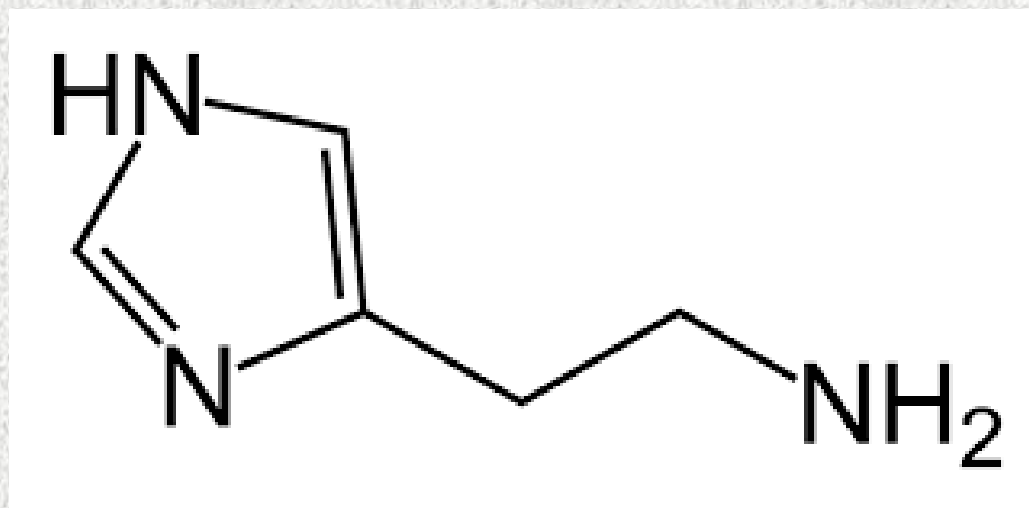


# РОЛЯТА НА МИКРОБНИЯ ФАКТОР ЗА ПРОДУКЦИЯТА НА ХИСТАМИН В ХРАНИТЕ

Проф. д-р Йордан Гогов – БААЛИД,  
Гл.ас. д-р Гергана Крумова-Вълчева - НДНИВМИ



# ВЪВЕДЕНИЕ

- ❖ Интензивната международна търговия с храни създава възможност за разпространение на опасни продукти, съдържащи високи количества **биогенни амини**, сред които водещо място заема **хистамина**.

# ВЪВЕДЕНИЕ



- ❖ Научните проучвания върху хистамина са мотивирани преди всичко от регистрираните многобройни случаи на хистаминови интоксикации в различни региони на света.

# ВЪВЕДЕНИЕ



- ❖ Съществуващата база данни за оценката на риска и съдържанието на хистамин в храните е недостатъчна.
- ❖ Ограничена е информацията относно токсичният ефект, дозата - отговор и реалното съдържание на хистамин в основните рискови храни.

# ХИМИЧНА СТРУКТУРА НА ХИСТАМИНА

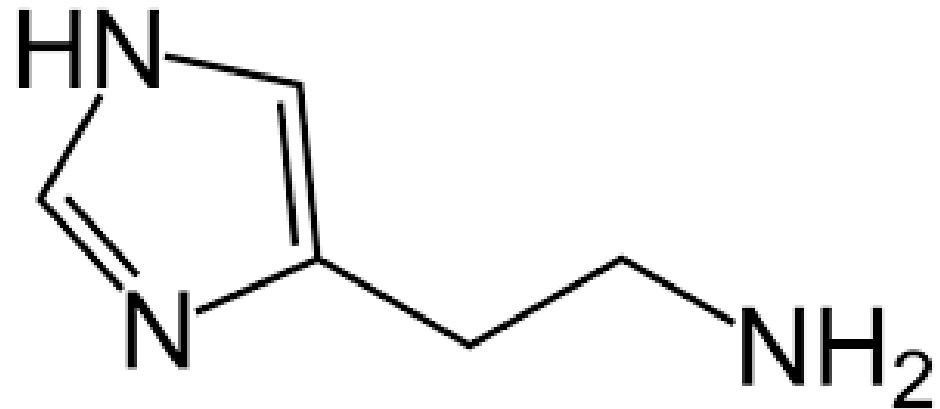


❖ Химичната структура на хистамина и неговото биологично действие върху човешкият организъм са обект на изследване в редица експериментални научноизследователски лаборатории.

# ХИМИЧНА СТРУКТУРА НА ХИСТАМИНА



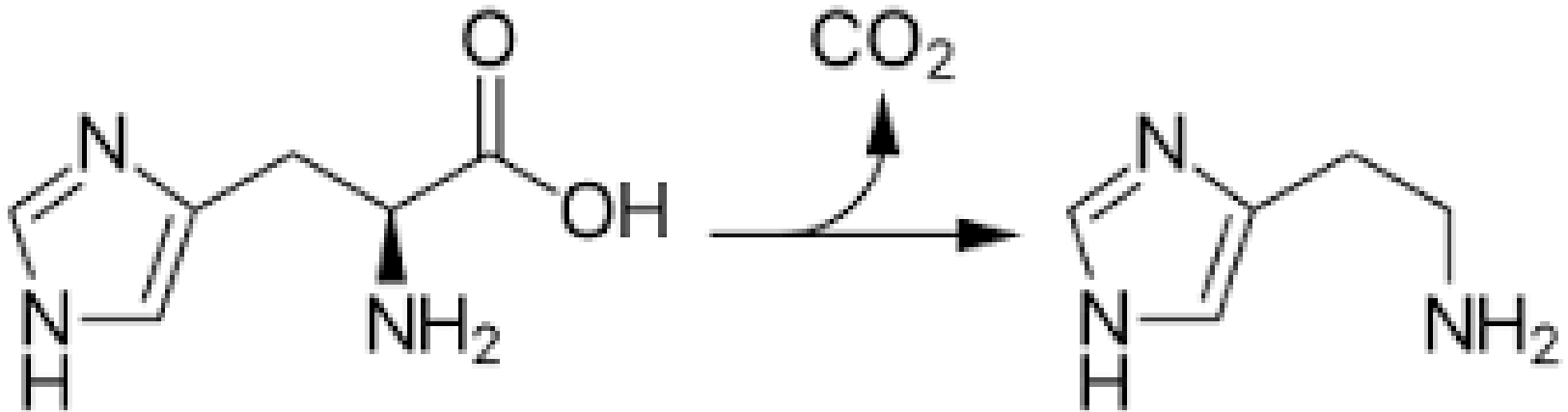
❖ Хистаминът е хетероциклен амин и се отнася към диамините.



# ХИМИЧНА СТРУКТУРА НА ХИСТАМИНА



- ❖ Разгражда се от ензима **диаминооксидаза /ДАО/**.
- ❖ Синтезът му е резултат от декарбоксилирането на аминокиселината **ХИСТИДИН**.



# ХИСТАМИНОГЕНЕЗА



- ❖ Образуването на хистамин в храните се обуславя от следните основни фактори:
  1. Наличие на свободен **L-хистидин**;
  2. Присъствие на микроорганизми синтезиращи **хистидин-декарбоксилаза**;
  3. Наличие на подходящи условия за развитие на микроорганизмите.



# ХИСТАМИНОГЕНЕЗА



❖ Важна роля при декарбоксилирането на хистидина се отдава на **микробният фактор.**

# РОЛЯТА НА МИКРОБНИЯ ФАКТОР



- ❖ При рибата и рибните продукти водещо място в образуването на хистамин имат психрофилни и мезофилни представители на родовете *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Hafnia* и др.

# РОЛЯТА НА МИКРОБНИЯ ФАКТОР



- ❖ В млякото и млечните продукти по-често се установяват представители на родовете *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* и *E. coli*.

# РОЛЯТА НА МИКРОБНИЯ ФАКТОР



❖ Във различните ферментирани  
храни и напитки се откриват  
представители на родовете  
*Pediococcus*, *Lactobacillus*,  
*Leuconostok*, *Oenococcus* и  
*Tetragenococcus*.

# УСЛОВИЯ ЗА ПРОДУКЦИЯ НА ХИСТАМИН



- ❖ За синтеза на хистамин е необходим субстрат от аминокиселината хистидин.
- ❖ Важен фактор се явява протеолизата, тъй като същата се свързва с наличието на свободни аминокиселини.
- ❖ Походящите условия за ускорена и повишена протеолиза в храната стимулира образуването на хистамин.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на температурата*

- ❖ Продукцията на хистамин е в тясна връзка с температурата и времето за размножаване на микроорганизмите.
- ❖ С повишаване на температурата, количеството на образувания хистамин се увеличава, а при понижаване на температура количеството му намалява.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на температурата*

*/продължение/*

- ❖ Оптималната температура за синтез на хистамин е между 20 и 37<sup>0</sup>С.
- ❖ При температури под 5<sup>0</sup>С и над 40<sup>0</sup>С образуването на хистамин значително намалява.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на температурата /продължение/*

- ❖ Важно значение в този процес имат психротолерантните бактерии.
- ❖ Продължителното съхранение на храните при неподходящи условия стимулира процеса на хистаминогенеза.



# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на рН*

- ❖ Нивото на водородо-йонната концентрация /рН/ влияе върху активността на декарбоксилазата.
- ❖ Установени са два вида свързани механизми, действащи едновременно.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на рН*

/продължение/

- ❖ Единият оказва влияние върху растежа чрез подкисляване, което инхибира растежа на микроорганизмите.
- ❖ Вторият механизъм влияе върху ензимната продуктивност.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на рН*

/продължение/

- ❖ При по-ниски стойности на рН, бактериите са стимулирани да произвеждат повече декарбоксилаза, като част от техния защитен механизъм срещу повишената киселинност на средата.
- ❖ Тези противоположни фактори се влияят помежду си и крайният резултат се определя от техния баланс.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на натриевият хлорид*

- ❖ При високи концентрации на сол в средата, активността на хистидин-декарбоксилазата е потисната.
- ❖ Високите концентрации на натриев хлорид подтискат развитието на значителна част от микрофлората с изключение на халотолерантните микроорганизми.
- ❖ Установена е и щамова специфичност.

# УСЛОВИЯ ЗА РАЗВИТИЕ НА МИКРОФЛОРАТА В ХРАНАТА



## *Влияние на кислорода и Aw стойност*

- ❖ Доказано е, че при наличие на кислород, активността на хистидин-декарбоксилазата се понижава.
- ❖ Промените в редоксипотенциала на средата оказват съществено влияние върху продукцията на хистамин.
- ❖ За нормалното развитие и ензимната продукция на бактериите важно значение се отдава и на оптималната Aw стойност за съответната група микроорганизми.

# МИКРОБНА ФЕРМЕНТАЦИЯ

- ❖ Активно участие в микробната ферментация имат различни представители на род *Lactobacillus*.
- ❖ Млечнокиселите микроорганизми в хранителните продукти разграждат интензивно млечната захар до млечна киселина , което е целенасочен технологичен процес за производството на различни асортименти ферментирани храни.



❖ В научните изследвания няма данни за синтез на биогенни амини, в т.ч. и на хистамин от дрожди и плесени в процеса на ферментация

# ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРООРГАНИЗМИ, ПРОДУЦИРАЩИ ДЕКАРБОКСИЛАЗА

- ❖ Първите опити за откриване на микроорганизми, синтезиращи декарбоксилаза са основани на техниката *in vitro* - в диференциращи хранителни среди, съдържащи специфични субстрати и индикатори на рН.



# ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРООРГАНИЗМИ, ПРОДУЦИРАЩИ ДЕКАРБОКСИЛАЗА

❖ Като цяло посочените техники с хранителни среди притежават редица несъвършенства.

# ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРООРГАНИЗМИ, ПРОДУЦИРАЩИ ДЕКАРБОКСИЛАЗА

- ❖ При използването им твърде често се получават противоречиви резултати – значителен процент фалшиво положителни и фалшиво отрицателни резултати, което ги прави неподходящи за изпитване на декарбоксилазната активност.

# ДЕТЕКЦИЯ НА МИКРООРГАНИЗМИ, ПРОДУЦИРАЩИ ДЕКАРБОКСИЛАЗА

- ❖ Други прилагани техники за откриване на декарбоксилаза са базирани на измерване нивото на въглеродния диоксид, ензимни и химични тестове.

# МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

- ❖ Връзката между наличието на ген, кодиращ декарбоксилаза и способността да се синтезира хистамин е проучвана от много изследователи.

# МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

- ❖ Откриването на такива гени чрез техниката на PCR се явява перспективен модел.
- ❖ Независимо от това, тази техника има и някои недостатъци.
- ❖ На практика с тях се демонстрира само потенциал за продукция на хистамин, а не реална продукция на биологично активен ензим.

# МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

- ❖ Техниката на PCR може да се използва и за директно определяне на декарбоксилиращи гени в храните.
- ❖ Амплифицираните PCR-фрагменти може да предположат наличие на микроорганизми, продуциращи хистамин, но те не дават възможност за идентифициране на микробния ИЗТОЧНИК.

# МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ МЕТОДИ

- ❖ За елиминиране на посочените недостатъци, експертите препоръчват в лабораторната практика да се прилага **мултифазният подход** - първо изолиране на микроорганизми, а след това откриване на гени свързани с продукцията на **хистамин**.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Хистаминът е включен в микробиологичните критерии за храните, въведени с Регламент (ЕС) №2073/2005.
- ❖ На този етап са регламентирани критерии само за три категории рибни продукти



# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Първата категория обхваща риби от 6 семейства, съдържащи в мускулатурата си значително количество хистидин / *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphenidae*, *Pomatomidae* и *Scombresossidae*/, пуснати на пазара по време на срока им на годност.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Пробовземането се основава на 9 единици, като 2 от тях може да съдържат между 100 и 200 mg/kg хистамин и нито една – над 200 mg/kg.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Втората категория обхваща рибни продукти, претърпели ензимна преработка в саламура и пуснати на пазара по време на срока им на годност.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Пробозвемането се базира на 9 единици, като две от тях може да съдържат между 200 и 400 mg/kg хистамин, но нито една – над 400 mg/kg.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Третата категория обхваща рибен сос, получен чрез ферментация на рибни продукти.
- ❖ Планът за пробовземане предвижда 1 единица с максимално допустимо съдържание на хистамин до 400 mg/kg.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Макар и микробиологичен критерий, хистаминът в цитираните три категории рибни продукти се определя чрез химически метод – HPLC, посочен в Регламент (ЕС) №2073/2005.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ При прегледа на микробиологичните критерии за трите категории рибни продукти прави впечатления различният подход при вземане на проби от рибен сос.

# ХИСТАМИНЪТ КАТО МИКРОБИОЛОГИЧЕН КРИТЕРИЙ ЗА ХРАНИТЕ

- ❖ Според експертите мотивът за това е, че хистаминът се разпределя равномерно в рибния сос и не се налага увеличаване броя на пробите за изпитване.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ Проучванията, относно наличието на рискови храни, свързани с високо съдържание на хистамин показват, че водещо място заемат рибите от посочените 6 семейства в Регламент (ЕС)№2073/2005.

# Рискови храни по отношение на хистамин



- ❖ При неправилно съхранение и технологична обработка на тези риби количеството на хистамина достига над 5 000 mg/kg .

# Рискови храни по отношение на хистамин



❖ С висока  
степен на риск  
се определят  
солената  
аншоа,  
солената  
херинга,



# Рискови храни по отношение на хистамин

❖ солената  
сардина и  
рибните сосове.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ От групата на млечните продукти като рискови асортименти може да се посочат редица европейски сирена – „Ементал“, „Рокфор“, „Чедър“, „Бергкезе“, „Гауда“, „Камамбер“ и др. със съдържание от 600 до 2,500 mg/kg хистамин.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ От групата на месните продукти като рискови асортименти се считат специалитетите от дивечово месо, сурово пушена шунка, пушени трайни салами, ферментирани колбаси, свински черен дроб и др., съдържащи от 280 до 924 mg/kg хистамин.





# Рискови храни по отношение на хистамин



- ❖ Кръвта и месни продукти свързани с добавка на кръв /кървавица/ съдържат значително количество хистамин и се оценяват също като рискови.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ От групата на ферментиралите зеленчуци и сосове като рискови се посочват асортиментите „Кисело зеле“ и „Кетчуп“ със съдържание на хистамин между 120 и 200 mg/kg.





# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ Ферментиралите храни на соева основа може да съдържат високи концентрации на хистамин.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ Готовите подправъчни смеси /„Маги“/ и сосове, сухи супи и овкусители, съдържащи екстракт от мая се оценяват като рискови за хистамин.
- ❖ В екстракти от мая се установява високо съдържание на хистамин – до 2,830 mg/kg.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ Като рискови за потребителя се посочват и редица алкохолни напитки и оцет.
- ❖ Алкохолът /особено концентрираният/ потиска действието на ензима диаминооксидаза /ДАО/ и по този начин води до повишаване нивото на хистамина в кръвта.

# Рискови храни по отношение на хистамин

❖ Сред  
рисковите  
напитки са  
червените  
вина, при  
които  
количеството  
на хистамин  
достига 3 800  
mg/kg.



# Рискови храни по отношение на хистамин

- ❖ При десертните вина са установени нива до 400 mg/kg хистамин, а при белите вина до 120 mg/kg
- ❖ „Живата“ бира съдържа до 300 mg/kg хистамин



# Рискови храни по отношение на хистамин

❖ Като особено рисково се посочва съдържанието на хистамин в **балсамовият оцет** – до 4000 mg/kg



**БЛАГОДАРЯ ЗА  
ВНИМАНИЕТО!**

