

BIOGENINIŲ AMINŲ SUSIDARYMAS PAŠARAMS NAUDOJAMUOSE FERMENTUOTUOSE AUGALINIUOSE PRODUKTUOSE

Elena Bartkienė¹, Gražina Juodeikienė², Gintarė Zaborskienė¹, Vita Krunglevičiūtė¹, Toma Rekštytė¹, Erika Skabeikytė¹

¹*Maisto saugos ir kokybės katedra, Veterinarijos akademija, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
 Tilžės g. 18, LT-47181, Kaunas; el. paštas: elena.bartkiene@lva.lt*

²*Maisto produktų technologijos katedra, Kauno technologijos universitetas
 Radvilėnų pl. 19, LT-50254, Kaunas; el. paštas: grazina.juodeikiene@ktu.lt*

Santrauka. Fermentuoti pienarūgštėmis bakterijomis (PRB) pašarai, dažniausiai traktuojami kaip netoksiški ir nepatogeniški, tačiau kai kurios PRB rūšys gali daryti įtaką biogeninių aminų (BA) formavimuisi. Šio darbo tikslas buvo įvertinti fermentacijos *Pediococcus acidilactici* ir savaiminiais raugais įtaką BA susidarymui pašarams naudojamuose augaliniuose produktuose – linų sėmenyse, geltonuosiuose lubinuose (*Lupinus luteus* L.), baltuosiuose lubinuose (*Lupinus albus* L.) ir sojų sėklų veislėse 'Rudoji' bei 'Progress'. Tuo tikslu atlikta augalinių produktų fermentacija *Pediococcus acidilactici* ir savaiminiais raugais bei nustatytas BA (putrescino, histamino, kadaverino, tiramino, spermidino ir spermino) kiekis.

Nustatyta, kad skirtinguose augaliniuose produktuose BA kiekis priklauso nuo produkto matricos specifikos ir gali kisti nuo 392,4 mg kg⁻¹ (*L. luteus*) iki 121,8 mg kg⁻¹ (sojų sėklose 'Progress') (p=0,0040). Fermentacija savaiminiais raugais daro įtaką didesniai histamino ir tiramino kiekiui fermentuotuose produktuose, išskyrus 'Progress' veislės sojų sėklas, kuriose histamino kiekis liko nepakitęs (5,5 mg kg⁻¹), bei linų sėmenims, kuriuose tiramino kiekis fermentuojant sumažėjo 2,1 karto. Tirtų produktų fermentacijai saugu naudoti tiek savaiminius raugus, tiek *Pediococcus acidilactici* startinius mikroorganizmus, nes toksinės histamino koncentracijos normos (400–500 mg kg⁻¹) neviršijo nė vienas fermentuotas augalinis produktas.

Raktažodžiai: biogeniniai aminai, fermentacija, linų sėmenys, sojų sėklos, geltonieji ir baltieji lubinai.

BIOGENIC AMINE FORMATION IN FERMENTED PLANT PRODUCTS USED FOR FEED

Elena Bartkienė¹, Gražina Juodeikienė², Gintarė Zaborskienė¹, Vita Krunglevičiūtė¹, Toma Rekštytė¹, Erika Skabeikytė¹

¹*Department of Food Safety and Quality, Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences
 Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; Tel. +370 37 36 32 08; E-mail: elena.bartkiene@lva*

²*Department of Food Technology, Kaunas University of Technology
 Radvilėnų 19, LT-50254, Kaunas, Lithuania*

Tel. 370 37 45 65 57; Fax. 45 66 47; E-mail: grazina.juodeikiene@ktu.lt

Abstract. Feed fermented by lactic acid bacteria (LAB), usually is regarded as non-toxic and non-pathogenic, but some LAB species may influence biogenic amine formation.

The aim of this work was to evaluate the effect of *Pediococcus acidilactici* and spontaneous sourdough on biogenic amine formation in plant products: flaxseed, yellow lupine (*Lupinus luteus* L.), white lupine (*Lupinus albus* L.), soya flour, and soya seed varieties „Rudoji“ and „Progress“. Plant products were fermented with different starter cultures and the amount of biogenic amines (putrescine, histamine, cadaverine, tyramine, spermidine, spermine) was determined.

It was found that the content of biogenic amines depends on plant matrix specifics and can vary from 392.4 mg kg⁻¹ (in *Lupinus luteus* L.) till 121.8 mg kg⁻¹ (in soya seed variety „Progress“) (p=0.0040).

Fermentation without starter cultures leads the greater amount of histamine and tyramine in plant products, except in soya seed variety „Progress“ (histamine levels remained unchanged – 5.5 mg kg⁻¹) and in flaxseed (tyramine content decreased by 2.1 times).

Both types of fermentation: with *Pediococcus acidilactici* and spontaneous sourdough are safe, because the toxic rate of histamine concentration (400-500 mg kg⁻¹) was not find in the tested samples.

Keywords: biogenic amine, fermentation, flaxseed, soya, yellow and white lupine.

Įvadas. Pienarūgštės bakterijos pašarų fermentacijai naudojamos dėl keleto priežasčių: norint sumažinti pašarų užterštumą enteropatogenais (Beal et al., 2002; Beal et al., 2005) ir pagerinti pašaruose esančių medžiagų bioprieinamumą įvairių gyvūnų rūšims, ypač paukščiams (Heres et al., 2003; Skrede et al., 2003; Niba et al., 2008) bei vandens gyvūnams (Refstie et al., 2005).

Fermentacija – tai ne tik anaerobinis energijos metabolizmo procesas. Jos metu, norint gauti norimas

produkto savybes, veikiant įvairiems mikroorganizmams ir jų fermentams vyksta įvairūs bioprocesai. Mikrobinis metabolizmas ir išskiriami fermentai daro reikšmingą įtaką fermentuotų produktų sudėčiai, nes fermentacijos metu makromolekuliniai komponentai (polisacharidai, proteinai, lipidai) suskaldomi į mažesnės molekulinės masės junginius (dekstrinus, cukrus, peptidus, aminorūgštis, laisvasias riebalų rūgštis) ir susidaro kiti metabolizmo produktai (rūgštys, alkoholiai, esteriai,

aldehidai, ketonai, vitaminai etc.) (Farnword, 2003). Dauguma produktų fermentuojami natūraliai, t. y. nenaudojant startinių mikroorganizmų. Taip fermentuojant negalima nuspėti, kokios bus galutinio produkto savybės ir sudėtis, nes nėra aišku, kokie mikroorganizmai šiame bioprocese vyraus. Dėl šios priežasties neįmanoma užtikrinti galutinio produkto saugos ir kokybės bei standartizuoti metodo. Dažniausiai dėl produkto saugos, technologinio ir ekonominio efektyvumo naudojamos pienarūgštės bakterijos (PRB) (De Vries et al., 2004). Tačiau kai kurios PRB rūšys gali veikti biogeninių aminų (BA) susidarymą. BA yra organiniai, dažniausiai azotiniai, junginiai, susidarantys dekarboksilinant aminorūgštis (Awan et al., 2008; Lapa-Guimarcas, Pickova, 2004). Mikroorganizmų savybė dekarboksilinti aminorūgštis labai varijuoja ir dažniausiai priklauso nuo bakterijų rūšies specifikos. Taigi viena iš galimybių užtikrinti galutinio produkto saugą BA požiūriu yra fermentacijos procesui tinkamų mikroorganizmų, turinčių mažą dekarboksilazinę aktyvumą, parinkimas (Russo et al., 2010).

Galutinio produkto kokybei taip pat labai svarbu parinkti fermentuojamą žaliavą. Fermentuoti sojų produktai siejami su geresniu bioprieinamumu, ypač teigiamai jie veikia virškinamumą (Brouns, 2002; Friedman, Brandon, 2001; Messina et al., 2002). Linų sėmenis tikslinga fermentuoti norint pagerinti biologiškai aktyvių junginių – lignanų biokonversiją (Cornwell et al., 2004). Lubinų sėklos žinomos kaip baltymų šaltinis ir nuo seno naudojamos gyvūnų pašarams (Segal, 2002; Petterson, 2000). Lubinų baltymai turi daug antioksidacinių medžiagų – karotenoidų, tokoferolių ir lecitino (Lampart-Szczapa, 2003).

Fermentacija yra sudėtingas procesas, kurio metu susidaro įvairūs junginiai, ir ne visi jie pageidautini galutiniame produkte. Vieni tokių yra BA, kurie, vartojami dideliais kiekiais, gali daryti neigiamą poveikį. BA randami daugelyje žaliavų ir produktų, o kai kuriuose jų – didelėmis koncentracijomis (Wolken et al., 2006). Paprastai didelis šių junginių kiekis siejamas su nepageidaujama mikroorganizmų veikla, t. y. prasidėjusiu mikrobiologiniu gedimu (Zaman et al., 2010). BA yra natūralus, labai svarbus pašarų saugos požiūriu antimitybinis veiksnys, dažnai minimas kaip neigiamas metabolizmo ir augimo procesų faktorius, galintis inicijuoti įvairias farmakologines reakcijas (Lavon et al., 2008; Kiarie et al., 2009). Putrescinas, spermidinas ir sperminas yra endogeniniai ir nepakeičiami gyvūnų ląstelių komponentai, kurie dalyvauja atsinaujinimo ir dalijimosi procesuose, reguliuoja nukleino rūgščių ir baltymų sintezę, dalyvauja smegenų veikloje ir nervų ląstelių augimo bei atsinaujinimo procesuose (Kalac, Krausovi, 2005; Tassoni et al., 2004). Augaluose jie siejami su pH ir temperatūros ar osmosiniu stresu, ląstelių dalijimusi bei žydėjimu (Bouchereau et al., 2000). Didžiausią neigiamą įtaką daro histaminas, putrescinas, kadaverinas, tiraminas, triptaminas, betafeniletilaminas, sperminas ir spermidinas, kurie kaupiasi vykstant mikrobiologinei aminorūgščių transformacijai fermentacijos arba mikrobiologinio gedimo procesų metu (De las Rivas et al., 2008;

Kvasnicka, Voldrich, 2006). BA formavimosi tyrimai labai svarbūs dėl toksinių savybių ir prasidėjusio žaliavų gedimo identifikavimo (Önal, 2007). Kokie ir kiek BA susidaro, priklauso ne tik nuo veikiančių mikroorganizmų, bet ir nuo žaliavos matricos specifikos, apdorojimo būdo, kitų veiksmų (Carelli et al., 2007). Dėl šių priežasčių fermentacijos technologiniam procesui svarbu ne tik parinkti saugius mikroorganizmus, bet ir įvertinti BA kaitos tendencijas apdorojant skirtingas žaliavas.

Darbo tikslas – įvertinti fermentacijos *Pediococcus acidilactici* ir savaiminiais raugais įtaką biogeninių aminų susidarymui pašarams naudojamuose augaliniuose produktuose – linų sėmenyse, geltonuosiuose lubinuose (*Lupinus luteus* L.), baltuosiuose lubinuose (*Lupinus albus* L.) ir sojų veislių 'Rudoji' bei 'Progress' sėklose.

Medžiagos ir metodai. Augaliniai produktai. Bandymui parinkti didelį kiekį biologiškai aktyvių medžiagų turintys augaliniai produktai – linų sėmenys (gamintojas Institute of Natural Fibres, Institut Wlokien Naturalnych), geltonieji lubinai (*Lupinus luteus* L.) ir baltieji lubinai (*Lupinus albus* L.) (2008 metų derliaus, gauti iš Lietuvos žemdirbystės instituto Vokės filialo), sojų miltai (kilmės šalis Čekija), 'Rudoji' ir 'Progress' veislių sojų sėklos (2009 metų derliaus, gautos iš Aleksandro Stulginskio universiteto bandomojo ūkio).

Augalinių produktų fermentavimas. Produktai fermentuoti *Pediococcus acidilactici* grynomis kultūromis ir savaiminiais raugais. Prieš fermentaciją sojų sėklos ir lubinai susmulkinoti laboratoriniu malūnu (iki 3 mm skersmens dalelių).

Homofermentiniai 65 proc. drėgnio raugai paruošti iš skirtingų augalinių produktų ir pienarūgščių bakterijų grynų kultūrų (*Pediococcus acidilactici*), fermentuojant augalinę žaliavą termostate 32°C temperatūroje keturias paras. Heterofermentiniai (savaiminiai) 65 proc. drėgnio raugai paruošti keturias paras augalinę žaliavą fermentuojant termostate (Brinder, Vokietija) 30°C temperatūroje.

Pediococcus acidilactici ir savaiminiai raugai paruošti į 100 g raugo kas 24 val. pridėdant 35 g fermentuojamos augalinės žaliavos ir įpilant 70 ml vandens. Pieno rūgšties bakterijos, kurios gamina bakteriocinus, gautos iš Kauno technologijos universiteto (*Pediococcus acidilactici*–32°C; pH 3,77).

Biogeninių aminų nustatymas augaliniuose produktuose efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Biogeninių aminų analizė atlikta efektyviosios skysčių chromatografijos atvirkštinių fazių metodu. Mėginiai (po 200 g) homogenizuoti (homogenizatorius Bag Mixer®, Prancūzija) ir atsverta po 5 g mėginio, iš kurio biogeniniai aminai ekstrahuoti du kartus, centrifuguojant 2500 aps. per min. greičiu 10 min. (Centrifuge 5418, Vokietija), kiekvieną kartą naudojant po 10 ml 0,4 mol/l perchloro rūgšties. Mėginių derivatizacija atlikta taikant Ben-Gigirey ir kitų tyrėjų (2000) modifikuotą metodiką, t. y. 0,5 ml ekstrakto (arba vidinio standarto tirpalo – 1,7-diaminoheptano) sumaišyta su 100 µl 2 M natrio hidroksido ir 120 µl prisotinto natrio bikarbonato. 1 ml dansilchlorido tirpalo įpilta į paruoštą mėginį ir 40°C temperatūroje termostate (Binder,

Vokietija) išlaikyta 45 min. Likęs dansilchloridas neutralizuotas įpylus 40 μ l 25 proc. amoniako, 30 min. palaikius kambario temperatūroje. Mišinys praskiestas iki 3,2 ml tūrio amonio acetatu (0,1 mol/l) ir acetonitrilo mišiniu (1:1).

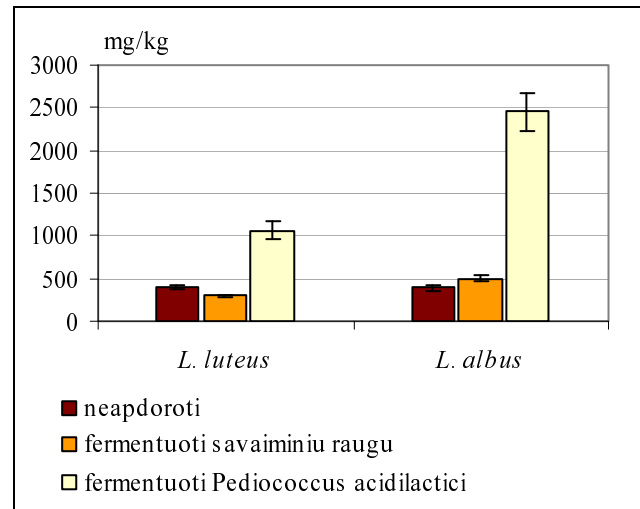
Mėginiai nufiltruoti per 0,45 μ m filtrą (Millipore Co., Bedford, MA, JAV), išvirkšti pro 20 μ l kilpą ir išanalizuoti taikant efektyvaus slėgio skysčių chromatografijos (ESSC) metodą (Agilent 1200 Series, Vokietija). ESSC sistemą sudarė: „Agilent 1200 Series“ keturių kanalų siurblys G1354A; vakuuminis dujų šalinimo įrenginys G1322A; kolonėlių termostatas G1316A; standartinis mėginių išvirkštimo įrenginys G1329A; diodinės matricos detektorius G1315D; chromatografinės analizės duomenų kaupimo ir įvertinimo sistema – „1200 Series Instant pilot“, programinė įranga „Agilent HPLC ChemStation“, „EZ Chrom Elite“. Naudota plieninė kolonėlė „LiChroCART® 125-4“ (Superspher 60 RP C18; 250x4,6 mm, dalelių dydis 5 μ m, Vokietija), eliuentas – B (acetonitrilas) ir A 0,1 mol/l amonio acetatas. Analizuota 28 min. pirmašias 19 min. keičiant eliuento sudėtį nuo 50 proc. B iki 90 proc. B (atitinkamai nuo 50 proc. A iki 10 proc. A), tada 1 min. paliekant eliuento sudėtį pastovią – 90 proc. B (10 proc. A), vėliau, kad būtų užtikrintas kitos analizės medžiagų atskyrimas, 8 min. kolonėlė pildyta eliuentu, kurio sudėtis 50 proc. B ir 50 proc. A. Debitas visos analizės metu – 0,9 ml/min., UV detekcija atlikta esant 254 nm bangos ilgiui. BA identifikuoti lyginant kiekvieno nustatomo amino sulaikymo kolonėlėje trukmę su kiekvienos etaloninės medžiagos sulaikymo trukme. Kiekybinė analizė atlikta taikant vidinio standarto metodą, skaičiuojant smailės plotą apibrėžtam etaloninės medžiagos kiekiui. Tyrimas atliktas tris kartus, pateiktos vidutinės reikšmės ir standartinis nuokrypis.

Identifikuoti biogeniniai aminai – feniletilaminas, putrescinas, kadaverinas, histaminas, tiraminas, spermidinas ir sperminas. Jų nustatymo riba – 0,1 mg/kg.

Matematinė statistinė duomenų analizė atlikta „Prism 3.0“ statistinės programos paketu. Apskaičiuoti duomenų aritmetiniai vidurkiai, suminis kiekis, skirtumų tarp vidutinių rezultatų reikšmių patikimumas (p). Faktoriaus reikšmingumo lygmuo nustatytas pagal Fišerio kriterijų, kai patikimumas 95 proc.

Tyrimų rezultatai. Skirtingų rūšių nefermentuotuose lubinuose (*L. luteus* ir *L. albus*) suminis BA kiekio skirtumas neviršijo paklaidos (*L. luteus* 392,4 mg kg⁻¹ ir *L. albus* 390,1 mg kg⁻¹) (p=0,0019) (1 pav). Tokia pati tendencija nustatyta ir ištyrus atskirus BA. Tiramino nefermentuotuose lubinuose nerasta visai.

Atlikus fermentuotų lubinų analizę nustatyta, kad ne tik fermentacijai parinkti mikroorganizmai, bet ir fermentuojamoji žaliava daro įtaką BA kiekiui galutiniuose produktuose. Palyginus BA kiekį neapdorotuose ir fermentuotuose savaiminiu raugu lubinuose nustatyta, kad fermentuotuose *L. luteus* biogeninių aminių susidaro 98,9 mg kg⁻¹ mažiau (p=0,0912), o fermentuotuose *L. albus* – 103,6 mg kg⁻¹ daugiau (p=0,0019), nei nefermentuotuose atitinkamos rūšies lubinuose.



1 pav. Suminis biogeninių aminių kiekis (mg kg⁻¹) *L. luteus* ir *L. albus* (nefermentuotuose, p=0,0019, fermentuotuose savaiminiais raugais, p=0,0209, ir *Pediococcus acidilactici* startiniais mikroorganizmais, p=0,0495)

Savaiminiu raugu fermentuotuose *L. luteus* vyraujantis BA yra feniletilaminas (128,8 mg kg⁻¹; p=0,0363), tuo tarpu *L. albus* daugiausia nustatyta tiramino (169,1 mg kg⁻¹; p=0,0225) (1 lentelė). Tiaminas – dažniausiai fermentuotuose maisto produktuose randamas BA (Riebroy et al., 2004). Pagal geros gamybos praktikos nuostatas leistina tiramino norma yra 100–800 mg kg⁻¹, o daugiau nei 1800 mg kg⁻¹ jau yra toksiška dozė; tačiau daugiau kaip 100 mg kg⁻¹ tiramino gali sukelti įvairius negalavimus (Shalaby, 1996).

Putrescino ir kadaverino kiekio abiejų rūšių lubinuose skirtumas atitiko paklaidą (putrescino *L. luteus* – 33,7 mg kg⁻¹; *L. albus* – 35,3 mg kg⁻¹; kadaverino *L. luteus* – 54,7 mg kg⁻¹; *L. albus* – 43,7 mg kg⁻¹). Histamino ir tiramino daug daugiau susidarė *L. albus* nei *L. luteus*, atitinkamai 2,5 (p=0,0001) ir 5,2 (p<0,0001) karto.

Fermentuotuose savaiminiu raugu *L. albus* spermidino susidarė 2,5 karto daugiau nei *L. luteus* (p=0,0002), o spermidino kiekis abiejų rūšių fermentuotuose savaiminiu raugu lubinuose nustatytas sąlyginai nedidelis: *L. luteus* – 5,1 mg kg⁻¹; *L. albus* – 4,4 mg kg⁻¹. Didesnis suminis BA kiekis (1,7 karto; p=0,0019) susidarė *L. albus*.

Panašios tendencijos nustatytos lubinuose *L. luteus*, fermentuotuose *Pediococcus acidilactici*. Fermentacijai naudojant startinius mikroorganizmus nenustatyta kadaverino. Didesnis (suminis ir atskirų) BA kiekis nustatytas *L. albus* rūšies augaluose, t. y. du kartus daugiau feniletilamino (p<0,0001); 2,4 karto daugiau putrescino (p<0,0001); 1,4 karto daugiau tiramino (p<0,0001); 2,3 karto daugiau spermidino (p<0,0001); du kartus daugiau spermidino (p<0,0001) ir 3,5 karto daugiau spermidino (p=0,0006); 2,3 karto didesnis suminis BA kiekis (p=0,0495).

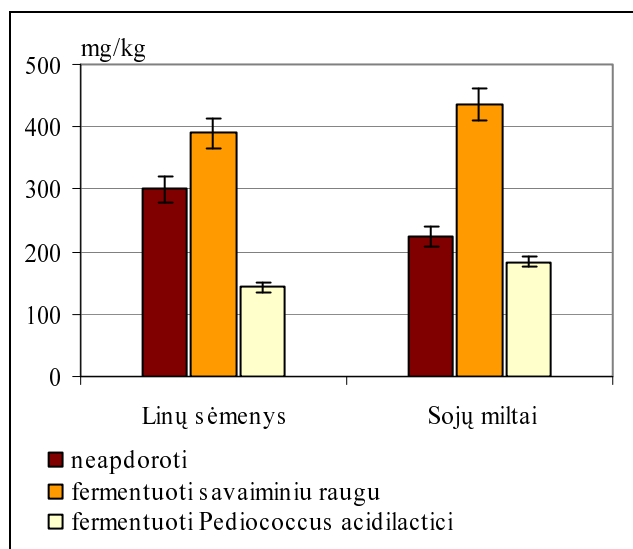
Fermentuojant lubinus geriau rinktis *L. luteus* ir fermentacijai taikyti technologiją savaiminiais raugais, mat tada suminis BA kiekis gaunamas mažesnis nei neapdorotoje žaliavoje.

1 lentelė. Biogeninių aminų kiekis (mg kg⁻¹) lubinuose *L. luteus*, *L. albus*

Biogeniniai aminai	Neapdoroti		Fermentuoti savaiminiu raugu		Fermentuoti <i>Pediococcus acidilactici</i>	
	<i>L. luteus</i>	<i>L. albus</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. albus</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. albus</i>
Feniletilaminas	240,5±6,5 ^{*c}	240,4±5,6 ^c	128,8±10,1 ^c	144,1±23,4 ^d	41,3±5,3 ^a	81,2±10,3 ^b
Putrescinas	45,6±0,2 ^b	45,3±0,1 ^b	33,7±5,2 ^a	35,3±1,2 ^a	824,4±5,7 ^c	1951,9±36,1 ^d
Kadaverinas	28,4±0,6 ^b	27,3±1,3 ^b	54,7±7,4 ^d	43,7±5,8 ^c	-	17,1±0,0 ^a
Histaminas	6,2±1,0 ^a	5,9±0,7 ^a	20,8±3,2 ^b	52,7±4,9 ^c	67,5±2,6 ^d	96,7±0,3 ^e
Tiraminas	-	-	32,6±4,9 ^a	169,1±15,2 ^c	92,5±6,0 ^b	215,8±9,2 ^d
Spermidinas	55,5±1,5 ^d	55,2±1,1 ^d	17,8±3,1 ^a	44,4±3,6 ^c	34,1±1,9 ^b	69,7±2,9 ^e
Sperminas	16,2±0,0 ^d	16,0±0,7 ^d	5,1±0,0 ^b	4,4±0,1 ^a	6,6±1,0 ^c	23,1±0,8 ^e

a-f – statistiškai patikimi skirtumai eilutėse (p<0,05; n=3)

Suminis BA kiekis nefermentuotuose sojų miltuose buvo 76,7 (mg kg⁻¹) mažesnis, nei nefermentuotuose linų sėmenyse (p=0,0503) (2 pav.). Tačiau fermentuojant šiuos produktus (savaiminiu raugu ir *Pediococcus acidilactici*) išryškėjo probleminiai baltymingos žaliavos fermentacijos aspektai. Didesnis suminis BA kiekis nustatytas fermentuotuose sojų miltuose (savaiminiu raugu – 46,4 mg kg⁻¹; p<0,0001, *Pediococcus acidilactici*– 41,19 mg kg⁻¹; p<0,0001). Toks BA kiekis sojų miltuose galėjo susidaryti dėl jų sudėties specifikos, t. y. didesnio nei linų sėmenyse baltymų kiekio.



2 pav. Suminis biogeninių aminų kiekis (mg kg⁻¹) linų sėmenyse ir sojų miltuose (nefermentuotuose, p=0,0503; fermentuotuose savaiminiais raugais, p=0,0010; *Pediococcus acidilactici* startiniais mikroorganizmais, p=0,0052)

Lyginant atskirų BA kiekius neapdorotoje žaliavoje nustatyta, kad sojų miltuose palyginti su linų sėmenimis yra daugiau putrescino, spermidino ir spermino (atitinkamai 3,4; 5,8 ir 3,7 karto; p=0,0010; p=0,0031; p=0,0168). Nefermentuotuose linų sėmenyse nustatyta daug daugiau feniletilamino ir tiramino (atitinkamai 3,8 ir 11,6 karto; p<0,0001). Kitų BA (kadaverino ir histamino) kiekis nefermentuotoje žaliavoje kito neviršydamas

paklaidos.

Palyginus tarpusavyje savaiminiu raugu fermentuotus produktus nustatyta, kad daugiau BA susidaro sojų miltuose. Ypač daug rasta feniletilamino (277,2 mg kg⁻¹) ir kadaverino (92,9 mg kg⁻¹). Kitų BA kiekis kito nuo 2,8 (spermino) iki 26,8 mg kg⁻¹ (tiramino). Linų sėmenyse, fermentuotose savaiminiu raugu, taip pat susidarė išskirtinai daug feniletilamino (186,2 mg kg⁻¹), t. y. 4,7 karto daugiau nei putrescino (p=0,0002); 6,3 karto daugiau nei kadaverino (p=0,0004); 4,2 karto daugiau nei histamino (p=0,0002); 4,7 karto daugiau nei tiramino (p=0,0002); 7,7 karto daugiau nei spermidino (p=0,0006) ir 7,1 karto daugiau nei spermino (p=0,0005).

Išanalizavus BA susidarymo tendencijas *Pediococcus acidilactici* fermentuotuose produktuose nustatyta, kad suminis BA kiekis juose mažesnis nei nefermentuotoje žaliavoje: sojų miltuose – 39 mg kg⁻¹, o linų sėmenyse – 156,8 mg kg⁻¹. Nustatyta, kad fermentuojant *Pediococcus acidilactici* BA galima sumažinti pradinėje žaliavoje, todėl šią kultūrą rekomenduotina naudoti kaip startinius mikroorganizmus sojų miltams ir linų sėmenims fermentuoti. Linų sėmenims fermentuoti ypač tinkami *Pediococcus acidilactici*, nes palyginti su neapdorota žaliava fermentuotoje nustatyta 156,8 mg kg⁻¹ mažiau BA (p<0,0001). Tuo tarpu fermentuojant sojų miltus šia kultūra suminis BA kiekis sumažėjo 39 mg kg⁻¹ (p<0,0001). *Pediococcus acidilactici* fermentuotuose sojų miltuose vyravo putrescinas (69,4 mg kg⁻¹) ir spermidinas (56,1 mg kg⁻¹). Kitų BA susidarė nuo 3,6 iki 18,3 karto mažiau. *Pediococcus acidilactici* fermentuotuose linų sėmenyse daugiausia susidarė feniletilamino (63,3 mg kg⁻¹), o kitų BA buvo nuo 1,6 iki 31,7 karto mažiau.

BA kiekiui įtakos turėjo ne tik fermentacijai parinkti mikroorganizmai, bet ir sojų sėklų veislė (3 pav., 3 lentelė). Nefermentuotose 'Rudoji' veislės sojų sėklose suminis BA kiekis nustatytas 52 mg kg⁻¹ didesnis, nei 'Progress' sojų sėklose (p<0,0001).

Jose taip pat išsiskyrė skirtingų BA susidarymo tendencijos. Sojų veislės 'Rudoji' sėklose vyravo BA feniletilaminas (239,8 mg kg⁻¹), putrescinas (135,5 mg kg⁻¹) ir spermidinas (114,4 mg kg⁻¹). Kitų BA nustatyta daug mažiau (tiramino – 11,7 mg kg⁻¹, spermino – 17,2 mg kg⁻¹, histamino – 30,5 mg kg⁻¹). 'Progress' sojų sėklose pagrindiniai vyraujantys BA – putrescinas (64,9

mg kg⁻¹), spermidinas (59,8 mg kg⁻¹) ir feniletilaminas (51,4 mg kg⁻¹). Sojų sėklose 'Rudoji' kadaverino nerasta. Pagal skirtingus BA ir jų kiekį nefermentuotose sojų sėklose galima teigti, kad jų susidarymą veikia ne tik fermentacijos ypatumai, bet ir fermentuojamasis substratas.

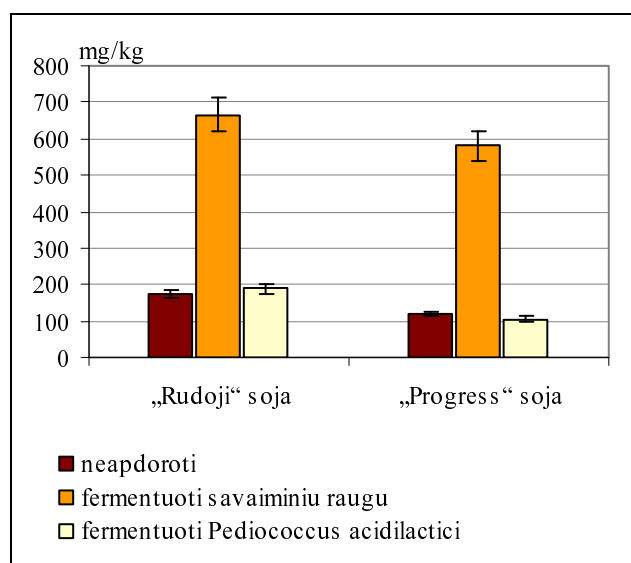
Fermentuotose savaiminiu raugu sojų sėklose išryškėjo tam tikros BA kiekio kaitos tendencijos. Abiejuose tirtuose sojų sėklų mėginiuose daugiausia

nustatyta feniletilamino ('Rudoji' sėklose – 230,1 mg kg⁻¹; 'Progress' sėklose – 234,5 mg kg⁻¹). Kitų BA nustatyta mažiau: veislės 'Rudoji' sėklose nuo 2,6 (palyginti su kadaverino kiekiu; p<0,0001) iki 62,1 (palyginti su spermino kiekiu; p=0,0235) karto, veislės 'Progress' sėklose nuo 6,9 (palyginti su spermidino kiekiu; p=0,0003) iki 55,8 (palyginti su spermino kiekiu; p=0,0184) karto.

2 lentelė. Biogeninių aminų kiekis (mg kg⁻¹) linų sėmenyse ir sojų miltuose

Biogeniniai aminai	Neapdoroti		Fermentuoti savaiminiu raugu		Fermentuoti <i>Pediococcus acidilactici</i>	
	Sojų miltai	Linų sėmenys	Sojų miltai	Linų sėmenys	Sojų miltai	Linų sėmenys
Feniletilaminas	37,8±22,3 ^b	141,9±6,1 ^d	277,2±21,6 ^f	186,2±7,1 ^e	19,2±0,6 ^a	63,3±14,1 ^c
Putrescinas	63,8±1,1 ^e	18,6±0,8 ^c	7,2±1,2 ^a	39,4±3,4 ^d	69,4±21,3 ^f	11,3±3,0 ^b
Kadaverinas	34,3±0,7 ^d	34,5±4,5 ^d	92,9±15,3 ^c	29,8±2,7 ^c	8,8±1,6 ^a	18,3±6,6 ^b
Histaminas	5,4±1,1 ^b	7,7±1,0 ^c	18,7±4,1 ^d	44,7±2,3 ^e	3,8±2,3 ^a	4,0±0,2 ^a
Tiraminas	7,1±0,2 ^a	82,4±5,0 ^f	26,8±3,8 ^c	39,6±4,1 ^d	11,6±7,0 ^b	39,3±1,8 ^e
Spermidinas	60,3±3,9 ^e	10,4±0,4 ^b	11,0±2,4 ^b	24,1±3,5 ^c	56,1±14,6 ^d	4,9±0,9 ^a
Sperminas	16,1±0,6 ^c	4,4±0,9 ^c	2,8±0,4 ^b	26,4±2,9 ^f	13,8±0,1 ^d	2,0±0,3 ^a

a-f – statistiškai patikimi skirtumai eilutėse (p<0,05; n=3)



3 pav. Suminis biogeninių aminų (mg kg⁻¹) kiekis 'Progress' ir 'Rudoji' veislių sojų sėklose (nefermentuotose, p=0,0637; fermentuotose savaiminiais raugais, p=0,0248; ir *Pediococcus acidilactici* startiniais mikroorganizmais, p=0,0253)

Ženkliai mažesnis suminis BA kiekis sojų sėklose susidarė fermentuojant *Pediococcus acidilactici* nei savaiminiais raugais: 'Rudoji' veislės sojų sėklose – 3,5 karto (p<0,0001), 'Progress' veislės sojų sėklose – 5,5 karto (p<0,0001). Tiek 'Rudoji', tiek 'Progress' veislės sojų sėklose vyravo tiraminas ir putrescinas: 'Rudoji' veislės sojų sėklose – 416,1 mg kg⁻¹ ir 153,2 mg kg⁻¹, 'Progress' veislės sojų sėklose – 268,3 mg kg⁻¹ ir 177,5 mg kg⁻¹. Kitų BA nustatyta daug mažiau. 'Rudoji' veislės sojų sėklose feniletilamino buvo 6,1; kadaverino – 26,2;

histamino – 38,2; spermidino – 5,9; spermino – 24,2 karto mažiau nei tiramino (atitinkamai p<0,0001; p=0,0013; p=0,0028; p<0,0001; p=0,0011). 'Progress' veislės sojų sėklose feniletilamino nustatyta 3,5; kadaverino – 6,1; histamino – 18,5; spermidino – 3,3; spermino – 16,9 karto mažiau nei tiramino (atitinkamai p<0,0001; p=0,0002; p=0,0016; p<0,0001; p=0,0013).

Pagal gautus rezultatus galima teigti, kad fermentuojant sojų sėklas *Pediococcus acidilactici*, galutinis produktas gaunamas daug saugesnis BA atžvilgiu.

Aptarimas ir išvados. Apibendrinant gautus rezultatus galima teigti, kad BA formavimasis augaliniuose produktuose priklauso ne tik nuo fermentacijos proceso sąlygų, bet ir nuo fermentuojamojo produkto. Tirtuose augaliniuose produktuose (neapdorotuose ir apdorotuose) nustatytos skirtingos BA formavimosi tendencijos. Palyginus BA kieki nefermentuotuose produktuose nustatyta, kad daugiausia jų yra lubinuose (*L. luteus* – 392,4 mg kg⁻¹ ir *L. albus* – 390,1 mg kg⁻¹), o mažiausiai – sojų sėklose 'Progress' (121,8 mg kg⁻¹). Daug didesniu putrescino kiekiu išsiskyrė *Pediococcus acidilactici* fermentuoti lubinai (*L. luteus* – 824,4 mg kg⁻¹ ir *L. albus* – 1951,9 mg kg⁻¹). Tokią didelę putrescino koncentraciją galima būtų paaikškinti lubinuose esančiu dideliu argininu kiekiu (772 mg kg⁻¹N) (Sosulski, Holt, 1980), o biogeninių aminų susidarymą galėjo veikti fermentacijai naudoti startiniai *Pediococcus acidilactici* mikroorganizmai. Dideliu proteinų kiekiu pasižymintiose sojų sėklose BA formavimuisi įtakos gali turėti pienarūgštės bakterijos, aktyviausios fermentacijos metu ir pasižymintios ne tik amilolitinu, bet ir proteolitinu aktyvumu (Kirschbaum et al., 2000). Augalinius produktus fermentuojant savaiminiais raugais, putrescino kiekis (palyginti su

neapdorota žaliava) sumažėja, išskyrus linų sėmenis. Tuo tarpu fermentuojant produktus *Pediococcus acidilactici*, putrescino daugeliu atvejų padidėja. Ši tendencija nepastebėta tik fermentuotose *Pediococcus acidilactici* sojų sėklose ir linų sėmenyse. Kad putrescinas būtų kenksmingas, duomenų nėra.

Pašarų saugos požiūriu, produkte labai svarbus suminis, o ne atskirų BA kiekis, nes žinoma, kad

histaminas susidaro iš histidino, tiraminas – iš tirozino, kadaverinas – iš lizino, serotoninas – iš triptofano, putrescinas – iš arginino, spermidinas ir sperminas – iš arginino ir metionino, o jų toksiškumas priklauso ir nuo sinergetinio vieno kitam poveikio. Pavyzdžiui, histamino toksiškumą didina kadaverinas, putrescinas ir tiraminas (Mantis et al., 2005).

3 lentelė. Biogeninių aminų kiekis (mg kg⁻¹) 'Rudojoje' ir 'Progress' sojų sėklose

Biogeniniai aminai	Neapdorotos		Fermentuotos savaiminiu raugu		Fermentuotos <i>Pediococcus acidilactici</i>	
	'Rudoji' sojos	'Progress' sojos	'Rudoji' sojos	'Progress' sojos	'Rudoji' sojos	'Progress' sojos
Feniletilaminas	239,8±9,3 ^d	51,4±5,9 ^a	230,1±8,6 ^d	234,5±12,3 ^d	68,2±65,3 ^b	76,1±5,3 ^c
Putrescinas	135,5±4,1 ^d	64,9±4,6 ^c	14,2±3,1 ^b	9,6±2,1 ^a	153,2±10,2 ^c	177,5±10,8 ^f
Kadaverinas	-	33,8±4,2 ^b	87,2±5,6 ^d	33,8±3,6 ^b	15,9±3,2 ^a	43,8±4,8 ^e
Histaminas	30,5±1,5 ^d	5,5±0,8 ^a	41,5±3,2 ^c	5,5±0,9 ^a	10,9±1,7 ^b	14,5±2,1 ^c
Tiraminas	11,7±1,1 ^b	6,4±1,3 ^a	30,1±3,1 ^d	27,8±3,2 ^c	416,1±15,3 ^f	268,3±25,3 ^e
Spermidinas	114,4±6,3 ^f	59,8±5,3 ^c	25,3±4,1 ^a	34,2±4,1 ^b	71,1±5,7 ^d	80,5±3,2 ^e
Sperminas	17,2±1,4 ^{cd}	16,4±2,1 ^c	3,7±0,9 ^a	4,2±0,2 ^b	17,2±3,1 ^{cd}	15,9±1,8 ^e

a-f – statistiškai patikimi skirtumai eilutėse (p<0,05; n=3)

Nedideli BA kiekiai augaluose aptinkami kaip natūralūs komponentai. BA dalyvauja tokiuose natūraliuose fiziologiniuose augimo procesuose kaip ląstelių dalijimasis, augalų žydėjimas bei sėklų brandinimas, streso įveikimas, senėjimas (Bouchereau et al., 2000). Laisvi BA augaliniams produktams suteikia charakteringą skonį ir yra daugelio aromatinių junginių pirmtakai (Moret et al., 2005), tačiau gamybos procese šių junginių susidarymą reikėtų kontroliuoti.

Histamino ir tiramino skirtinguose augaliniuose produktuose (ypač baltyminguose) koncentracija gali kisti labai smarkiai (Mardiana et al., 2009). Mes nustatėme, kad fermentuojant augalinius produktus daugeliu atvejų histamino ir tiramino kiekis padidėja. Ypač ši tendencija ryški fermentuotuose (savaiminiu raugu ir *Pediococcus acidilactici*) *L. luteus* (tiramino kiekis padidėjo nuo 0 iki 32,6 mg kg⁻¹; (p=0,0003) ir *L. albus* (tiramino kiekis padidėjo nuo 0 iki 169,1 mg kg⁻¹; p<0,0001). Fermentuotuose *Pediococcus acidilactici* *L. luteus* tiramino padaugėjo nuo 0 iki 92,5 mg kg⁻¹ (p<0,0001), o *L. albus* – nuo 0 iki 215,8 mg kg⁻¹ (p<0,0001). Tiramino kiekis padidėjo ir *Pediococcus acidilactici* fermentuojant sojų sėklas 'Progress' ir 'Rudoji'. Jose tiramino buvo atitinkamai 268,3 mg kg⁻¹ ir 416,1 mg kg⁻¹. Yra duomenų, kad sūdytose juodosiose sojų sėklose tiramino koncentracija gali būti net 450 mg kg⁻¹ (Mower, Bhagavan, 1989). Toks tiramino kiekio pagausėjimas galimas dėl lubinuose ir sojų sėklose esančio tirozino (atitinkamai 212 kg⁻¹ N ir 216 kg⁻¹ N) (Sosulski, Holt, 1980), kuris yra tiramino prekursorius. Skirtinguose augaliniuose produktuose buvo stebimos skirtingos tiramino susidarymo tendencijos. Tiramino koncentracijos mažėjimas nustatytas fermentuotose linų sėmenyse: savaiminiu raugu – nuo 82,4 mg kg⁻¹ iki 39,6 mg kg⁻¹ (p=0,0002); *Pediococcus acidilactici* – nuo 82,4 mg kg⁻¹

iki 39,3 mg kg⁻¹ (p=0,0002).

Histamino koncentracija nefermentuotuose augaliniuose produktuose kito nuo 5,4 mg kg⁻¹ iki 7,7 mg kg⁻¹, išskyrus *L. luteus*, kuriuose histamino koncentracija buvo 30,5 mg kg⁻¹. Fermentuojant pasirinktus produktus, histamino kiekis kito netolygiai: vienuose sumažėjo (*Pediococcus acidilactici* fermentuotuose sojų miltuose, linų sėmenyse ir 'Rudoji' veislės sojų sėklose), kituose padidėjo (savaiminiu raugu fermentuotuose lubinuose, sojų miltuose, linų sėmenyse, 'Rudoji' veislės sojų sėklose; *Pediococcus acidilactici* fermentuotuose lubinuose ir 'Progress' veislės sojų sėklose).

Histaminas, tiraminas ir putrescinas įvardijami kaip nepageidaujami pašarų komponentai (McKersie, 1985). Jų susidarymui įtaką daro skirtingi veiksniai, iš kurių svarbiausi yra žaliavos proteolizės laipsnis ir mikrofloros kompozicija (Steidlová, Kalač, 2004). Gamyboje biogeninių aminų formavimosi lėtinimui taikoma skruzdžių rūgštis (3 g kg⁻¹), nes staigus terpės parūgštinimas sulėtina proteolizę pradinėje pašarų fermentacijos stadijoje (Fairbairn et al., 1992). Tačiau žinoma, kad organinės rūgštys yra lemiamas veiksnys, mažinantis enterobakterijų skaičių gyvūnų virškinamajame trakte (Canibe et al., 2005).

Dėl šios priežasties startinių mikroorganizmų taikymas pašarų gamyboje galėtų būti vienas veiksnių, kuriuo galima būtų reguliuoti pašarų saugą – susidarančius BA ir nepakenkti gyvūnų sveikatingumui. Pagal gautus tyrimo rezultatus galima teigti, kad skirtingiems substratams taikant skirtingas fermentacijos schemas, reikėtų tirti BA koncentraciją galutiniame produkte, ir taip užtikrinti saugų BA kiekį.

Išvados:

1. Nefermentuotuose augaliniuose produktuose suminis BA kiekis svyravo nuo 121,8 mg kg⁻¹ (sojų

‘Progress’ sėklose) iki 392,4 mg kg⁻¹ (*L. luteus*). Mažiausiai histamino ir tiramino rasta sojų miltuose (5,4 mg kg⁻¹), o daugiausia – sojų ‘Rudoji’ sėklose (30,5 mg kg⁻¹), feniletilamino – sojų miltuose (37,8 mg kg⁻¹) ir *L. luteus* (240,5 mg kg⁻¹). Mažiausi putrescino, spermidino ir spermio kiekiai – linų sėmenyse (atitinkamai 18,6 mg kg⁻¹; 10,4 mg kg⁻¹ ir 4,4 mg kg⁻¹), didžiausi – sojų ‘Rudoji’ sėklose (atitinkamai 135,5 mg kg⁻¹; 114,4 mg kg⁻¹ ir 17,2 mg kg⁻¹). Kadaverino kiekis svyravo nuo 0 sojų ‘Rudoji’ sėklose iki 34,5 mg kg⁻¹ linų sėmenyse.

2. Fermentacija savaiminiu raugu daro įtaką suminiam BA kiekiui augaliniuose produktuose: jis kinta nuo 493,7 mg kg⁻¹ iki 293,5 mg kg⁻¹ atitinkamai *L. albus* ir *L. luteus* mėginiuose. Taip pat nustatytos skirtingos atskirų BA kitimo tendencijos: feniletilamino kiekis sumažėjo *L. luteus*, *L. albus*, ‘Rudoji’ sojose, padidėjo sojų miltuose, linų sėmenyse, ‘Progress’ sojų sėklose; putrescino kiekis kito nuo 7,2 mg kg⁻¹ iki 39,4 mg kg⁻¹, atitinkamai sojų miltuose ir linų sėmenyse; kadaverino kiekis kito nuo 92,9 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 29,8 mg kg⁻¹ (linų sėmenyse); histamino kiekis kito nuo 5,5 mg kg⁻¹ (‘Progress’ sojų sėklose) iki 52,7 mg kg⁻¹ (*L. albus*), o tiramino – nuo 26,8 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 169,1 mg kg⁻¹ (*L. albus*); spermidino kiekis mėginiuose kito nuo 11 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 44,4 mg kg⁻¹ (*L. albus*); spermio kiekis kito nuo 2,8 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 26,4 mg kg⁻¹ (linų sėmenyse).

3. *Pediococcus acidilactici* veikia BA susidarymą augaliniuose produktuose. Suminis BA kiekis kito nuo 2455,5 mg kg⁻¹ (*L. albus*) iki 143,1 mg kg⁻¹ (linų sėmenyse). Taip pat nustatytos skirtingos skirtingų BA kiekio kaitos tendencijos: feniletilamino kiekis mėginiuose kito nuo 19,2 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 81,2 mg kg⁻¹ (*L. albus*); putrescino – nuo 1951,9 mg kg⁻¹ (*L. albus*) iki 11,3 mg kg⁻¹, (linų sėmenyse); kadaverino *L. luteus* mėginiuose visai nenustatyta, o kituose mėginiuose jo kiekis kito nuo 8,8 mg kg⁻¹ (sojų miltuose) iki 43,8 mg kg⁻¹ (sojų sėklose ‘Progress’). Mažiausias heterociklinių aminų kiekis nustatytas sojų miltuose ir linų sėmenyse (atitinkamai, 3,8 mg kg⁻¹ ir 4 mg kg⁻¹ bei 11,6 ir 39,3 mg kg⁻¹), o daugiausia histamino rasta *L. albus* (96,7 mg kg⁻¹). Daugiausia tiramino buvo sojų sėklose ‘Rudoji’ (416,1 mg kg⁻¹). Spermidino kiekis mėginiuose kito nuo 4,9 mg kg⁻¹ (linų sėmenyse) iki 80,5 mg kg⁻¹ (sojų sėklose ‘Progress’); spermio kiekis kito nuo 2,0 mg kg⁻¹ (linų sėmenyse) iki 23,1 mg kg⁻¹ (*L. albus*).

4. Tirtų produktų fermentacijai saugu naudoti tiek savaiminius raugus, tiek *Pediococcus acidilactici* startinius mikroorganizmus, nes toksinės histamino koncentracijos normos (400–500 mg kg⁻¹) neviršijo nė vienas fermentuotas augalinis produktas.

Padėka. Autoriai dėkoja Lietuvos mokslo tarybai už finansinę paramą, vykdant projekto „Vertingesnių ir saugesnių maisto produktų kūrimas taikant kietafazę fermentaciją“ (Projektas SVE-09/2011) tyrimus.

Literatūra

1. Awan, M. A., Fleet, I., & Thomas, C. L. P. Determination of biogenic diamines with a vaporization derivatisation approach using solid-phase

microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2008. 111. P. 462–468.

2. Beal J.D., Niven S.J., Brooks P.H., Gill B. P. Variation in short chain fatty acid and ethanol concentration resulting from the natural fermentation of wheat and barley for inclusion in liquid diets for pigs. *J. Sci. Food Agric*. 2005. 85. P. 433–440.

3. Beal J.D., Niven S.J., Campbell A., Brooks P.H.. The effect of temperature on the growth and persistence of Salmonella in fermented liquid pig feed. *Int.J. Food Microbiol*. 2002. 79. P. 99–104.

4. Ben-Gigirey B., Baptista de Sousa J. M. V., Villa T. G., Barros-Velazquez J. Characterization of biogenic amine-producing *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from white muscle of fresh and frozen albacore tuna. *International Journal of Food Microbiology*. 2000. 57 (1–2). P. 19–31.

5. Bouchereau A., Guénot P., Larher F.. Analysis of amines in plant materials. *Journal of Chromatography B*. 2000. 747. P. 49–67.

6. Brouns F. Soya isoflavones: a new and promising ingredient for the health food sector. *Food Research International*. 2002. 35. P. 187–193.

7. Canibe N., Højberg O., Højsgaard S., Jensen B. B. Feed physical form and formic acid addition to the feed affect the gastrointestinal ecology and growth performance of growing pigs. *J ANIM SCI* June. 2005. 83. P. 1287–1302.

8. Carelli, D., Centonze, D., Palermo, C., Quinto, M., & Rotunno, T. An interference free amperometric biosensor for the detection of biogenic amines in food products. *Biosensors and Bioelectronics*. 2007. 23. P. 640–647.

9. Cornwell T., Cohick W., Raskin I. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*. 2004.. 65. P. 995–1016.

10. De las Rivas B., Ruiz-Capillas C., Carrascosa A.V., Curiel J.A., Jimenez-Colmenero F., Munoz R. Biogenic amine production by Gram-positive bacteria isolated from Spanish dry-cured “chorizo” sausage treated with high pressure and kept in chilled storage. *Meat Science*, 2008. 80. P. 272–277.

11. De Vries M. C., Vaughan E. E., Kleerebezem M., De Vos W. Optimising single cell activity assesment of *Lactobacillus plantarum* by fluorescent in situ hybridisation as affected by growth. *Journal of Microbiological Methods*. 2004. 59. P. 109–115.

12. Fairbairn, R.L., Alli I. and Phillip L.E. Proteolysis and amino acid degradation during ensilage of untreated or formic acid-treated lucerne and maize. *Grass Forage Sci*. 1992. 47. P. 382–390.

13. Farnword E. R. *Handbook of fermented functional foods*. Boca Raton: CRC Press. 2003.

14. Friedman M., Brandon D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2001. 49. P. 1069–1086.
15. Heres L., Engel B., Van Knapen F., Wagenaar J.A., Urlings B.A.P. Effect of fermented feed on the susceptibility for *Campylobacter jejuni* colonisation in broiler chickens with and without concurrent inoculation of *Salmonella enteritidis*. *Int. J. Food Microbiol.* 2003. 87. P. 75–86.
16. Kalac P., Krausovi P.. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*. 2005. 90. P. 219–260.
17. Kiarie E., Slominski B.A., Nyachoti C.M. Tissue fatty acid profiles, plasma biochemical characteristics and cecal biogenic amines in piglets fed diets containing flaxseed and carbohydrase enzymes. *Livestock Science*. 2009. 121. P. 1–6.
18. Kirschbaum J., Rebscher K., Brückner H.. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in fermented foods after derivatization with 3, 5-dinitrobenzoyl chloride. *Journal of Chromatography A*. 2000. 881. P. 517–530.
19. Kvasnicka F., Voldrich M. Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection. *Journal of Chromatography A*. 2006. 1103. P. 145–149.
20. Lampart – Szczapa E. Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chemistry*. 2003. 83. P. 279–285.
21. Lapa-Guimarces J., Pickova J. New solvent systems for thin-layer chromatographic determination of nine biogenic amines in fish and squid. *Journal of Chromatography A*. 2004. 1045. P. 223–232.
22. Lavon O., Lurie Y., Yedidia B. Scombroid fish poisoning in Israel, 2005–2007. *Israel Medical Association Journal*. 2008. 10. P. 789–792.
23. Mantis F. N., Tsachev I., Sabatakou O., Burriel A. R., Vacalopoulos A., & Ramantanis S. B. Safety and shelf-life of widely distributed vacuum packed, heat treated sausages. *Bulgarian Journal Veterinary Medicine*. 2005. 8 (4). P. 245–254.
24. Mardiana S., Bahruddin S., Noor H. H., Abdussalam S. M. A., Muhammad I. S. Determination of biogenic amines in selected Malaysian food. *Food Chemistry*. 2009. 113. P. 1356–1362.
25. McKersie B.D. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forage. *Agron. J.* 1985. 77. P. 81–86.
26. Messina M., Gardner C., Barnes S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go: commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *Journal of Nutrition*. 2002. 132. P. 547S–551S.
27. Moret S., Smela D., Populin T., Conte L. S. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chemistry*. 2005. 89. P. 355–361.
28. Mower H. F., Bhagavan N. V. Tyramine content of Asian and Pacific foods determined by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*. 1989. 31. P. 251–257.
29. Niba A. T., Beal J. D., Kudi A. C., Brooks P. H. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. *African Journal of Biotechnology*. 2009. 8 (9). P. 1758–1767.
30. Niba A.T., Yajima K., Kudi A.C., Beal J.D., Brooks P.H. Effect of concentration of phenolic compounds of two sorghum varieties on fermentation of sorghum with lactic acid bacteria for inclusion in poultry diets, In: BSAS (Ed.), *Proceedings of the British Society of Animal Science*, Cambridge University Press, Scarborough, U. K. 2008. P. 80.
31. Önal A. A review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*. 2007. 103.(4). P. 1475–1486.
32. Petterson D. S. The use of Lupins in Feeding Systems – Review. *Asian Australian Journal of Animal Science*. 2000. 13. P. 861–882.
33. Russo P., Spano G., Arena M.P., Capozzi V., Fiocco D., Grieco F., Beneduce L. Are consumers aware of the risks related to Biogenic Amines in food? Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. 2010. P. 1087–1095.
34. Segal R. Principiile nutritiei. Editura Academica, Galati, 2002. P. 50–66.
35. Shalaby A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food research international*. 1996. 29. P. 675–690.
36. Skrede G., Herstad O., Sahlstrom S., Holck A., Slinde E., Skrede A. Effects of lactic acid fermentation on wheat and barley carbohydrate composition and production performance in the chicken. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2003. 105. P. 135–148.
37. Sosulski F. W., Holt N. W. Amino acid composition and nitrogen-to-protein factors for grain legumes. *Can. J. Plant Sci.* 1980. 60. P. 1327–1331.
38. Steidlová Š., P Kalač: The effects of lactic acid bacteria inoculants and formic acid on the formation of biogenic amines in grass silages, *Archives of Animal Nutrition*. 2004. 58. P. 245–254.
39. Tassoni A., Germani M. A., Bagni N. Free and conjugated polyamine content in *Citrus sinensis* Osbeck, cultivar brasilino N.L. 92, a Navel orange, at different maturation stages. *Food Chemistry*. 2004. 87. P. 537–541.

40. Wolken W. A., Lucas P. M., Lonvaud-Funel A., Lolkema J. S. The mechanism of the tyrosine transporter TyrP supports a proton motive decarboxylation pathway in *Lactobacillus brevis*. *Journal of Bacteriology*. 2006. 188. P. 2198–2206.

41. Zaman M. Z., Bakar F. A., Jamilah J. S. Occurrence of Biogenic Amines and Amines Degrading Bacteria in Fish Sauce. *Czech J. Food Sci.* 2010. 28 (5). P. 440–449.

Gauta 2012 03 08

Priimta publikuoti 2013 06 12