



AMINAS BIOGÊNICAS COMO INDICADORES DE QUALIDADE DE SALAMES E PRODUTOS CÁRNEOS FERMENTADOS

Vitor Luiz de Melo Silva¹, César Aquiles Lázaro de la Torre², Eliane Teixeira Mársico³, Sergio Borges Mano³, Carlos Adam Conte Júnior³

1. Doutorando, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Fluminense, Niterói, Brasil. (vitorlms@yahoo.com.br)
2. Doutor, Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru.
3. Doutor, Docente Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Fluminense, Niterói, Brasil.

Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013

RESUMO

Aminas biogênicas são compostos orgânicos nitrogenados básicos, formados principalmente por descarboxilação de aminoácidos. Estas aminas estão presentes em alimentos como frutas e verduras, carne, peixe, chocolate e leite, e, ocasionalmente, podem acumular-se em concentrações elevadas. O consumo de alimentos contendo elevadas quantidades destas aminas pode ter consequências toxicológicas. As bactérias ácido lácticas presentes em alimentos fermentados são geralmente consideradas como sendo não tóxicas e não patogênicas. Todavia, a alta atividade microbiana que caracterizam esses alimentos, muitas vezes, inevitavelmente, pode levar ao acúmulo considerável de aminas biogênicas, especialmente tiramina, 2-feniletilamina, triptamina, cadaverina, putrescina e histamina. Os salames são difundidos em todo o mundo como produtos fermentados de carnes que podem ser uma fonte de aminas biogênicas. Mesmo na ausência de normas e regulamentações específicas relativas à presença destes compostos em produtos fermentados, é relevante estudar a presença de aminas biogênicas nestes produtos, especialmente em relação aos consumidores com sensibilidade a estes compostos. A presente revisão teve por objetivo evidenciar a presença destes compostos em salames e outros produtos cárneos fermentados, discutir os fatores mais relevantes que influenciam a sua acumulação, o efeito da cultura *starter* como produtora de aminas biogênicas, a atividade de linhagens selecionadas para inibir o crescimento de bactérias produtoras ou controlar a acumulação das aminas biogênicas nas diferentes etapas da produção, durante a maturação e armazenamento. Em adicional, foram discutidos alguns métodos analíticos para a determinação e quantificação de aminas biogênicas em produtos cárneos, que se baseiam essencialmente nos métodos cromatográficos: cromatografia em camada fina, cromatografia gasosa, eletroforese capilar e a cromatografia líquida de alta eficiência, sendo esta última a mais frequentemente utilizada. Esta revisão demonstrou que existe uma carência na literatura de alternativas para seleção de culturas *starters* não produtoras de aminas, bem como a seleção de linhagens que

inibam bactérias produtoras dessas aminas em salames e outros produtos cárneos fermentados. Além disso, ficou evidenciado que os métodos analíticos utilizados permitem a determinação quantitativa de aminas biogênicas, individualmente ou simultaneamente nos alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: cultura *starter*, embutido, métodos cromatográficos, histamina, cadaverina, putrescina.

BIOGENIC AMINES AS INDICATORS OF STARTER CULTURE IN SALAMIS AND FERMENTED MEAT PRODUCTS

ABSTRACT

Biogenic amines are basic nitrogenous organic compounds, formed mainly by decarboxylation of amino acids. These amines are present in foods like fruits and vegetables, meat, fish, chocolate and milk, and occasionally can accumulate in high concentrations. The consumption of foods containing high amounts of these amines can have toxicological consequences. The lactic acid bacteria present in fermented foods are generally regarded as being non-toxic and non-pathogenic. However, the high microbial activity, that characterizes these foods often inevitably can lead to considerable accumulation of biogenic amines, especially tyramine, 2-phenylethylamine, tryptamine, cadaverine, putrescine and histamine. Salamis are widespread worldwide as fermented meat that can be a source of biogenic amines. Even in the absence of specific rules and regulations concerning the presence of these compounds in fermented products it is relevant to study the presence of biogenic amines in these products, especially for consumers with sensitivities to these compounds. The present review aims to highlight the presence of these compounds in salami and other fermented meat products, discuss the most important factors that influence its accumulation, the effect of the starter culture as a producer of biogenic amines, the activity of selected strains to inhibit the growth producing bacteria or control the accumulation of biogenic amines in different stages of the production of these products during maturation and storage. In addition, some analytical methods have been discussed for the determination and quantification of biogenic amines in meat products, which are based essentially on the chromatographic layer chromatography, gas chromatography, capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography, the latter being most commonly used. This review demonstrated that there is a lack in the literature of alternatives for selection of starter cultures not producing amines as well as the selection of strains that inhibit bacteria producing amines in salami and other fermented meat products. Furthermore, it was evident that the analytical methods allow the quantitative determination of biogenic amines in foods individually or simultaneously.

KEYWORDS: starter *culture*, sausage, salami, chromatographic methods, histamine, cadaverine, putrescine.

INTRODUÇÃO

Um produto é denominado fermentado quando este é submetido à ação de microrganismos ou enzimas para que as alterações bioquímicas desejáveis promovam modificação significativa nos alimentos. Embutidos fermentados são definidos como carne moída misturada com sal e agentes de cura, embutidos em

tripa e submetido a um processo de fermentação em que os microrganismos exercem uma função fundamental. A maioria dos embutidos cárneos fermentados são secos e podem ser armazenados sob pouca ou nenhuma refrigeração (LÜCKE, 1994).

Os níveis de aminas biogênicas (AB) em carne e seus derivados têm sido utilizados como índice de qualidade da atividade microbiana indesejada, como também um indicador de boas práticas de fabricação (LU et al., 2010). Por sua vez, conhecer os níveis de AB nos alimentos é fundamental para avaliar os perigos para a saúde (SILLA SANTOS, 1996).

De acordo com INNOCENTE et al., (2007), o interesse na determinação de amina é, a princípio, devido à sua capacidade de ter um efeito direto ou indireto no sistema vascular e nervoso humano. Por sua vez, a importância de se estimar a concentração de AB em alimentos está relacionada também com a qualidade dos alimentos (ÖZOGUL et al., 2002).

O controle das aminas biogênicas pode ser feito com a utilização de métodos existentes e métodos emergentes. O método existente refere-se à temperatura, que tem sido bem estabelecida no controle de AB. Em baixas temperaturas, ocorre a inibição do crescimento bacteriano. Os métodos emergentes incluem embalagem em atmosfera modificada, a irradiação, a pressão hidrostática elevada, modelagem microbiana e adição de conservantes (NAILA et al., 2010).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é revisar as aminas biogênicas como indicadores de qualidades em produtos cárneos fermentados, seus efeitos tóxicos, AB como possíveis indicadores de cultura *starter* e os principais métodos disponíveis para detecção da sua presença em alimentos.

PRODUTOS CÁRNEOS FERMENTADOS

Os produtos cárneos fermentados constituem um tipo de alimento em que quantidades consideráveis de aminas biogênicas (AB) podem ser encontradas em decorrência da utilização de matérias-primas de baixa qualidade, contaminação e condições inadequadas durante o processamento e armazenamento. Além disso, os microrganismos responsáveis pelo processo de fermentação podem também contribuir para produção dessas aminas (BOVER-CID et al., 2006; LATORRE-MORATALLA et al., 2010).

A fracção do nitrogênio não protéico, que aumenta durante a fermentação, inclui a presença de aminoácidos livres, que são precursores de AB. A alta atividade de protease é derivada de enzimas endógenas da carne e de enzimas exógenas dos microrganismos. A proteólise é favorecida pela desnaturação das proteínas, que aumenta os sítios de ligação da enzima devido à perda da forma tridimensional das proteínas pela ruptura das ligações secundárias, terciárias e quaternárias, como uma consequência do aumento da acidez, desidratação e da ação de cloreto de sódio (EEROLA et al., 1997; SUZZI & GARDINI, 2003).

O salame tradicional é produzido pelo processo de fermentação da massa de linguiça que contém como ingredientes carne, agentes de cura, sal e especiarias. O desenvolvimento de microrganismos patogênicos é suprimido durante a fermentação devido ao ambiente inibitório criado por uma combinação de pH ácido e, principalmente, baixa atividade de água (LUECKE, 1998).

CULTURA STARTER

As bactérias lácticas são amplamente utilizadas na indústria da carne como culturas iniciadoras para a fermentação de embutidos (SUZZI & GARDINI, 2003). Sendo assim, o principal desafio na seleção e aplicação de culturas *starter* é, obviamente para melhorar a segurança desses produtos, pois o desenvolvimento dessas culturas *starter* é uma alternativa no controle de cepas contaminantes (TALON, 2008). No entanto, outro aspecto relevante e recentemente utilizado com frequência pela indústria de alimentos é a capacidade que esses microrganismos possuem em realçar as características sensoriais de determinados produtos fermentados (CASQUETE et al., 2011). Por isso, na produção de alimentos fermentados, uma cultura *starter* é adicionada à matéria-prima para acelerar o processo de fermentação, aumentar o tempo de conservação e obter características desejáveis, tais como a textura e o perfil sensorial (LEROY & DE VUYST, 2004).

A principal característica das bactérias ácido lácticas que as torna uma excelente alternativa aplicada na segurança de alimentos é sua capacidade de produzir compostos antimicrobianos (bacteriocinas, ácidos orgânicos, entre outros) para a inibição do crescimento de bactérias nocivas; capacidade para resistir a altas concentrações de sais presentes em alguns alimentos; funcionalidade ao suportar o pH ácido do estômago e aos sais biliares presentes no trato gastrointestinal, o que é benéfico para a saúde, e a ausência da informação gênica responsável pela produção da enzima descarboxilase que atua sobre os aminoácidos, evitando, dessa forma, a acumulação das aminas biogênicas (GOLDIN & GORBACH, 1992; AMMOR & MAYO, 2007).

Staphylococcus spp. ou *Micrococcus* spp. ou bactérias lácticas são frequentemente aplicados em embutidos fermentados devido às suas propriedades lipolíticas e proteolíticas (GÜCÜKOĞLU & KÜPLÜLÜ, 2010). No entanto, a utilização combinada dessas estirpes é a forma mais comumente utilizada como culturas *starter* comercial (HUGAS & MONFORT, 1997). Entretanto, cabe ressaltar que a adequação de fermentos de carne comercial, quando aplicado a um tipo particular de salame é questionável, uma vez que o desempenho da cultura em um tipo de embutido fermentado não é necessariamente eficaz em outro tipo (LEROY et al., 2006).

BABIĆ et al., (2011), isolaram e identificaram a população microbiana em embutidos fermentados "Slavonski kulen" com a finalidade de selecionar potenciais culturas *starter* funcionais. No estudo supracitado, predominaram as bactérias lácticas, seguida por estafilococos. A identificação dos isolamentos de lactobacilos mostrou domínio de *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactobacillus acidophilus*, enquanto *Staphylococcus xylosum* e *Staphylococcus warneri* predominaram entre a microbiota estafilocócica. O estudo também mostrou que todas as bactérias ácido-lácticas e a maior parte dos estafilococos possuem atividade proteolítica, e apenas *Staphylococcus xylosum* teve atividade lipolítica. Todos os lactobacilos e os estafilococos isolados produziram concentrações significativas de ácido láctico e apresentaram atividade antimicrobiana contra microrganismos patogênicos em ensaios. A maioria dos estafilococos e todos os lactobacilos mostraram sensibilidade a todos os antibióticos testados.

Em outro estudo KOS et al., (2011) investigaram a atividade antimicrobiana de cepas probióticas de *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4 e L3 e *Enterococcus faecium*. Todas as estirpes probióticas examinadas mostraram

atividade bacteriocinogênica contra *Staphylococcus aureus* 3048, *Staphylococcus aureus* K-144, *Escherichia coli* 3014, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium FP1, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus*. Os resultados indicam uma vantagem seletiva destas estirpes probióticas, especialmente do *L. lactis* subsp. *lactis* LMG 9450, contra microrganismos indesejáveis no trato gastrointestinal do hospedeiro.

Cepas de *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus curvatus* isoladas de salame naturalmente fermentado, foram selecionadas tomando como parâmetros suas propriedades tecnológicas e antimicrobianas para serem usadas como culturas *starter* autóctones (PAPAMANOLI et al., 2003).

Alguns estudos realizados com diferentes cepas probióticas têm demonstrado o efeito desses cultivos sobre a produção ou inibição das aminas biogênicas (KULEY et al., 2011). MAH & HWANG (2009) descobriram que o *S. xylosus* degradou 38% da histamina e 4,4% da tiramina em um tampão de fosfato. Posteriormente, o *S. xylosus* foi utilizado como cultura *starter* e aplicado à maturação de produtos cárneos fermentados, conseguindo uma redução da concentração total de aminas biogênicas de 16% quando comparadas ao controle. No entanto, os aspectos de segurança, principalmente quanto à formação de aminas biogênicas, precisa ainda ser explorado e levado em consideração com relação à seleção de estirpes adequadas para serem usadas como culturas *starter*. Uma vez que as reações de descarboxilação bacteriana de aminoácidos precursores podem levar à formação de aminas biogênicas em embutidos fermentados, sobretudo, por bactérias ácido lácticas e enterobactérias (BOVER-CID et al., 2001).

AMINAS BIOGÊNICAS

CONCEITO GERAL

Aminas biogênicas (AB) são um grupo de compostos biologicamente ativos comumente encontrados na natureza. O termo "amina" é utilizado para compostos nitrogenados básicos de baixo peso molecular, por outro lado "biogênico" refere-se a tudo aquilo que pode ser produzido no metabolismo dos organismos vivos animais ou vegetais. Estas substâncias são formadas principalmente por descarboxilação dos correspondentes aminoácidos precursores (GARCÍA-RUIZ et al., 2011).

As aminas biogênicas têm uma série de funções. Nos seres humanos atuam como neurotransmissores, sendo que cada amina está relacionada com diferentes respostas fisiológicas. As aminas biogênicas podem interferir no metabolismo e atuar em funções críticas do corpo humano, tais como a atividade cerebral, regulação da temperatura do corpo, bem como o volume do estômago, pH, fluidos, regulação da secreção gástrica, influenciar a resposta imune, crescimento e diferenciação celular (MAFRA et al., 1999; ANLI & BAYRAM, 2009; LADERO et al., 2010).

Por outro lado, as aminas biogênicas têm sido estudadas devido a sua relação com a contaminação bacteriana em alimentos, sendo consideradas como indicadores indiretos da qualidade bacteriana. Esta parte será detalhada em seção posterior.

FORMAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

As aminas biogênicas são formadas e utilizadas como parte do metabolismo normal dos animais, plantas e microrganismos. Sua acumulação nos alimentos é, geralmente devido à presença de microrganismos com capacidade de produzir enzimas com atividade descarboxilase, a remoção do grupo carboxilo alfa de um aminoácido produz a sua amina correspondente (Figura 1) (LADERO et al, 2010). As enzimas descarboxilases responsáveis pela síntese destas aminas biogênicas em alimentos são principalmente de origem bacteriana e frequentemente induzidas por determinadas condições ambientais, como por exemplo, pH ácido desfavorável ao crescimento microbiano (CLARO, 2009). Conseqüentemente, o conhecimento e controle dessas bactérias durante o processamento são essenciais em termos de qualidade microbiológica, características sensoriais e de segurança alimentar (TALON, 2008).

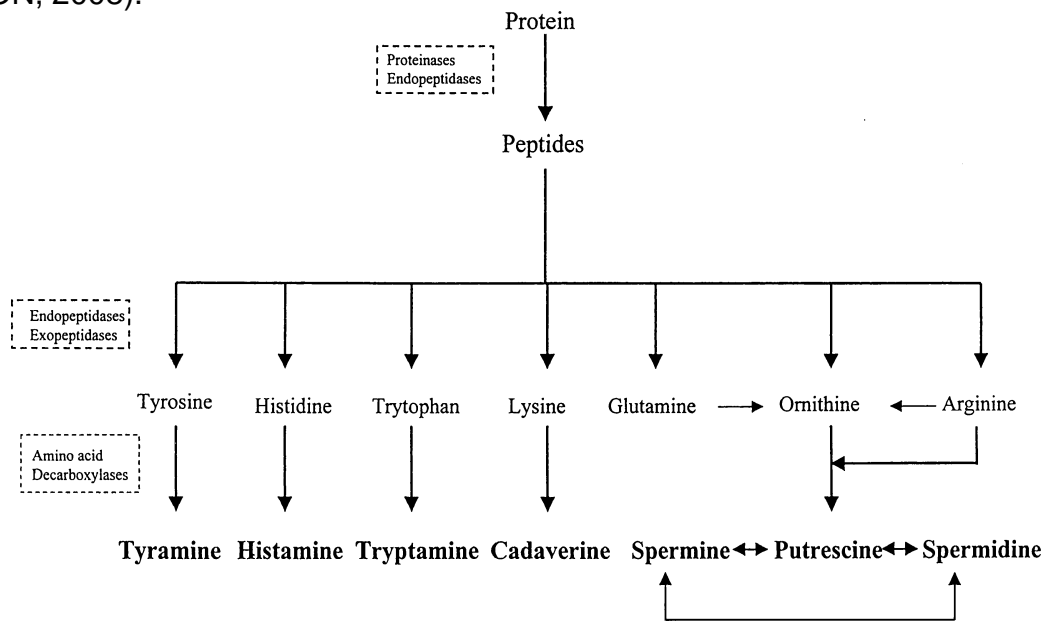


FIGURA 1: Descarboxilação

Fonte: (RUIZ-CAPILLAS & JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004).

Em função da sua estrutura química, (Figura 2) as aminas biogênicas mais comumente encontradas em alimentos, podem ser agrupadas em monoaminas aromáticas (tiramina, 2-feniletilamina), aminas heterocíclicas (histamina, triptamina), diaminas alifáticas (putrescina, cadaverina), e poliaminas alifáticas (agmatina, espermina, espermidina) (VIDAL-CAROU et al., 2009). Estas aminas, na presença de nitritos podem ser convertidas a nitrosaminas agindo como potenciais agentes cancerígenos (KIM et al., 2009). Entretanto, existem algumas aminas como a octopamina (HERNANDEZ-JOVER et al., 1996), a dopamina e a serotonina que são classificadas como psicoativas, visto que atuam como neurotransmissores no sistema nervoso central (ÖNAL 2007).

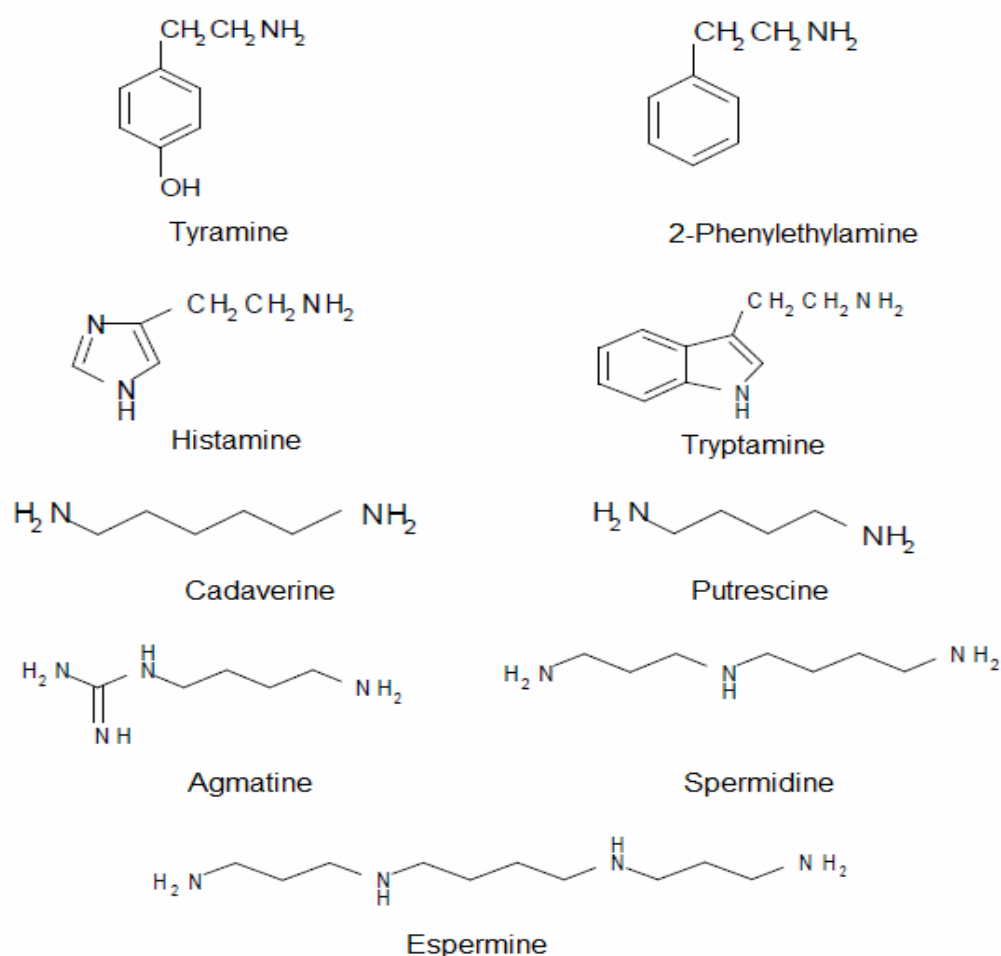


FIGURA 2. Estrutura química de algumas aminas biogênicas.
Fonte: (ÖNAL, 2007)

ALIMENTOS RELACIONADOS

Dentre os alimentos que podem conter aminas biogênicas, incluem peixes, carne e seus derivados, ovos, queijos, legumes, produtos de soja, fermentados de soja, cervejas e vinhos (SHALABY, 1996). Contudo, altas quantidades de aminas podem ser encontradas em alimentos fermentados derivados de matérias primas com elevado teor de proteínas, sobretudo o salame e embutidos secos (SUZZI & GARDINI, 2003). Por sua vez, os embutidos são frequentemente encontrados com teores elevados de aminas biogênicas, não só em razão de seus altos teores de proteína, como também pela acelerada atividade proteolítica que ocorre durante o período de maturação desses produtos (CLARO, 2009).

No caso das carnes, estudar o teor de aminas biogênicas representa importância significativa, uma vez que pode ser usado como indicador da perda de frescura, visto que o aumento significativo de AB ocorre antes do aparecimento dos sinais sensoriais de deterioração (VIDAL-CAROU et al., 2009). SHALABY (1996) sugeriu utilizar algumas aminas como parâmetros para a avaliação das boas práticas de fabricação (BPF): tiramina 100-800 mg/kg, a histamina 50-100 mg/kg, feniletilamina <30,0 mg/kg. Devido às aminas biogênicas serem termoresistentes, sua acumulação nos produtos cárneos, em concentrações acima dos níveis

aceitáveis (100 a 200mg/kg para a tiramina, 50mg/kg para a putrescina e para a cadaverina) e até mesmo o aparecimento da histamina, pode ser considerado como resultado de práticas de higiene inadequadas (CLARO, 2009). No entanto, torna-se relevante que estes níveis sejam estabelecidos por órgãos específicos, visto que estes compostos bioativos representam também riscos à saúde.

Nas carnes recém-abatidas, a espermina e espermidina são as principais aminas detectadas, uma vez que são aminas de origem endógena (PATSIAS et al., 2006). O salame é um tipo de alimento que atende aos pré-requisitos fundamentais para a formação de aminas biogênicas, ou seja, atividade proteolítica elevada, presença de aminoácidos livres e condições favoráveis para o crescimento de microrganismos descarboxilase (SILLA SANTOS, 1996). Entretanto, um dos fatores mais importantes a ser considerado para influenciar a produção de AB nesse produto é a cultura *starter* (KOMPRDA et al., 2009).

INDICADORES DE QUALIDADE

Atualmente, a sociedade está cada vez mais consciente da importância de ter uma dieta saudável, logo, qualquer questão relacionada com a segurança dos alimentos impacta consideravelmente o comportamento do consumidor e dos órgãos de fiscalização. Ao mesmo tempo, os consumidores selecionam cada vez mais os produtos de alta qualidade que são minimamente processados e seguros. Uma gama de tecnologias tradicionais ou emergentes são aplicadas nos alimentos com o intuito de realçar características sensoriais dos produtos, estas modificações podem provocar alterações na formação de diferentes compostos, alguns dos quais, tóxicos ou mutagênicos, acarretando riscos para a saúde do consumidor. Por sua vez, existe um grande interesse no estudo de toxicidade ou mutagenicidade de aminas biogênicas e os fatores que determinam a sua formação no contexto de alimentos condições de processamento e preservação (RUIZ-CAPILLAS & JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004).

Tradicionalmente, considera-se a presença de aminas biogênicas em alimentos como um indicador de atividade microbiana indesejada. Em adicional, altos níveis de determinadas aminas biogênicas também têm sido relatadas como indicadores da deterioração de produtos alimentares. Contudo, níveis distintos da produção de AB por bactérias lácticas podem ser controlados no processo de fermentação dos alimentos (SPANO et al., 2010).

INDICE DE QUALIDADE

As aminas biogênicas são de interesse e utilizadas devido à sua relação com a qualidade dos alimentos. DANQUAH et al., (2012) realizaram uma ampla revisão sobre o uso das aminas como indicadoras de qualidade, indicando que soluções aquosas de putrescina e cadaverina conferem um odor característico e perceptível a níveis de 22 e 190 ppm, respectivamente. A relação das aminas com o sabor ainda não é bem estabelecida, porém as pesquisas têm sido objetivadas para o uso destas aminas como indicadoras químicas da qualidade dos alimentos. Estes autores relataram ainda que a relação entre as aminas e a deterioração dos alimentos podem ser utilizadas para estimar um parâmetro conhecido como

índice de qualidade química ou Índice de Aminas Biogênicas (IAB) em pescado, sendo utilizadas concentrações de putrescina, cadaverina, histamina, espermina e espermidina, sendo calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Aminas Biogênicas (IAB)} = \frac{\text{Histamina} + \text{Putrescina} + \text{Cadaverina}}{1 + \text{Espermidina} + \text{Espermina}}$$

Valores deste índice menores do que 1 significam um produto de boa qualidade, valores entre 1 e 10 são indicadores de produtos de baixa qualidade; contudo, valores superiores a 10 evidenciam deterioração. O IAB também foi utilizado em outros alimentos como a cerveja, mas foram consideradas outras aminas como tiramina, β -fenilalanina e agmatina que são mais frequentes neste produto, sendo calculado com a seguinte fórmula:

$$\text{(IAB)} = \frac{\text{Histamina} + \text{Putrescina} + \text{Cadaverina} + \text{Tiramina} + \text{Triptamina} + \text{Fenilalanina}}{1 + \text{Agmatina}}$$

As divergências observadas entre os diferentes estudos demonstram que apesar de existir uma tendência e necessidade por parte das indústrias e dos órgãos governamentais para ser definido um índice de aminas biogênicas para alimentos proteicos, deve-se observar com extremo cuidado que esse índice deva ser definido para cada matriz alimentar, e que para cada processo que esta matriz seja submetida é necessário ser estabelecido um novo índice. Além disso, a natureza e histórico de cada matriz devem ser levados em consideração quando for aplicado o índice de qualidade.

EFEITOS TOXICOLÓGICOS

Estabelecer o nível tóxico das aminas biogênicas torna-se uma tarefa difícil, uma vez que depende de características específicas de cada indivíduo. A sensibilidade humana varia de acordo com as atividades de desintoxicação, particulares de algumas enzimas envolvidas no metabolismo de aminas biogênicas, tais como a histamina ou outras metiltransferase menos específicas, tal como a diamina oxidase (SPANNO et al., 2010).

No entanto, o teor de aminas biogênicas tem sido amplamente estudado em diversos alimentos por serem consideradas altamente tóxicas. A respeito disto, elas podem causar efeitos adversos à saúde dos consumidores quando ingerida em quantidades consideráveis ou quando os mecanismos naturais para o seu catabolismo são inibidos ou quando geneticamente deficiente no corpo humano (ZAMAN, 2011).

A gravidade dos sintomas clínicos ocasionados pelas aminas biogênicas depende de fatores como a quantidade e variedade ingerida, a susceptibilidade individual, e o nível de atividade de desintoxicação do intestino (LADERO et al, 2010).

A ingestão de alimentos com cargas elevadas de aminas biogênicas pode favorecer sua entrada na circulação sistêmica, induzindo a liberação de adrenalina e noradrenalina, provocar a secreção de ácido gástrico, aumento do débito cardíaco, enxaqueca, taquicardia, aumento dos níveis de açúcar no sangue e aumento da

pressão sanguínea (SHALABY, 1996).

Na maioria das vezes, as intoxicações alimentares em seres humanos estão relacionadas à ingestão por histamina, que resulta do consumo de peixe estragado. O envenenamento está associado apenas com algumas espécies de peixes que naturalmente contêm altos níveis de histidina, sendo o mais conhecido internacionalmente os membros da família *Scombridae*, especialmente atum e cavala. A toxina envolvida no envenenamento é conhecida como escombrotóxicas embora outras espécies de peixes que não pertencem à família supracitada possam causar a intoxicação. Diversas bactérias são capazes de converter a histidina em histamina no peixe (FLETCHER, 2010).

A intoxicação por histamina é muitas vezes manifestada por sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, câibras abdominais, erupção cutânea, inflamação localizada, dor de cabeça, palpitação e severo desconforto respiratório (ZAMAN, 2011). Além disso, a histamina também foi detectada em cartilagem articular de pacientes com artrite reumatóide, o que sugere os condrócitos como outro lugar de síntese (ADLESIC et al., 2007).

A ingestão de histamina na quantidade de 8-40 mg, 40-100 mg e superior a 100 mg pode provocar uma ligeira, intermédia e intensivo envenenamento, respectivamente (PARENTE et al., 2001).

Em relação ao aspecto genético, é interessante mencionar que a histamina não está 100% relacionada entre a presença do gene *hdc* no microrganismo e a sua capacidade para produzir histamina. Além disso, várias estirpes têm sido encontradas para obter múltiplos genes, identificados para codificar enzimas responsáveis pela descarboxilação aminoácido permitindo assim a mesma estirpe de produzir várias aminas biogênicas (DEL PRETE et al., 2009; COTON et al., 2010).

No que diz respeito às demais aminas, SHALABY, (1996) relata os efeitos da tiramina que é capaz de provocar vasoconstrição, aumento do pulso cardíaco, da pressão sanguínea, da taxa respiratória e do nível de glicose no sangue, liberação da noradrenalina no sistema nervoso simpático, lacrimação, salivação excessiva e derrames. A feniletilamina que causa liberação da noradrenalina no sistema nervoso simpático, aumento da pressão arterial, vasoconstrição e derrames. A triptamina que provoca aumento da pressão arterial e vasoconstrição. As aminas putrescina, ornitina, cadaverina e lisina podem provocar a diminuição da pressão arterial e da frequência cardíaca, tetania, paralisia nas extremidades, potencialização da toxidez das outras aminas.

MÉTODOS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os principais motivos para a determinação de aminas em alimentos são devidos a sua toxicidade e a possibilidade de serem utilizadas como indicadores de qualidade dos alimentos. As análises de aminas biogênicas são aplicadas para: controle de matérias-primas, produtos intermediários e produtos finais de qualidade, monitoramento de processos de fermentação, controle de processos, pesquisa e desenvolvimento. Vários métodos têm sido desenvolvidos para a análise de aminas biogênicas em alimentos, tais como: cromatografia em camada fina, cromatografia gasosa, método de eletroforese capilar e a cromatografia líquida de alta eficiência (ÖNAL, 2007). Todos os métodos utilizam pelo menos duas etapas: a extração das aminas e sua determinação quantitativa (VINCI & ANTONELLI, 2002).

LAPA-GUIMARÃES & PICKOVA (2004) introduziram uma técnica dupla de cromatografia em camada fina de desenvolvimento dimensional para as matrizes peixes e lulas, utilizando o sistema solvente de clorofórmio-éter dietílico-trietilamina (06:04:01), seguido por clorofórmio-trietilamina (6:1). As amins foram quantificadas por densitometria de fluorescência a 330 nm após a separação da dansila.

MAZZUCCO et al., (2010), validaram um método de fase reversa, em cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação simultânea de amins biogênicas e seus aminoácidos precursores em queijo, moluscos, salame e cerveja. Após uma derivatização de pré-coluna com cloreto de dansila, os autores comprovaram ótimos resultados para os parâmetros de validação (linearidade, limite de quantificação, limite de detecção, precisão, robustez e recuperação). ZHANG et al., (2008) desenvolveram um método simples para a determinação de seis amins biogênicas, em amostras de peixes, pepinos e espinafre utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência. O método envolve a derivatização com um novo reagente fluorogênico [3-(4-clorobenzoil)-quinolina-2-carboxaldeído], em um sistema de eluição isocrática e uma fase móvel composta de MeOH/THF/H₂O (78:2.5:19.5 v/v/v) e uma coluna C18.

CUNHA et al., (2012) detectaram e quantificaram amins biogênicas (cadaverina, espermidina, histamina, putrescina e tiramina) em amostras de quatro tipos de queijos através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando os parâmetros limite de detecção, limite de quantificação e recuperação. Os autores utilizaram uma solução de 5% de ácido perclórico (HClO₄) 1:1 (v:p) no processo de extração das amins e derivatização com 40 µL de cloreto de benzoíla. A metodologia mostrou-se eficaz para efetuar a detecção e a quantificação das amins biogênicas nos queijos estudados. LÁZARO et al., (2013) validaram um método de cromatografia líquida de alta eficiência para determinar amins biogênicas em carne de frango. No estudo, os autores utilizaram um sistema de eluição isocrática acoplado a um detector de UV (254 nm) para a identificação das amins, após a realização da extração ácida e derivatização também com cloreto de benzoíla. Neste estudo, foram utilizados os seguintes parâmetros de validação: seletividade, linearidade, precisão, recuperação, limite de detecção e quantificação e robustez.

KVASNICKA & VOLDRICH (2006), desenvolveram um método de eletroforese capilar o qual permite avaliar diretamente a quantidade de amins biogênicas em diversos alimentos (salame, queijo, vinho e cerveja) sem realizar a derivatização, precisando apenas de extração e filtragem. O método resultou ser sensível e rápido, com tempo inferior a 15 minutos, sendo que a detecção é realizada mediante o método condutométrico. Outro método validado foi o de espectrofotometria de massa-cromatografia gasosa (ES-CG) no modo de monitorização iônica selecionada utilizando anidrido heptafluorobutírico como um reagente de derivatização, que foi desenvolvido para a determinação das amins biogênicas em vinhos do Porto com um tempo total de 18 minutos (FERNANDES & FERREIRA, 2000).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os produtos cárneos fermentados são alimentos que apresentam condições que favorecem a produção de amins biogênicas. Sua presença é devida principalmente à utilização de culturas *starters* que conferem características

desejáveis nestes produtos (cor, sabor, aroma, entre outras) e também pela presença de microrganismos contaminantes durante as etapas de produção. A determinação das aminas torna-se importante para verificar níveis tóxicos em alimentos e também devido à possibilidade de ser utilizada como indicador de qualidade. A análise de aminas biogênicas por sua vez é um procedimento difícil devido à complexidade da matriz alimentícia e os baixos níveis de concentração presentes. A cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica que se destaca na maioria dos estudos revisados e que na atualidade tem sido frequentemente utilizada para a determinação simultânea de várias aminas biogênicas. A presença de altos níveis de aminas biogênicas pode ser evitada pelo uso de matéria-prima de qualidade, boas práticas de manipulação dos ingredientes, adequada higiene dos operários, evitando os abusos de temperatura durante o processo de fermentação e armazenamento, e principalmente pela criteriosa seleção das linhagens utilizadas como cultura *starter*. Em consequência, torna-se relevante o monitoramento dos níveis de aminas biogênicas nos alimentos por estar relacionada com a saúde coletiva e segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

ADLESIC, M.; VERDRENGH, M.; BOKAREWA, M.; DAHLBERG, L.; FOSTER, S. J.; TARKOWSKI, A. Histamine in Rheumatoid Arthritis. **Scandinavian Journal of Immunology** 65(6): 530-537, 2007.

AMMOR, M. S.; MAYO, B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. **Meat Science** 76(1): 138-146, 2007.

ANLI, R. E.; BAYRAM, M. Biogenic Amines in Wines. **Food Reviews International** 25(1): 86-102, 2008.

BABIĆ, I.; MARKOV, K.; KOVAČEVIĆ, D.; TRONTEL, A.; SLAVICA, A.; ĐUGUM, J.; ČVEK, D.; SVETEC, I. K.; POSAVEC, S.; FRECE, J. Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from a Croatian "brand" product "Slavonski kulen". **Meat Science** 88(3): 517-524, 2011.

BOVER-CID, S.; MIGUELEZ-ARRIZADO, M. J.; LATORRE MORATALLA, L. L.; VIDAL-CAROU M. C. Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. **Meat Science**. 72, 62-68, 2006.

BOVER-CID, S.; HUGAS, M.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL-CAROU, M. C. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. **International Journal of Food Microbiology** 66(3): 185-189, 2001.

CASQUETE, R.; BENITO, M. J.; MARTÍN, A.; RUIZ-MOYANO, S.; CÓRDOBA, J. J.; CÓRDOBA, M. G. Role of an autochthonous starter culture and the protease EPg222 on the sensory and safety properties of a traditional Iberian dry-fermented sausage "salchichón". **Food Microbiology** 28(8): 1432-1440, 2011.

CLARO, F. S. G. **Desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica**

para a determinação de amins biogénicas em enchidos. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Escola Superior de Tecnologia e de Gestão do Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, 2009.

COTON, M.; ROMANO, A.; SPANO, G.; ZIEGLER, K.; VETRANA, C.; DESMARAIS, C.; LONVAUD-FUNEL, A.; LUCAS, P.; COTON, E. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. **Food Microbiology** 27, 1078–1085, 2010.

CUNHA, F. L.; CONTE JUNIOR, C. A.; LÁZARO DE LA TORRE, C. A.; SANTOS, L. R.; MÁRSICO, E. T.; MANO, S. B. Determinação de amins biogénicas em diferentes tipos de queijos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 69-75, 2012.

DANQUAH, A. O.; BENJAKUL, S.; SIMPSON, B. K. Biogenic Amines in Foods. In: SIMPSON, B. K.; NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F.; BENJAKUL, S.; PALIYATH, G.; HUI, Y. H. (Ed.). **Food Biochemistry and Food Processing**: Wiley-Blackwell, p.820-832, 2012.

DEL PRETE, V.; COSTANTINI, A.; CECCHINI, F.; MORASSUT, M.; GARCIA-MORUNO, E. Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. **Food Chemistry** 112(2): 474-481, 2009.

EEROLA, S.; ROIG SAGUÉS, A.-X.; LILLEBERG, L.; AALTO, H. Biogenic amines in dry sausages during shelf-life storage. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 205, 351-355, 1997.

FERNANDES, J. O.; FERREIRA, M. A. Combined ion-pair extraction and gas chromatography–mass spectrometry for the simultaneous determination of diamines, polyamines and aromaticamines in Port wine and grape juice. **Journal of Chromatography A**, 886, 183–195, 2000.

FLETCHER, G. C. **Research of relevance to histamine poisoning in New Zealand. A review.** MAF Technical Paper (2011/70), 2010.

GARCÍA-RUIZ, A.; GONZÁLEZ-ROMPINELLI, E.M.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M. V. Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines. **International Journal of Food Microbiology** 148(2): 115-120, 2011.

GOLDIN, B.; GORBACH, S. Probiotics for humans. Probiotics, **Springer Netherlands**: 355-376, 1992.

GÜCÜKOĞLU, A.; KÜPLÜLÜ, Ö. The effect of different starter cultures and ripening temperatures on formation of biogenic amine in Turkish fermented sausages. **European Food Research and Technology** 230(6): 875-884, 2010.

HERNANDEZ-JOVER, T.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VECIANA-NOGUES, M. T.; VIDAL-CAROU, M. C. Ion-pair high-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. **J Agric Food Chem**

44(9):2710–5, 1996.

HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. **Food Chemistry** 59(4): 547-554, 1997.

INNOCENTE, N.; BIASUTTI, M.; PADOVESE, M.; MORET, S. Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. **Food Chemistry** 101(3): 1285-1289, 2007.

KVASNICKA, F.; VOLDRICH, M. Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection. **Journal of Chromatography A**, 1103, 145–149, 2006.

KIM, M.-K.; MAH, J.-H.; HWANG, H.-J. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. **Food Chemistry** 116(1): 87-95, 2009.

KOS, B.; BEGANOVIĆ, J.; JURAŠIĆ, L.; ŠVAĐUMOVIĆ, M.; LEBOŠ PAVUNC, A.; UROIĆ, K.; ŠUŠKOVIĆ, J. Coculture-inducible bacteriocin biosynthesis of different probiotic strains by dairy starter culture *Lactococcus lactis*. **Mljekarstvo** 61.4: 273-282, 2011.

KOMPRDA, T.; SLÁDKOVÁ, P.; DOHNAL, V. Biogenic amine content in dry fermented sausages as influenced by a producer, spice mix, starter culture, sausage diameter and time of ripening. **Meat Science** 83(3): 534-542, 2009.

KULEY, E.; ÖZOGUL, F.; ÖZOGUL, Y.; AKYOL, I. The function of lactic acid bacteria and brine solutions on biogenic amine formation by foodborne pathogens in trout fillets. **Food Chemistry** 129(3): 1211-1216, 2011.

LADERO, V.; CALLES-ENRIQUEZ, M.; FERNANDEZ, M.; ALVAREZ, M. A. Toxicological Effects of Dietary Biogenic Amines. *Current Nutrition*; **Food Science** 6(2): 145-156, 2010.

LAPA-GUIMARÃES, J.; J. PICKOVA. New solvent systems for thin-layer chromatographic determination of nine biogenic amines in fish and squid. **Journal of Chromatography A** 1045(1–2): 223-232, 2004.

LATORRE-MORATALLA, M. L.; BOVER-CID, S.; TALON, R.; GARRIGA, M.; ZANARDI, E.; IANIERI, A.; FRAQUEZA, M.; ELIAS, M.; DROSINOS, E.; VIDAL-CAROU, M. Strategies to reduce biogenic amine accumulation in traditional sausage manufacturing. **LWT-Food Sci. Technol.** 43, 20-25, 2010.

LÁZARO, C. A.; CONTE JUNIOR, C. A.; CUNHA, F. L.; MÁRSICO, E. T.; MANO, S. B.; Franco, R. M. Validation of an HPLC methodology for the identification and quantification of biogenic amines in chicken meat. **Food Analytical Methods**. v. 6, p. 1-9, 2013.

LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; DE VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*

106(3): 270-285, 2006.

LEROY, F.; DE VUYST, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology** 15(2): 67-78, 2004.

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** 21(4): 444-449, 2010.

LUECKE, F. K. Fermented sausages. In: Wood, B.J. (Ed.), **Microbiology of Fermented Foods**. Elsevier, London, pp. 442–481, 1998.

LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International** 27(3): 299-307, 1994.

MAFRA, I.; HERBERT, P.; SANTOS, L.; BARROS, P.; ALVES, A. Evaluation of Biogenic Amines in Some Portuguese Quality Wines by HPLC Fluorescence Detection of OPA Derivatives. **American Journal of Enology and Viticulture** 50, 128–132, 1999.

MAH, J. H.; HWANG, H. J. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosum* as a protective culture. **Food Control** 20(9): 796-801, 2009.

MAZZUCCO, E.; GOSETTI, F.; BOBBA, M.; MARENGO, E.; ROBOTTI, E.; GENNARO, M. C. High-Performance Liquid Chromatography–Ultraviolet Detection Method for the Simultaneous Determination of Typical Biogenic Amines and Precursor Amino Acids. Applications in Food Chemistry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 58(1): 127-134, 2009.

NAILA, A.; FLINT, S.; FLETCHER, G.; BREMER, P.; MEERDINK, G. Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches. **Journal of Food Science** 75(7): R139-R150, 2010.

ÖNAL, A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. **Food Chemistry** 103(4): 1475-1486, 2007.

ÖZOGUL, F.; TAYLOR, K. D. A.; QUANTICK, P.; ÖZOGUL, Y. Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. **International Journal of Food Science and Technology**, 37, 515–522, 2002.

PATSIAS, A.; CHOULIARA, I.; PALEOLOGOS, E. K.; SAVVAIDIS, I.; KONTOMINAS, M. G. Relation of biogenic amines to microbial and sensory changes of precooked chicken meat stored aerobically and under modified atmosphere packaging at 4°C. **Eur. Food Res. Technol.** 223 683–689, 2006.

PAPAMANOLI, E.; TZANETAKIS, N.; LITOPLOULOU-TZANETAKI, E.; KOTZEKIDOU, P. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-

fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. **Meat Science** 65(2): 859-867, 2003.

PARENTE, E.; MARTUSCELLI, M.; GARDINI, F.; GRIECO, S.; CRUDELE, M.; SUZZI, G. Evolution of microbial populations and biogenic amine production in dry sausages produced in Southern Italy. **Journal of Applied Microbiology**, 90, 882-891, 2001.

RUIZ-CAPILLAS, C.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Biogenic Amines in Meat and Meat Products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 44(7-8): 489-599, 2004.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International** 29(7): 675-690, 1996.

SILLA SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. **International Journal of Food Microbiology**, 29, 213–231, 1996.

SUZZI, G.; F. GARDINI. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. **International Journal of Food Microbiology** 88(1): 41-54, 2003.

SPANO, G.; RUSSO, P.; LONVAUD-FUNEL, A.; LUCAS, P.; ALEXANDRE, H.; GRANDVALET, C.; COTON, E.; COTON, M.; BARNAVON, L.; BACH, B. Biogenic amines in fermented foods. **European journal of clinical nutrition** 64: S95-S100, 2010.

TALON, R.; LEROY, S.; LEBERT, I.; GIAMMARINARO, P.; CHACORNAC, J.-P.; LATORRE-MORATALLA, M.; VIDAL-CAROU, C.; ZANARDI, E.; CONTER, M.; LEBECQUE, A. Safety improvement and preservation of typical sensory qualities of traditional dry fermented sausages using autochthonous starter cultures. **International Journal of Food Microbiology** 126(1–2): 227-234, 2008.

VIDAL-CAROU M. C.; LATORRE-MORATALLA M. L.; BOVER-CID S. **Biogenic Amines**. In Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis, Taylor & Francis, 2009.

VINCI, G.; ANTONELLI, M. L. Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. **Food Control** 13(8): 519-524, 2002.

ZAMAN, M. Z.; ABU BAKAR, F.; JINAP, S.; BAKAR, J. Novel starter cultures to inhibit biogenic amines accumulation during fish sauce fermentation. **International Journal of Food Microbiology** 145(1): 84-91, 2011.

ZHANG, N.; WANG, H.; GUO, X.-F.; ZHANG, H.-S. Determination of primary biogenic amines in various food products using isocratic HPLC with 3-(4-chlorobenzoyl)-quinoline-2-carboxaldehyde as a new precolumn fluorogenic reagent. **Journal of Separation Science** 31(15): 2804-2812, 2008.