŁAW MICHALSKI, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego,
Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 27.09.2016

Zaakceptowano 15.11.2016

Madejska A., Michalski M., Osek J.

Biogenic amines in rennet ripening cheeses as a health risk to consumers

Summary

Biogenic amines are nitrogen compounds which are products of the decarboxylation of free amino acids. They are produced with the participation of bacterial microflora producing enzymes, and they may be introduced together with food into the human body. The highest amounts of biogenic amines are found in meat, fish and cheeses. Consumption of products containing biogenic amines can cause food poisoning and allergies in consumers. The most common amines in cheeses are tyramine, histamine, putrescine, cadaverine and 2-phenylethylamine. The formation of amines depends on the technology of food production, storage conditions (temperature, time, pH, moisture), the quality of the raw materials (the content of free amino acids, proteins, salts, sugars) and the presence of microorganisms producing decarboxylases. This article describes different types of biogenic amines, their formation, detection methods and health risks to consumers. Information on the harmfulness of biogenic amines and on factors conducive to their production may help prevent poisoning with these compounds.

Keywords: biogenic amines, cheeses, toxicity, food safety

Aminy biogenne są zasadowymi związkami chemicznymi, które tworzą się na skutek dekarboksylacji aminokwasów lub aminacji oraz transaminacji aldehydów i ketonów (40). W żywności aminy są produkowane przy udziale enzymów bakteryjnych (dekarboksylaz), przekształcających aminokwasy w aminy biogenne. Reakcję powstawania amin biogennych na przykładzie histaminy przedstawiono na ryc. 1. Aminy biogenne stwierdza się we wszystkich produktach bogatych w białko, szczególnie w wyrobach poddawanych procesowi fermentacji i dojrzewania. Najczęściej występują one w rybach i produktach rybnych, mięsie i jego przetworach, serach, winie, piwie, warzywach

i owocach (39). Aminy pełnią wiele ważnych funkcji w organizmie, są m.in. prekursorami w syntezie hormonów, białek, alkaloidów oraz kwasów nukleinowych. Biorą także udział w regulowaniu ciśnienia tętniczego krwi, reakcjach alergicznych oraz komórkowej kontroli wzrostu (20), jednak spożywane w dużych ilościach, zwłaszcza przez osoby z zaburzonym metabolizmem lub przyjmujących leki z grupy inhibitorów monoaminooksydazy (MAO) mogą być przyczyną poważnych zatruc, a nawet śmierci. Do najczęściej występujących objawów wskazujących na zatrucie aminami biogennymi należą: nudności, bóle głowy, wysypka, zaburzenia rytmu serca oraz zmiany ciśnienia krwi (39). Należy mieć również świadomość, iż aminy biogenne mogą stanowić zagrożenie dla życia ludzi oraz być uznane za czynniki pronowotworowe z uwagi na ich zdolność do reakcji z azotynami i tworzenia potencjalnie rakotwórczych nitrozoamin (12, 40). Sery są jednym z istotnych rodzajów żywności, w której mogą być obecne nadmierne ilości amin biogennych. Ich wytwarzanie jest procesem wielostopniowym, a jednym z etapów produkcji jest dojrzewanie, które może trwać od kilku dni do kilku miesięcy, a nawet lat. W serach podpuszcz-

Ryc. 1. Enzymatyczna dekarboksylacja histydyny do histaminy

kowych miękkich (brie, camembert, gorgonzola) proces dojrzewania trwa kilkanaście dni, natomiast we wszystkich serach podpuszczkowych twardych (np. gouda, cheddar, parmezan) trwa on znacznie dłużej. W tym czasie następuje rozkład laktozy do kwasu mlekowego oraz hydroliza białek i rozkład tłuszczów przy udziale enzymów proteolitycznych wytwarzanych przez obecne w serach grzyby i bakterie. Proces dojrzewania stwarza więc doskonałe warunki do tworzenia się amin biogennych z uwagi na zawartość wolnych aminokwasów, jak również mikroorganizmów produkujących dekarboksylazy. W obecności bakterii, przy odpowiedniej temperaturze, pH oraz zawartości soli część aminokwasów zostaje przekształcana do amin biogennych. Obecnie nie ma określonych kryteriów w prawodawstwie Unii Europejskiej dotyczących dopuszczalnych poziomów tych związków w serach.

Powstawanie amin biogennych w serach

Istnieje wiele czynników, które mogą inicjować powstawanie amin biogennych i zwiększać ich ilość w serach. Do najważniejszych należą obecność wolnych aminokwasów oraz bakterii wytwarzających dekarboksylazy. Największe ilości amin powstają podczas dojrzewania sera, kiedy dochodzi do degradacji białek, co skutkuje akumulacją wolnych aminokwasów, przekształcanych następnie w aminy przy pomocy enzymów bakteryjnych. Podczas tego etapu niezbędna jest stała kontrola temperatury oraz wilgotności pomieszczenia, w którym są przechowywane sery. Właściwe warunki przechowywania mają wpływ na odpowiedni rozwój kultur starterowych bakterii, zapewniają uzyskanie pożądanych wartości odżywczych, jak również ważnych dla konsumentów walorów smakowych. Duże ilości amin mogą również powstawać jako następstwo wykorzystania złej jakości mleka lub podczas produkcji serów w niehigienicznych warunkach (21). Odpowiednie dobranie kultur starterowych bakterii oraz zachowanie reżimów technologicznych (właściwy czas, temperatura, wilgotność podczas dojrzewania sera, czystość) pozwalają uniknąć tworzenia się szkodliwych amin (33). W serach podpuszczkowych obecność wyselekcjonowanych rodzajów pleśni, celowo nanoszonych na powierzchnię serów z tzw. białą pleśnią (*Penicillium camemberti*) lub wprowadzaną do całego bloku sera z tzw. pleśnią niebieską (*Penicillium roqueforti*), jest dodatkowym czynnikiem wspomagającym powstawanie amin. Enzymy wytwarzane przez te mikroorganizmy mogą rozkładać białka do aminokwasów, które z kolei stanowią substrat dla dekarboksylaz bakteryjnych. Najwięcej doniesień dotyczących występowania amin biogennych w serach odnosi się do histaminy, ale liczne prace opisują

Ryc. 2. Wzory strukturalne wybranych amin biogennych

też obecność tyraminy, putrescyny, kadaweryny oraz fenyloetyloaminy (6, 22, 36, 38) (ryc. 2).

Tyramina jest aromatyczną monoaminą o nazwie systematycznej 4-hydroksyfenyloetyloamina, będącą hydroksylową pochodną fenyloetyloaminy. Dostępne wyniki badań wskazują, że tyramina jest najczęściej występującą aminą biogenną w serach (8, 38, 40). Powstaje ona z aminokwasu L-tyrozyny przy udziale enzymu dekarboksylazy tyrozynowej. Największe ilości tego związku chemicznego zawierają sery z niebieskimi żyłkami pleśni, takie jak gorgonzola oraz roquefort. Jej zawartość jest różna w różnych miejscach sera, a najwyższa występuje w części zewnętrznej (22). W przeprowadzonych w Polsce badaniach, dotyczących oznaczania zawartości amin biogennych w serach dojrzewających metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC), wykryto tyraminę w ilości od 10 do 100 mg/kg w 36,6% badanych próbek, a na poziomie powyżej 100 mg/kg w połowie materiału poddanego analizie (38).

Histamina to heterocykliczna monoamina o nazwie systematycznej 2-(1H-imidazol-4-yl)-etyloamina), pochodna imidazolu. Należy do trwałych związków chemicznych, ponieważ jest odporna na działanie wysokiej temperatury i nie rozkłada się podczas obróbki termicznej żywności (31). Po rybach, sery są najczęstszą przyczyną zatrucia histaminą (42). Aminę tę mogą zawierać zarówno wyroby produkowane z mleka surowego, jak i pasteryzowanego (25). W serach histamina powstaje z wolnego aminokwasu histydyny pod wpływem działania dekarboksylazy histydynowej produkowanej przez bakterie i w obecności fosforanu pirydoksalu. Świeże mleko nie zawiera zwykle histaminy lub występuje ona w bardzo małych ilościach (mniej niż 0,3 mg/kg). Niewłaściwe przetwarzanie mleka spożywczego może jednak powodować wzrost jej zawartości. Stwierdzono, że mleko sterylizowane (typu UHT) może zawierać do 0,8 mg/kg histaminy, natomiast fermentowane wyroby mleczne ponad 10 razy więcej. W serach poziom histaminy osiągał

wartości aż do 2500 mg/kg (3, 10). Pierwsze doniesienia o zatruciu tą aminą po spożyciu sera pochodzą z 1967 r. i dotyczyły sera gouda zawierającego histaminę w granicach 850-1870 mg/kg (9). Według danych Agencji Standardów Żywności (FSA – Food Standards Agency), w Wielkiej Brytanii przypadki związane z zatruciem histaminą były spowodowane głównie przez sery dojrzewające typu cheddar. Przypuszcza się, iż mogło to wynikać ze spożywania dużych ilości tego typu sera, zarówno przez dzieci w szkołach, jak i przez osoby dorosłe ([https://www.food.gov.uk/sites/default/files/acm_1193_histamine_in_cheese_\(paper\).pdf](https://www.food.gov.uk/sites/default/files/acm_1193_histamine_in_cheese_(paper).pdf), dostęp 16.09.2016 r.). W literaturze opisano również inne gatunki serów, m.in. cheshire, roquefort oraz ser szwajcarski gruyere, odpowiedzialne za wystąpienie zatrucia na tle histaminy (39, 40, 45).

Putrescyna i kadaweryna są alifatycznymi diaminy o nazwach systematycznych, odpowiednio, 1,4-diaminobutan i pentametylenodiamina. Putrescyna jest wytwarzana przez rozkład aminokwasu ornityny w reakcji katalizowanej przez dekarboksylazę ornityny w obecności fosforanu pirydoksalu, z kolei kadaweryna jest pochodną L-lizyny. Ornityna, będąca prekursorem putrescyny, jest aminokwasem niebiałkowym powstającym w procesie przemian wewnątrzkomórkowych z argininy przy udziale enzymu arginazy. W wykonanych w Polsce badaniach metodą RP-HPLC, dotyczących oznaczania amin biogennych w serach dojrzewających, 35,3% próbek zawierało putrescynę i kadawerynę w ilości od 10 do 100 mg/kg. Putrescynę na poziomie powyżej 100 mg/kg wykryto w 11,8% przebadanych próbek, natomiast kadawerynę w tej ilości w żadnej z nich (38).

2-Fenyletyloamina to aromatyczna monoamina o nazwie systematycznej 1-amino-2-fenyletan, będąca pochodną etyloaminy. Amina ta może występować praktycznie w każdym gatunku sera pleśniowego oraz twardego, m.in. w serach: brie, camembert, cheddar, cheshire, edam, gouda, mozzarella, parmezan, roquefort. Powstaje poprzez enzymatyczną dekarboksylację fenylealaniny. Przeprowadzone w Austrii w latach 2000-2008 badania serów, ryb, kielbas i czekolad wykazały, że najwięcej fenyletyloaminy zawierały sery, w ilościach powyżej 100 mg/kg, w porównaniu do pozostałych produktów, gdzie poziom tej aminy nie przekraczał 100 mg/kg (36).

Mikroorganizmy wytwarzające aminy

Powstawanie amin biogennych jest związane z aktywnością enzymatyczną mikroorganizmów. Głównymi producentami tyraminy w serach są bakterie Gram-dodatnie z rodzajów: *Enterococcus* (np. *Enterococcus faecalis* i *E. faecium*), *Lactobacillus* (np. *Lactobacillus curvatus*, *L. brevis*), *Leuconostoc*, *Lactococcus* oraz *Carnobacterium* (14, 22, 23, 26, 27). Zdolność do wytwarzania histaminy stwierdzono również u bakterii Gram-ujemnych, zwłaszcza *Hafnia*

Tab. 1. Bakterie odpowiedzialne za wytwarzanie najczęściej występujących amin biogennych w serach

Bakterie	Aminokwas	Amina biogenna	Piśmiennictwo
<i>Hafnia</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Klebsiella</i> <i>Morganella</i> <i>Photobacterium</i>	histydyna	histamina	11, 29, 30, 41
<i>Enterococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Lactococcus</i> <i>Carnobacterium</i>	tyrozyna	tyramina	4, 12, 14, 23
<i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Escherichia</i> <i>Proteus</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	ornityna	putrescyna	7, 24, 30, 39
<i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Escherichia</i> <i>Proteus</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	lizyna	kadaweryna	7, 24, 30, 43
<i>Enterococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Staphylococcus</i>	fenylealanina	fenyletyloamina	4, 5, 15, 43

alvei, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* oraz przez coraz częściej spotykane *Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium psychrotolerans* (11, 29, 41). Putrescyna i kadaweryna są wytwarzane podczas psucia się żywności przez bakterie Gram-ujemne, zwłaszcza z rodzin *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* i *Shewanellaceae*. Wiodącą rolę w produkcji wymienionych amin przypisuje się *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* i *Shigella* (7, 24, 30). W serach wyprodukowanych z mleka koziego wyizolowano bakterie z rodzaju *Enterococcus*, mogące odgrywać znaczącą rolę w produkcji fenyletyloaminy (15). Amina ta jest również wytwarzana przez drobnoustroje z rodzaju *Staphylococcus* (*S. carnosus* i *S. piscifermentans*) oraz *Lactobacillus* spp., z uwagi na wysoką aktywność dekarboksylazy produkowanej przez te mikroorganizmy (4, 43). Najczęściej spotykane aminy biogenne w serach, wraz z prekursorami aminokwasów oraz drobnoustrojami odpowiedzialnymi za ich powstawanie, przedstawiono w tab. 1.

Toksyczność amin biogennych

W organizmie człowieka istnieje system detoksykacji, który degraduje biogenne aminy w fizjologicznie mniej aktywne formy. Monoaminooksydaza (MAO) oraz diaminooksydaza (DAO) to dwa enzymy odgrywające znaczącą rolę w procesie usuwania amin biogennych z organizmu. Spożycie dużej ilości amin powoduje inaktywację systemu detoksykacji, a przyjmowanie leków z grupy inhibitorów MAO przyczynia się do zmniejszenia aktywności enzymu.

Brak MAO lub zablokowanie jego działania w czasie stosowania inhibitorów enzymu może doprowadzić do niebezpiecznego zwiększania ilości amin w ustroju i wywoływania przez nie działania toksycznego (12).

Na podstawie przeprowadzonych w Niemczech badań stwierdzono, iż spożycie żywności zawierającej > 100 mg/kg tyraminy może wywołać objawy chorobowe w postaci migreny, które są skutkiem zachodzących zmian w naczyniach krwionośnych mózgu (2). W przypadku zatrucia pojawiają się w dalszej kolejności zaburzenia żołądkowo-jelitowe, nadciśnienie, a nawet krwawienie wewnątrzczaszkowe (40). Pierwsze objawy występują zwykle po 1-2 h od spożycia sera zawierającego tyraminę. „Efekt sera” („cheese effect”), definiowany jako przełom nadciśnieniowy, czyli gwałtowny wzrost ciśnienia tętniczego krwi, jest diagnozowany u pacjentów spożywających duże ilości sera bogatego w tyraminę (6, 20, 40, 46). Akumulacja tego związku w organizmie może doprowadzić do niebezpiecznego w skutkach wzrostu ciśnienia tętniczego, przyspieszenia częstotliwości rytmu serca i pobudzenia psychoruchowego (40). Odnotowano wiele zgonów z powodu zawałów serca lub udarów mózgu związanych ze spożyciem żywności o wysokiej zawartości tyraminy oraz inhibitorów monoaminooksydaz (39, 40). Za toksyczny poziom tyraminy w serach uznaje się 100-800 mg/kg, podczas gdy już 6 mg tej aminy stanowi dawkę niebezpieczną u osób przyjmujących inhibitory MAO (5). W przeprowadzonych na szczurach badaniach stwierdzono, że w kwaśnym środowisku żołądka tyramina w obecności azotynu sodu przekształca się w substancję rakotwórczą 3-diazoetyraminę, indukującą powstawanie nowotworów jamy ustnej (40).

Histamina, podobnie jak tyramina, jest jedną z najbardziej istotnych amin w aspekcie higieny serów. W dużych ilościach występuje ona również w rybach o podwyższonej zawartości histydyny w tkankach (z rodziny makrełowatych), będąc przyczyną zatrucia określonego nazwą Scombrototoxic Fish Poisoning, SFP (32, 37). Przeprowadzone w Austrii badania sugerują dopuszczalny poziom zawartości tej aminy w serach wynoszący 400 mg/kg, gdyż powyżej tego progu zaobserwowano kliniczne objawy zatrucia u ludzi (35). Symptomy choroby pojawiają się od 10 do 30 minut po spożyciu, a toksyczność histaminy zależy od indywidualnej wrażliwości organizmu i związanego z nią systemu detoksykacji oraz od obecności w ustroju innych biologicznie czynnych substancji, zwłaszcza tyraminy, putrescyny i kadaweryny (40, 42). Objawy zatrucia histaminą związane są z: trudnościami w oddychaniu, spadkiem ciśnienia krwi, drętwieniem języka, uczuciem palenia w ustach i języku, wysypką, świądem, nasilającymi się nudnościami, wymiotami, biegunką, miejscową opuchlizną oraz zaburzeniami neurologicznymi (16).

Spożywanie nadmiernej ilości sera bogatego w putrescynę i kadawerynę również może być przyczyną wystąpienia toksycznych skutków dla organizmu. Farmakologiczna aktywność tych amin biogennych jest słabsza niż w przypadku tyraminy i histaminy. Opisane działania niepożądane po spożyciu zbyt dużych ilości wymienionych amin to bradykardia, niedociśnienie, niedowład kończyn i szczękostisk (1). Obecność putrescyny i kadaweryny w serach powoduje wzrost toksyczności innych amin, w tym histaminy (19). Ponadto mogą one reagować z azotynami, tworząc rakotwórcze nitrozoaminy. Putrescyna dostarczona do organizmu z żywnością łatwo wchłaniana się w przewodzie pokarmowym. W komórkach zwierzęcych bierze udział w procesie karcinogenezy i indukowanej przez nią angiogenezy. W przeprowadzonych badaniach odnotowano wzmożoną syntezę ornityny i poliamin, w tym putrescyny, prowadzącą do proliferacji komórek i rozwoju nowych naczyń krwionośnych nowotworów. U osób przyjmujących DFMO (alfa-difluorometyloornitynę), będącą inhibitorem dekarboksylazy ornitynowej, stwierdzono zmniejszenie angiogenezy w komórkach raka żołądka na skutek zahamowania syntezy putrescyny (17, 44). Na podstawie danych dotyczących konsumpcji sera w Austrii zaproponowano dopuszczalne limity spożycia putrescyny i kadaweryny w ilościach, odpowiednio, 180 oraz 540 mg/kg (34).

Dla fenyloetyloaminy istnieje znacznie mniej danych dotyczących toksyczności niż w przypadku histaminy i tyraminy. Zatrucie tą aminą bywa przyczyną nadciśnienia, ale również innych objawów, takich jak: bóle głowy, wzmożona potliwość, nudności i wymioty (40). Symptomy choroby pojawiają się w czasie od 30 minut do kilku godzin po spożyciu żywności zawierającej tę aminę i zwykle ustępują po paru godzinach. Istnieją przypuszczenia, że fenyloetyloamina może mieć działanie psychoaktywne, jednak po dotarciu do przewodu pokarmowego jest szybko metabolizowana przez izoenzym monoaminooksydazy MAO-B, co uniemożliwia jej przedostawanie się w dużych ilościach do mózgu. Według danych literaturowych, spożycie już 3 mg fenyloetyloaminy może powodować migrenę (6, 18, 46). Na podstawie najniższego obserwowanego szkodliwego działania (LOAEL – lowest observed adverse effect level) fenyloetyloaminy na organizmy żywe zaproponowano maksymalne tolerowane stężenie dla tej aminy w serach na poziomie 25 mg/kg (36). W przeprowadzonych w Brazylii badaniach serów typu gorgonzola oraz tyłzyckiego (tilsit) fenyloetyloaminę wykryto we wszystkich poddanych analizie próbkach. W parmezanie, mozzarelli, serze pleśniowym minas oraz w serach prato stwierdzono ją, odpowiednio, w 75%, 54%, 50% i 33% przebadanych próbek. Częstość występowania tej aminy była duża, jednak wykrywana była w małych ilościach ($\leq 19,8$ mg/kg), a więc poniżej poziomu wywołującego objawy zatrucia (46).

Metody oznaczania amin biogennych w serach

Z uwagi na konsekwencje zdrowotne spożycia żywności zawierającej aminy biogenne, bardzo ważną jest stała kontrola ich obecności i ilości. Opracowano kilka metod rozdzielania i ilościowego oznaczania poziomu amin biogennych w żywności (1, 21). Najbardziej popularnymi technikami są metody chromatograficzne, a wśród nich wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), chromatografię cieczową sprzężoną ze spektrometrią mas (LC-MS/MS), chromatografię gazową (GC) oraz chromatografię cienkowarstwową (TLC). Zgodnie z rozporządzeniem Komisji (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, HPLC jest metodą referencyjną oznaczania histaminy w produktach rybnych (37). Chang (6) przeprowadził badania dotyczące oznaczania amin biogennych w serach techniką HPLC, w której zastosował metodę par jonowych oraz odwrócony układ faz. Otrzymane odzyski dla amin mieściły się w zakresie 87,5-111% (6). W Szwajcarii obecność histaminy w serach badano metodą chromatografii oddziaływań hydrofilowych sprzężoną ze spektrometrią mas (HILIC-MS/MS). Granicę oznaczalności (LOQ) określono na poziomie 20 mg/kg (47). Z kolei w przeprowadzonych w Polsce badaniach serów dojrzewających metodą HPLC granice wykrywalności (LOD) oraz LOQ dla poszczególnych amin wynosiły, odpowiednio (mg/kg): histamina 0,7 i 1,4, tyramina 0,9 i 1,8, putrescyna 0,9 i 1,8, kadaweryna 1,3 i 2,6, przy odzysku w zakresie 92-111% (38). Detektory wykorzystywane w HPLC do oznaczania amin biogennych to przede wszystkim DAD (detektor z matrycą diodową) oraz fluorescencyjny (21, 31, 32, 39). W celu wykrywania i analizy ilościowej amin wykorzystuje się również elektroforezę kapilarną, metody fluorymetryczne oraz kolorymetryczne (28). Na rynku pojawia się wielu producentów oferujących gotowe zestawy immunoenzymatyczne, jednak zwykle pozwalają one na wykrycie obecności tylko histaminy. Testy ELISA stanowią alternatywę dla badań przesiewowych w kierunku histaminy, bez konieczności inwestowania w drogi sprzęt. Techniki spektrofлуоримetryczne, w tym metodę AOAC 977.13, wykorzystywano do oznaczania histaminy i tyraminy w serach. Polega ona na wyizolowaniu amin z ekstraktów metanolowych na kolumnie jonowymiennej, derywatywacji z użyciem aldehydu ortoftalowego i pomiarze fluorescencyjnym. Parametry walidacji tej metody dla histaminy i tyraminy wynosiły, odpowiednio: LOD 2,4 i 3,18 mg/kg, LOQ 4,8 i 6,38 mg/kg, odzysk 95-104% i 94-106,5% (38). Dużym utrudnieniem podczas analizy amin w żywności jest złożoność matrycy, która często nie pozwala na osiągnięcie zadowalających odzysków wszystkich badanych związków. Bardzo ważną kwestią jest więc dobranie odpowiedniej metody ekstrakcji amin biogennych z próbki. W tym celu stosuje się najczęściej kwasy (kwas trichlorooctowy, solny,

nadchlorowy), rzadziej rozpuszczalniki organiczne (chloroform, metanol) (40). W przypadku większości stosowanych metod konieczne jest przeprowadzenie procesu derywatywacji amin celem umożliwienia ich późniejszej detekcji. Chlorek dansylu jest prawdopodobnie najczęściej stosowanym odczynnikiem do derywatywacji przedkolumnowej, a ortoftalaldehid jest używany głównie do derywatywacji postkolumnowej.

Podsumowanie

Obecność amin biogennych w serach może być przyczyną zatrucia pokarmowych ludzi. Uzasadnione jest więc rozważenie stałego monitorowania tych toksyn w żywności. W celu zapewnienia zdrowia konsumentów konieczne jest podejmowanie działań prowadzących do ograniczenia powstawania amin biogennych w żywności. Najlepszą metodą zmniejszenia zawartości tych związków w serach jest odpowiednio niska temperatura ich przechowywania oraz przestrzeganie zasad dobrej praktyki produkcyjnej. Większość amin biogennych powstaje na skutek składowania żywności w nieodpowiednich warunkach lub przez zbyt długi czas. Znaczące poziomy amin biogennych nie są ściśle związane z określonym rodzajem sera, gdyż na ich tworzenie ma wpływ szereg innych czynników, m.in. zachowanie odpowiedniej higieny podczas produkcji i magazynowania serów czy stosowanie właściwych do rodzaju sera kultur starterowych bakterii lub szczepów wybranych pleśni. Im bardziej przetworzony produkt, tym większe prawdopodobieństwo wytworzenia się amin biogennych w ilościach zagrażających zdrowiu. Brak jest przepisów określających maksymalne limity zawartości amin biogennych w serach i innej, poza rybami, żywności pochodzenia zwierzęcego. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), w 2014 r. odnotowano 140 ognisk zatrucia pokarmowych (560 osób) wywołanych czynnikami chemicznymi, w tym 53,2% przypadków spowodowanych było histaminą (13). W ostatnich latach coraz więcej prac wskazuje na dużą zawartość innych niż histamina amin (szczególnie w serach i wędlinach surowych dojrzewających) i związane z tym zagrożenia dla zdrowia konsumentów (8, 22, 38, 43). W związku z tym wskazane byłoby badanie serów, jak również innych produktów pochodzenia zwierzęcego, w kierunku obecności szerszego zakresu amin biogennych.

Piśmiennictwo

1. Alberto M. R., Arena M. E., Manca de Nadra M. C.: A comparative survey of two analytical methods for identification and quantification of biogenic amines. *Food Control* 2002, 13, 125-129.
2. Askar A., Terptow H.: Biogene Amine in Lebensmitteln: Vorkommen, Bedeutung und Bestimmung. Eugen Ulmer GmbH and Co., Stuttgart, Germany 1986.
3. Bodmer S., Imark C., Kneubuhl M.: Biogenic amines in foods. Histamine and food processing. *Inflamm. Res.* 1999, 48, 296-300.
4. Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M. C.: Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine accumulation as a function of the raw material. *J. Food Prot.* 2001, 64, 367-373.

5. Brink B., Damnik C., Joosten H., Huisin't Veld J.: Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1990, 11, 73-84.
6. Chang S. F.: Analysis of cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine, and tryptophane. *J. Dairy Sci.* 1985, 68, 2840-2846.
7. Chytiri S., Paleologos E., Savvaidis I., Kontominas M. G.: Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted fresh water rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored on ice. *J. Food Prot.* 2004, 67, 960-965.
8. Dičáková Z., Dudriková E., Cabadaj R.: Biogenic amines in ewe's milk lump cheese and bryndza. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2004, 48, 53-57.
9. Doeglas H. M. G., Huisman J., Nater J. P.: Histamine intoxication after cheese. *Lancet* 1967, 2, 1361-1362.
10. Ekici K., Coskun H., Sienkiewicz T.: Histamine formation and its control in cheese: A review. *J. Food Technol.* 2005, 3, 60-63.
11. Emborg J., Dalgaard P., Ahrens P.: *Morganella psychrotolerans* sp. nov., a histamine producing bacterium isolated from various sea foods. *Int. J. System. Evolut. Microbiol.* 2006, 56, 2473-2479.
12. Ercan S. S., Bozkurt H., Soysal C.: Significance of biogenic amines in foods and their reduction methods. *J. Food Sci. Eng.* 2013, 3, 395-410.
13. European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA J.* 2015, 13, 4329.
14. Fernández M., Linares D. M., del Río B., Ladero V., Alvarez M. A.: HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. *J. Dairy Res.* 2007, 74, 276-282.
15. Galgano F., Suzzi G., Favati F., Caruso M., Martuscelli M., Gardini F., Salzano G.: Biogenic amines during ripening in 'Semicotto Caprino' cheese: role of enterococci. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2001, 36, 153-160.
16. Gonzaga V. E., Lescano A. G., Huamán A. A., Salmin-Mulanovich G., Blazes D. L.: Histamine levels in fish from markets in Lima, Peru. *J. Food Prot.* 2009, 72, 1112-1115.
17. Graboń W.: Arginina – podstawowy aminokwas w procesie nowotworzenia. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2006, 60, 483-489.
18. Halász A., Baráth A., Simon-Sarkadi L., Holzapfel W.: Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.* 1994, 42-49.
19. Hui J. Y., Taylor S. L.: Inhibition of in vivo histamine metabolism in rats by foodborne and pharmacologic inhibitors of diamine oxidase, histamine N-methyltransferase, and monoamine oxidase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1985, 81, 241-249.
20. Jansen S. C., Dusseldorp M., Bottema K. C., Dubois A. E. J.: Intolerance to dietary biogenic amines: a review. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003, 91, 233-241.
21. Karovičová J., Kohajdová Z.: Biogenic amines in food. *Chem. Papers* 2005, 59, 70-79.
22. Komprda T., Burdychová R., Dohnal V., Cwiková O., Sládková P., Dvůřáková H.: Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiol.* 2008, 25, 219-227.
23. Leuschner R. G. K., Kurihara R., Hammes W. P.: Effect of enhanced proteolysis on formation of biogenic amines by lactobacilli during Gouda cheese ripening. *Int. J. Food Microbiol.* 1998, 44, 15-20.
24. Lopez-Caballero M. E., Sanchez-Fernandez J. A., Moral A.: Growth and metabolic activity of *Shewanella putrefaciens* maintained under different CO₂ and O₂ concentrations. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 64, 277-287.
25. Lund B. M., Baird-Parker T. C., Gould G. W.: The microbiological safety and quality of food. Aspen Publishers, Maryland, United States 2000, 1, 582.
26. Marcobal A., de las Rivas B., Moreno-Arribas M. V., Muñoz R.: Multiplex PCR method for the simultaneous detection of histamine-, tyramine-, and putrescine-producing lactic acid bacteria in foods. *J. Food Prot.* 2005, 68, 874-878.
27. Moreno-Arribas M. V., Lonvaud-Funel A.: Purification and characterization of tyrosine decarboxylase of *Lactobacillus brevis* IOEB 9809 isolated from wine. *FEMS Microbiol. Lett.* 2001, 195, 103-107.
28. Ōnal A.: A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chem.* 2007, 103, 1475-1486.
29. Özogul F., Özogul Y.: Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardinapilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging. *Food Chem.* 2006, 99, 574-578.
30. Paleologos E. K., Savvaidis I. N., Kontominas M. G.: Biogenic amines formation and its relations to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiol.* 2004, 21, 549-557.
31. Pawul-Gruba M., Michalski M., Osek J.: Badania nad występowaniem histaminy w konserwach rybnych. *Med. Weter.* 2015, 71, 706-708.
32. Pawul-Gruba M., Michalski M., Osek J.: Determination of histamine in fresh and smoked fish commercially available in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 301-304.
33. Pinho O., Ferreira I. M. P. L. V. O., Mendes E., Oliveira B. M., Ferreira M.: Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amine contents during storage of Azeitão cheese. *Food Chem.* 2001, 75, 287-291.
34. Rauscher-Gabernig E., Gabernig R., Brueller W., Grossgut R., Bauer F., Paulsen P.: Dietary exposure assessment of putrescine and cadaverine and derivation of tolerable levels in selected foods consumed in Austria. *Eur. Food Res. Technol.* 2012, 235, 209-220.
35. Rauscher-Gabernig E., Grossgut R., Bauer F., Paulsen P.: Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. *Food Control* 2009, 20, 423-429.
36. Rauscher-Gabernig E., Grossgut R., Bauer F., Paulsen P.: Phenylethylamine in foods: concentrations and development of maximum tolerable levels. *Wien. Tierarztl. Msch.* 2010, 97, 242-252.
37. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. U. L.* 338 z dnia 22.12.2005 z późn. zm.
38. Sawilska-Rautenstrauch D., Fonberg-Broczek M., Gawarska H., Starski A., Jedra M., Karłowski K.: Występowanie amin biogennych w serach dojrzewających pochodzących z rynku warszawskiego. *Roczn. PZH* 2010, 61, 361-365.
39. Santos S.: Biogenic amines: their importance in foods. *Inter. J. Food Microbiol.* 1996, 29, 213-231.
40. Shalaby A.: Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* 1996, 29, 675-690.
41. Spano G., Russo P., Lonvaud-Funel A., Lucas P., Alexandre H., Grandvalet C., Coton E., Coton M., Barnavon L., Bach B., Rattray F., Bunte A., Magni C., Alvarez M., Fernandez M., Lopez P., Barcelo P., Corbi, Lolkema J. S.: Risk assessment of biogenic amines in fermented food. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010, 64, 95-100.
42. Stratton J. E., Hutkin R. W., Taylor S. L.: Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review. *J. Food Prot.* 1991, 54, 460-470.
43. Suzzi G., Gardini F.: Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, 88, 41-54.
44. Takigawa M., Enomoto M., Nishida Y., Pan H. O., Kinoshita A., Suzuki F.: Tumor angiogenesis and polyamines: alpha-difluoromethylornithine, an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase inhibits B₁₆ melanoma-induced angiogenesis in ovo and the proliferation of vascular endothelial cells in vitro. *Cancer Res.* 1990, 50, 4131-4138.
45. Taylor S. L., Keefe T. J., Windham E. S., Howell J. F.: Outbreak of histamine poisoning associated with consumption of Swiss cheese. *J. Food Prot.* 1982, 45, 455-457.
46. Vale S., Gloria M. B.: Biogenic amines in Brazilian cheeses. *Food Chem.* 1998, 63, 343-348.
47. Zimmerli P., Schweizer V., Edder P., Bieri S.: Quantification of histamine: in selected cheeses by HILIC-MS/MS. 7th Internat. Symp. on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic 2015.

Adres autora: prof. dr hab. Jacek Osek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Pulawy; e-mail: josek@piwet.pulawy.pl