

# **Aminy biogenne w kiszonkach paszowych**

*Robert Gąsior, Franciszek Brzóska*

*Zakład Paszoznawstwa i Surowców Pochodzenia Zwierzęcego*

*Instytut Zootechniki, 32-083 Balice k. Krakowa*

*tel: (0 12) 2856716, e-mail: rgasior@izoo.krakow.pl*

**Słowa kluczowe:** aminy biogenne, kiszonki, dodatki, tyramina, histamina, putrescyna, kadaweryna, żywienie

## **Wstępny opis produktów fermentacji w silosie**

---

Zakiszanie pasz zielonych na potrzeby zimowego żywienia bydła i owiec jest właściwszą metodą ich konserwacji niż suszenie na siano, przede wszystkim ze względu na mniejsze uzależnienie od pogody i — przy dobrej organizacji prac w gospodarstwie — również mniej czasochłonne. Kiszenie zielonek roślin pastewnych jest więc dominującą metodą konserwacji w strefie klimatu umiarkowanego, tak w Europie, jak w USA i Kanadzie.

Produktami fermentacji kwasowej zachodzącej podczas zakiszania roślin są, oprócz lotnych kwasów tłuszczowych, kwasu mlekowego i amoniaku, aminy biogenne.

Po skoszeniu zielonki i w pierwszym etapie fermentacji następuje proces rozkładu białek roślinnych do peptydów i aminokwasów, który zachodzi pod wpływem proteolitycznych enzymów komórkowych. W następnych etapach fermentacji dochodzi do rozpadu prostszych form związków azotowych, w tym aminokwasów. Badania Heron i in. [19] wskazują, że rozkład tych ostatnich odbywa się przede wszystkim przy współdziałaniu mikroorganizmów, nie zaś wskutek działania proteolitycznych enzymów komórkowych, tak jak podczas pierwszego etapu rozkładu białka w procesie kiszzenia. Rozkład aminokwasów odbywa się dwiema drogami: poprzez dezaminację, z wytworzeniem amoniaku i odpowiednich kwasów organicznych, oraz poprzez dekarboksylację z wytworzeniem dwutlenku węgla i amin. Te ostatnie związki, nazywane aminami biogennymi, między innymi ze względu na rolę, jaką odgrywają w żywym organizmie, to głównie nietlne substancje, takie jak: tyramina, histamina, putrescyna oraz kadaweryna. Niektóre z nich, takie jak putrescyna, spermina czy spermidyna, znajdują się w mniejszych lub większych ilościach również w trawach przed ich zakiszaniem, a także w świeżych owocach i warzywach [2].

## Technika zakiszania a ilość amin w kiszonkach

Jakość kiszonki, określana ilością i rodzajem powstałych podczas fermentacji związków, w tym amin biogennych, zależy od techniki zakiszania. Przy kiszeniu runi łąkowo-pastwiskowej, traw i roślin motylkowych z upraw polowych stosowane są zazwyczaj dwie podstawowe techniki zbioru: 2-fazowy zbiór zielonki podsuszanej oraz 1-fazowy zbiór zielonki wilgotnej.

Stosując technikę 2-fazowego zbioru zielonki, uzyskuje się kiszonki o podwyższonej zawartości suchej masy. Kiszonki z traw podsuszanych w ciągu 1–2 dni są chętniej pobierane przez zwierzęta, lecz na ogół są gorzej trawione. Ich zaletą jest to, że nie wymagają stosowania dodatków stymulujących fermentację mlekową lub hamujących fermentację masłową, jak i to, że nie wydziela się sok kiszonkowy podczas ich produkcji.

Stosując technikę 1-fazowego zbioru zielonki, uzyskuje się kiszonki z roślin o naturalnej wilgotności. Fermentacja zachodząca w czasie zakiszania świeżych roślin jest intensywna i prowadzi do powstania licznych produktów fermentacji. Przy zakiszaniu zielonek wilgotnych można stosować następujące rodzaje dodatków kiszonkarskich:

- konserwanty chemiczne w formie kwasów organicznych i ich mieszanin lub soli;
- dodatki biologiczne typu inokulantów lub inokulantów z enzymami;
- dodatki typu sorbentów, jak np. śruta zbożowa lub wysłodki buraczane.

Technika zakiszania i rodzaj stosowanych dodatków decydują o rodzaju i ilości powstających amin biogennych. Najważniejszymi czynnikami mającymi na to wpływ są:

- podwyższony poziom suchej masy zakiszanej zielonki,
- konserwanty chemiczne typu kwasów organicznych (kwas mrówkowy) lub ich soli,
- dodatki biologiczne,
- sorbenty.

### Podsuszanie

Podsuszanie traw, zwłaszcza do 37–45% s.m., silnie ogranicza tworzenie się amin biogennych w kiszonkach. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Gąsiora i Brzóska [15] w kiszonce o wyższej zawartości suchej masy obniżył się poziom amin biogennych, przy czym w największym stopniu dotyczyło to putrescyny, z  $1,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m. w kiszonce wilgotnej bez dodatków (25% s.m.) do  $0,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m. w kiszonce z roślin podsuszonych (37% s.m.). W wyniku podsuszenia redukcja zawartości putrescyny w tym doświadczeniu wynosiła więc 57%. Analogicznie, sumaryczna ilość czterech amin: tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny zmniejszyła się z  $8,1$  do  $4,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m. (zmniejszenie o 43%). W badaniach innych autorów [34] podsuszenie traw przed ich zakiszeniem jeszcze silniej (o 80–93%) ograniczyło tworzenie się amin

w czasie fermentacji. Można przypuszczać, że tworzenie się amin w kiszonkach z podsuszonych traw ograniczane jest przez niską podaż aminokwasów w wyniku zmniejszonej proteolizy i niższą aktywność dekarboksylacyjną bakterii fermentacyjnych lub wytwarzanych przez nie enzymów. Na uwagę zasługuje też fakt, że niskiej zawartości amin biogennych w takich kiszonkach towarzyszą również mniejsze ilości innych produktów fermentacji, w tym amoniaku [15].

### Kwas mrówkowy (konserwant chemiczny)

Spośród różnych konserwantów chemicznych stosowanych do zakiszania traw pewne znaczenie mają mieszaniny kwasu mrówkowego z kwasami nieorganicznymi, np. kwasem fosforowym i siarkowym, oraz sole kwasu mrówkowego w kompozycjach z innymi związkami chemicznymi. Wpływ konserwantów chemicznych na jakość kiszonek zależy od ilości zastosowanego preparatu, jego postaci chemicznej i stosunku ilości cukru do pojemności buforowej zielonki. Ujemną cechą konserwantów chemicznych jest ich żrące działanie chemiczne i wynikająca z tego konieczność zachowania ostrożności przy ich stosowaniu oraz korozyjny wpływ, jaki wywierają na maszyny i zbiorniki kiszonkarskie. Jednak najczęściej stosowanym inhibitorem fermentacji przy kiszeniu traw jest kwas mrówkowy. Obniża on odczyn kiszonek i hamuje fermentację masłową, propionową i mlekową [27]. Stosunek kwasu mlekowego do kwasu octowego jest na ogół korzystniejszy w kiszonkach z dodatkiem kwasu mrówkowego aniżeli w kiszonkach bez dodatków (choć nie zawsze ma to miejsce). Pożądanym efektem ograniczenia procesów fermentacyjnych pod wpływem kwasu mrówkowego jest zwiększona zawartość w kiszonkach nierozłożonych węglowodanów prostych, stanowiących źródło łatwo przyswajalnej energii dla bakterii żwaczowych. Kwas mrówkowy i inne konserwanty o podobnym działaniu zakwaszają materiał przeznaczony do zakiszenia. Silnie ograniczają fermentację [13, 14, 15] i zmniejszają w kiszonkach ilość białka łatwo rozpuszczalnego [35]. Ograniczenie powstawania produktów fermentacji w kiszonkach pod wpływem kwasu mrówkowego pociąga za sobą także zmniejszenie zawartości amin biogennych, szczególnie putrescyny i kadaweryny [13, 14]. Przyjmuje się bowiem, że kwas mrówkowy ogranicza ilość enterobakterii odpowiedzialnych przede wszystkim za produkcję tych amin [7]. Kwas mrówkowy nie zawsze jednak hamuje fermentację masłową, szczególnie jeśli proces zakiszania przebiega w niekorzystnych warunkach pogodowych [15]. W takiej sytuacji najprawdopodobniej nie ogranicza on również ilości znajdujących się w kiszonkach bakterii z rodzaju *Clostridium*. Dodanie kwasu mrówkowego jako inhibitora fermentacji, w ilości  $3,5\text{--}4,5 \text{ dm}^3 \cdot \text{t}^{-1}$ , ogranicza tworzenie się amin biogennych w kiszonkach od 18 do 60% [12, 13, 14, 15]. Redukcja zawartości amin biogennych pod wpływem kwasu mrówkowego jest jednak trochę mniejsza niż w wyniku podsuszenia zielonki przed jej zakiszeniem.

## Preparaty biologiczne

Wpływ preparatów bakteryjnych na ograniczenie procesów tworzenia się amin biogennych jest mniej wyraźny niż kwasu mrówkowego. W przeprowadzonym przez Van Osa i in. [34] pierwszym eksperymencie (eksperyment A) oba z dwóch zastosowanych inokulantów obniżyły w kiszonkach z traw zawartość tyraminy, histaminy, putrescyny, kadaweryny i fenyloetyloaminy. Jednak bardziej skuteczny był inokulant zawierający jeden gatunek bakterii — *Lactobacillus plantarum* w porównaniu z inokulantem składającym się z mieszaniny tych bakterii z bakteriami z gatunku *Streptococcus faecium*. W innych badaniach [13, 14, 15] stosowano jeden z preparatów handlowych, składający się z mieszaniny kilku gatunków bakterii kwasu mlekowego, między innymi *Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *L. acidophilus*. Zaobserwowano tendencje do niewielkiego obniżenia się zawartości putrescyny i tyraminy pod ich wpływem, a stopień ograniczenia produkcji tych związków był podobny jak przy zastosowaniu inokulanta składającego się z bakterii *Lactobacillus plantarum* i *Streptococcus faecium* we wspomnianym wyżej doświadczeniu van Osa i in. [34]. Kiszonki z inokulantami, chociaż nieistotnie, zawierały mniej wszystkich amin łącznie (tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny) niż kiszonki kontrolne bez dodatków (o 14, 12 i 18% w kolejnych doświadczeniach Gąsiora i Brzóska [13, 14, 15]). Dodatek preparatów zawierających bakterie kwasu mlekowego niekoniecznie musi obniżać poziom tych związków w kiszonkach. W badaniach przeprowadzonych przez Gąsiora i Brzóska [12], dotyczących zakiszania koniczyny, lucerny i liści buraczanych, stwierdzono obniżenie się zawartości putrescyny i kadaweryny tylko w kiszonkach z koniczyny. Wydaje się więc, że, po pierwsze, mieszaniny różnych szczepów bakterii mlekowych są mniej skuteczne w ograniczaniu produkcji amin biogennych niż inokulanty składające się z jednego tylko szczepu bakterii (z gatunku *Lactobacillus plantarum*); po drugie, skuteczność inokulantów w ograniczaniu zawartości tych związków w kiszonkach może zależeć od poziomu białka, a przede wszystkim od zawartości suchej masy w paszach przeznaczonych do kiszenia. We wspomnianych badaniach Gąsiora i Brzóska [12], kiszonka z koniczyny zawierała 23% s.m., a z lucerny i liści buraczanych tylko 14,4 i 12% s.m.

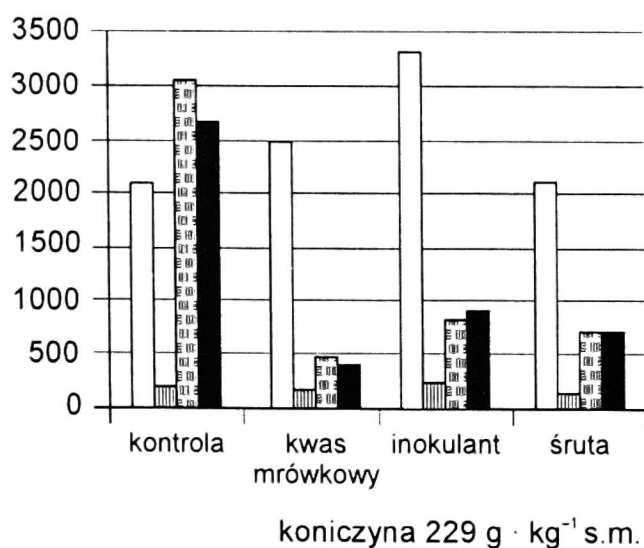
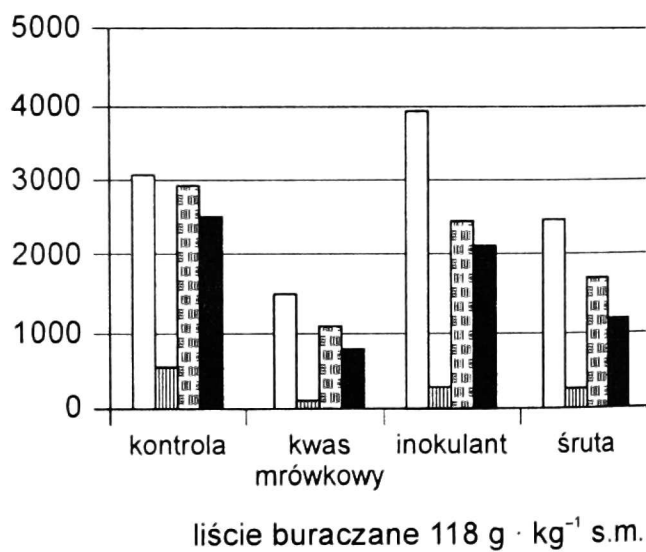
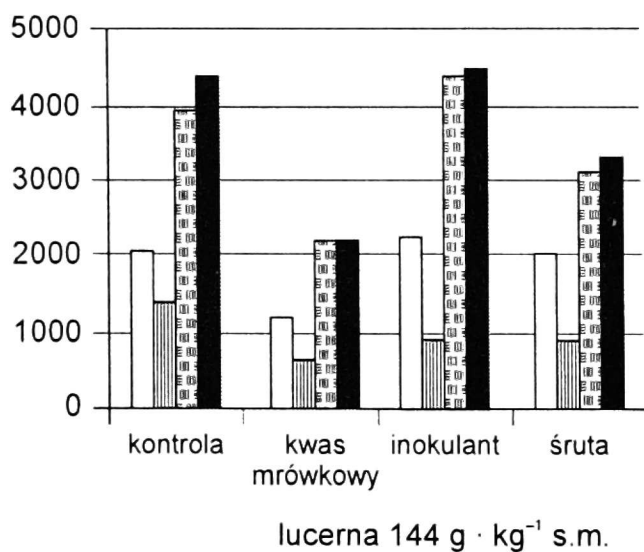
W przeprowadzonych do tej pory badaniach nie wykazano istotnego wpływu preparatów enzymatycznych na zawartość amin biogennych w kiszonkach. Wydaje się, że wpływ enzymów na hamowanie tworzenia się amin jest niewielki, aczkolwiek zarówno w doświadczeniach przeprowadzonych przez Rauramaa'a i in. [27], jak i Gąsiora i Brzóska [13, 14], obserwowano w kiszonkach z dodatkiem preparatów enzymatycznych nieco niższą (o 4 do 11%) zawartość tyraminy i kadaweryny w porównaniu z kiszonkami bez tych dodatków. Na podstawie doświadczeń tych ostatnich autorów można również porównać wpływ na poziom amin biogennych preparatów bakteryjno-enzymatycznych (LAB + ENZ) względem preparatów zawierających same tylko bakterie (LAB). Działanie obu rodzajów preparatów biologicznych w tych badaniach było zbliżone. Jednak oba te preparaty w różny sposób wpływały na zawar-



tość amin biogennych w innym doświadczeniu [16] przeprowadzonym również na kiszonkach z udziałem śruty jęczmiennej. Tutaj stwierdzono bowiem silny wpływ dodatku bakterii i enzymów na obniżenie zawartości głównie putrescyny i kadaweryny w porównaniu z preparatami zawierającymi same bakterie kwasu mlekowego (2,91 vs. 1,65 i 2,66 vs. 1,51 g · kg<sup>-1</sup> s.m., odpowiednio). Łączna zawartość tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny w kiszonkach z preparatami bakteryjnymi wynosiła 7,76, a w kiszonkach z preparatami bakteryjno-enzymatycznymi 4,50 g · kg<sup>-1</sup> s.m. Mniejszą zawartość amin biogennych w kiszonkach z preparatami LAB + ENZ można by tłumaczyć tym, że bakterie chętniej wykorzystują, jako lepsze źródło łatwo dostępnej energii, uwolnione pod wpływem enzymów cukry proste niż powstałe z rozkładu białka aminokwasy [34]. Dodatek śruty jęczmiennej, będącej potencjalnym źródłem tych cukrów, mógł zwiększyć skuteczność preparatów enzymatycznych i ograniczyć produkcję amin biogennych w kiszonkach. Wytłumaczenie to jednak nie jest wystarczające ze względu na wyniki innych badań we wcześniej omawianym doświadczeniu Gąsiora i Brzóska [14], gdzie do kiszenia użyto również śruty jęczmiennej jako sorbentu. Inne wytłumaczenie omawianego efektu może polegać na różnicy w jakości i profilu fermentacji pomiędzy kiszonkami, do produkcji których użyto mieszaniny bakterii i enzymów, a kiszonkami, gdzie stosowano tylko bakterie kwasu mlekowego. Jak uważają Rauramaa i in. [28], tyramina i histamina są wytwarzane głównie przez bakterie kwasu mlekowego, w tym najprawdopodobniej przez bakterie heterofermentacyjne. Z kolei Dainty i in. [7] wykazali, że *Enterobacteria*, tworzące między innymi kwas octowy, produkują również karboksylazy odpowiadające za powstanie putrescyny i kadaweryny. W doświadczeniu Gąsiora i Brzóska [16] w kiszonkach, przy produkcji których stosowano preparaty bakteryjno-enzymatyczne, nastąpiło trudne do wytłumaczenia ograniczenie fermentacji mlekowej (zawartość kwasu octowego w tych kiszonkach była na podobnym poziomie) i procesu tworzenia się wszystkich amin biogennych w porównaniu z kiszonkami zawierającymi same tylko bakterie kwasu mlekowego. Tak więc, chociaż mniejsza zawartość kwasu mlekowego w kiszonkach z preparatami LAB + ENZ tłumaczy niższą w nich zawartość tyraminy i histaminy, to jednak podobna ilość kwasu octowego nie wyjaśnia mniejszej w tych kiszonkach zawartości putrescyny i kadaweryny. Może zadziałał inny jeszcze nieznanый czynnik, który istotnie ograniczył samą tylko aktywność dekarboksylaz, wpływając w ten sposób na ograniczenie tworzenia się amin biogennych.

## Sorbenty

Do sorbentów można zaliczyć pasze o wysokiej zawartości włókna, jak słoma i suche wysłodki buraczane, oraz o niższej zawartości włókna, jak np. śruty zbożowe. Korzyścią ze stosowania sorbentów zbożowych jest możliwość podniesienia zawartości suchej masy zakiszane go materiału i ograniczenie wycieku soków kiszonkowych [20]. Soki kiszonkowe, podobnie jak ścieki, zanieczyszczają wody gruntowe oraz podskórne i są z tego powodu groźne dla środowiska. Chociaż sorbenty zbożowe mają mniejszą zdolność sorpcyjną niż siano i słoma, to stosowane w większych ilościach również redukują wycieki soków kiszonkowych, a ich dodatkową zaletą jest to,



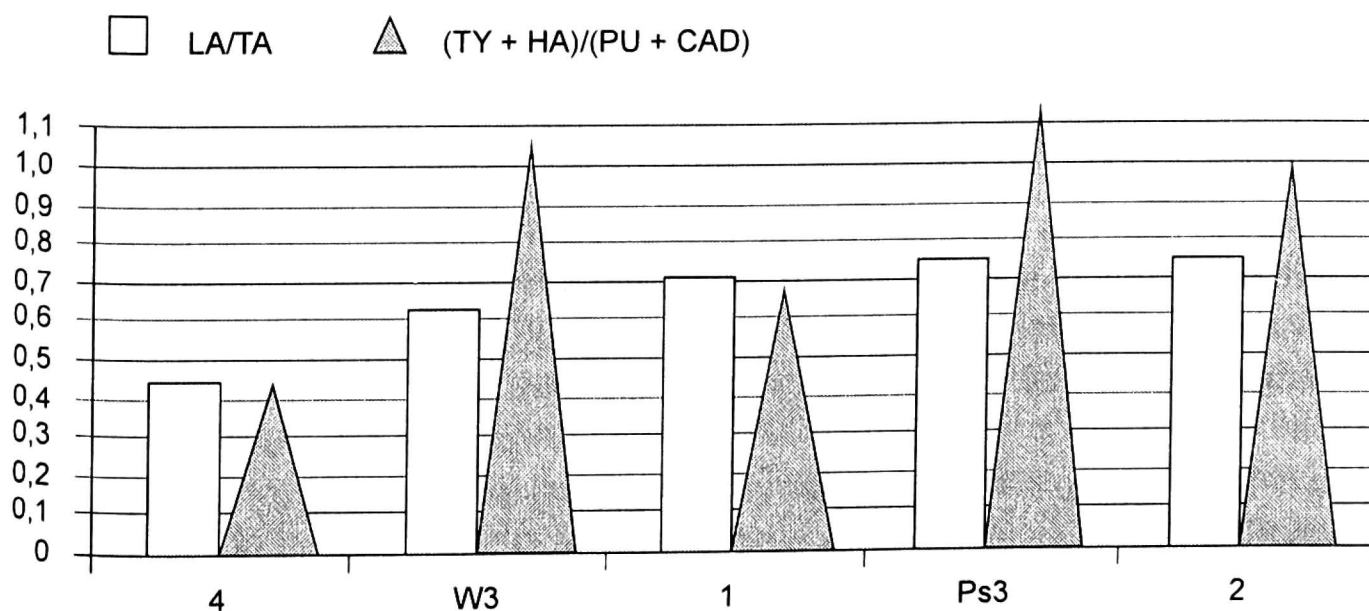
- tyramina
- ▨ histamina
- ▩ putrescyna
- kadaweryna

**Rysunek 1.** Zawartość [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m.] tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny w kiszonkach

że poprawiają one wartość pokarmową kiszonek w przeciwieństwie do sorbentów z wysoką zawartością włókna, jakimi są siano i słoma [7]. Dodatek śrut zbożowych do zakiszanej zielonej masy poprawia przebieg fermentacji zachodzącej w kiszonkach. Śruty zbożowe na ogół zmniejszają rozkład białka i ograniczają stosunek ilości amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) do N ogólnego [20]. Kiszonki, które powstały w wyniku zakiszania zielonek z dodatkiem śruty jęczmiennej, charakteryzują się również mniejszą ilością powstałych w czasie fermentacji amin biogennych. Świadczą o tym badania przeprowadzone przez Gąsiora i Brzóska [12]. W doświadczeniu tym sporządzone w skali laboratoryjnej kiszonki z lucerny, liści buraczanych i koniczyny, z dodatkiem śruty jęczmiennej w ilości  $80 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  zielonki, zawierały mniej (choć nie zawsze było to statystycznie potwierdzone) amin biogennych niż kiszonki bez dodatku śruty jęczmiennej. Redukcja ilości amin dotyczyła głównie putrescyny (o 21% w kiszonkach z lucerny, 42% w kiszonkach z liści buraczanych i 76% w kiszonkach z koniczyny) i kadaweryny (odpowiednio w tych kiszonkach: 24%, 53% i 72%). Zawartości głównych amin biogennych w kiszonkach z omawianego doświadczenia przedstawiono na rysunku 1.

## Zależności między udziałem kwasu mlekowego a stosunkiem ilości tyraminy i histaminy do putrescyny i kadaweryny w kiszonkach

W wielu badaniach Gąsior i Brzóska [13, 14, 15, 16] obserwowali zależności pomiędzy stosunkiem kwasu mlekowego do pozostałych kwasów powstałych w czasie fermentacji (LA/TA, LA — kwas mlekowy, TA — suma kwasów: mlekowego, octowego, propionowego, izomasłowego, masłowego, izowalerianowego i walerianowego) oraz kwasu octowego do mlekowego (AA/LA) a zawartością tyraminy i histaminy w stosunku do putrescyny i kadaweryny  $\{(TY+HA)/(PU+CAD)\}$ . W jednym z przeprowadzonych przez nich doświadczeń [16], w kiszonkach, dla których obliczona proporcja LA/TA miała wartość najmniejszą (0,44), a proporcja AA/LA wartość największą (1,09), stosunek  $(TY+HA)/(PU+CAD)$  był najniższy i wyniósł 0,40. Odwrotnie, w kiszonce o podwyższonej zawartości suchej masy [15], dla której obliczona proporcja LA/TA miała wartość największą (0,74), a proporcja AA/LA wartość najmniejszą (0,19), stosunek  $(TY+HA)/(PU+CAD)$  był najwyższy i wyniósł 1,22. Mniej więcej pośrednie wartości wszystkich tych proporcji charakteryzują pozostałe kiszonki z innych doświadczeń [13, 14]. Powyższe zależności potwierdzają hipotezę, że produkujące kwas octowy *Enterobacteria* są odpowiedzialne za tworzenie przede wszystkim putrescyny i kadaweryny [7], bakterie kwasu mlekowego zaś za tworzenie tyraminy i histaminy [28]. Zależność pomiędzy LA/TA a  $(TY+HA)/(PU+CAD)$  przedstawia rysunek 2.



**Rysunek 2.** Udział kwasu mlekowego w sumie kwasów fermentacyjnych (LA/TA) oraz stosunek sumy tyraminy i histaminy (TY + HA) do sumy putrescyny i kadaweryny (PU + CAD) w kiszonkach; 4 — kiszonki z doświadczenia 4, W3 — kiszonki wilgotne z doświadczenia 3, 1 — kiszonki z doświadczenia 1, Ps3 — kiszonki z traw podsuszonych z doświadczenia 3, 2 — kiszonki z doświadczenia 2

## Produkty fermentacji a pobranie paszy przez przeżuwacze

---

Uważa się, że pobranie paszy przez zwierzęta gospodarskie jest regulowane przez mechanizmy działające na trzech poziomach [29]:

- **Jamy ustnej i gardła**, określanym przez smak i zapach.
- **Żwacza**. Mechanizmy kontrolujące pobranie paszy na tym poziomie nazywa się mechanizmami chemostatycznymi. Wyróżnić tu można czynniki, które wpływają na pobranie paszy na drodze mechanicznej (wypełnienie żwacza, podrażnienie mechanoreceptorów nabłonka żwacza) oraz czynniki fizykochemiczne. Te ostatnie związane są ze wzrostem stężenia w żwaczu takich produktów fermentacji, jak np. amoniak i lotne kwasy tłuszczowe, których obecność jest identyfikowana za pomocą receptorów obecnych w żołądkach u przeżuwaczy, generujących sygnały sytości w centralnym układzie nerwowym [17, 22].
- **Metabolicznym**. Pobranie jest również regulowane poprzez czynniki działające w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego oraz we krwi [29]. Produkty fermentacji żwaczowej przechodzą wraz z treścią żwacza do jelit i dostają się dalej do krwiobiegu. Osmoreceptory i chemoreceptory w jelitach i wątrobie, „poinformowane” o zmianach stężeń produktów fermentacji i ciśnienia osmotycznego, wysyłają sygnały zwrotne przez neurotransmitery (mediatory, np. aminy), neuropeptydy i hormony do podwzgórza, czyli tego obszaru mózgu, który jest odpowiedzialny za kontrolę pobrania [1]. Innymi ważnymi czynnikami metabolicznymi kontrolującymi pobranie jest podaż energii do komórek i stosunek białka do energii oraz podaż białka i energii w treści żwacza i treści jelitowej. W kiszonkach złej jakości, o niezrównoważonej proporcji białka do energii, przepływ treści żwacza do jelit jest wolny, a synteza białka mikrobiologicznego ograniczona [32], co może obniżać pobranie paszy przez zwierzęta.

### Wpływ amin biogennych na pobranie paszy

Jednymi z produktów fermentacji, mogącymi mieć wpływ na smakowitość i pobranie przez przeżuwacze paszy, są aminy biogenne [9]. Wpływ amin biogennych na pobranie nie jest jednak jednoznaczny. Świadczy o tym wiele prac, w których autorzy prezentowali różniące się pomiędzy sobą wyniki dotyczące tego zagadnienia. Jedną z amin biogennych jest kwas  $\gamma$ -aminomasłowy, który pełni funkcje neurotransmitera w centralnym układzie nerwowym kontrolującym pobranie paszy i obniża pobranie przez owce po infuzji tego związku do żwacza lub krwi [4]. Jednak w doświadczeniach van Osa i in. [31] związek ten dodany wraz z innymi aminami i amoniakiem do kiszonki konserwowanej kwasem mrówkowym w ilości występującej w naturalnie fermentowanych kiszonkach nie tylko nie spowodował obniżenia pobrania przez skopy, ale wręcz przeciwnie, wydawał się je podwyższać. Pozytywny wpływ dodatku putrescyny, kadaweryny i kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego dodanych do paszy w ilości

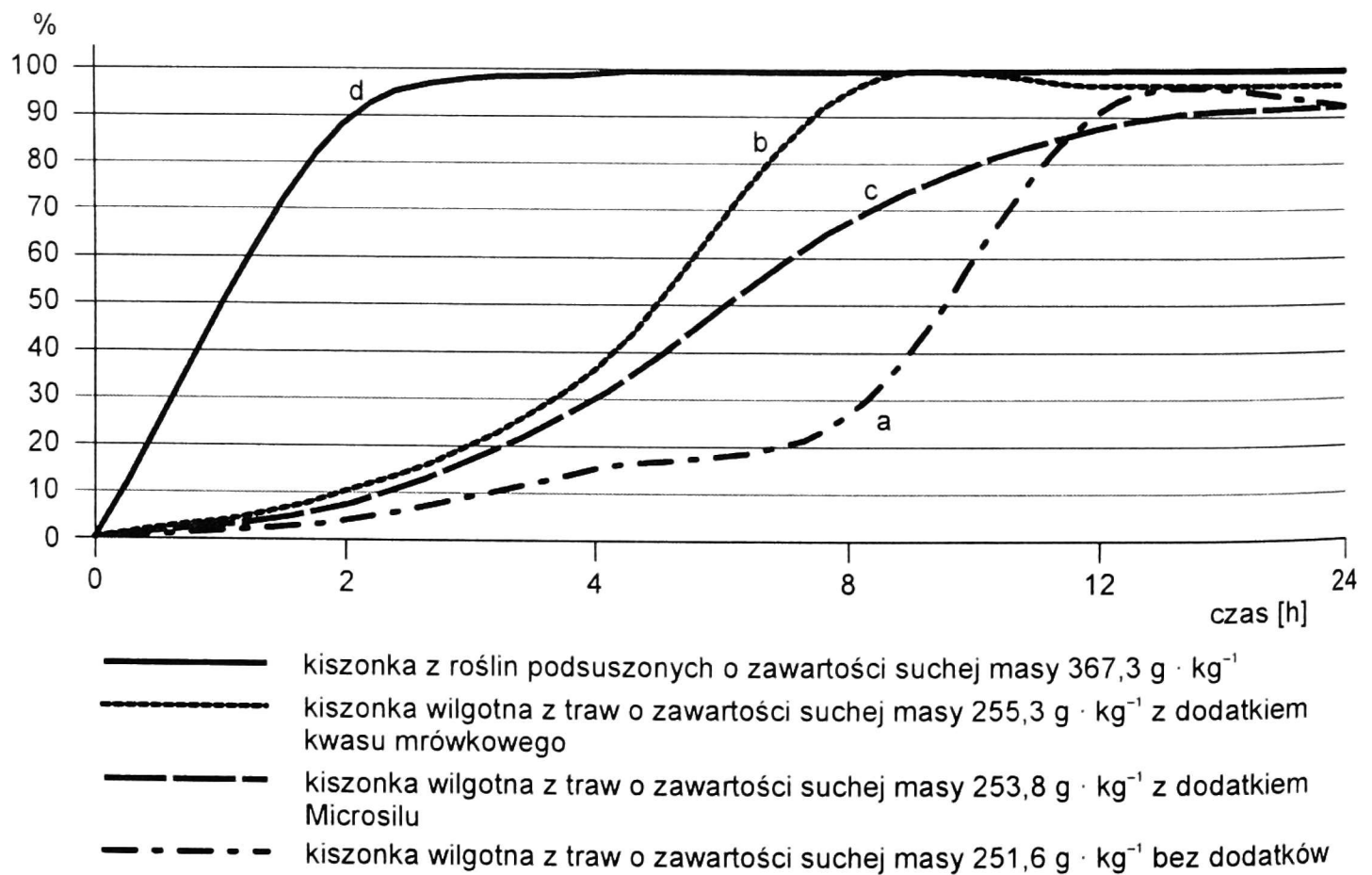


3,5 g · kg<sup>-1</sup> s.m. na pobranie stwierdził również Buchanan-Smith [5]. W innych badaniach [23, 25, 26] wykazano, że ani dodanie histaminy w ilości od 1 do 3 g do dawki pokarmowej przeznaczonej dla jałówek, ani infuzja tyraminy, histaminy i tryptaminy do żwacza w łącznej ilości 3 g nie zmniejszyła pobrania kiszonek przez przeżuwacze. Negatywnego wpływu amin na pobranie nie stwierdzili również Dawson i Mayne [8]. Wydaje się, że dopiero duże dawki amin biogennych (infuzja do żwacza owiec 40 g kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego w badaniach Buchanan-Smith J.G. [4]) obniżają istotnie pobranie paszy. Ponadto infuzja do ksiąg owiec 40 ml 0,15-molowego kwasu mrówkowego ze 121 mg histaminy wyraźnie obniża pobranie paszy [24]. Dodatek ten również powoduje wzrost szybkości oddychania i obniżenie motoryki żwacza [24]. Z kolei dożylne podanie kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego [3] zmniejsza perystaltykę jelit, a tyraminy i 2-feniloetyloaminy uwalnia hormony stresowe [10].

Wydaje się, że aminy w stężeniach zbliżonych do występujących w kiszonkach średniej i złej jakości (ok. 7 g · kg<sup>-1</sup> s.m.) nie wpływają na obniżenie pobrania, jeśli zwierzęta były wcześniej przyzwyczajone do diety zawierającej aminy biogenne. Świadczy o tym doświadczenie przeprowadzone na skopach, w którym van Os i in. [31] wykazali niewielki ujemny wpływ amin na samą tylko smakowitość (mniejsze tempo pobrania na początku okresu skarmiania), nie stwierdzając jednak negatywnego wpływu tych związków na całodobowe pobranie kiszonek. W tym doświadczeniu zawartość lotnych kwasów tłuszczowych i amoniaku w żwaczu zwierząt doświadczalnych była zbliżona dla obu zastosowanych rodzajów diety: bogatej i ubogiej w aminy. Ponadto nie stwierdzono też zwiększenia objętości płynu żwaczowego po dodaniu amin do kiszonki z kwasem mrówkowym. Na podstawie tego doświadczenia Van Os i in. doszli do wniosku, że w żwaczu zwierząt przystosowanych do paszy bogatej w aminy biogenne związki te nie hamują procesów fermentacji. Tak więc w doświadczeniu na skopach [31] nie stwierdzono wpływu amin na pobranie paszy poprzez chemostatyczne mechanizmy działające na poziomie żwacza, ale nie wykluczono ich ujemnego wpływu na smakowitość skarmianej kiszonki.

W wielu badaniach wykazano, że aminy biogenne ulegają rozkładowi w żwaczu, co zapobiega ich akumulacji i absorpcji z przewodu pokarmowego [30, 32, 33]. Rozkład tych związków jest szczególnie duży w żwaczu zwierząt przystosowanych do diety bogatej w aminy biogenne. Van Os i in. [33] określali rozkład tych substancji na podstawie ilości wyprodukowanego amoniaku, po uprzednim dodaniu do 60 g treści żwacza 13,6 mg tyraminy, 4 mg histaminy, 6,4 mg putrescyny i 6,4 mg kadaweryny. Wykazali, że najszybciej rozkłada się tyramina, następnie kadaweryna i histamina, a najwolniej putrescyna. Wyniki innych doświadczeń świadczą o tym, że do grupy najszybciej rozkładających się amin biogennych należy tyramina i histamina [21, 32].

Z kolei w wypadku zwierząt nieprzystosowanych do diety bogatej w aminy należy się spodziewać zahamowania procesów fermentacji w ich żwaczu, zmniejszenia pobrania przez nie paszy na początku skarmiania oraz tendencji do zmniejszenia pobrania całodziennego [33]. W doświadczeniu van Osa i in. [33] wykonano 3 kiszonki:



**Rysunek 3.** Dynamika dowolnego pobrania suchej masy kiszonek przez skopy

kontrolną bez dodatków (WAS), z kwasem mrówkowym (FAS) oraz z kwasem mrówkowym i aminami biogennymi (FAS + A). Dodatek tyraminy, histaminy, putrescyny i kadaweryny, odpowiednio w ilościach: 2,8; 1,2; 1,8 i 1,4  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m. kiszonki, spowodował nieznacznie obniżenie pobrania przez skopy, wyraźniej natomiast zmieniło się tempo pobierania paszy — na początku okresu skarmiania tempo pobierania kiszonki z dodatkiem amin było niższe niż kiszonki bez ich dodatku. W tym doświadczeniu stwierdzono różnice pomiędzy składem chemicznym treści żwacza skopów żywionych kiszonką bogatą i kiszonką ubogą w aminy biogenne. W żwaczu skopów żywionych kiszonką FAS + A było mniej kwasu propionowego oraz amoniaku niż w żwaczu zwierząt żywionych kiszonką FAS. Van Os i in. [33] wysunęli więc hipotezę, że depresyjny wpływ amin na pobranie kiszonek przez zwierzęta nieprzystosowane do diety wzbogaconej w aminy biogenne może być powodowany zarówno czynnikami działającymi na poziomie jamy ustnej i gardła (smakowość paszy), jak i chemostatycznymi mechanizmami działającymi na poziomie żwacza (zmiana składu chemicznego treści żwacza). Można przypuszczać, że zmniejszenie pobrania wskutek działania mechanizmów chemostatycznych następuje po wygenerowaniu sygnałów sytości w centralnym układzie nerwowym przez obecne w żwaczu hipotetyczne chemo- i osmoreceptory amin biogennych [17, 22]. Jednak do tej pory nie stwierdzono istnienia takich receptorów, analogicznych do tych dla kwasu octowego i propionowego [6, 22]. Zmniejszenie pobrania i jego tempa przez zwierzęta nieprzystosowane do spożywania paszy bogatej w aminy może również następować

wskutek działania metabolicznych mechanizmów regulacyjnych. W takim wypadku jest ono wynikiem dużej aktywności fizjologicznej amin biogennych obecnych w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego i we krwi [18, 29].

Niemniej jednak, trwały efekt zmniejszenia pobrania kiszzonek nie może być przypisany aminom biogennym per se. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Gąsiora [11] wynika, że kiszzonka z roślin podsuszonych, zawierająca najmniej amin biogennych, była wyjadana przez tryczki najchętniej. Mniej smaczne były kiszzonki z dodatkiem kwasu mrówkowego i dodatkiem preparatu zawierającego bakterie kwasu mlekowego, najwolniej zaś była wyjadana kiszzonka kontrolna o największej zawartości amin biogennych (rys 3). Ponieważ kiszzonka w tym doświadczeniu, zawierająca najmniejszą ilość amin biogennych, zawierała również najmniej innych produktów fermentacji, można przypuszczać, że na tempo pobrania, a być może też i na całodzienne pobranie kiszzonek przez przeżuwacze, mają wpływ również i inne produkty fermentacji. Są nimi kwasy karboksylowe, amoniak, a także nieznanne jeszcze inne związki chemiczne. Ostateczny efekt jest najprawdopodobniej sumą wpływów poszczególnych substancji, chociaż nie można również wykluczyć ich synergistycznego działania.

## Podsumowanie i wnioski

---

Aminy biogenne występują w kiszonkach dobrej i złej jakości, a ich ilość jest odwrotnie skorelowana z szybkością obniżania pH kiszonki. Podsuszenie zielonki przed jej zakiszeniem i dodatek kwasu mrówkowego jako inhibitora fermentacji najsilniej obniżają zawartość amin biogennych w kiszonkach. W mniejszym stopniu czynią to preparaty bakteryjne, enzymatyczne i sorbenty. Tyramina i histamina wytwarzane są głównie przez bakterie kwasu mlekowego, putrescyna i kadaweryna zaś przez *Enterobacteria*. Wydaje się, że o tym, czy aminy biogenne zawarte w paszach wywierają bądź nie wywierają wpływu na pobranie, decydują co najmniej dwa podstawowe czynniki: pierwszy — to zawartość amin biogennych w paszach podawanych zwierzętom, a drugi związany jest z zawartością tych związków w samym żwaczu, co jest uzależnione od stopnia adaptacji zwierząt do paszy bogatej w aminy biogenne, a w dalszej konsekwencji z możliwością ich przechodzenia do krwi. Aminy biogenne wykazują dużą aktywność fizjologiczną, jednak z powodu ich rozkładu przez mikroorganizmy żwacza oddziaływanie samych tylko amin na pobranie jest raczej niewielkie. Prawdopodobnie inne jeszcze związki chemiczne, zarówno te powstałe w czasie fermentacji kiszzonek, jak i te powstałe w żwaczu podczas ich trawienia, wpływają na tempo i pobranie pasz przez zwierzęta.

- [1] Baile C.A., Mclaughlin C.L. 1987. Mechanisms controlling feed intake in ruminants: A review. *J. Anim. Sci.* 64: 915–922.
- [2] Bardócz S., Grant G., Brown D.S., Ralph A., Pusztai A. 1993. Polyamines in Food : Implications for growth and health. *J. Nutr. Biochem.* 4: 66–70.
- [3] Brikas P. 1993. Duodenal-jejunal myoelectric changes induced by activation of GABA receptors in conscious sheep. *Small Ruminant Research* 12: 133–140.
- [4] Buchanan-Smith J.G. 1982. Voluntary intake in ruminants affected by silage extracts and amines in particular. W: Van Os M., Jailler M., Dulphy J.P. 1996. The influence of ammonia, biogenic amines and  $\alpha$ -aminobutyric acid on grass silage intake in sheep. *Brit. J. Nutr.* 76: 347–358.
- [5] Buchanan-Smith J.G. 1990. An investigation into palatability as a factor responsible for reduced intake of silage by sheep. *Anim. Prod.* 50: 253–260.
- [6] Carter R.R., Grovum W.L. 1990. Factors affecting voluntary intake of food by sheep. 5. The inhibitory effect of hypertonicity in the rumen. *Brit. J. Nutr.* 64: 285–299.
- [7] Dainty R.H., Edwards R.A., Hibbard C.M., Ramantanis S.V. 1986. Bacterial sources of putrescine and cadaverine in chill stored vacuum-packaged beef. *Journal of Applied Bacteriology* 61: 117–123.
- [8] Dawson L., Mayne C.S. 1995. The effects of either dietary addition or intraruminal infusion of amines and juice extracted from grass silage on the voluntary intake of steers offered grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 56: 119–131.
- [9] Demarquilly C. 1973. Composition chimique, caractéristiques fermentaires, digestibilité et quantité ingérée des ensilages de fourrages: Modifications par rapport au fourrage vert initial. W: Van Os M., Dulphy J.P., Baumont R., 1995. The effect of protein degradation products in grass silages on feed intake and intake behaviour in sheep. *Brit. J. Nutr.* 73: 51–64.
- [10] Forbes T.D.A., Carpenter B.B., Randek R.D., Tolleson D.R. 1994. Effects of phenolic monoamines on release of luteinizing hormone stimulated by gonadotrophin-releasing hormone, norepinephrine and cortisol concentrations in wethers. *J. Anim. Sci.* 72: 464–469.
- [11] Gąsior R. 1999. Wpływ inhibitorów fermentacji, sorbentów i bakterii kwasu mlekowego na wartość pokarmową kiszzonek z traw oraz produktywność krów i składniki mleka. Praca doktorska. Instytut Zootechniki, Balice k. Krakowa.
- [12] Gąsior R., Brzóska F. 1998. Wpływ dodatków kiszonkarskich na zawartość amin biogenych w kiszoncek z lucerny, koniczyny czerwonej i liści buraczanych. XXVII Sesja Żywieniowa KNZ PAN pt. „Produkcja i konserwacja pasz objętościowych oraz wykorzystanie ich w żywieniu przeżuwaczy”. Ciechocinek, 29–30 IV 1998: 33.
- [13] Gąsior R., Brzóska F. 1999. The effect of formic acid and biological additives on the quality of grass silages, protein and fibre degradation during fermentation, and on the dry matter and N- degradation in the rumen. *Ann. Anim. Sci.-Rocz. Nauk. Zoot* 26(4): 339–351.
- [14] Gąsior R., Brzóska F. 1999. Effect of formic acid and biological additives on the quality of silage made from grass and ground barley, on protein and fibre degradation during fermentation, and digestion in sacco. *Ann. Anim. Sci.-Rocz. Nauk. Zoot.* 26(4): 353–364.
- [15] Gąsior R., Brzóska F. 2000. The effects of wilting and additives on silage quality, protein degradation in the silo and in the rumen, and dairy cattle productivity. *Ann. Anim. Sci.-Rocz. Nauk. Zoot.* 27(4) :129–141.



- [16] Gąsior R., Brzóska F. 2000. The effect of biological preparations and ground barley addition, on silage quality, digestibility, rumen degradation and on dairy cattle performance. *Ann. Anim. Sci.-Rocz. Nauk. Zoot.* 27(4) :143–154.
- [17] Gill M., Thiago L.R.S., Buchanan-Smith J.G. 1987. Intake problems associated with ensiled forages. W: Van Os M., Lassalas B., Toillon S., Jouany J.P. 1995. In vitro degradation of amines by rumen microorganisms. *J. Agric. Sci. Cambridge* 125: 299–305.
- [18] Grovum W.L. 1981. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 3. The effect of intravenous infusions of gastrin, cholecystokinin and secretin on motility of the reticulo-rumen and intake. *Brit. J. Nutr.* 45: 183–201.
- [19] Heron S.J.E., Edwards R.A., McDonald P. 1986. Changes in the nitrogenous components of gamma-irradiated and inoculated ensiled ryegrass. *J. Sci. Food Agric.* 37: 979–985.
- [20] Jones D.I.H. 1988. The effect of cereal incorporation on the fermentation of spring- and autumn-cut silages in laboratory silos. *Grass For. Sci.* 43: 167–172.
- [21] Joosten H.M.L.J. 1988. The biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 42: 25–42.
- [22] Martin H.F., Baile C.A. 1972. Feed intake of goats and sheep following acetate or propionate injections into rumen, tuminal pouches and abomasum as affected by local anaesthetics. *J. Dairy Sci.* 55: 606–613.
- [23] McDonald P., Macpherson H.T., Watt J.A. 1963. The effect of histamine on silage dry matter intake. *J. Brit. Grassl. Soc.* 18: 230–232.
- [24] Neumark H., Tadmor A. 1968. The effect of histamine and formic acid on food intake and rumen motility, when infused into the omasum of a ram. *J. Agric. Sci. Cambridge* 71: 267–270.
- [25] Neumark H., Bondi A., Volcani R. 1964. Amines, aldehydes and keto-acids in silages and their effect on food intake by ruminants. *J. Sci. Food Agric.* 15: 487–492.
- [26] Okamoto M., Waldo D.R., Miller R.W., Moore L.A. 1964. Histamine levels in forages and dry matter intake of heifers. *J. Dairy Sci.* 47: 1231–1236.
- [27] Rauramaa A., Setälä J., Moisio T., Heikkilä T., Lampila M. 1987. The effects of inoculants and cellulase on the fermentation and microbiological composition of grass silage. I. Biochemical changes in the silages. *J. Sci. Agric. Soc. Finl.* 59: 361–370.
- [28] Rauramaa A., Setälä J., Moisio T., Sivelä S. 1987. The effects of inoculants and cellulase on the fermentation and microbiological composition of grass silage. II Microbiological changes in the silages. *J. Agric. Sci. Finl.* 59: 371–377.
- [29] Van Os M., Dulphy J.P. 1996. Voluntary intake and intake control of grass silage by ruminants. *Reproduction Nutrition and Development* 36: 113–135.
- [30] Van Os M., Dulphy J.P., Baumont R. 1995. The influence of ammonia and amines on grass silage intake and intake behaviour in dairy cows. *Ann. Zootech.* 44: 73–85.
- [31] Van Os M., Jailler M., Dulphy J.P. 1996. The influence of ammonia, biogenic amines and  $\gamma$ -aminobutyric acid on grass silage intake in sheep. *Brit. J. Nutr.* 76: 347–358.
- [32] Van Os M., Lassalas B., Toillon S., Jouany J.P. 1995. In vitro degradation of amines by rumen microorganisms. *J. Agric. Sci.* 125: 299–305.
- [33] Van Os M., van Vuuren A.M., Spoelstra S.F. 1997. Mechanisms of adaptation in sheep to overcome silage intake depression induced by biogenic amines. *Brit. J. Nutr.* 77(3): 399–415.

- [34] Van Os M., van Wikselaar P.G., Spoelstra S.F. 1996. Formation of biogenic amines in well-fermented grass silages. *J. Agric. Sci. Cambridge*, 127: 97–107.
- [35] Wing P.D., Goodrich J.G., Linn J.G., Meiske J.D. 1976. Effects of chemical additives on the preservation and digestibility of alfalfa haylage. *J. Anim. Sci.* 42(2): 469.

## Biogenic amines in silages

---

**Key words:** biogenic amines, silages, additives, tyramine, histamine, putrescine, cadaverine, feeding

### Summary

Biogenic amines occur in good, as well as in bad quality silages. The amounts of these compounds are inversely correlated to the rate of lowering silage pH value. Wilting of forage crops and addition of formic acid (as an inhibitor) to ensiling are predominant factors decreasing level of biogenic amines. The impact of bacteriological and enzymatic preparations is much less. Lactic acid bacteria produce mainly tyramine and histamine while the *Enterobacteria* — putrescine and cadaverine. Biogenic amines influence dry matter intake by the animals, but their effect is predominantly depended on their quantities in animal feeds, and on biogenic amine level in the rumen, what is relevant to their degradation in the animals' rumen adapted to an amine rich diet. The influence of only biogenic amines per se at to-pharyngeal (palatability), and at the rumen levels, due to amine degradation by microorganisms, is rather small. Probably some other chemical compounds — both these formed during fermentation in silo as well as these formed in the rumen, influence the pattern and daily dry matter intake.