



Ciência & Saúde Coletiva

ISSN: 1413-8123

cecilia@claves.fiocruz.br

Associação Brasileira de Pós-Graduação em

Saúde Coletiva

Brasil

Barbosa Gomes, Myrna; Duarte Pires, Bruna Amatto; Pimenta Fracalanza, Suely Aparecida; Marin,  
Victor Augustus

O risco das aminas biogênicas nos alimentos

Ciência & Saúde Coletiva, vol. 19, núm. 4, junio-abril, 2014, pp. 1123-1134

Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva

Rio de Janeiro, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63030543013>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## O risco das aminas biogênicas nos alimentos

The risk of biogenic amines in food

Myrna Barbosa Gomes<sup>1</sup>

Bruna Amatto Duarte Pires<sup>2</sup>

Suely Aparecida Pimenta Fracalanza<sup>2</sup>

Victor Augustus Marin<sup>3</sup>

**Abstract** Biogenic amines are low molecular weight organic bases with biological activity, produced by the action of the decarboxylase enzyme. Microorganisms used in food fermentation are able to produce them. Consumption of these compounds causes serious toxicological effects, which are undesirable for human health. Although there is no specific legislation regarding the amine content in food and beverages, the presence and accumulation of amines is a matter of great importance. The aim of this review is to highlight the need for further studies and foment debate about the presence of biogenic amines in a variety of foods.

**Key words** Biogenic amines, Histamine, Tyramine, Food poisoning, Microorganisms

**Resumo** Aminas biogênicas são bases orgânicas de baixo peso molecular com atividade biológica, produzidas a partir da ação da enzima descarboxilase. Microrganismos utilizados na fermentação de alimentos são capazes de produzi-las. O consumo desses compostos causam graves efeitos toxicológicos, indesejáveis para a saúde humana. Embora não exista legislação específica sobre a quantidade máxima permitida de aminas em alimentos e bebidas, a presença e o acúmulo destes compostos é de grande importância. O objetivo desta revisão é evidenciar a necessidade de mais estudos e discutir a presença de aminas biogênicas em alimentos variados.

**Palavras-chave** Aminas biogênicas, Histamina, Tiramina, Intoxicação alimentar, Microrganismos

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília DF

myrnagomes@gmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Microbiologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, Manguinhos, 21.040-900 Rio de Janeiro RJ Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

## Introdução

Os compostos nitrogenados possuem uma importante função metabólica nas células, sendo essenciais para a formação das proteínas presentes no organismo humano. A degradação destes compostos através de enzimas ocorre naturalmente em humanos e esta reação dará origem às aminas biogênicas (AB). As AB são fonte de nitrogênio e precursoras para a síntese de hormônios, alcaloides, ácidos nucleicos e proteínas<sup>1</sup>. Elas também podem influenciar processos no organismo humano como a regulação da temperatura corporal, nutrição e aumento ou diminuição da pressão sanguínea<sup>2</sup>.

Em alimentos as AB derivam principalmente da descarboxilação microbiana dos aminoácidos durante os processos de amadurecimento, deterioração ou transaminação dos aldeídos e cetonas pela aminoácido-transaminase<sup>3</sup>. A produção está ligada à estratégia de sobrevivência do microrganismo aos ambientes ácidos, ou como um suplemento alternativo de energia metabólica quando as células estão expostas a condições desfavoráveis de substrato<sup>4</sup>.

Muitos gêneros bacterianos, incluindo os produtores de ácido lático, são capazes de descarboxilar aminoácidos<sup>5,6</sup>. Entre as bactérias ácido-lácticas (BAL), cepas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc*, podem estar aptas à produção de aminas em vários alimentos como queijo, carne fermentada, vegetais e bebidas<sup>7-9</sup>. Alguns pesquisadores sugerem que os genes que codificam as enzimas da via de produção das AB podem ser transferidos a outros microrganismos através de elementos genéticos móveis<sup>10,11</sup>.

Microrganismos com a atividade de descarboxilase podem ser intencionalmente inseridos no alimento, como cultura *starter*, ou ser um contaminante no processo de produção. A presença de contaminantes nos alimentos pode ser considerada indicadora da qualidade e do grau de higiene da matéria-prima empregada na produção ou como um indicadora dos níveis de higiene preconizados pelo produtor<sup>12,13</sup>.

Entre as principais AB encontradas em alimentos e bebidas estão citadas a histamina, a tiramina, a putrescina e a cadaverina<sup>1</sup>. O consumo de produtos contendo grande quantidade destas aminas pode gerar quadros toxicológicos graves, que são ainda mais severos em consumidores cuja atividade da mono e da diamina oxidase, as enzimas responsáveis pela detoxificação do organismo, estejam reduzidas<sup>14,15</sup>.

Durante as últimas duas décadas, várias metodologias foram desenvolvidas tanto para a detecção de bactérias produtoras de aminas biogênicas, como para meios de cultura diferenciais<sup>7,8</sup>; métodos enzimáticos específicos<sup>16</sup> e também cromatografia líquida<sup>7,8,17</sup>. Entretanto, estes testes apresentam algumas consideráveis desvantagens como: tempo de resposta, resultados falso positivo/negativo, baixa sensibilidade e equipamentos sofisticados de alto custo (HPLC). Métodos moleculares para a detecção e identificação desses microrganismos produtores de AB estão se tornando a melhor alternativa. A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e a hibridização de DNA oferecem vantagens na velocidade, sensibilidade, simplicidade e especificidade na detecção dos genes alvo<sup>18,19</sup>.

O conceito de segurança alimentar em conjunto com a demanda de consumidores de produtos saudáveis e seguros têm promovido estudos sobre componentes de alimentos que produzem efeitos nocivos à saúde humana. Quando se trata de aminas biogênicas, vários países estabeleceram limites de tolerância para sua presença em alimentos. No Brasil, apenas uma portaria trata sobre o assunto, a Portaria nº 185 de 13/05/1997<sup>20</sup>, estabelecendo um limite máximo de 100 ppm para pescados formadores de histamina. A falta de controle do governo, em especial sobre o comércio varejista, entrepostos e indústrias e a falta de conhecimento dessa perigosa intoxicação, tanto pela população como pelos agentes de saúde, podem contribuir para que os alimentos que contêm AB constituam um potencial risco à saúde do consumidor. A revisão do tema foi feita com base em artigos internacionais, devido à escassez de trabalhos no Brasil. O objetivo deste trabalho foi demonstrar a importância do desenvolvimento de pesquisas sobre os diversos aspectos relacionados às aminas biogênicas, capazes de gerar agravos à saúde humana.

### Formação de Aminas Biogênicas

As aminas biogênicas são bases orgânicas com estrutura alifática (putrescina, cadaverina, espermina e espermidina), aromáticas (feniletilamina e tiramina) e heterocíclicas (histamina e triptamina), gerada principalmente pela descarboxilação de seu aminoácido precursor correspondente. Levando-se em consideração a via biossintética, as aminas podem ser classificadas em biogênicas, quando são formadas pela descarboxilação de aminoácidos por enzimas microbianas (histamina, serotonina, tiramina, feniletilamina, triptami-

na, putrescina, cadaverina e agmatina), e em naturais, cuja formação ocorre *in situ* nas células à medida que são requeridas (putrescina, agmatina, espermina, espermidina e histamina)<sup>21</sup>. Aminoácidos livres também podem ocorrer em alimentos ou ser liberados através da proteólise.

Cepas microbianas com alta atividade da enzima proteolítica aumentam o risco de formação de AB em sistemas alimentares, pelo aumento da disponibilidade de aminoácidos livres<sup>22</sup>. Estes compostos são descritos como termoestáveis e tanto o cozimento quanto a exposição prolongada ao calor não atuam sobre a toxina<sup>14,23-25</sup>.

### Efeitos tóxicos

Aminas biogênicas presentes em vários alimentos são amplamente estudadas em função de seu potencial efeito tóxico em seres humanos. A Tíramina e a β-feniletilamina têm sido associadas a crises hipertensivas, traduzidas pelo aumento da pressão sanguínea podendo levar a falhas no coração ou até mesmo a hemorragia cerebral<sup>26-28</sup>.

A amina, histamina, age como um neurotransmissor e um vasodilatador no sistema nervoso central e no sistema cardiovascular. É considerada a agente responsável por alguns episódios de envenenamento alimentar, que se manifestam por reações alérgicas, caracterizadas pela dificuldade de respirar, prurido, erupção, vômito, febre e hipertensão. As pessoas que possuem o mecanismo de detoxificação das AB naturalmente deficientes por razões genéticas ou devido à inibição do mecanismo pelo uso de medicamentos (inibidores de monoamina oxidase) são mais suscetíveis ao envenenamento por histamina<sup>29-31</sup>.

A triptamina tem efeitos tóxicos nos seres humanos promovendo o aumento da pressão arterial, entretanto, não existe um quantitativo máximo de consumo dessa AB relacionado com o efeito tóxico. As poliaminas como a putrescina, espermina, espermidina e cadaverina estão naturalmente presentes em alimentos, envolvidas com o crescimento e a proliferação celular, porém, não foram associadas a efeitos adversos no organismo humano, mas podem reagir com o nitrito e formar as nitrosaminas carcinogênicas, agindo então, como um possível precursor mutagênico<sup>14,28,32</sup>.

### Aminas Biogênicas em alimentos

A principal fonte de AB exógena é proveniente da alimentação, a quantidade e o tipo de aminas nos alimentos em geral, dependem da natu-

reza, origem, etapas de processamento e microrganismos presentes. Muitos países vêm realizando estudos para identificar alimentos que possam conter estes compostos, principalmente os que impactam a saúde e a economia, a exemplo:

### Vinhos

A presença de AB em vinhos tem sido extensivamente estudada nos últimos anos em função de uma maior atenção que vem sendo dada a saúde do consumidor, nele foram identificadas mais de 20 diferentes aminas.

No vinho, os níveis de AB, são relativamente baixos no final da fermentação alcoólica, podendo aumentar durante a fermentação malolática e o envelhecimento, sugerindo, que as BAL são responsáveis por sua produção neste período<sup>33</sup>. Existe uma hipótese que sugere que as bactérias usem a descarboxilação dos aminoácidos como um sistema para extração de maior quantidade de energia metabólica quanto possível dos substratos presentes no meio, permitindo sua sobrevivência<sup>34</sup>.

A variedade e as diferentes concentrações de aminas contidas no vinho podem ser explicadas pelas diferenças no processo de produção, tempo e condições de estocagem, qualidade da matéria-prima e possíveis contaminações microbianas durante as operações na vinícola<sup>34</sup>. Estudos como o de Del Prete et al.<sup>35</sup> mostraram que a variedade da uva, utilizada na produção, também está diretamente relacionada à presença e ao tipo de amina presente no vinho.

As principais AB associadas com o vinho são: histamina, tíramina e putrescina<sup>36-39</sup>, a presença delas é sempre considerada como marcador da baixa qualidade. A maioria dos alimentos fermentados possui concentrações maiores e são mais consumidos que o vinho, porém a presença de álcool neste aumenta a atividade tóxica das aminas já que inibe a ação da enzima monoamina oxidase (MAO)<sup>40-43</sup>.

Para a análise da presença das aminas biogênicas no vinho as técnicas moleculares são escolhidas como principal metodologia, pois são: rápidas, fáceis e reproduutíveis, podendo ser utilizadas em qualquer fase da produção, permitem também que sejam identificados potenciais produtores de AB<sup>44</sup>. Novos estudos estão utilizando os próprios microrganismos, incluídos no processo de fermentação, para minimizar a formação de aminas durante a produção, e nestes casos tais bactérias seriam capazes de degradar as AB formadas reduzindo sua concentração no produto final. Em outros casos a utilização de

bactérias descarboxilase negativas associadas ao gerenciamento do processo de fermentação inhibiam a formação desses compostos<sup>45-47</sup>, já que tanto a pasteurização quanto a variação de pressão não são eficazes na eliminação das aminas biogênicas presentes no meio<sup>48</sup>.

Em alguns países da Europa já foram estabelecidas recomendações quanto à quantidade máxima de histamina aceitável no vinho, 2mg/L na Alemanha, 5-6 mg/L na Bélgica, 8mg/l na França e 12mg/L na Suíça<sup>39</sup>, o que causa impacto na exportação do vinho para esses países.

### **Queijo**

O queijo é um produto sólido derivado do leite, obtido a partir de sua coagulação com enzima ou ácido lático, seguido de separação do soro. Os fermentos utilizados, o método de coagulação e separação do soro e os diferentes tratamentos dados à massa obtida, vão controlar a composição e as características organolépticas do produto final. A diversidade microbiana presente na matéria prima (leite), o que inclui leveduras, fungos, bactérias Gram positivas e Gram negativas, é o elemento núcleo no processo de produção do queijo<sup>49</sup>.

Este produto é um dos alimentos no qual mais comumente podemos encontrar aminas biogênicas<sup>42,50</sup>. Isto se deve, ao fato de que um dos processos bioquímicos que ocorre durante a maturação do queijo, que é a degradação das proteínas, permite o acúmulo de aminoácidos livres. Como resultado, através da atividade das descarboxilases bacterianas, alguns desses aminoácidos podem ser convertidos em aminas biogênicas<sup>3</sup>.

A microbiota presente nos queijos tem diferentes origens (leite, culturas iniciadoras e contaminação) e pode ter seu desenvolvimento afetado por vários fatores como o tratamento do leite, seu armazenamento, as condições de temperatura e pressão e o tempo de maturação<sup>51,52</sup>. No interior do queijo a microflora dominante geralmente corresponde a bactérias ácido lácticas enquanto outros microrganismos (bactérias Gram negativas e leveduras) constituem a microflora sub-dominante ou em alguns casos codominante<sup>53,54</sup>.

Muitos gêneros bacterianos são capazes de produzir as enzimas descarboxilase, e as BAL são suas principais produtoras<sup>55</sup>. As aminas tiramina e putrescina são as mais encontradas em amostras durante a fase de maturação, enquanto a histamina é detectada principalmente na fase final do processo de maturação. Sendo a cadaverina descrita como a mais abundante em queijos

brasileiros<sup>43,51,56-58</sup>. A PCR já é usada para a detecção de bactérias produtoras de AB em leite e queijo e têm sido desenvolvidas técnicas de quantificação baseadas na PCR em tempo real para serem utilizadas em diferentes etapas do processo de produção do queijo<sup>59-61</sup>. No Brasil em 2010 houve um consumo per capita de 3,4 quilogramas de queijo ao ano, ante 2,6 quilogramas em 2000, com um crescimento médio de 2,7% ao ano, no período de 2000 a 2010<sup>62</sup>. O aumento no consumo de queijos no país e a presença de aminas biogênicas mostram a necessidade de se assegurar a qualidade e a segurança deste produto.

### **Peixe**

Esse tipo de alimento é geralmente nutritivo, saudável e barato quando comparado à carne vermelha. Entretanto, podem em algumas ocasiões conter potentes toxinas, como as aminas biogênicas, que ameaçam a saúde dos consumidores. A presença de aminas em peixes foi estudada primeiramente na família *Scombridae*, particularmente o atum, o bonito e a cavatina que são mais suscetíveis ao acúmulo de teores tóxicos de AB, pois apresentam alta concentração de histidina livre nos músculos<sup>63-66</sup>.

Entretanto, outros tipos de peixes como o arenque, a sardinha e a anchova, também tiveram relatos de presença de AB<sup>66</sup>. Em peixes, as aminas biogênicas são formadas principalmente a partir da descarboxilação de aminoácidos específicos livres, por enzimas exógenas liberadas pelos microrganismos associados a frutos do mar<sup>67</sup>. Cepas produtoras de histidina descarboxilase foram isoladas de peixe escombroide em diversos estudos realizados, as mais comuns são: *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*<sup>68,69</sup>. Em peixes, não escombroide, cujos níveis de histidina livre no músculo também são altos, não foram identificadas espécies bacterianas específicas relacionadas à produção das AB<sup>70</sup>. A histamina produzida se acumula no peixe, este quando consumido manifesta a intoxicação, que se caracteriza por um tipo de reação alérgica, com respiração dificultada, prurido, erupção cutânea, vômito, febre e hipertensão, conhecida como “envenenamento escombroide”<sup>29,30</sup>.

Embora o controle da temperatura e das condições higiênicas de manipulação e armazenagem tenham uma importante função na inibição do crescimento de microrganismos mesofílicos, a ocorrência de bactérias psicrotróficas pode resultar na formação de aminas biogênicas<sup>71-73</sup>. O estudo realizado por Kanki et al.<sup>74</sup> sugere que a

atividade enzimática da histidina descarboxilase foi responsável pela formação de histamina e sua ação pode continuar mesmo depois da autólise bacteriana. Metodologias, fenotípica e genotípica, para identificação de uma potencial produção da enzima descarboxilase foram testadas por Muñoz-Altienza et al.<sup>75</sup>, entre o teste em placa, a cromatografia líquida e a PCR, esta última foi a mais precisa em seus resultados. Os inúmeros casos de envenenamento escombroide e a dificuldade de eliminação das aminas acumuladas nos alimentos determinam a importância do controle da qualidade.

### **Produtos Cárneos Fermentados**

Alimentos fermentados são aqueles nos quais microrganismos potencialmente seguros são inoculados ou estimulados a crescer e produzir enzimas, principalmente amilases, proteases e lipases para hidrolisar polissacarídeos, proteínas e lipídios em produtos inofensivos com sabor, aroma e textura agradável e atraente para o consumo<sup>76</sup>. No entanto, estes microrganismos considerados seguros podem produzir substâncias indesejáveis como, por exemplo, as aminas biogênicas.

O processo de fermentação dos alimentos contribui para a formação de aminas biogênicas, pois requer a presença de microrganismos potencialmente produtores de descarboxilase, concentrações adequadas de precursores de aminoácidos livres associado a fatores ambientais que favorecem o crescimento microbiano e a síntese da descarboxilase<sup>77</sup>. A grande concentração de proteínas presente nesses produtos e a atividade proteolítica durante a maturação proveem os precursores para a ação da descarboxilase das culturas iniciadoras e da microflora selvagem<sup>78</sup>. Em vários estudos realizados com estes alimentos a tiramina foi mais comumente encontrada e em maior concentração, porém a putrescina, a cadaverina, a feniletilamina e a triptamina também já foram detectadas em carnes fermentadas<sup>29,78-82</sup>. São poucos os estudos sobre aminas em produtos cárneos brasileiros, onde existem apenas dados sobre os teores de histamina em algumas amostras de linguiça, presunto e salame<sup>63,83</sup> e sobre os teores de aminas na carne e em produtos à base de frango como salsicha, mortadela, linguiça frescal, almôndega, hambúrguer e empanado<sup>84</sup>.

Apesar da determinação destes compostos não ser um procedimento simples nos alimentos, em carnes as dificuldades analíticas são ainda maiores devido a fatores como a complexidade da matriz cárnea (rica em proteínas, com

muitas gorduras e a presença de numerosos ingredientes não cárneos de origem animal ou vegetal), assim como diferentes processamentos a que foram submetidos<sup>85</sup>. Métodos moleculares como a PCR ou hibridização são as mais utilizadas na rotina de identificação de potenciais produtores de compostos aminados<sup>19,86</sup>. As aminas biogênicas em alimentos são de grande interesse, não só por seu risco potencial à saúde humana, mas também porque elas podem ter função como indicadores químicos da presença de contaminação microbiana indesejada.

### **Vegetais**

Os vegetais apresentam uma importante função na nutrição e saúde humanas, por serem fontes de minerais, vitaminas, antioxidantes, fitoesteróis e fibras<sup>87</sup>. Alimentos vegetais podem naturalmente conter aminas biogênicas, já que estas são requeridas no metabolismo celular e no crescimento dos tecidos, entretanto nos vegetais, elas podem também ser produzidas por microrganismos<sup>1,88,89</sup>.

Comer vegetais frescos é a melhor forma de absorver todos os nutrientes benéficos destes alimentos, porém só a lavagem não é um modo efetivo de eliminação das toxinas ou das bactérias patogênicas presentes. Estudos realizados com crucíferas (couve-flor e brócolis) mostraram a ocorrência de aminas biogênicas em grandes concentrações nesses alimentos<sup>90</sup>.

Em alguns vegetais, quando cozidos, ocorre a transferência dos compostos aminados para a água de cozimento, entretanto para as crucíferas, ocorre apenas a redução da concentração<sup>91</sup>. Isto indica que mesmo com o cozimento as AB não são eliminadas do alimento podendo ainda causar seus efeitos tóxicos. Um estudo realizado por Tapingkae et al.<sup>25</sup> mostrou, que as aminas biogênicas são termoestáveis e tanto o cozimento quanto exposição prolongada ao calor são incapazes de eliminar a toxina. Embora poucos estudos tenham abordado a atividade biológica das aminas em produtos vegetais, putrescina e espermidina são as mais comumente presentes. Além disso, várias aminas biogênicas com efeitos potencialmente prejudiciais podem ocorrer em níveis relativamente altos, como a histamina em espinafre e no tomate<sup>92,93</sup>.

### **Cerveja**

A cerveja é uma bebida fermentada composta principalmente por malte, lúpulo, água e levadura, consumida mundialmente em larga escala. Durante sua produção, a fermentação alcoólica

ocorre pela ação de cepas de leveduras selecionadas como *Saccharomyces cerevisiae* (fermentação de topo), *Saccharomyces carlsbergensis* (fermentação de fundo), junto com leveduras selvagens e bactérias ácido-lácticas<sup>94</sup>. É durante o processo de fermentação que pode ocorrer a formação das aminas biogênicas<sup>95</sup>.

Os tipos e a concentração de aminas na cerveja são afetados principalmente pela qualidade das matérias primas, tecnologia empregada, contaminação microbiológica durante o processamento e condições de armazenamento. A presença das AB é caracterizada por sua origem em 3 grupos principais, o primeiro corresponde as naturalmente presentes na matéria prima, a agmatina, a putrescina, a espermidina e a espermina que são usualmente encontradas no malte e a tiramina, a 2-feniletilamina e as poliaminas encontradas no lúpulo.

Ao segundo grupo pertencem as aminas que são geradas durante o processo de mostura e cozimento do mosto, como a tiramina, a agmatina e a cadaverina. As enzimas presentes no malte e a decomposição térmica do aminoácido correspondente são responsáveis pela formação dessas aminas.

O último grupo é composto pela tiramina e a triptamina que podem ser formadas durante a mostura e a fermentação<sup>96</sup>. Buscando eficiência, sensibilidade e rapidez nos resultados, inúmeros métodos de análise têm sido amplamente usados em alimentos, principalmente na cerveja<sup>22,38,39,95,97</sup>.

Em cervejas a presença de aminas biogênicas é de grande interesse, não só pelo risco a saúde humana, mas também por ter uma função indicadora de contaminação por microrganismos indesejados ou por indicar deficiência nas condições de processamento<sup>94</sup>.

Outro fator importante é que o álcool inibe a ação da MAO, amplificando as reações ocorridas pelo acúmulo das AB<sup>98</sup>. A Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD), em parceria com a Unidade de Pesquisa em Álcool e Drogas (UNI-AD) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)<sup>99</sup> realizaram uma pesquisa quanto aos mais variados fatores relacionados ao consumo de bebidas alcoólicas, e dentre os levantamentos realizados, a cerveja foi relatada como a bebida mais consumida entre adultos brasileiros, atingindo 61% das doses anuais. O consumo global de cerveja chegará à marca dos dois bilhões de hectolitros em 2013, segundo a previsão de um dos mais importantes institutos de pesquisa, a Canadean, em seu estudo Global Beer Trends de

2011<sup>100</sup>, mostrando a importância da manutenção da qualidade deste produto.

### Métodos para busca de AB em alimentos

A detecção precoce de bactérias produtoras de aminas biogênicas nos alimentos é essencial para evitar os riscos iminentes à sua presença. Vários métodos para determinar a produção de AB estão sendo desenvolvidos tanto para análises bioquímicas como para moleculares. Com relação à busca por microrganismos produtores de AB, métodos de triagem foram inicialmente baseados no uso de meios de cultura diferenciais contendo indicadores de pH<sup>7,8</sup>.

Métodos analíticos usados para separação e quantificação das aminas são baseados principalmente nas técnicas cromatográficas<sup>101</sup>. Aminas biogênicas de cadeia alifática, entretanto, não conseguem ser detectadas por espectrometria comum, devido à baixa absorção de luz ultravioleta. Sendo então necessários tratamentos específicos para amostras a serem analisadas tornando o processo mais caro<sup>25</sup>.

O uso de ferramentas moleculares para detecção precoce e rápida de microrganismos indesejados nos alimentos tem sido objeto de vários estudos já publicados. Esses métodos independentemente de cultivo, são acurados e confiáveis, usam vários genes alvo sendo possível identificar e/ou quantificar todas as bactérias envolvidas na produção de AB em uma determinada amostra<sup>18,60,102-104</sup>. A relação entre a presença de genes que codificam a descarboxilase e a capacidade para sintetizar AB foi descrita por muitos autores<sup>105-107</sup>. As técnicas da PCR e de hibridização DNA são as metodologias mais importantes, devido às suas vantagens como: rapidez, sensibilidade, simplicidade e especificidade na detecção dos genes alvo. A biologia molecular acelera a obtenção de resultados e permite a introdução antecipada de medidas de controle para evitar o desenvolvimento dos microrganismos presentes. Entre as técnicas moleculares utilizadas, a Multiplex PCR pode ser a mais bem sucedida na rotina de detecção de cepas potencialmente produtoras de histamina, tiramina, putrescina, cadaverina e feniletilamina. Nesta metodologia, todos os alvos podem ser detectados ao mesmo tempo, por uma mesma PCR<sup>104,108-110</sup>.

Os métodos moleculares são altamente específicos e seus resultados são fáceis de interpretar quando comparados com os métodos convencionais, o que os torna os mais indicados para a análise da presença de aminas biogênicas nos alimentos.

## Legislação sobre Aminas Biogênicas

No continente Europeu existem legislações específicas, que determinam uma concentração máxima de AB em alguns tipos de alimentos. Os níveis limite de histamina para pescado fresco é de 100mg/Kg e para produtos curados de 400mg/Kg (Commission Regulation (EC)2073/2005)<sup>111</sup>. A americana Food and Drug Administration (FDA)<sup>112</sup> considera que o nível de histamina possivelmente causador de risco a saúde é igual a 500mg/Kg.

Os limites toxicológicos são difíceis de serem estabelecidos devido à grande diferença entre as pessoas e a robustez de seu sistema de detoxificação. Entretanto concentrações acima de 100mg/Kg de alimento são supostamente deletérias, especialmente em consumidores pertencentes ao grupo de risco – tendo deficiência da MAO<sup>1</sup>. No Brasil há apenas uma legislação sobre concentrações máximas permitidas de histamina e ela trata sobre pescados frescos e seus derivados<sup>20</sup>. Embora essas regulamentações sejam válidas, elas apenas tratam da histamina, enquanto os alimentos podem carregar outras aminas biogênicas, tão perigosas quanto esta.

Outro problema relacionado à regulamentação é que a legislação existente apenas determina a concentração máxima de AB nos alimentos, porém não leva em consideração a presença de microrganismos passíveis de produzirem enzimas descarboxilase após o produto acabado. De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 de 2001<sup>113</sup> existe uma tolerância máxima da presença de algumas bactérias nos mais variados alimentos, quando os resultados analíticos estão dentro dos padrões descritos, os produtos são considerados como “em condição sanitária satisfatória” e liberados para consumo humano. Os parâmetros determinados por esta RDC permitem que muitos alimentos possam apresentar teores tóxicos de aminas biogênicas devido à presença, mesmo que pequena, de microrganismos. Por isso faz-se necessária, no mínimo, a detecção dos genes que codificam para AB em coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva e *Bacillus cereus*.

## Conclusão

É de grande importância o estudo da presença de aminas biogênicas em alimentos, particularmente pelo seu potencial tóxico e a possibilidade de serem encontradas em carnes, leite, salsicha, chocolate, queijos, peixes, legumes e algumas bebidas<sup>14,29,114</sup>. Inúmeros métodos para a identificação precoce e quantificação de AB são utilizadas para que a antecipação da presença desses compostos possa prevenir casos graves de intoxicação. Entretanto considera-se que a ocorrência desses casos seja geralmente subestimada, não só devido à subnotificação como também pelo erro no diagnóstico.

Outra questão crítica a ser considerada é a grande variação da resposta clínica, que depende da quantidade de AB ingerida e da susceptibilidade individual. Grandes quantidades ingeridas podem não ser perigosas caso sejam rapidamente e apropriadamente removidas pelo sistema de detoxificação individual. Entretanto características genéticas, estado de saúde, alterações metabólicas, idade e inibição pelo consumo simultâneo de bebidas alcoólicas, outros alimentos ou medicamentos, podem diminuir a atividade intestinal das aminas-oxidases e das metiltransferases e o sistema não funcionar como necessário.

Segurança é requisito básico que deve sempre ser satisfeita na produção de alimentos. Embora os altos níveis de AB estejam relacionados à saúde do consumidor, suas concentrações em alimentos não foram ainda adequadamente padronizadas pelas agências regulatórias. No Brasil, poucos trabalhos têm sido realizados com relação às aminas biogênicas, o que dificulta a determinação de parâmetros passíveis de serem utilizados como base para criação de ações regulatórias.

Portanto a importância da necessidade de novas pesquisas sobre aminas biogênicas não está apenas pautada na saúde da população em seu aspecto de vigilância sanitária, mas também nos problemas econômicos que podem ser gerados pela presença desses compostos tóxicos em alimentos destinados a exportação.

## Colaboradores

MB Gomes, BAD Pires, SAP Fracalanza e VA Marin participaram igualmente de todas as etapas de elaboração do artigo.

## Referências

- Silla Santos MH. Biogenic amines: their importance in foods. *Int J Food Microbiol* 1996; 29(2-3):213-231.
- Greif G, Greifova M, Drdak M. Stanovenie biogénnych amínov v potravinách •ivočíšneho pôvodu metódou HPLC. *Potrat. Vidy* 1997; 15:119-129.
- Halász A, Baráth A, Simon-Sarkadi L, Holzapfel W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science Technology* 1994; 5(2):42-49.
- Cotter PD, Hill C. Surviving the acid test: responses of Gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67(3):429-445.
- Marcabal A, de las Rivas B, Moreno-Arribas MV, Munoz, R. Identification of the ornithine decarboxylase gene in the putrescine-producer *Oenococcus oeni* BIFI-83. *FEMS Microbiol Lett* 2004; 239(2):213-220.
- Garai G, Duenas MT, Irastorza A, Moreno-Arribas MV. Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45(5):473-478.
- Maijala RL. Formation of histamine and tyramine by some lactic acid bacteria in MRS broth and modified decarboxylation agar. *Lett Appl Microbiol* 1993; 17(1):40-43.
- Bover-Cid S, Holzapfel W. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 1999; 53(1):33-41.
- Moreno-Arribas V, Polo MC, Jorganes F, Munoz R. Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *Int J Food Microbiol* 2003; 84(2):117-123.
- Marcabal A, de las Rivas B, Moreno-Arribas MV, Munoz R. Evidence for horizontal gene transfer as origin of putrescine production in *Oenococcus oeni* RM83. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(12):7954-7958.
- Coton E, Coton M. Evidence of horizontal transfer as origin of strain to strain variation of the tyramine production trait in *Lactobacillus brevis*. *Food Microbiol* 2009; 26(1):52-57.
- Fernández-García EJT, Nunez M. Formation of biogenic amines in raw milk Hispánico cheese manufactured with proteinases and different levels of starter culture. *J Food Prot* 2000; 63(11):1551-1555.
- Roig-Sagués AX, Molina AP, Hernández-Herrero MM. Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. *Eur Food Res Technol* 2002; 215:96-100.
- Shalaby AR. Significance of biogenic amines in food safety and human health. *Food Research International* 1996; 29(7):675-690.
- Bodmer S, Imark C, Kneubühl M. Biogenic amines in food. Histamine and food processing. *Inflamm Res* 1999; 48(6):296-300.
- Sumner SS, Taylor SL. Detection method for histamine-producing, dairy-related bacteria using diamine oxidase and leucocrystal violet. *J Food Prot* 1989; 52(2):105-108.
- Straub BW, Kicherer M, Schilcher SM, Hammes WP. The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Z Lebensm Unters Forsch* 1995; 201(1):79-82.

18. Marcabal A, de las Rivas B, Muñoz R. Methods for the detection of bacteria producing biogenic amines on foods: a survey. *J Verbr Lebensm* 2006; 1(3):187-196.
19. Landete JM, de Las Rivas B, Marcabal A, Muñoz R. Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods. *Int J Food Microbiol* 2007; 117(3):258-269.
20. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº185, de 13 de maio de 1997 da Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952 e Considerando a Resolução Mercosul GMC nº 40/94, que aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). *Diário Oficial da União* 1997; 19 maio.
21. Bardócz S, Duguid TJ, Brown DS, Grant G, Puszta A, White A, Ralph A. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *Br J Nutr* 1995; 73(6):819-828.
22. Karovièova J, Kohajdova Z. Biogenic Amines in Food. *Chemical Paper* 2005; 59(1):70-79.
23. Duflos G. Histamine risk in fishery products. *Bulletin del Académie Veterinaire de France* 2009; 162(3):241-246.
24. Gonzaga VE, Lescano AG, Huamán AA, Salmn-Mulanovich G, Blazes DL. Histamine levels in fish from markets in Lima, Peru. *J Food Prot* 2009; 72(5): 1112-1115.
25. Tapingkae W, Tanasupawat S, Parkin KL, Benjakul S, Visessanguan W. Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt-fermented fishery products. *Enzyme Microbial Technology* 2010; 46(2):92-99.
26. Til HP, Falke HE, Prinsen MK, Willems MI. Acute and subacute toxicity of tyramine, spermidine, spermine, putrescine and cadaverine in rats. *Food Chem Toxicol* 1997; 35(3-4):337-348.
27. Mohan CO, Ravishankar CN, Gopal TKS, Kumar KA, Lalitha KV. Biogenic amines formation in seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks packed with O<sub>2</sub> scavenger during chilled storage. *Food Research International* 2009; 42(3):411-416.
28. Kalac P. Recent advances in the research on biological roles of dietary polyamines in man. *Journal of Applied Biomedicine* 2009; 7(2):65-74.
29. Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC. Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *Journal of Agriculture Food Chemical* 1997; 45(6):2098-2102.
30. Yongmei L, Xiaohong C, Mei J, Xin L, Rahman N, Mingsheng D, Yan G. Biogenic amines in Chinese soy sauce. *Food Control* 2009; 20(6):593-597.
31. Naila A, Flint S, Fletcher G, Bremer P, Meerdink G. Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches. *J Food Sci* 2010; 75(7):R139-150.
32. Kim MK, Mah JH, Hwang HJ. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *Food Chemical* 2009; 116(1):87-95.
33. Polo L, Ferrer S, Peña-Gallego A, Hernández-Orte P, Pardo I. Biogenic amine synthesis in high quality Tempranillo wines. Relationship with lactic acid bacteria and vinification conditions. *Ann Microbiol* 2011; 61(1):191-198.
34. Lonvaud-Funel A. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 199(1):9-13.
35. Del Prete V, Costantini A, Cecchini F, Morassut M, Garcia-Moruno E. Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes. *Food Chemistry* 2009; 112(2):474-481.
36. Marcabal A, Martín-Álvarez PJ, Polo MC, Muñoz R, Moreno-Arribas MV. Formation of biogenic amines throughout the industrial manufacture of red wine. *J Food Prot* 2006; 69(2):391-396.
37. Ferreira IM, Pinho O. Biogenic amines in Portuguese traditional foods and wines. *J Food Prot* 2006; 69(9):2293-2303.
38. Ancín-Azpilicueta C, González-Marco A, Jiménez-Moreno N. Current knowledge about the presence of biogenic amines in wine. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008; 48(3):257-275.
39. Smit AY, Du Toit WJ, Du Toit M. Biogenic amines in wine: understanding the headache. *South African Journal of Enology and Viticulture* 2009; 29(2):109-127.
40. Ten Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huis in't Veld JJJ. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol* 1990; 11(1):73-84.
41. Izquierdo-Pulido M, Mariné-Font A, Vidal-Carou MC. Effect of tyrosine on tyramine formation during beer fermentation. *Food Chemistry* 2000; 70(3):329-332.
42. Stratton JE, Hutchins RW, Taylor SL. Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review. *J Food Prot* 1991; 54(6):460-470.
43. Fernández M, Linares DM, Rodríguez A, Alvarez MA. Factors affecting tyramine production in *Enterococcus durans* IPLA 655. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 73(6):1400-1406.
44. Landete JM, de las Rivas B, Marcabal A, Muñoz R. PCR methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on wine. *Ann Microbiol* 2010; 61(1):159-166.
45. García-Ruiz A, González-Rompinelli EM, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV. Potential of wine-associated lactic acid bacteria to degrade biogenic amines. *Int J Food Microbiol* 2011; 148(2):115-120.
46. Schneider I, Ansorge A, Herr P. The biogenic amine histamine: physiological effect and concentrations in wine. *Journal of Plant Pathology* 2011; 93(Supl. 1):39-42.
47. Smit AY, Engelbrecht L, Du toit M. Managing your wine fermentation to reduce the risk of biogenic amine formation. *Front Microbiol* 2012; 3:76.
48. Ladero V, Sánchez-Llana E, Fernández M, Alvarez MA. Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurization conditions. *International J Food Sci and Technology* 2011; 46(3):516-521.

49. Delbès-Pausa C, Pochet S, Helinck S, Veissiere P, Bord C, Lebecque A, Coton M, Desmasures N, Coton E, Irlinger F, Montel MC. Impact of Gram-negative bacteria in interaction with a complex microbial consortium on biogenic amine content and sensory characteristics of an uncooked pressed cheese. *Food Microbiol* 2012; 30(1):74-82.
50. Innocente N, D'Agostin P. Formation of biogenic amines in a typical semihard Italian cheese. *J Food Prot* 2002; 65(9):1498-1501.
51. Novella-Rodríguez S, Veciana-Nogués MT, Roig-Sagués AJ, Trujillo-Mesa AJ, Vidal-Carou MC. Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *J Dairy Res* 2004; 71(2):245-252.
52. Fernández M, Linares D, del Río B, Ladero V, Alvarez MA. HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. *J Dairy Res* 2007; 74(3):276-282.
53. Abriouel H, Martín-Platero A, Maqueda M, Valdivia E, Martínez-Bueno. Biodiversity of the microbial community in a Spanish farmhouse cheese as revealed by culture-dependent and culture-independent methods. *Int J Food Microbiol* 2008; 127(3):200-208.
54. Larpin-Laborde S, Imran M, Bonaiti C, Bora N, Gelsomino R, Goerges S, Irlinger F, Goodfellow M, Ward A, Vancanneyt M, Swings J, Scherer S, Gueguen M, Desmasures N. Surface microbial consortia from a French smear ripened cheese: about current knowledge in cheese microbiology. *Can J Microbiol* 2011; 57(8):651-660.
55. Özogul F. Effects of specific lactic acid bacteria species on biogenic amine production by foodborne pathogen International. *J Food Sci and Technology* 2011; 46(3):478-484.
56. Vale SR, Gloria MBA. Biogenic amines in Brazilian cheeses. *Food Chemistry* 1998; 63(3):343-348.
57. Valsamaki K, Michaelidou A, Polychroniadou A. Biogenic amine production in feta cheese. *Food Chemistry* 2000; 71(2):259-266.
58. 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*. *International J Food Sci and Technology* 2001; 36(2):153-160.
59. Fernández M, del Rio B, Linares DM, Martín MC, Alvarez MA. Real-time polymerase chain reaction for quantitative detection of histamine producing bacteria: use in cheese production. *J Dairy Sci* 2006; 89(10):3763-3769.
60. Ladero VM, Linares DM, Fernández M, Alvarez MA. Real time quantitative PCR detection of histamine-producing lactic acid bacteria in cheese: relation with histamine content. *Food Research International* 2008; 41(10):1015-1019.
61. 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, Ladero V, Alvarez M, Fernández M, Lopez P, de Palencia PF, Corbi A, Trip H, Lolkema JS. Biogenic amines in fermented foods. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(Supl. 3):S95-S100.
62. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Food and Agriculture Organization (FAO). *Agricultural Outlook 2011-2020: Database*. [Internet]. [acessado 2012 fev 20]. Disponível em: <http://www.agri-outlook.org/document/>
63. Leitão MFF, Baldini VLS, Salles AM. Histamina em pescado e alimentos industrializados. *Coletânea do ITAL* 1983; 13:123-130.
64. Gomaa MN, Soliman KM, Embaby MA, Ayesha AM. Simultaneous occurrence of saxitoxins and biogenic amines in mackerel fish. *African Journal of Microbiology Research* 2011; 5(29):5178-5187.
65. Hwang CC, Kung HF, Lin CS, Hwang DF, Hsiang Y. Bacteriological quality and histamine-forming bacteria associated with fish meats and environments in HACCP and non-HACCP fish processing factories. *Tsai Food Control* 2011; 22(10):1657-1662.
66. Fadhloui-Zida K, Curiel K, Landeta G, Fattoucha S, Reverón I, de las Rivas B, Sadok S, Muñoz R. Biogenic amine production by bacteria isolated from ice-preserved sardine and mackerel. *Food Control* 2012; 25(1):89-95.
67. An H, Ben-Gigirey B. Scombrotoxin poisoning. In: Millar I, Gray D, Strachan N, editors. *Microbiology of seafoods*. London: Chapman & Hall Ltd.; 1998. p. 68-69.
68. Kim SH, Field KG, Morrissey MT, Price RJ, Wei CI, An HJ. Source and identification of histamine-producing bacteria from fresh and temperature-abused albacore. *J Food Prot* 2001; 64(7):1035-1044.
69. Tsai YH, Lin CY, Chang SC, Chen HC, Kung HF, Wei CI. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiol* 2005; 22(5):461-467.
70. Erkan N, Özden O. Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. International. *J Food Sci & Technology* 2008; 43(9):1549-1559.
71. Lakshmanan R, Shakila RJ, Jeyasekaran G. Survival of amine forming bacteria after the ice storage of fish and shrimp. *Food Microbiol* 2002; 19(6):617-625.
72. Kanki M, Yoda T, Ishibashi M, Tsukamoto T. *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *Int J Food Microbiol* 2004; 92(1):79-87.
73. Rezaei M, Montazeri N, Langrudi HE, Mokhayeri B, Parviz M, Nazarinia A. The biogenic amines and bacterial changes of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice. *Food Chemistry* 2007; 103(1):150-154.
74. Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Baba E. Histidine decarboxylases and their role in accumulation of histamine in tuna and dried saury. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73(5):1467-1473.
75. Muñoz-Atienza E, Landeta G, de las Rivas B, Gómez-Sala B, Muñoz R, Hernández PE, Cintas LM, Herranz C. Phenotypic and genetic evaluations of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from fish and fish products. *Int J Food Microbiol* 2011; 146(2):212-216.
76. Singh VP, Sachan N. Processing proprieties of milk. *Processed Food Industry* 2011; 14:23-26.

77. Curiel JA, Ruiz-Capillas C, de las Rivas B, Carrascosa AV, Jiménez-Colmenero F, Muñoz R. Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and enterobacteria isolated from fresh pork sausages packaged in different atmospheres and kept under refrigeration. *Meat Sci* 2011; 88(3):368-373.
78. Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(1):41-54.
79. Bover-Cid S, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC. Influence of hygienic quality of raw material on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausages. *J Food Prot* 2000; 63(11):1544-1550.
80. Parente E, Martuscelli M, Gardini F, Grieco S, Crudele MA, Suzzi G. Evolution of microbial populations and biogenic amine production in dry sausages produced in Southern Italy. *J App Microbiol* 2001; 90(6):882-891.
81. Bover-Cid S, Miguelez-Arrizado MJ, Moratalla LLL, Vidal-Carou MC. Freezing of meat raw material affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. *Meat Sci* 2006; 72(1): 62-68.
82. Galgano F, Favati F, Bonadio M, Lorusso V, Romano P. Role of biogenic amines as index of freshness in beef meat packed with different biopolymeric material. *Food Research International* 2009; 42(8):1147-1152.
83. Caccioppoli I, Custódio FB, Vieira SM, Coelho JV, Glória MBA. Aminas bioativas e características físico-químicas de salames tipo italiano. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia* 2006; 58(4):648-657.
84. Silva CMG, Glória MBA. Bioactive amines in chicken breast and thigh after slaughter and during storage at  $4\pm1^\circ\text{C}$  and in chicken-based meat products. *Food Chemistry* 2002; 78(2):241-248.
85. Triki M, Jiménez-Colmenero F, Herrero AM, Ruiz-Capillas C. Optimization of a chromatographic procedure for determining biogenic amine concentrations in meat and meat products employing a cation-exchange column with a post-column system. *Food Chemistry* 2012; 130(4):1066-1073.
86. Björnsdóttir-Butler K, Bolton GE, Jaykus LA, McClellan-Green PD, Green DP. Development of molecular-based methods for determination of high histamine producing bacteria in fish. *Int J Food Microbiol* 2010; 139(3):161-167.
87. Wennberg M, Ekwall MJ, Olsson K, Nyman M. Changes in carbohydrate and glucosinolate composition in white cabbage (*Brassica oleracea* var. Capitata) during blanching and treatment with acetic acid. *Food Chemistry* 2006; 95(2):226-236.
88. Matilla AJ. Polyamines and seed germination. *Seed Science Research* 1996; 6(3):81-93.
89. Glória MBA, Tavares-Neto J, Labanca RA, Carvalho MS. Influence of cultivar and germination on bioactive amines in soybeans (*Glycine max L* var. Merrit). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005; 53:7480-7485.
90. Martínez-Villaluenga C, Frías J, Gulewicz P, Gulewicz K, Vidal-Valverde C. Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46(5):1635-1644.
91. Shalaby AR. Changes in biogenic amines in mature and germinating legume seeds and their behaviour during cooking. *Nahrung* 2000; 44(1):23-27.
92. Moret S, Snela D, Populin T, Conte LS. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chemistry* 2005; 89(3):355.
93. Lavizzari T, Veciana-Nogués MT, Bover-Cid S, Mariné-Font A, Vidal-Carou MC. Improved method for the determination of biogenic amines and polyamines in vegetable products by ion-pair high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 2006; 1129(1):67-72.
94. Sarkadi LS. Biogenic Amines. In: Stadler RH, Lineback DR, editors. *Process-induced food toxicants-occurrence, formation, mitigation, and health risks*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2009. p. 321-363.
95. Almeida C, Fernandes JO, Cunha SC. A novel dispersive liquid liquid microextraction (DLLME) gas chromatography mass spectrometry (GCeMS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer. *Food Control* 2012; 25(1):380-388.
96. Slomkowska A, Ambroziak W. Biogenic amines profile of the most popular polish beers. *Eur Food Res Technol* 2002; 215(5):380-383.
97. Sohrabvandi S, Mortazavian AM, Rezaei K. Advanced Analytical Methods For The Analysis of Chemical And Microbiological Properties of Beer. *Journal of Food and Drug Analysis* 2011; 19(2):202-222.
98. Russo P, Spano G, Arena MP, 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 an Microbial Biotechnology. In: Méndez-Vilas A, editor. [Internet]. [acessado 2014 mar 1]. Disponível em: <http://www.formatec.info/microbiology2/1087-1095.pdf>
99. Laranjeira R, Pinsky I, Zaleski M, Caetano R, Duarte PCAV. Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira. Brasília: Secretaria Nacional Antidrogas; 2007.
100. Global beer trend 2011. Canadeans.
101. Casella IG, Gatta M, Desimoni E. Determination of histamine by high-pH anion-exchange chromatography with electrochemical detection. *Food Chemistry* 2001; 73(3):372.
102. Lucas P, Lonvaud-Funel A. Purification and partial gene sequence of the tyrosine decarboxylase of *Lactobacillus brevis* IOEB 9809. *FEMS Microbiol Lett* 2002; 211(1):85-89.
103. Coton E, Coton M. Multiplex PCR for colony direct detection of Gram positive histamine- and tyramine-producing bacteria. *J Microbiol Methods* 2005; 63(3):296-304.
104. Nannelli F, Claisse O, Gindreau E, de Revel G, Lonvaud-Funel A, Lucas PM. Determination of lactic acid bacteria producing biogenic amines in wine by quantitative PCR methods. *Lett Appl Microbiol* 2008; 47(6):594-599.

105. Fernández M, Linares DM, Alvarez MA. Sequencing of the tyrosine decarboxylase cluster of *Lactococcus lactis* IPLA 655 and the development of a PCR method for detecting tyrosine decarboxylating lactic acid bacteria. *J Food Prot* 2004; 67(11): 2521-2529.
106. Landete JM, Ferrer S, Polo L, Pardo I. Biogenic amines in wines from three Spanish regions. *J Agric Food Chem* 2005; 53(4):1119-1124.
107. Lucas PM, Wolken WAM, Claisse O, Lolkema JS, Lonvaud-Funel A. Histamine-producing pathway encoded on an unstable plasmid in *Lactobacillus hilgardii* 0006. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(3): 1417-1424.
108. Marcabal A, de las Rivas B, Moreno-Arribas MV, 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(4):874-878.
109. De las Rivas B, Marcabal A, Muñoz R. Improved multiplex-PCR method for the simultaneous detection of food bacteria producing biogenic amines. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 244(2):272- 367
110. De las Rivas B, Marcabal A, Carrascosa A, Muñoz R. PCR detection of food bacteria producing the biogenic amines histamine, tyramine, putrescine and cadaverine. *J Food Prot* 2006; 69(10):2509-2514.
111. Commission Regulation (EC). 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Off. J. Eur. Union L* 2005; 338:1-26.
112. FDA (CFSAN). Scombrotoxin (histamine) formation. In: Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood. *Fish and fishery products hazards and controls guide*. 3<sup>th</sup> ed. Washington: Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood; 2001.
113. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União* 2001; 10 jan.
114. Eerola S, Sagues AXR, Lilleberg L, Aalto H. Biogenic amines in dry sausages during shelf-life storage. *Zeitung Lebensmittel For Untersuchung und Forschung A* 2007; 205:351-355.