



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Nachweis biogener Amine in Schokolade und Essig und ihre Bedeutung für die Histaminintoleranz

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Verfasserin:	Lucy Seteram
Matrikel-Nummer:	0304397
Studienkennzahl:	A 474
Studienrichtung:	Ernährungswissenschaften
Betreuer:	Univ.-Prof. Dr. Jürgen König
Durchgeführt:	Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit Beethovenstraße 8 8010 Graz Leiterin der Subeinheit: Dr. Christa Wentzel



Wien, Dezember 2009

Danksagung

Bei folgenden Personen möchte ich mich für die vorliegende Diplomarbeit, sowie für die Begleitung während des Studiums, ganz herzlich bedanken.
Sie alle haben mich tatkräftig unterstützt und werden mir immer in Erinnerung bleiben.

Betreuung der Diplomarbeit:

Univ. Prof. Dr. Jürgen König

Betreuung der Diplomarbeit (Subeinheit AGES Graz)

Dr. Christa Wentzel

Dr. Claudia Schlagenhaufen

Betreuung der praktischen Arbeiten:

Besonders bedanken möchte ich mich für die großartige Unterstützung der praktischen Arbeiten bei Herrn Ing. Franz Winterleitner und Frau Ing. Anita Ledolter. Sie waren mir sehr gute Lehrer und sind mir in allen Belangen zur Seite gestanden.

Weiters möchte ich bei folgenden Personen bedanken:

Dipl.Ing. Elke Rauscher-Gabernig

Mag. Peter Labitsch

Mag. Isabella Grabner-Wollek

Meiner Familie

Meinen Freunden

Inhaltsverzeichnis

TABELLENVERZEICHNIS	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IX
1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2. LITERATURÜBERBLICK	2
2.1. Definition biogener Amine	2
2.2. Einteilung biogener Amine	2
2.3. Bildung biogener Amine	5
2.3.1. Decarboxylierung von Aminosäuren	6
2.3.2. Decarboxylierung durch Mikroben	7
2.3.3. Aminierung von Aldehyden und Ketonen	10
2.3.4. Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen	10
2.4. Abbau biogener Amine	11
2.4.1. Diaminoxidase (DAO)	11
2.4.2. Histamin-N-Methyltransferase (HMT)	12
2.4.3. Monoaminoxidase (MAO)	12
2.5. Ausgewählte biogene Amine	14
2.5.1. Ethanolamin	14
2.5.2. Histamin	15
2.5.2.1. Histamin in der Schwangerschaft	16
2.5.2.2. Histaminintoleranz	17
2.5.3. Tyramin	30

2.5.4.	Putrescin	30
2.5.5.	Cadaverin	31
2.5.6.	Tryptamin	31
2.5.7.	Phenylethylamin	31
2.5.8.	Spermidin und Spermin	32
2.6.	Hitzestabilität biogener Amine	32
2.7.	Toxikologie biogener Amine	32
2.7.1.	EU-Regulation	33
2.7.2.	Grenzwerte für die Histaminintoleranz	35
2.7.3.	Biogenic Amine Index (BAI)	41
2.8.	Vorkommen biogener Amine in Lebensmitteln	41
2.8.1.	Tierische Lebensmittel	41
2.8.2.	Pflanzliche Lebensmittel	45
2.8.3.	Alkoholische Getränke	47
2.9.	Nachweis biogener Amine	49
2.9.1.	Identifizierung von biogenen Aminen mittels HPLC	49
2.9.1.1.	Derivatisierungen	49
3.	MATERIAL UND METHODEN	52
3.1.	Instrumentelle Anordnung	52
3.2.	Chemikalien, Reagenzien	53
3.3.	Herstellung von Lösungen und Reagenzien	54
3.3.1.	Mobile Phase	54
3.3.2.	Stammlösungen und Standardmischungen	54
3.4.	Berechnung des Gehaltes an biogenen Aminen	55
3.5.	Einzelstandard-Stammlösungen	56
3.6.	Erstellen einer Kalibration zur Quantifizierung	56
3.7.	Zumischung der Einzelstandards	62

3.8.	Wiederfindung.....	64
3.9.	Nachweis- und Bestimmungsgrenze.....	66
3.10.	Gradientenprogramm.....	67
3.11.	Probenauflistung.....	68
3.11.1.	Schokolade.....	68
3.11.2.	Essig.....	70
3.12.	Probenaufbereitung und Derivatisierung	72
3.12.1.	Schokolade.....	72
3.12.2.	Essig.....	73
4.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	74
4.1.	Wahl der Probenaufbereitung.....	74
4.2.	Wahl der Derivatisierung	74
4.3.	Problematik Detektion von Tryptamin	74
4.4.	Problematik der niedrigen Wiederfindung bei Cadaverin	75
4.5.	Biogene Amine in Schokolade	75
4.5.1.	Relevanz des Anbaugbietes	87
4.6.	Biogene Amine in Essig.....	89
4.6.1.	Relevanz der Essigsorte in verschiedenen Essigen.....	93
5.	SCHLUSSBETRACHTUNG.....	94
5.1.	Die Bedeutung der Analyseergebnisse für die Histaminintoleranz.....	94
5.1.1.	Ethanolamin	94
5.1.2.	Histamin.....	94
5.1.3.	Tyramin	95
5.1.4.	Phenylethylamin	96
5.1.5.	Putrescin, Cadaverin, Spermidin, Spermin	96
5.1.6.	Gesamt biogene Amine.....	97

5.2.	Zusammenhang zwischen Kakaogehalt, Anbaugebiet des Kakaos und dem Gehalt an biogenen Aminen	97
5.3.	Analytik	98
5.4.	Aussichten	98
6.	ZUSAMMENFASSUNG	99
7.	SUMMARY	100
8.	LITERATUR	101

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1	ISOLIERTE BAKTERIEN UND AMINE IN VERSCHIEDENEN LEBENSMITTELN
TABELLE 2	ÜBERSICHT ZU WICHTIGEN AMINABBAUENDEN ENZYMEN
TABELLE 3	NORMALWERTE FÜR DIE HISTAMIN-, DIE DAO- UND DIE VITAMIN B ₆ -KONZENTRATION
TABELLE 4	INTERPRETATION DER MESSERGEBNISSE IN BEZUG AUF DIE HIT
TABELLE 5	DIE HÄUFIGSTEN HISTAMINLIBERIERENDEN ODER DAO-HEMMENDEN MEDIKAMENTE
TABELLE 6	EFFEKTE VON SCHOKOLADE IM VERGLEICH MIT PLACEBO
TABELLE 7	HISTAMINREICHE UND HISTAMINARME LEBENSMITTEL
TABELLE 8	REGULATION (EC) 2073/2005
TABELLE 9	ÜBERBLICK ÜBER TOXIKOLOGISCH WIRKSAME GEHALTE VON HISTAMIN AUS DER LITERATUR
TABELLE 10	BIOGENE AMINE IN LEBENSMITTEL UND IHRE PHARMAKOLOGISCHEN EFFEKTE
TABELLE 11	MAXIMAL GEMESSENE HISTAMINGEHALTE IN VERSCHIEDENEN LEBENSMITTELN DES ÖSTERREICHISCHEN MARKTES 2001 BIS 2006
TABELLE 12	HISTAMINKONZENTRATIONEN IN EINER MAHLZEIT MIT MEERESFISCH ALS HAUPTMAHLZEIT.
TABELLE 13	RICHTWERTE FÜR HISTAMINGEHALTE IN WURSTWAREN

TABELLE 14	GEHALT BIOGENER AMINE IN FLEISCH
TABELLE 15	RICHTWERTE FÜR HISTAMINGEHALTE IN FISCH UND FISCHPRODUKTEN
TABELLE 16	RICHTWERTE FÜR HISTAMINGEHALTE IN MILCHPRODUKTEN
TABELLE 17	MITTELWERTE BIOGENER AMINE IN KÄSESORTEN
TABELLE 18	BIOGENE AMINE IN OBST
TABELLE 19	HISTAMINGEHALT IN GEMÜSE
TABELLE 20	HISTAMINGEHALTE IN ESSIG
TABELLE 21	BIOGENE AMINE IN ESSIG
TABELLE 22	BIOGENE AMINE IN REIS-ESSIGEN
TABELLE 24	BIOGENE AMINE IN ALKOHOLISCHEN GETRÄNKEN
TABELLE 25	FAKTOREN ZUR BERECHNUNG
TABELLE 26	ERSTE WIEDERFINDUNG BIOGENER AMINE IN ESSIG
TABELLE 27	ZWEITE WIEDERFINDUNG BIOGENER AMINE IN ESSIG
TABELLE 28	DRITTE WIEDERFINDUNG BIOGENER AMINE IN ESSIG
TABELLE 29	MITTELWERTE DER WIEDERFINDUNGSRATEN BIOGENER AMINE IN ESSIG
TABELLE 30	BESTIMMUNGSGRENZEN
TABELLE 31	NACHWEISGRENZEN
TABELLE 32	GRADIENTENPROGRAMM ZUR TRENNUNG DER BIOGENEN AMINE
TABELLE 33	GEHALT AN BIOGENEN AMINEN IN SCHOKOLADE
TABELLE 34	ANALYSEERGEBNISSE BIOGENER AMINE IN ESSIG

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1	ALIPHATISCHE MONOAMINE
ABBILDUNG 2	ALIPHATISCHE POLYAMINE
ABBILDUNG 3	AROMATISCHE AMINE
ABBILDUNG 4	HETEROCYCLISCHE AMINE
ABBILDUNG 5	BILDUNG BIOGENER AMINE
ABBILDUNG 6	EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE VON MIKROBEN PRODUZIERTE HISTAMINMENGE IN LEBENSMITTELN
ABBILDUNG 7	EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE VON MIKROBEN PRODUZIERTE TYRAMINMANGE IN LEBENSMITTELN
ABBILDUNG 8	REDUKTIVE AMINIERUNG
ABBILDUNG 9	TRANSAMINIERUNG MIT EINER AMINOSÄURE
ABBILDUNG 10	BILDUNG VON ETHANOLAMIN
ABBILDUNG 11	HISTAMIN METABOLISMUS
ABBILDUNG 12	MÖGLICHE SYMPTOME EINER HISTAMININTOLERANZ
ABBILDUNG 13	REAKTIONSSCHEMA DER ACCQ•TAG- DERIVATISIERUNG
ABBILDUNG 14	KALIBRATIONSGERADE ETHANOLAMIN
ABBILDUNG 15	KALIBRATIONSGERADE HISTAMIN
ABBILDUNG 16	KALIBRATIONSGERADE TYRAMIN
ABBILDUNG 17	KALIBRATIONSGERADE PUTRESCIN
ABBILDUNG 18	KALIBRATIONSGERADE CADAVERIN
ABBILDUNG 19	KALIBRATIONSGERADE TRYPTAMIN
ABBILDUNG 20	KALIBRATIONSGERADE PHENYLETHYLAMIN
ABBILDUNG 21	KALIBRATIONSGERADE SPERMIDIN
ABBILDUNG 22	KALIBRATIONSGERADE SPERMIN
ABBILDUNG 23	CHROMATOGRAMM DES STANDARDGEMISCHES 5 V

ABBILDUNG 24	GRADIENTENPROGRAMM
ABBILDUNG 25	CHROMATOGRAMM –100 % KAKAOANTEIL
ABBILDUNG 26	TREND DER MITTELWERTE „ETHANOLAMIN“
ABBILDUNG 27	TREND DER MITTELWERTE „HISTAMIN“
ABBILDUNG 28	TREND DER MITTELWERTE „TYRAMIN“
ABBILDUNG 29	MAXIMALWERTE VON TYRAMIN
ABBILDUNG 30	TREND DER MITTELWERTE „PUTRESCIN“
ABBILDUNG 31	TREND DER MITTELWERTE „CADAVERIN“
ABBILDUNG 32	TREND DER MITTELWERTE „PHENYLETHYLAMIN“
ABBILDUNG 33	MAXIMALWERTE VON PHENYLETHYLAMIN
ABBILDUNG 34	TREND DER MITTELWERTE „SPERMIDIN“
ABBILDUNG 35	TREND DER MITTELWERTE „SPERMIN“
ABBILDUNG 36	TREND DER MITTELWERTE „BIOGENE AMINE GESAMT“
ABBILDUNG 37	MAXIMALWERTE DER GESAMTEN BIOGENEN AMINE
ABBILDUNG 38	MITTELWERTE VON SCHOKOLADEN BIS 70 %
ABBILDUNG 39	MITTELWERTE VON SCHOKOLADEN BIS 100 %
ABBILDUNG 40	CHROMATOGRAMM ROTWEINESSIG
ABBILDUNG 41	MITTELWERTE AN GESAMTEN BIOGENEN AMINEN IN ESSIGEN
ABBILDUNG 42	BIOGENE AMINE IN SONSTIGEN ESSIGEN

Abkürzungsverzeichnis

AQC	6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamat	PVPP	Polyvinylpyrrolidon
CAD	Cadaverin	SPD	Spermidin
DAO	Diaminoxidase	SPM	Spermin
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay system	THF	Tetrahydrofuran
ETA	Ethanolamin	TRY	Tryptamin
FLD	Fluoreszenzdetektor	TYR	Tyramin
GBA	Gesamt biogene Amine	UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
HCl	Salzsäure	WF	Wiederfindung
HIT	Histaminintoleranz	WFR	Wiederfindungsrate
HIS	Histamin	ZNS	Zentralnervensystem
HMT	Histamin-N-Methyltransferase		
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie		
MAO	Monoaminooxidase		
NaAc	Natriumacetat		
NaCl	Natrium Chlorid		
NaNO ₂	Natriumnitrit		
NaOH	Natriumhydroxid		
PCA	Perchlorsäure		
PHE	Phenylethylamin		

1. Einleitung und Fragestellung

Biogene Amine sind körpereigene Substanzen, die bei gesunden Menschen schnell verstoffwechselt werden und keine Intoleranzreaktionen auslösen. Bei einer Histaminintoleranz hingegen ist der Abbau durch das Enzym Diaminoxidase (DAO) verzögert bzw. unvollständig und es kommt zur Ansammlung des Histamins im Körper, welche zu allergieähnlichen Symptomen führen kann.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Gehalt an biogenen Aminen mittels HPLC in Schokolade und Essig zu bestimmen, um mit den erhaltenen Werten eine mögliche Relevanz zur Histaminintoleranz herzustellen.

Weiters soll ein möglicher Zusammenhang zwischen Anbauggebiet des Kakaos und der Menge an biogenen Aminen im Hinblick auf den Kakaogehalt hinterfragt werden.

Da Schokolade sowie auch Essig einer der häufigsten Auslöser von Beschwerden für Betroffene sind und Informationen von biogenen Aminen in Essig und Schokolade rar sind, wurde die Analyse dieser Lebensmittel als interessant erachtet. (JARISCH, 2004)

Da nur einige biogene Amine für die Histaminintoleranz bedeutend sind, wurden folgende für die Analyse ausgesucht:

Ethanolamin, Histamin, Tyramin, Putrescin, Cadaverin, Tryptamin, Phenylethylamin, Spermidin und Spermin. (SHALABY, 1996; RAINER 2005)

Für die Analyse wurde eine flüssigchromatographische Methode (High Performance Liquid Chromatography – kurz HPLC) modifiziert bzw. verbessert.

2. Literaturüberblick

2.1. Definition biogener Amine

Biogene Amine sind basische, stickstoffhaltige Verbindungen mit aliphatischer, aromatischer oder heterocyclischer Struktur. Je nach Anzahl der enthaltenen Aminogruppen unterscheidet man Mono-, Di- und Polyamine. Sie sind teilweise wasserlöslich und hitzestabil. (FISCHER E., 2006).

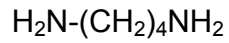
Biogene Amine entstehen durch enzymatische Decarboxylierung aus Aminosäuren und werden beim Proteinintermediärstoffwechsel oder durch Mikroorganismen gebildet. (MATISSEK et al., 2006)

2.2. Einteilung biogener Amine

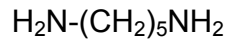
Abbildung 1 Aliphatische Monoamine (FISCHER E., 2006)

$\text{CH}_3\text{-NH}_2$	Methylamin	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-NH}_2$	Butylamin
$(\text{CH}_3)_2\text{NH}$	Dimethylamin	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-NH}_2$	Amylamin
$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	Trimethylamin	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-NH}_2$	Hexylamin
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-NH}_2$	Ethylamin	$\text{HO-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH}_2$	Ethanolamin
$(\text{CH}_3\text{-CH}_2)_2\text{NH}$	Diethylamin	$\text{HS-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH}_2$	Cysteamin
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH}_2$	Propylamin	$\text{HO}_3\text{S-(CH}_2\text{)}_2\text{-NH}_2$	Taurin

Abbildung 2 Aliphatische Polyamine



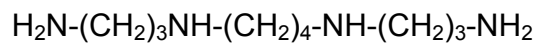
Putrescin



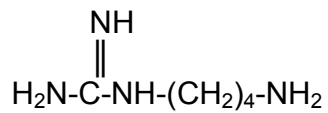
Cadaverin



Spermidin

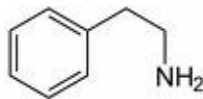


Spermin

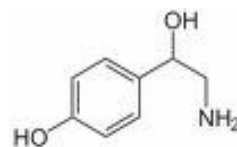


Agmatin

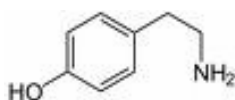
Abbildung 3 Aromatische Amine



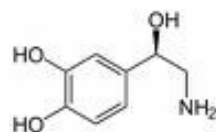
β -Phenylethylamin



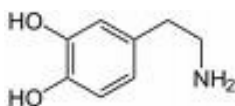
Octopamin



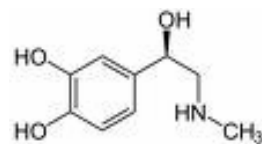
Tyramin



Noradrenalin

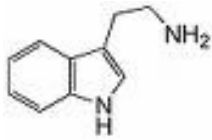


Dopamin

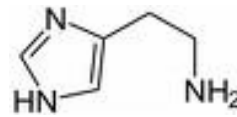


Adrenalin

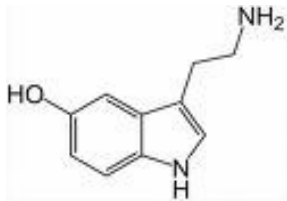
Abbildung 4 Heterocyclische Amine



Tryptamin



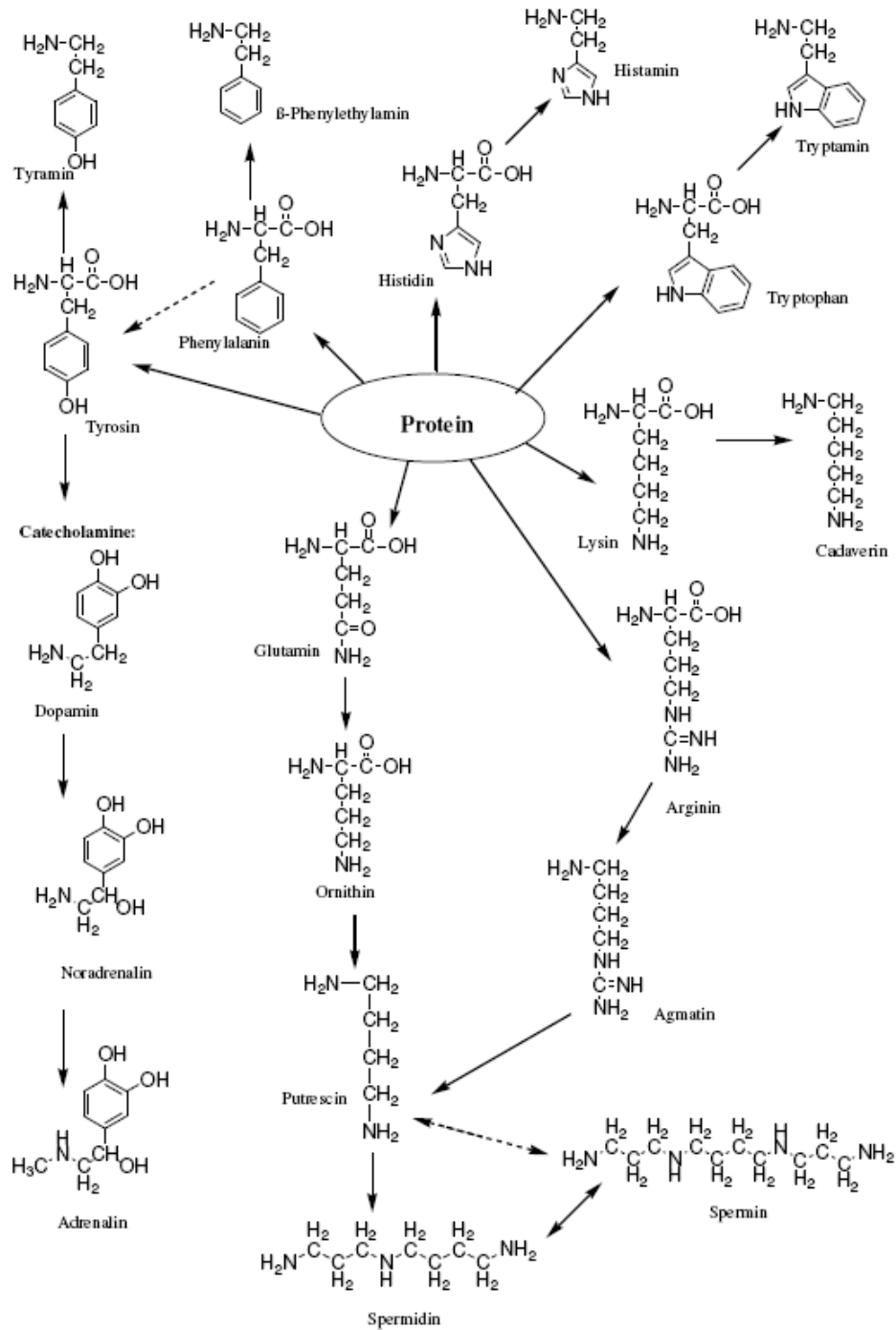
Histamin



Serotonin

2.3. Bildung biogener Amine

Abbildung 5 Bildung biogener Amine (VOET D. ET AL., 2002)



Es gibt 3 Wege für die Entstehung biogener Amine:

- Decarboxylierung von Aminosäuren
- Aminierung von Aldehyden und Ketonen
- Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen

Am häufigsten entstehen biogene Amine durch Decarboxylierung von Aminosäuren.

Auf diesem Weg entstehen aber nur primäre Amine; sekundäre und tertiäre Amine entstehen durch eine Alkylierung. (ASKAR und TREPTOW, 1986)

2.3.1. Decarboxylierung von Aminosäuren

Die Decarboxylierung erfordert das Vorhandensein geeigneter Enzyme, der Decarboxylasen, die als Biokatalysatoren Stoffumsetzungen bei niedrigen Temperaturen bewirken können. (BEUTLING et al., 1996)

Diese Decarboxylasen sind meist spezifisch auf die L-Form der Aminosäure eingestellt. Diese Enzyme findet man in tierischen, pflanzlichen und mikrobiellen Geweben. (ASKAR und TREPTOW, 1986)

Für die enzymatischen Reaktionen im Aminosäurestoffwechsel ist neben den Enzymen im Regelfall ein Coenzym erforderlich, das häufig eine Vitaminvorstufe darstellt.

Transaminasen und Aminosäurendecarboxylasen erfordern als Coenzym Pyridoxalphosphat, Pyridoxin oder Pyridoxamin, allesamt Metabolite des Vitamin B₆. (BEUTLING et al., 1996)

2.3.2. Decarboxylierung durch Mikroben

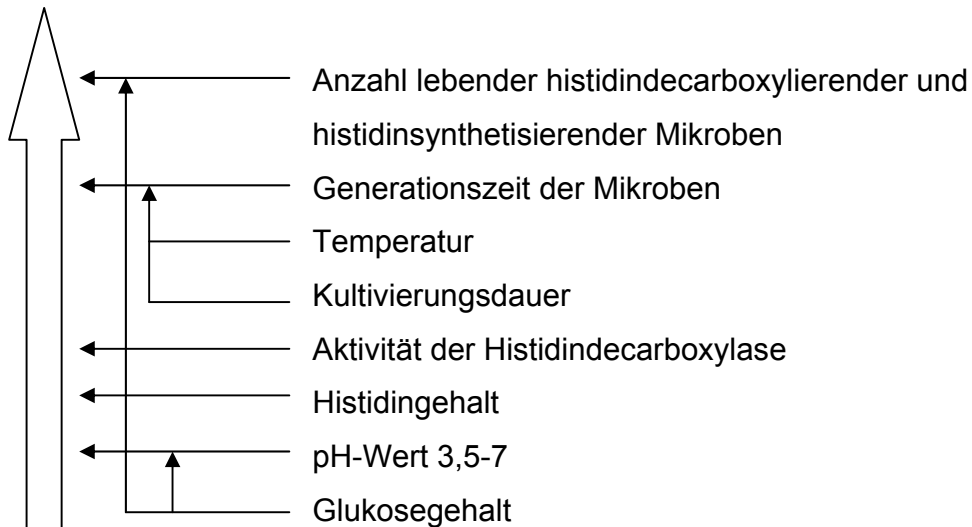
Normalerweise resultiert die Aminproduktion durch die Anwesenheit von Mikroorganismen, die Aminosäuren decarboxylieren können. (SHALABY, 1996)

Tabelle 1 Isolierte Bakterien und Amine in verschiedenen Lebensmitteln (SHALABY, 1996)

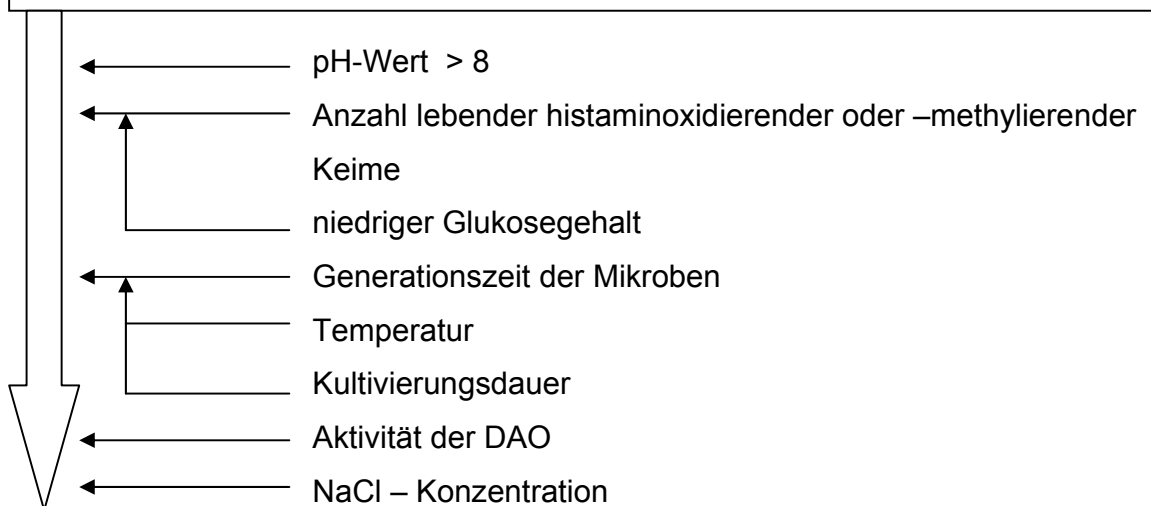
Lebensmittel	Isolierte Bakterien	Gefundene Amine
Fisch	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Clostridium perfringenes</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Vibrio alginolytiens</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>	Histamin, Tyramin, Cadaverin, Putrescin, Agmatin, Spermin, Spermidin
Käse	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>Lactobacillus 30a</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. arabinose</i> , <i>Streptococcus faecium</i> , <i>S. mitis</i> , <i>Bacillus macerans</i> , <i>propionibacteria</i>	Histamin, Cadaverin, Putrescin, Tyramin, β -Phenylethylamin, Tryptamin
Fleisch und Fleischprodukte	<i>Pediococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i>	Histamin, Cadaverin, Putrescin, Tyramin, β -Phenylethylamin, Tryptamin
Fermentiertes Gemüse	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Pediococci sp.</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Histamin, Cadaverin, Putrescin, Tyramin, Tryptamin
Fermentierte Sojaprodukte	<i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>Trichosporon beiglii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	Histamin, Cadaverin, Putrescin, Tyramin, Tryptamin

Abbildung 6 Einflussfaktoren auf die von Mikroben produzierte Histaminmenge in Lebensmitteln (BEUTLING et al., 1996)

erhöhend



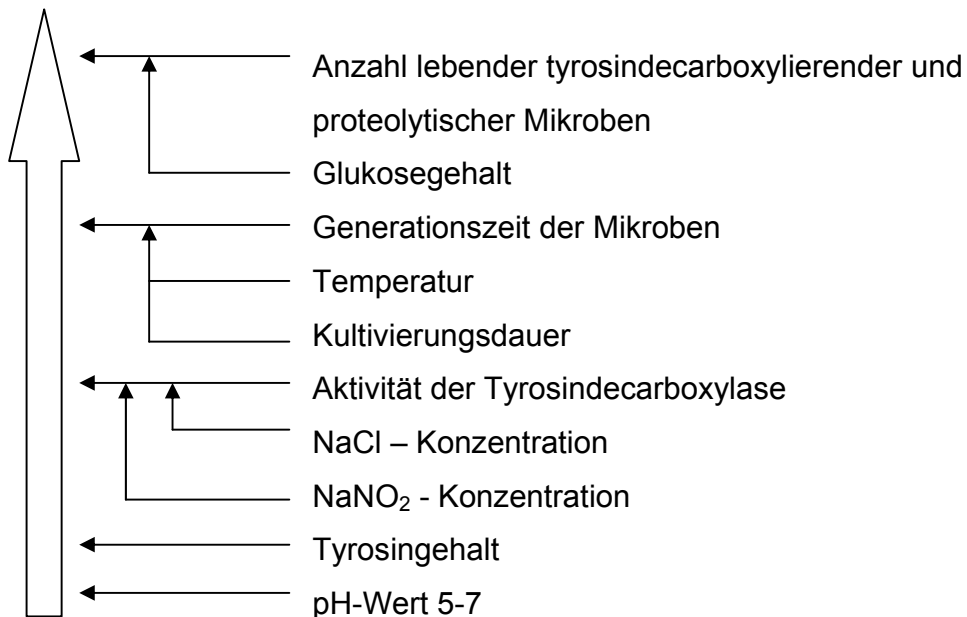
Histaminmenge



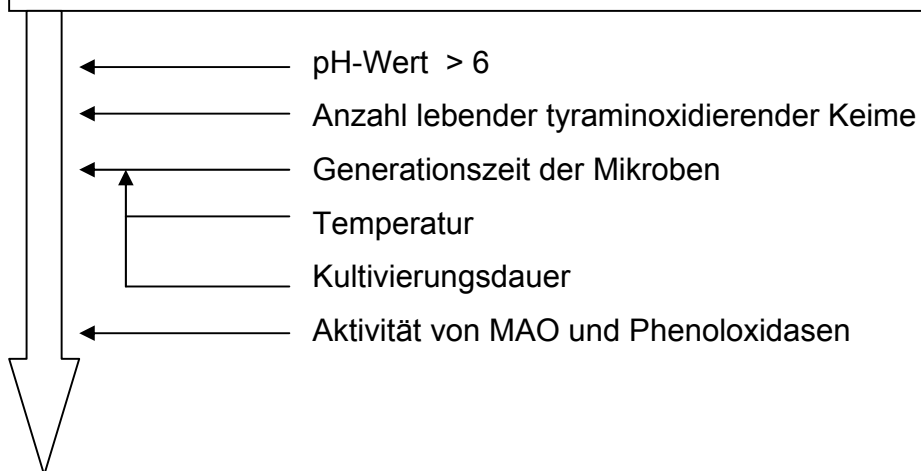
Senkend

Abbildung 7 Einflussfaktoren auf die von Mikroben produzierte Tyraminmenge in Lebensmitteln (BEUTLING et al., 1996)

erhöhend



Tyraminmenge



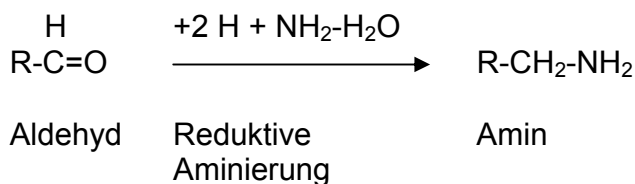
senkend

2.3.3. Aminierung von Aldehyden und Ketonen

Die Aminbildung aus Aldehyden ist auf zwei Wegen möglich: (ASKAR und TREPTOW, 1986)

- Reduktive Aminierung

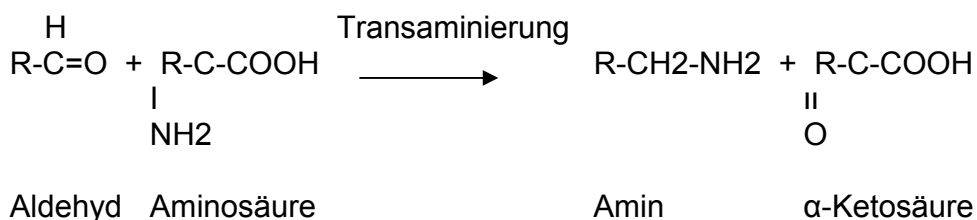
Abbildung 8 Reduktive Aminierung



- Transaminierung mit einer Aminosäure

Die Aminogruppe wird an das Pyridoxalphosphat übertragen und es können ebenfalls aliphatische Diamine (Putrescin, Cadaverin) entstehen. Durch die Aminierung von Ketonen entstehen sekundäre Amine.

Abbildung 9 Transaminierung mit einer Aminosäure



2.3.4. Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen

Der Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen ist ein wichtiger Entstehungsweg bei aliphatischen Aminen. Ethanolamin wird auf diesem Weg aus Phosphatiden gebildet. (ASKAR und TREPTOW, 1986)

2.4. Abbau biogener Amine

2.4.1. Diaminoxidase (DAO)

Die Zellen der Darmschleimhaut, die Enterozyten, produzieren und enthalten ein Enzym, das Histamin abbauen kann. Dieses Enzym heißt Diaminoxidase, hat ein Molekulargewicht von 90.000 Da und enthält Kupfer. (JARISCH ET AL., 2004)

DAO kommt in verschiedenen Geweben vieler Tierarten und beim Menschen vor und ist ungleich verteilt. Im Dünndarm und in der Plazenta ist die Aktivität von DAO am höchsten. (SCHILLER-FRÜHWIRT I., 2005)

Diaminoxidase wird kontinuierlich produziert und in das Darmlumen abgeschieden. (JARISCH ET AL., 2004)

Im Gastrointestinaltrakt stellt die DAO-Aktivität zusätzlich einen Schutzmechanismus für andere toxische Amine bakteriellen Ursprungs dar. Bei Verminderung der DAO-Aktivität unter bestimmten Bedingungen kann die Absorption von nicht metabolisierten Aminen zu schädigenden Effekten an verschiedenen Geweben führen. (SCHILLER-FRÜHWIRT I., 2005)

Die DAO hat eine höhere Affinität für Putrescin und Cadaverin als für Histamin. Bei gleichzeitigem Vorkommen der Diamine kommt es deshalb zur kompetitiven Hemmung, sodass der Abbau von Histamin verzögert wird. (WEIß C., 2009)

Bei einem gesunden Menschen wird histaminreiche Nahrung bereits im Darm von Histamin weitgehend „befreit“. Das verbleibende Histamin wird beim Durchtritt durch die Darmschleimhaut von der dort sitzenden Diaminoxidase abgebaut. Die Co-Faktoren der Diaminoxidase sind 6-Hydroxy-DOPA und wahrscheinlich Pyridoxalphosphat, das Vitamin B6. Diaminoxidase ist bei entzündlichen Darmerkrankungen vermindert, wie in mehreren Studien nachgewiesen wurde. (JARISCH, 2004)

2.4.2. Histamin-N-Methyltransferase (HMT)

Die HMT-Aktivität ist 10mal niedriger als die DAO-Aktivität. HMT baut z.B. Histamin zu N-Methylhistamin ab. N-Methylhistamin ist ein Inhibitor von HMT und ein Substrat für DAO. (SCHILLER-FRÜHWIRT I. 2005)

2.4.3. Monoaminoxidase (MAO)

Amine werden zunächst zu Iminen dehydriert, wobei der freiwerdende Wasserstoff auf Sauerstoff unter Bildung von Wasserstoffperoxid übertragen wird. In der Folge wird die Hydrolyse des Imins zum Aldehyd und Ammoniak katalysiert.

Diese Reaktion ist für die ständige Regulation der Aminkonzentration maßgebend und damit für verschiedene physiologische Prozesse wichtig, an denen Amine teilnehmen, wie z.B. für die Funktion des Nervensystems aufgrund von Neurotransmittern.

MAO-Hemmstoffe wie Psychopharmaka führen durch Blockierung der Monoaminoxidase zu einer vorwiegend zentralnervösen Anreicherung von Neurotransmittern. Bei der Therapie mit MAO-Hemmern kann sich der Genuss aminreicher Nahrungsmittel störend auswirken, da sich Monoamine im Körper anreichern und die unerwünschten Symptome auslösen können.

(RAINER G., 2005)

Tabelle 2 Übersicht zu wichtigen aminabbauenden Enzymen (BEUTLING ET AL., 1996)

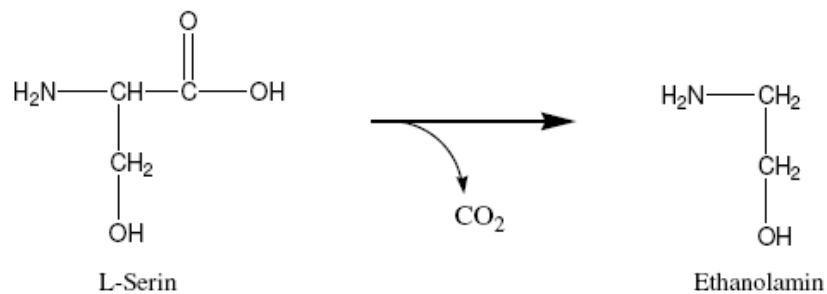
Enzym	Kurz- zeichen	Spezifische Substrate
Monoaminoxidase (Tyraminoxidase)	MAO MAO-A MAO-B MAO-A+ MAO-B	Primäre, sekundäre und tertiäre Amine 5-Hydroxytryptamin, Noradrenalin, Dopamin, Serotonin Phenylethylamin, Benzylamin, Methylhistamin Tyramin, Tryptamin
Diaminoxidase	DAO	Cadaverin, Putrescin, Histamin, Spermin, Spermidin
Tyrosinase (Monophenolmonooxygenase) (Polyphenoloxidase) (Catecholoxidase)		Tyramin, Octopamin, Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin
O- und N-Methyltransferasen		Histamin
Catechol-O-Methylferase		Dopamin
Histidase (L-Histidine/-Ammonialyase)		Histamin
Dopamin- β -Hydroxylase		Tyramin (Umbau zu Octapamin)
N-Acetyltransferasen		Histamin
Hydrolasen		Diphenolamine

2.5. Ausgewählte biogene Amine

2.5.1. *Ethanolamin*

Bildung und Metabolismus

Abbildung 10 Bildung von Ethanolamin



Die Entstehung von Ethanolamin beschränkt sich nicht nur auf Decarboxylierung von Serin, sondern es wird auch durch Spaltung von Phosphatiden gebildet. Der Abbau von Ethanolamin erfolgt mit Hilfe des Enzyms Monoaminoxidase (MAO). (RAINER G., 2005)

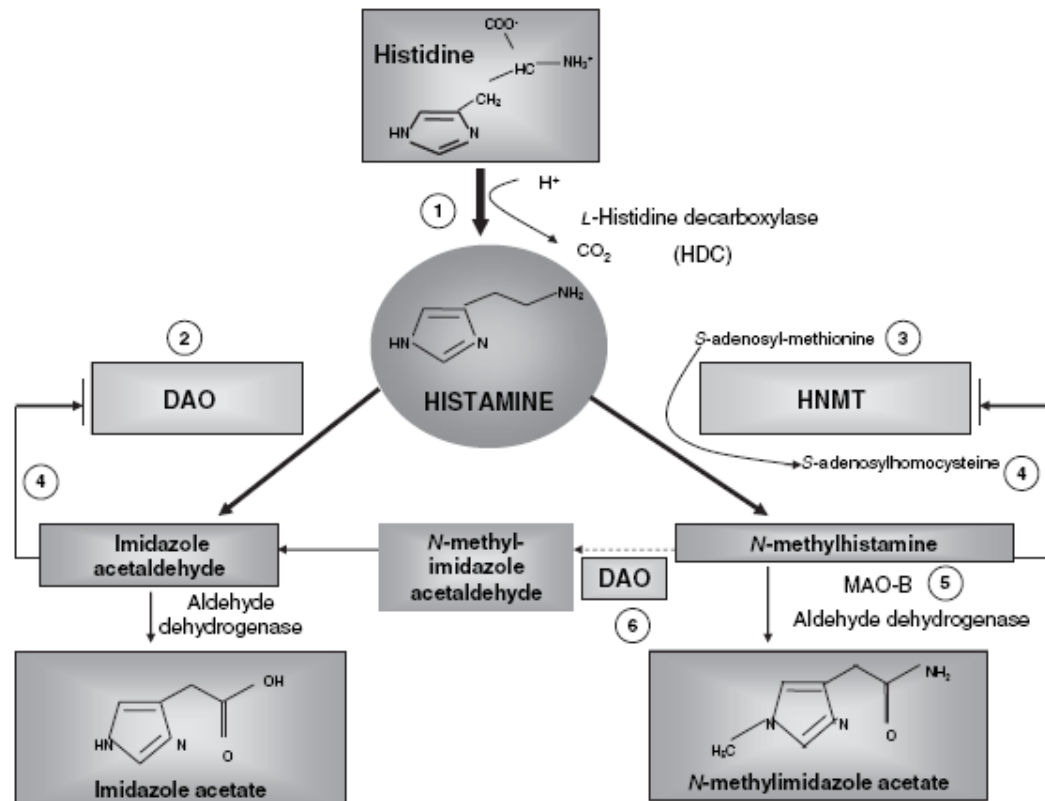
Funktion

Ethanolamin ist ein wesentlicher Baustein des Membranbestandteils Phosphatidylethanolamin und bildet auch eine Vorstufe für Hormone und Neurotransmitter. (VOET D., 2002)

2.5.2. Histamin

Bildung und Metabolismus

Abbildung 11 Histamin Metabolismus (MAINTZ M. et al., 2007)



Funktion

Histamin ist eine körpereigene Substanz und der wichtigste Mediator (Entzündungsstoff) bei allergischen Erkrankungen.

Histamin wird vom Menschen selbst produziert und findet sich in Mastzellen, Leukozyten, Thrombozyten und Neuronen; es steht zur sofortigen Freisetzung jederzeit zur Verfügung. (JARISCH, 2004; RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

- Förderung der lokalen Durchblutung durch Erweiterung der Kapillaren und Erhöhung der Permeabilität der Kapillarendothelien für Flüssigkeiten

- Durch die Gefäßerweiterung vermehrte Durchblutung des Gewebes, verminderter Blutdruck, erhöhte Herzfrequenz
- Steigerung der Magensaftsekretion (durch Anbindung an H2-Rezeptoren von Belegzellen in der Magenmucosa) und Regelung der Sekretionsvorgänge im Darmtrakt
- Kontraktionen der glatten Muskeln des Darmes und Verengung der glatten Muskeln der tiefen Luftwege (über H1-Rezeptoren), Kontraktionen der Uterusmuskulatur
- Anschwellen der Schleimhäute bei übermäßiger Freisetzung. In der Luftröhre und den Bronchien kann das zu schweren Erstickungserscheinungen führen
- Regelung der Magensäureproduktion und Peristaltik im Verdauungstrakt
- Regelung von Schlaf-Wach-Rhythmus
- Regelung der Appetitkontrolle

(CRNOGLAVAC, 2004; STENEBOERG 2007)

2.5.2.1. Histamin in der Schwangerschaft

Ab dem 3. Schwangerschaftsmonat wird in der Plazenta 300 bis 500 mal mehr Diaminoxidase produziert mit dem Ziel, den Histamin-sensiblen Uterus vor allfälligen Histamineinwirkungen (Uteruskontraktion) zu schützen, ausgelöst durch z.B. Aufnahme histaminhaltiger Speisen. Viele Schwangere, die normalerweise histaminsensitiv sind, machen die Erfahrung, dass ab dem 3.

Schwangerschaftsmonat ihre allergischen Beschwerden völlig verschwinden und nach der Geburt wieder präsent sind. Ein Abfall der Histaminwerte im Blut während der Schwangerschaft konnte nachgewiesen werden. (CRNOGLAVAC, 2004)

Plazentare DAO ist verantwortlich für die erhöhten Werte der Plasmaenzymaktivität während der Schwangerschaft, als Schutz gegen biogene Amine wie Histamin, Cadaverin und Putrescin, die in großen Mengen von fötalen

und embryonalen Geweben gebildet werden, die sowohl für den Fötus aber auch für die Mutter gefährlich werden können. (SCHILLER-FRÜHWIRT I., 2005)

2.5.2.2. Histaminintoleranz

Ca. 1 % der Gesamtbevölkerung leiden an einer Histaminintoleranz (HIT). 80 % der Betroffenen sind Frauen über 40. Eine mögliche Ursache hierfür, könnte die Abnahme der Geschlechtshormone mit der Zunahme des Alters sein.

(MISSBICHLER et al., 2007)

Defekt

Die HIT – eigentlich eine Histamin-Abbaustörung – beruht auf einem Ungleichgewicht zwischen der Histaminmenge und der Kapazität, diese abzubauen. (STENEBOERG, 2007)

Ein nicht ausreichender Histaminabbau durch DAO im Darm führt zu einer Entgleisung des Histaminstoffwechsels, besonders bei Konsum mehrerer histaminhaltiger Lebensmittel. (RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

Für den Organismus ist es unerheblich, aus welcher Quelle das Histamin stammt (in vivo gebildet oder über die Nahrung). (RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

Die HIT ist keine durch Immunglobuline vermittelte und durch solche im Blut nachweisbare Allergie: Wegen der allergieähnlichen Beschwerdebilder kann man die HIT auch zu den „Pseudoallergien“ zählen.

(STENEBOERG, 2007)

„Formen der HIT

Neben der seltenen angeborenen (primären) HIT, entstehen erworbene (sekundäre) Formen

- bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa oder während eines akuten Infektes der Darmschleimhaut

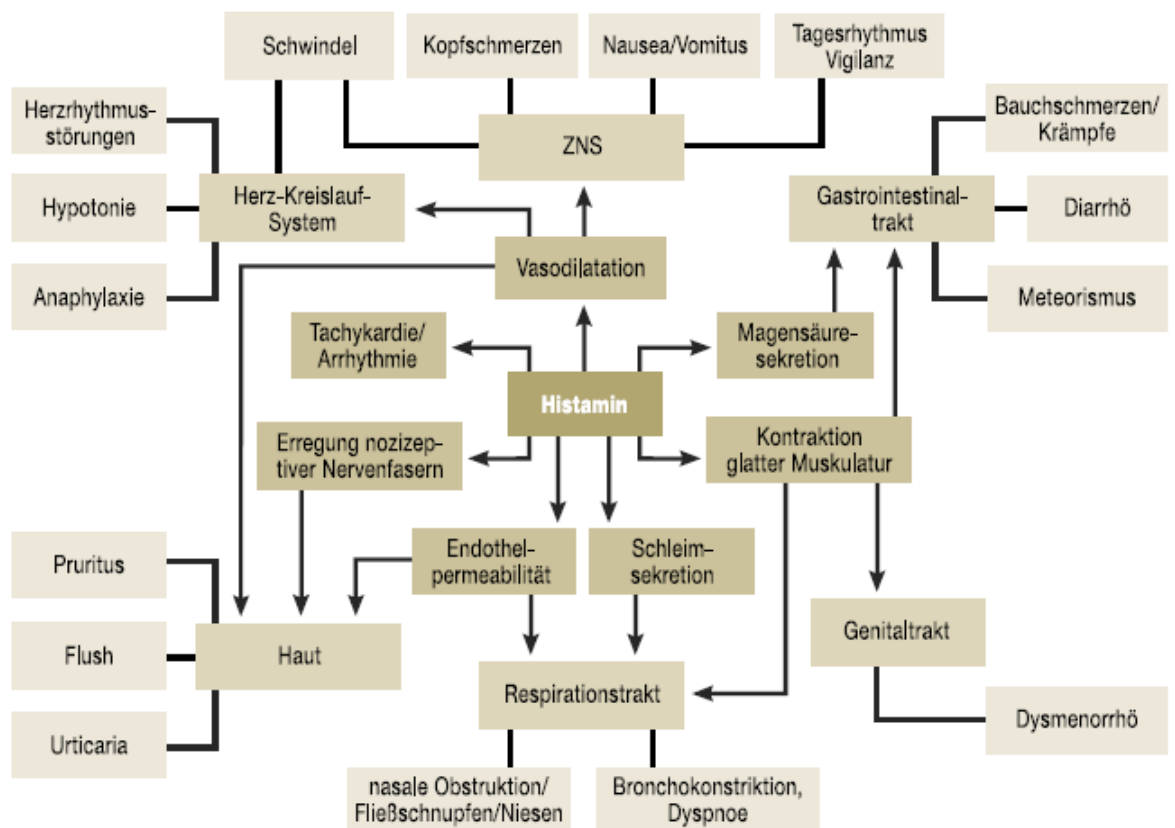
Im Schub kann es zu einem vorübergehenden DAO-Mangel kommen; die DAO-Enzymaktivität normalisiert sich in der Regel nach Abklingen des Infektes.

- durch medikamentös bedingte Verringerung der DAO-Aktivität oder
- durch Verzehr (hist)aminreicher oder histaminliberierender (freisetzender) Nahrungsmittel und alkoholischer Getränke wie Wein und Bier (STENEBOERG, 2007)

Symptome einer Histaminintoleranz

Im Vergleich zu anderen Krankheiten, bei denen ein klar definiertes Beschwerdebild eine schnelle Diagnose ermöglicht, äußert sich die Histaminintoleranz in einer Reihe von gesundheitlichen Störungen, die von Kopf bis Fuß reichen können. Jeder Mensch hat ein individuelles Beschwerdebild und Symptome in bestimmten Organsystemen können, aber müssen nicht auftreten. (SCHLEIP, 2008)

Abbildung 12 Mögliche Symptome einer Histaminintoleranz (MAINTZ L et al., 2006)



Kopfschmerzen

Mit Migräne bzw. Kopfschmerzen in Zusammenhang gebracht wurden v. a. Histamin, Tyramin und Phenylethylamin.

Eine kopfschmerzauslösende Wirkung von Histamin wurde nach intravenöser und subkutaner Gabe sowie nach Inhalation beobachtet. (HOLZHAMMER et al., 2006)

Migräneanfälle, die durch Histamin ausgelöst werden, hängen mit Stickstoffmonoxid zusammen. Histamin kann Stickstoffmonoxid aus dem Endothelium über eine Stimulation des Histaminrezeptors H1R, der unter anderem in den großen intrakraniellen Arterien exprimiert wird, freisetzen. (MAINTZ et al. 2006)

Gastrointestinaltrakt

In Kolonbiopsien von Patienten mit Nahrungsmittelallergien fand man begleitend eine reduzierte Histamin-N-Methyltransferase (HNMT), kombiniert mit einer erniedrigten totalen Histamindegradationskapazität. Die Enzyme können sich unter diesen Umständen nicht gegenseitig kompensieren. Ein intestinaler Mucosaschaden bei gastrointestinalen Erkrankungen kann daher zu einem gestörten Histaminmetabolismus aufgrund mangelnder DAO-Produktion führen. (MAINTZ et al., 2006)

Respirationstrakt

Eine erniedrigte Aktivität des Enzyms HNMT wurde bei Asthma Patienten gefunden. (MAINTZ et al., 2006)

Sexualhormone

Histamin wird im weiblichen Genitaltrakt vor allem in Mastzellen, Endothel- und Epithelzellen im Uterus und Ovar produziert. Frauen mit einer Histaminintoleranz leiden sehr häufig an zyklusabhängigen Kopfschmerzen sowie an Dysmenorrhö. Histamin besitzt eine kontraktionsfördernde Wirkung und steigert zusätzlich auch die Estradiolsynthese, jedoch fördert Histamin die Progesteronsynthese nur mäßig.

Verursacht werden die schmerzhaften Unterleibskrämpfe durch eine vermehrte Bildung von Prostaglandin F2a in der Gebärmutterschleimhaut, die durch Östrogen gefördert und durch Progesteron gemildert werden. (MAINTZ et al., 2006)

Diagnose

Anamnese

Befragung über Symptome, Beschwerden und zugeführte Nahrungsmittel und Medikamente. (STENEGER, 2007)

Differentialdiagnostisch ist es auch sinnvoll, etwaige Nahrungsmittelallergien, Fruktose- und Laktoseintoleranz, eine chronische Bauchspeicheldrüsenentzündung und einige weitere Darmerkrankungen auszuschließen. (WURZINGER, 2008)

Zusätzlich sollte die Serumtryptaseaktivität bestimmt werden, um eine okkulte Mastozytose als Ursache der Beschwerden auszuschließen. (MAINTZ et al., 2006)

Blutuntersuchung

Wenn sich der Verdacht auf eine HIT erhärtet hat, kann eine Blutuntersuchung angeordnet werden. (STENEGER, 2007)

Das Enzym DAO wird kontinuierlich von der Darmschleimhaut über die Lymphe in den Blutstrom transportiert, eine basale DAO-Aktivität ist demnach in Lymphe und Blut vorhanden und messbar. (SCHILLER-FRÜHWIRT I., 2005)

Die Bestimmung des Histaminspiegels ist nicht einfach, da die Blutanalyse unmittelbar nach der Abnahme des Blutes erfolgen muss. Zudem ist der Histaminspiegel je nach Histamingehalt der zuletzt verzehrten Speise unterschiedlich hoch, somit ist eine zweite Bestimmung nach einer histaminreichen und -armen Diät sinnvoll. (WURZINGER, 2008)

Die DAO-Aktivität im Plasma ist normalerweise relativ niedrig. Durch eine Heparininjektion wird jedoch gewebegebundenes DAO freigesetzt.

Während mehrere Studien eine Korrelation zwischen DAO-Aktivitäten im Darm und im Blut nach Heparinstimulation zeigten, existieren bisher keine direkten

Vergleichsmessungen der DAO-Aktivität im Blut ohne Heparinstimulation mit der DAO-Aktivität im Gewebe.

Da erniedrigte DAO-Serumaktivitäten bei Patienten mit einer HIT korrelieren, und Serum DAO-Spiegel nicht signifikant zu verschiedenen Tageszeiten oder geschlechtsabhängig variieren, wird aufgrund der klinischen Praktikabilität im Allgemeinen der diagnostische Bluttest verwendet. (MAINTZ et al., 2006)

Tabelle 3 Tabelle: Normalwerte für die Histamin-, die DAO- und die Vitamin B₆-Konzentration (FAZ, 2005)

Histamin	<0,3 ng/ml normal
	0,3 – 0,49 ng/ml erhöht
	>0,5 ng/ml stark erhöht
DAO	>10 U/ml normal
	3 – 10 U/ml erniedrigt
	<3 U/ml stark erniedrigt
Vitamin B ₆	ab 40 nmol/l normal

Tabelle 4 Tabelle: Interpretation der Messergebnisse in Bezug auf die HIT (MAINTZ et al., 2006)

DAO <3 U/ml:	HIT anzunehmen
3 U/ml < DAO < 10 U/ml:	HIT wahrscheinlich
DAO > 10 U/ml:	HIT wenig wahrscheinlich

Sowohl der Histamin- als auch der Diaminoxidase-Spiegel im Blut geben nur einen ungefähren Hinweis auf die aktuelle Situation, da er nicht mit den Konzentrationen in den betroffenen Geweben korrelieren muss. (WURZINGER, 2008)

Hauttest

Prick-Test: Es wird der Durchmesser der Histaminquaddel nach 40 Minuten einer intradermalen Histamin-Injektion bestimmt. (STENEGER, 2007)

Provokationstest

Nach einer zweiwöchigen histaminarmen Kosten (und Absetzen von Antihistaminika und DAO-hemmenden Medikamenten) wird ein Test mit Hartkäse, histaminreichem Sekt (2 Sektproben à 0,2 l) oder Rotwein vollzogen. (STENEGER, 2007)

Histaminliberatoren

Medikamente

Manche Medikamente können eine Histaminfreisetzung oder eine Hemmung der DAO bewirken und so schwere Intoleranzreaktionen hervorrufen.

Tabelle 5 Die häufigsten histaminliberierenden oder DAO-hemmenden Medikamente (MAINTZ L et al., 2006)

Substanzklasse	Wirkstoffe
Röntgenkontrastmittel	
Muskelrelaxantien	Pancuronium, Alcuronium, D-Tubocurarin
Narkotika	Thiopental
Analgetika	Morphin, Pethidin, NSAR, ASS, Metamizol
Lokalanästhetika	Prilocain

Antihypotonika	Dobutamin
Antihypertensiva	Verapamil, Alprenolol, Dihydralazin
Antiarrhythmika	Propafenon
Diuretika	Amilorid
Motilitätsbeeinflussende Mittel	Metoclopramid
Antibiotika	Cefuroxim, Cefotiam, Isoniazid, Pentamidin, Clavulansäure, Choroquin
Mukolytika	Acetylcystein, Ambroxol
Broncholytika	Aminophyllin
H2-Rezeptorantagonisten	Cimetidin
Zytostatika	Cyclophosphamid
Antidepressiva	Amitriptylin

Lebensmittel (GIRNDT, 2007)

Die wichtigsten Histaminliberatoren sind:

- Erdbeeren
- Zitrusfrüchte
- Tomaten
- Meeresfrüchte
- Ananas
- Kiwi
- Champignons

- Auch einige Zusatzstoffe und Geschmacksverstärker wie Glutaminsäure - da sie in der Lage sind möglicherweise pseudoallergische Reaktionen auszulösen. (STENEGER, 2007)

Diaminoxidase blockierende Nahrungsmittel:

- Alkohol
 - Kakao
 - Schwarzer und grüner Tee
 - Matetee
 - Energy Drinks (Bestandteil Theobromin blockiert die DAO)
- (GIRNDT, 2007)

Therapie

Grundsätzlich ist der wichtigste Bestandteil der Therapie die Umstellung der Ernährungsgewohnheiten auf eine histaminarme Kost. Ebenso sollen Histaminliberatoren und Lebensmittel mit einem hohen Anteil an anderen biogenen Aminen auf ein Minimum eingeschränkt werden. Wenn der Verzehr histaminreicher Lebensmittel nicht vermieden werden kann, z.B. auf Reisen, können prophylaktisch H1- und H2-Rezeptorantagonisten eingenommen werden. Bei einer konsequenten histaminarmen Kost, scheinen Antihistaminika keinen wesentlichen zusätzlichen Nutzen zu haben.

(MAINTZ ET AL., 2006)

Die häufigsten Auslöser von Beschwerden sind: (JARISCH,2004)

1. Alkoholische Getränke (insbesondere Rotwein)

Alkohol führt zu einer rascheren Histaminaufnahme aus Flüssigkeiten infolge einer besseren Oberflächenbenetzung an der Darmschleimhaut und damit zu einem

stärkeren Anfluten von Histamin im Körper, sodass der Abbau vorübergehend erschwert sein kann; Kohlensäure verstärkt diesen Effekt noch (z.B. Champagner) Alkohol erhöht die Durchlässigkeit von Histamin durch die Darmwand, d.h. Histamin wird leichter aufgenommen.

Alkohol wirkt als unspezifischer Histaminfreisetzer an Zellen, die Histamin gespeichert haben.

Alkohol selbst und sein Abbauprodukt, das Azetaldehyd hemmen die DAO. (WURZINGER, 2008)

2. Käse (insbesondere Hartkäse)

Nach Fisch, ist Käse das häufigste Lebensmittel das mit Histamin-Vergiftungen in Verbindung gebracht wird. (SANTOS, 1996)

Für seine potenziell Kopfschmerz auslösende Wirkung werden Tyramin, Histamin und Phenylethylamin diskutiert. (HOLZHAMMER et al., 2006)

3. Schokolade

Als möglich kopfschmerztriggernde Substanzen bei Schokolade wurden Theobromin, Koffein und biogene Amine wie Phenylethylamin genannt. Doppelblinde, placebokontrollierte Untersuchungen zur Auslösung von Kopfschmerzen durch Schokolade erbrachten kontroverse Ergebnisse. (HOLZHAMMER et al., 2006)

Tabelle 6 Effekte von Schokolade im Vergleich mit Placebo
(GIBB et al. 1991)

	Personen mit Symptomen			
	Personen ohne Symptome	Kopfschmerz	Übelkeit	Sehstörungen
Schokolade (n=12)	5	5	4	2
Placebo (n=8)	0	0	0	0

In einer anderen Studie fanden MOFFETT et al. Kopfschmerzen nach Schokolade bei 19 % und nach Placebo bei 12 % der Probanden.

Marcus et al. publizierten 1997 eine prospektive, doppelblinde, placebokontrollierte Studie mit einem äußerst stringenden Studiendesign: eingeschlossen wurden nur Frauen (n=63), die an Migräne (50 %), Kopfschmerz vom Spannungstyp (38 %) oder kombiniertem Kopfschmerz (12 %) litten, und von denen 18 % Schokolade als Kopfschmerztrigger anschuldigten. Es zeigte sich, dass Schokolade nicht häufiger zu Kopfschmerzen führte als Placebo und es spielte keine Rolle, ob die Teilnehmerinnen selbst Schokolade für einen Trigger gehalten hatten und welcher Diagnosegruppe sie angehörten. (HOLZHAMMER et al., 2006)

4. *Salami u. a. Rohwürste*

5. *Nüsse*

6. *Tomaten*

7. *Erdbeeren, Zitrusfrüchte u. a. Histaminliberatoren*

Neben Bananen, Tomaten und Bohnen finden insbesondere Zitrusfrüchte als mögliche Kopfschmerztrigger Erwähnung, wobei postuliert wurde, dass das in Zitrusfrüchten enthaltene biogene Amin Octopamin für die Triggerung von Kopfschmerzen verantwortlich sein könnte. (HOLZHAMMER et al., 2006)

8. *Sauerkraut*

9. *Spinat*

10. *Fisch*

Tabelle 7 Histaminreiche und Histaminarme Lebensmittel
(GIRND, 2007)

	Histaminreich	Histaminarm
Fleisch und Fisch allgemein	Geräuchertes, Gepökeltes, Mariniertes, Getrocknetes	Frisches oder Tiefgefrorenes
Fleisch	Rohwürste, Salami, Schinken, Mettwurst, Leber, Leberwurst, Fleischextrakte	Frisches Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch Bratwürste, Kochwürste
Fisch	Hering, Sardellen, Thunfisch, Makrele, Fischkonserven, Schalentiere, Muscheln	Dorsch, Seelachs, Scholle, Kabeljau, Rotbarsch, Schellfisch
Milchprodukte	Lang gereifter Käse wie • Emmentaler • Camembert • Tilsitter • Edamer • Chester • Cheddar • Roquefort • Sauermilchkäse • Schimmelgereifter Käse • Schmelzkäse	Wenig gereifter Käse wie • Junger Gouda • Butterkäse • Hüttenkäse • Frischkäse Butter, Kefir, Topfen, Joghurt, Sahne
Getreideprodukte	Brot mit Zusatzstoffen	Getreide und Getreideprodukte, die ohne Hefe hergestellt werden
Obst	Zitrusfrüchte, Papaya, Ananas, lang gereifte Bananen, Pflaumen, Birnen, Kiwi, Erdbeeren, Himbeeren, Nüsse	Melone, Heidelbeeren, Preiselbeeren, Litschi, Mango, Kirschen, Johannisbeeren, Äpfel, Aprikosen
Gemüse	Avocado, Auberginen, Tomaten (Achtung auch bei Tomatenketchup), Spinat, Kohlrabi, Pilze, Sauerkraut, Gemüsekonserven	Kartoffeln, Grüner Salat, rote Beete, Kürbis, Zwiebeln, Radieschen, Rettich, Paprika, Karotten, Brokkoli, Gurke, Lauch, Zucchini, Mais
Süßwaren	Schokolade, Nougat, Marzipan, Marmelade, Konfitüre, Erdnusscreme, Lakritz	Fruchtbonbons und Fruchtgummi, Kaugummi, Honig

Getränke	Schwarzer Tee, Brennnesseltee	Obstsäfte (außer Zitrusfrüchte), Kräutertee, grüner Tee
Alkohol	Rotwein, Süßweine (Auslesen, Portweine, Sherryweine), Champagner Obergärige Biere (besonders hefetrübe)	Weißwein, Klare Schnäpse Untergärige Biere
Sonstiges	Algengerzeugnisse, Hefe, Essig, sauer eingelegtes Gemüse, fermentierte Sojaprodukte	

Vitamine

Vitamin B6

Personen die an einer Histaminintoleranz leiden zeigen oft einen Mangel an Vitamin B6. (WURZINGER, 2008)

Evidenzbasiertes Wissen zur Substitutionstherapie mit Vitamin B6 fehlt.

Möglichweise ist diese sinnvoll, da Pyridoxalphosphat für die DAO-Aktivität entscheidend sein dürfte. Als therapeutische Dosis wurde eine Dosis von 1mg Vitamin B6/kg Körpergewicht für eine erfolgreiche Substitution als ausreichend vorgeschlagen. (SCHILLER-FRÜHWIRT I., 2005)

Kritik

Der fehlende wissenschaftliche Beweis, dass biogene Amine Nahrungsmittelunverträglichkeiten im Allgemeinen oder Migräne im Besonderen auslösen würden, rechtfertigt es nicht, diesen Patienten spezielle Diäten vorzuschreiben.

Adäquate, doppelblinde, randomisierte, placebokontrollierte Studien, die belegen würden, dass die orale Aufnahme von Histamin eine Nahrungsmittelunverträglichkeit erklären würde, liegen allerdings nicht vor.

Auch für Tyramin und Phenylethylamin konnte eine ursächliche Bedeutung als Kopfschmerztrigger nicht bestätigt werden.

Die kürzlich beschriebenen erhöhten Plasmaspiegel biogener Amine bei Patienten mit Migräne (und Clusterkopfschmerz) zeigen, dass es weiterer Studien bedarf, um die Bedeutung der biogenen Amine in der Pathogenese primärer Kopfschmerzen zu klären. (HOLZHAMMER et al., 2006)

2.5.3. Tyramin

Funktion

Tyramin kann sowohl in Noradrenalin umgewandelt werden als auch im Gewebe gebundenes Noradrenalin freisetzen und hat nach einigen Autoren eine antioxidative Aktivität, die mit steigendem Tyramingehalt ansteigt. (ASKAR und TREPTOW, 1986; SANTOS, 1996)

Tyramin gehört zur Gruppe der vasoaktiven Amine, weil es eine Erhöhung des Blutdruckes bewirken kann. Ebenfalls erweitert es auch die Pupillen, verursacht Speichelfluss und steigert die Atmung und den Blutglucosespiegel. (RAINER, 2005)

2.5.4. Putrescin

Funktion

Putrescin gilt als Vorstufe für eine Reihe von Alkaloiden. Ferner spielt Putrescin als Stickstoffreserve bei der Transaminierung eine Rolle. (ASKAR und TREPTOW, 1986)
Putrescin verhindert außerdem die Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren. (SANTOS, 1996)

2.5.5. Cadaverin

Funktion

Cadaverin kann durch Diaminoxidase zum ω -Aminovaleraldehyd oxidiert werden. Dieser Aldehyd zyklisiert spontan zum Δ^1 -Piperidein, welches als Vorstufe für eine Reihe von Alkaloiden gilt. (ASKAR und TREPTOW, 1986)

2.5.6. Tryptamin

Funktion

Tryptamin stimuliert die Kontraktion der glatten Muskulatur, z.B. in Blutgefäßen und Uterus, und gehört ebenfalls zur Gruppe der vasoaktiven Amine, da es den Blutdruck erhöht. Es kommt als bakterielles Abbauprodukt sowie auch in tierischen und pflanzlichen Geweben vor, wobei es bei Pflanzen wachstumsfördernd wirkt. Natürlich vorkommende Tryptamin-Derivate sind Serotonin, Melatonin, die halluzinogen wirkenden Indol-Alkaloide Psilocybin und Bufotenin. (RAINER, 2005)

2.5.7. Phenylethylamin

Funktion

Phenylethylamin gehört zu den vasoaktiven, Blutdruck erhöhenden Aminen. Es kann bei empfindlichen Personen Kopfschmerzen oder einen Migräneanfall hervorrufen.

Neben Tyramin und Serotonin agiert auch Phenylethylamin als Stimulans für das zentrale Nervensystem. Phenylethylamin kann den Endorphinspiegel erhöhen und soll als natürliches Antidepressivum wirken. (RAINER, 2005)

2.5.8. Spermidin und Spermin

Funktion von Spermidin

Die Hauptfunktion von Spermidin ist die Unterstützung von wachsenden Zellen bei der Produktion von Nucleinsäuren und Eiweiss. Spermidin ist wie auch Spermin und Putrescin ein essentieller Faktor bei der Zellproliferation und Differenzierung, indem es bei der Induktion von Gewebswachstum eine wichtige Rolle spielt.

(CRNOGLAVAC, 2004)

Funktion von Spermin

Spermin wirkt als antiinflammatorischer Mediator bei dem Beenden von Entzündungen. Es akkumuliert an Orten von Gewebsverletzungen und Infektionen und hemmt die Makrophagenaktivierung und deren Zytokinsynthese, sobald ihre Aufgabe getan ist, damit durch ihre Produkte gesunde Zellen nicht verletzt werden.

(CRNOGLAVAC, 2004)

2.6. Hitzestabilität biogener Amine

Biogene Amine sind thermostabil und überstehen die üblichen Garverfahren. Histamin wird beispielsweise erst nach einer 90-minütigen Erhitzung auf 116°C zerstört. Beim Kochen lösen sich biogene Amine allerdings im Kochwasser, sodass sich die Konzentration im Lebensmittel reduziert. (WEIß C., 2009)

2.7. Toxikologie biogener Amine

Das Vorhandensein der biogenen Amine Histamin, Tyramin, Agmatin, Putrescin, Cadaverin, Spermin und Spermidin ist nicht nur wichtig aus der Sicht der Toxizität für den Menschen, sondern auch ein guter Indikator für den Grad der Frische eines

Lebensmittels bzw. für den Fortschritt des Verderbes eines Lebensmittels.

(SANTOS, 1996)

Histamin in höheren Konzentrationen ist für alle Menschen toxisch. Bei geringeren Dosen ist eine individuelle Toleranz entscheidend. (RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

Die Bedeutung von biogenen Aminen, insbesondere des Histamin wurde erst bei Aufklärung von bakteriellen Lebensmittelvergiftungen durch Fischverzehr (Scromboid-Fish-Poisoning) erkannt. (PECHANEK, 2007)

Der Histamin-, Putrescin und Cadavergehalt erhöht sich normalerweise während des Verderbs. Anders ist es bei den biogenen Aminen Spermin und Spermidin; diese sinken während des Verderbprozesses. (SANTOS, 1996)

2.7.1. EU-Regulation

Der Grenzwert für Histamin bei Fischereierzeugnissen von Fischarten, bei denen ein hoher Gehalt an Histidin auftritt (*Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae* und *Scombraesosidae*) ist in der EU durch die Regulation (EC) 2073/2005 geregelt.

Die analytische Methode ist mit einer HPLC-Anlage durchzuführen. Der Probenplan sieht folgendermaßen aus:

Tabelle 8 Regulation (EC) 2073/2005
(RICHTLINIE 2073/2005)

Lebensmittelkategorie	Mikroorganismen/deren Toxine, Metaboliten	Probenahme -plan ⁽¹⁾		Grenzwerte	
		n	c	m	M
Fischereierzeugnisse, die einem enzymatischen Reifungsprozess in Salzlösung unterzogen und aus Fischarten hergestellt werden, bei denen ein hoher Gehalt an Histidin auftritt (siehe oben)	Histamin	9	2	200 mg/kg	400 mg/kg
Fischereierzeugnisse von Fischarten, bei denen ein hoher Gehalt an Histidin auftritt (siehe oben)	Histamin	9	2	100 mg/kg	200 mg/kg

(1) n = Anzahl der Probeneinheiten der Stichprobe; c = Anzahl der Probeneinheiten, deren Werte über m oder zwischen m und M liegen.

Interpretation der Untersuchungsergebnisse:

1. der gemessene Durchschnittswert ist ≤ 100 bzw. 200 mg/kg ,
2. möglichst viele gemessene Werte liegen zwischen 100 bzw. 200 mg/kg und 200 bzw. 400 mg/kg,
3. kein gemessener Wert überschreitet den Grenzwert 200 bzw. 400 mg/kg

Unbefriedigend, sofern der gemessene Durchschnittswert > 100 bzw. 200 mg/kg ist oder mehr Werte zwischen 100 bzw. 200 mg/kg und 200 bzw. 400 mg/kg liegen

oder ein gemessener Wert oder mehrere gemessene Werte >200 bzw. 400 mg/kg sind. (RICHTLINIE 2073/2005)

RAUSCHER-GABERNIG et al. schlägt eine Modifikation für die Grenzwerte bei fermentierten Würsten mit 500 und 400 mg/kg vor. Für Fischarten, die nicht in der EU-Regulation enthalten sind, wären die Grenzwerte von 100 und 200 mg/kg ebenfalls wünschenswert.

2.7.2. Grenzwerte für die Histaminintoleranz

Der toxikologische Grenzwert für eine Histaminintoleranz ist schwer zu definieren, da es auf die unterschiedlichen Charakteristika und Anwesenheit anderer biogener Amine ankommt. (SHALABY, 1996)

Grenzwerte werden in der Literatur unterschiedlich beschrieben:

Tabelle 9 Überblick über toxikologisch wirksame Gehalte von Histamin aus der Literatur (RAUSCHER-GABERNIG et al., 2008)

Lebensmittel-kategorie	Histamin-konzentration	Effekt	Quelle
Heringpaste	45 mg/kg	Dosierung ohne Wirkung	Van Gelderen et al. (1992)
Fisch	<50 mg/kg	zum Verzehr geeignet	Bartholomew et al. (1987)
Fisch	50-200 mg/kg	möglicherweise toxisch	Bartholomew et al. (1987)
Fisch	500 mg/kg	Histamin Fischvergiftung	Lehane and Olley (2000)
Tunfisch	500 mg/kg	Gefahren-Schwellenwert	Taylor (1986); Taylor et al. (1989)
Fisch	500-1000 mg/kg	Vergiftung	Askar and Treptow (1986)
Fisch	1000 mg/kg	kritisch für Vergiftung	Ramantis et al. (1985)

Fisch	>1000 mg/kg	Symptome ähnlich einer Histaminintoleranz	Arnold and Brown (1978)
Fisch	>1000 mg/kg	Giftig und unsicher zum Verzehr	Bartholomew et al. (1987)
Käse	<100 mg/kg	Unbedenklichkeitswert	Durlu-Özkaya (2002)
Käse	>1000 mg/kg	Vergiftung	Roig-Sagues et al. (1998)
Schweizer Käse	1870 mg/kg	klinischer Fall/Vergiftung	Taylor et al. (1982)
Gouda	850 mg/kg Trockenmasse	klinischer Fall/Vergiftung	Doeglas et al. (1967)
Alkoholische Getränke	2 mg/l	obere Grenze	Silla-Santos (1996)
Wein	5 mg/l	Unbenklichkeitswert	Askar and Treptow (1986)
Wein	10 mg/l	max. zugelassener Wert	Marcobal et al. (2005)
Wein	>20 mg/l	sicherere physiologische Effekte	Marcobal et al. (2005)
Wein	21,1 mg/l	keine statistischen signifikanten Effekte	Lüthy and Schlatter (1983)
Mahlzeit	5-6 mg/Portion	Schwellenwert	Henry (1960); Peeters (1963)
Mahlzeit	10 mg/Portion	Toleranzgrenze	Askar and Treptow (1986)
Mahlzeit	8-40 mg/Portion	leichte Vergiftung	Henry (1960); Peeters (1963)
Pures Histamin – Apfelsaft zugesetzt	25 mg/Portion	keine statistisch signifikanten Effekte	Lüthy and Schlatter (1983)
Pures Histamin – Pfefferminztee zugesetzt	75 mg/Portion	Symptome ähnlich einer Histaminintoleranz bei 50 % der weiblichen Versuchspersonen	Wöhl et al. (2004)
Mahlzeit	100 mg/Portion	mittlere Vergiftung	Askar and Treptow (1986)
Mahlzeit	70-1000 mg/Portion	moderate Vergiftung	Henry (1960); Peeters (1963)

Mahlzeit	70-1000 mg/Portion	toxischer Grenzwert	Edwards and Sandine (1981)
Mahlzeit	>500 mg/Portion	gesundheitsschädigende Wirkung	Grillo and Dandrifosse (2005)
Mahlzeit	1000 mg/Portion	schwere Vergiftung	Askar and Treptow (1986)
Mahlzeit	1500-4000 mg/Portion	schwere Vergiftung	Henry (1960); Peeters (1963)
Speise	<50 mg/kg	keine Effekte	Pattono et al. (2000)
Speise	>100 mg/kg	Störungen bei empfindlichen Individuen	Pattono et al. (2000)
Speise	100-225 mg/kg	kritisch toxisch	Diel et al. (1997)
Speise	500-1000 mg/kg	gesundheitlich möglicherweise gefährlich	ten Brink et al. (1990)
Speise	1000 mg/kg	toxische Dosis	Stratton et al. (1991)
Speise	1000 mg/kg	kritisch für Vergiftung	Askar (1982)
Speise	1000 mg/kg	akute Vergiftung	Reichl (2002)
Speise	1000 mg/kg	gesundheitlich gefährlich	Silla-Santos (2000)
Speise	>1000 mg/kg	in den meisten Fällen toxisch	Pattono et al. (2000)

Eine Studie ergab, dass es bei Histaminintoleranz-Patienten bereits nach 15 bis 30 µg Histamin zu ersten Reaktionen kam.

Die Wirkungen dieser äußerst geringen Menge kommen wohl nur beim

Zusammenwirken mehrerer Faktoren zustande:

- dem Gehalt anderer biogener Amine in der Nahrung
- die gleichzeitige Einnahme von Alkohol
- oder DAO-hemmender Medikamente. (VFED, 2007; STENEBOERG, 2007)

Tabelle 10 Wirkung von Tyramin und Phenylethylamin

Substanz	Probenanzahl	Effekte aufgetreten bei	Auslösung von Kopfschmerzen bei
Placebos	162	11,7 %	9,3 %
25 mg Tyramin x 1 mol HCl	54	7,4 %	5,6 %
5 mg Phenylethylamin x 1 HCl	54	24,1 %	20,4 %

*27 Probanden im placebo-kontrollierten Doppelblind-Versuch (LÜTHY et al., 1983)

Die Inkubationsdauer liegt zwischen einigen Minuten bis zu wenigen Stunden nach Aufnahme der Mahlzeit. Die Dauer der Auswirkungen ist kurz, Symptome verschwinden in den meisten Fällen innerhalb weniger Stunden. In manchen Fällen halten die Symptome einige Tage an. (RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

Tabelle 11 Biogene Amine in Lebensmitteln und ihre pharmakologischen Effekte (SHALABY, 1996)

Amine	Ausgangsamino-säure	Pharmakologischer Effekt
Histamin	Histidin	• Setzt Adrenalin und Noradrenalin frei • Reizt die glatte Muskulatur des Uterus, des Darms, und den Respirationstrakt • Stimuliert die sensorischen und motorischen Nervenzellen • Kontrolliert die Magensäuresekretion
Tyramin	Tyrosin	• Verursacht Migräne • Erhöht die Herzleistung • Verursacht Tränenfluss • Erhöht die Respiration • Erhöht den Blutzuckerspiegel • Setzt Noradrenalin vom sympathischen Nervensystem frei

Putrescin und Cadaverin	Ornithin und Lysin	• Hypotonie • Bradykardie • Kiefersperre • Extremitätenparese • Verstärkt die Toxizität andere Amine
β-Phenylethylamin	Phenylalanin	• Setzt Noradrenalin vom sympathischen Nervensystem frei • Erhöht den Blutdruck • Verursacht Migräne
Tryptamin	Tryptophan	• Erhöht den Blutdruck

Biogene Amine und Tumore

Polyamine stehen im Verdacht, das Wachstum bösartiger Tumore zu begünstigen, da sie für die Zellteilung essenziell sind und sich die Tumore durch eine besonders hohe Zellteilungsrate auszeichnen. Dies konnte bei erhöhter Aktivität der Ornithin-Decarboxylase gezeigt werden, die zu einer vermehrten endogenen Synthese der Amine Putrescin, Spermin und Spermidin führt. Unklar ist zurzeit, ob eine exogene Zufuhr eine vergleichbare Wirkung hat. (WEIß, 2009)

Tabelle 12 Maximal gemessene Histamingehalte in verschiedenen Lebensmitteln des österreichischen Marktes 2001 bis 2006 (RAUSCHER-GABERNIG, 2007)

Maximal gemessene Histamingehalte	Untersuchte Produkte
>1000 mg/kg	Thunfisch Konserve, Thunfisch roh, Sardine roh, Sardelle Konserve
>500 mg/kg	Hering Konserve, Makrele roh
>200 mg/kg	Schnitt- und Hartkäse, Sardellenpaste, Makrele geräuchert, Sardine Konserve
>100 mg/kg	Salami, Lachs geräuchert, Sauermilchkäse

>50 mg/kg	Bündner Fleisch, Thunfisch geräuchert, Fermentierte Wurst (andere als Salami), Sardelle roh
>20 mg/kg	Bismarckhering, Sonstige Meeresfische und Meeresfrüchte, Schmelzkäse, Rotwein, Makrele Konserve
>10 mg/kg	Süßwasserfische (Karpfen, Wels, Forelle, Saibling, Zander, Pangasius), Sekt, Wein, (nicht Rotwein), Punschextrakt
<Bestimmungsgrenze	Matjeshering, Lachs roh, Milch, Frischkäse und Weichkäse, Bratwurst, Bier

Tabelle 13 Histaminkonzentrationen in einer Mahlzeit mit Meeresfisch als Hauptmahlzeit. (RAUSCHER-GABERNIG et al., 2008)

Lebensmittel	Portionsgröße (g)	Histamin [mg/100g] (niedrig/hoch)	Histamin [mg/Portionsgröße] (niedrig/hoch)
<i>Vorspeise</i>			
Luftgetrockneter geräucherter Schinken	30	4/27	1/8
Melone	100	-	-
<i>Hauptmahlzeit</i>			
Tunfisch	150	0,5/150	0,8/225
Salat mit Apfelessig	50 (15)	0,002/0,002	0,0003/0,0003
<i>Dessert</i>			
Emmentaler	50	1/50	0,5/25
Weintrauben	137,5	-	-
<i>Getränke</i>			
Rotwein	250	0,006/2,2	0,015/5,5
Gesamt-Histamin- Gehalt für die Mahlzeit			2,3/264

2.7.3. Biogenic Amine Index (BAI)

Aus den Gehalten an Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermin und Spermidin errechnet man einen Index zur Abschätzung des Verderbs von Fisch.

$$\text{BAI} = (\text{Histamin} + \text{Putrescin} + \text{Cadaverin}) : (1 + \text{Spermin} + \text{Spermidin})$$

BAI-Werte über 10 deuten auf eine mindere Qualität hin. (ASKAR und TREPTOW, 1986)

2.8. Vorkommen biogener Amine in Lebensmitteln

2.8.1. Tierische Lebensmittel

Wurst

Tabelle 14 Richtwerte für Histamingehalte in Wurstwaren
(JARISCH, 2004)

	Histamin [mg/kg]
<i>Rohwürste/Rohschinken</i>	
Salami	<10-280
Kantwurst	<10-50
Westfälischer Schinken	40-270

Fleisch

Infolge bakterieller Reifungs- und Verderbnisvorgänge entstehen vor allem Putrescin, Cadaverin, Tyramin und Histamin. (SCHOLLENBERGER, 1996)

Tabelle 15 Gehalt biogener Amine in Fleisch [mg/kg]
(PECHANÉK, 2007)

Produkt	Phe	Put	Cad	Tyr	His	Spd	Spm
Faschiertes	<1	57	35	31	5	8	27
Rindfleisch	<1	<1	5	8	10	2	8
Rindfleisch nach Verbrauchsdatum	3	3	8	9	3	2	8
Rindschnitzel	<1	<1	2	5	<1	<1	12
Rindschnitzel nach Verbrauchsdatum	<1	2	14	21	2	2	16
Schweinsschnitzel	<1	<1	<1	9	22	<1	11
Schweinsschnitzel nach Verbrauchsdatum	9	38	66	34	15	2	35

Bemerkenswert ist die Zunahme der Putrescin- und Cadaverinkonzentration während des Verderbnisprozess. Sie steigen regelmäßig und deutlich, sodass Putrescin und Cadaverin als Indikatoren für den Frischegrad von Rind- und Schweinefleisch empfohlen werden können. (BEUTLING et al., 1996)

Fisch

Verschiedene biogene Amine (Histamin, Putrescin, Cadaverin, Tyramin, Spermin, Spermidin) wurden in Fischen wie Makrele, Hering, Tunfisch, Sardine detektiert. Etliche Studien zeigten, dass Meeresfische fähig sind, große Mengen an Histamin bei geringen Temperaturen zu produzieren. (SANTOS, 1996)

Tabelle 16 Richtwerte für Histamingehalte in Fisch und Fischprodukten [mg/kg] (JARISCH, 2004)

Histamin mg/kg	
<i>Fisch</i>	
Fisch, fangfrisch	0
Fisch, verdorben	Bis 13.000
Tiefkühlware	0-5
Tiefkühlware, paniert	0-7
<i>Fischprodukte</i>	
Vollkonserven	0-35
Makrelen, geräuchert	0-300
Matjes, Bismarckheringe	0-10

Milchprodukte

Es wurde festgestellt, dass in der Muttermilch die Mengen an Spermin, Spermidin und Putrescin großen Schwankungen unterliegen. Sogar die Konzentration von Spermidin und Spermin zwischen der rechten und der linken weiblichen Brust unterlag Schwankungen. (SANTOS, 1996) Kuhvollmilch und daraus hergestellte Produkte enthalten nur geringe Aminkonzentrationen. (PECHANЕК, 2007)

Tabelle 17 Richtwerte für Histamingehalte in Milchprodukten (JARISCH, 2004)

Milchprodukt	Histamin mg/kg
pasteurisierte Milch	0,3-0,7
Haltbarmilch	0,8
Kondensmilch	1,2
Joghurt	2,1

Käse

Käse stellt ein ideales Medium für die Bildung von biogenen Aminen durch Decarboxylierung der angehäuften Aminosäuren dar. (BEUTLING et al., 1996)

Die einzelnen Literaturangaben zur Konzentrationsangabe in Käse sind sehr unterschiedlich. Im Allgemeinen kann man aber sagen: Je länger ein Käse reift, umso höher kann sein Gehalt an biogenen Aminen sein. (PECHANNEK et al., 1983)

Tabelle 18 Mittelwerte biogener Amine in Käsesorten (mg/kg) (PECHANNEK et al., 1983)

Käsesorte	Putrescin	Histamin	Cadaverin	Spermin	Tyramin	Phenylethylamin
Emmentaler	10,9	225	13,5	<0,1	290	58,8
Stangenkäse	158	2,6	317	<0,1	279	85,4
Bierkäse*	159	<0,1	564	<0,1	458	<0,1
Tilsiter*	477	37,2	873	<0,1	2210	39,3
Käse nach holländischer Art*	9	<0,1	52,2	<0,1	341	256
Chester*	15,3	18,5	12,2	<0,1	188	<0,1
Butterkäse*	3,25	<0,1	<0,05	<0,1	83	<0,1

*Einzelbestimmungen

2.8.2. Pflanzliche Lebensmittel

Obst

Etliche Säfte, Nektaren und Limonaden die von Orangen, Himbeeren, Zitronen, Grapefruits, Mandarinen, Erdbeeren und Trauben stammen, enthalten verschiedene biogene Amine in unterschiedlichen Konzentrationen, wobei Putrescin zu den wichtigsten zählt. (SANTOS, 1996)

Tabelle 19 Biogene Amine in Obst (JARISCH, 2004)

Obst	Biogene Amine (mg/kg)
Orangen	Putrescin (100-120)
Bananen	Putrescin (33)
Himbeeren	Tyramin (10-90)
Birnen	Spermin (30)

Gemüse

Halász et al (1994) haben hohe Mengen an biogenen Aminen in Orangensaft (Noradrenalin, Tryptamin), Tomaten (Tyramin, Tryptamin, Histamin), Bananen (Tyramin, Noradrenalin, Tryptamin, Serotonin), Feigen (Tyramin, Noradrenalin) und Spinatblättern (Histamin) aufgezeigt. (SANTOS, 1996)

Tabelle 20 Histamingehalt in Gemüse (JARISCH, 2004)

Gemüse	Histamin mg/kg
Spinat	30-60
Melanzani	26
Avocado	23
Tomatenketchup	22
Sauerkraut	10-200

Essig

Tabelle 21 Histamingehalte in Essig (JARISCH, 2004)

Essigsorte	Histamin µg/l
Apfelessig	20
Tafelessig	500
Rotweinessig	4000

Tabelle 22 Biogene Amine in Essig [mg/L] (KIRSCHBAUM et al., 1999)

Essigsorte	Phe	Put	His	Cad	Tyr	Spd	Spm
Sherry-Essig	n.d.	37,2	21,9	4,8	15,9	1,9	n.d.
Rotwein-Essig	0,1	20,3	23,8	0,3	13,5	0,2	n.d.
Aceto Balsamico	0,2	15,0	n.d.	2,6	16,8	1,0	n.d.
Estragon-Essig	0,9	1,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

*detection limit: 62-1000 µg L⁻¹

Tabelle 23 Biogene Amine in Reis-Essigen [mg/L]
(KIRSCHBAUM et al., 1997)

Essigsorte	Phe	Put	His	Cad	Tyr
Reis-Essig (mit Salz)	n.d.	34,7	129,0	n.d.	416,0
Reis-Essig (mit Zucker)	n.d.	n.d.	4,8	n.d.	n.d.

*detection limit: 62-1000 µg L⁻¹

Kakao und Schokolade

Schokolade enthält selbst kein Histamin, aber sehr wohl andere biogene Amine wie Tyramin und Phenylethylamin, welche aus dem Kakao stammen. (JARISCH, 2004)

Phenylethylamin ist ein natürlicher Bestandteil von Kakaobohnen und daher in Schokolade, Schokoladeprodukten und Konfekt enthalten. (SANTOS, 1996)

Tyramin kommt in unfermentiertem und ungeröstetem Kakao in Mengen von 4 ppm, in fermentiertem und ungeröstetem Kakao von 12 ppm sowie in fermentierten und geröstetem Kakaopulver in Mengen von 4-8 ppm vor.

In Schokolade konnten neben 4-12 ppm Tyramin auch Serotonin (1-27 ppm), Phenylethylamin (0-7 ppm) und Tryptamin (0-4 ppm) nachgewiesen werden.

Je nach Herkunft der Kakaobohnen wurden aber unterschiedliche Größenordnungen von Aminen festgestellt.

Phenylethylamin steigt bei der Fermentation und sinkt während der Röstung und des Alkalisierens. (BEUTLING et al., 1996)

2.8.3. Alkoholische Getränke

Agmatin, Cadaverin, Ethanolamin, Histamin, Putrescin und Tyramin werden während der alkoholischen Fermentation in hohen Mengen produziert. (SANTOS, 1996)

Rotweine weisen die höchsten Histamingehalte unter den alkoholischen Getränken (bis 3 mg/l Histamin) auf. Untersuchungen zeigten, dass bei Verwendung von gesundem Traubenmaterial und sorgfältiger kellereitechnischer Verarbeitung der Amingehalt deutlich reduziert werden kann. (PECHANÉK, 2007)

In Bier wurde die Anwesenheit von Tyramin und Histamin berichtet. (SANTOS, 1996)

Tabelle 24 Biogene Amine in Alkoholischen Getränken
(KIRSCHBAUM et al., 1999)

Getränk	Phe	Put	His	Cad	Tyr
Wein					
Burgunder Rotwein	3,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Navarra Rotwein	n.d.	8,1	4,1	n.d.	4,8
Rioja Rotwein	n.d.	39,3	11,2	1,4	5,1
Bier					
Berliner Weiss (2,5 % Alkohol)	n.d.	4,4	n.d.	n.d.	n.d.
dunkles Bock-Bier (6,7 % Alkohol)	n.d.	7,1	n.d.	n.d.	n.d.
starkes Bier (11 % Alkohol)	n.d.	8,2	n.d.	n.d.	n.d.
Leichtbier (2,7 % Alkohol)	n.d.	3,4	4,6	n.d.	n.d.
Altbier (5 % Alkohol)	n.d.	5,0	n.d.	n.d.	n.d.
„Lambic“-Bier (4,3 % Alkohol) (spontane Fermentation mit Bierhefe und Milchsäurebakterien)	n.d.	12,0	6,2	n.d.	17,5
Roggenbier (4,7 % Alkohol)	7,0	5,0	n.d.	n.d.	n.d.

2.9. Nachweis biogener Amine

2.9.1. Identifizierung von biogenen Aminen mittels HPLC

UV-Detektion

Mit Hilfe der UV-Absorption lassen sich Tyramin, Tryptamin, Phenylethylamin und Serotonin in Schokolade sowie Wurst und Käse bestimmen.

Nachteile: Underivatisierte Amine, eingengtes Substanzspektrum, eine geringe Empfindlichkeit, starke Störungen durch mitextrahierte Komponenten

Fluoreszenz-Detektion

Durch eine deutlich höhere Empfindlichkeit und Selektivität der Detektion im Vergleich zur UV-Messung, konnte Phenylethylamin, Tryptamin und Serotonin in Schokolade bestimmt werden. (FISCHER E., 2006; SCHOLLENBERGER, 1993)

2.9.1.1. Derivatisierungen

Das Derivatisieren hat die Aufgabe, die zu analysierenden Substanzen mit einem stark absorbierenden oder fluoreszierenden Reagens zu versetzen, damit sie mittels UV- oder Fluoreszenzdetektoren erkannt werden können. Die „Vorsäulenderivatisierung“ mit nachfolgender „Reversed Phase“ – HPLC oder UPLC ist eine der am meisten angewendete Methoden zur Bestimmung von biogenen Aminen. (SCHÜLLER I., 2007)

Orthophthaldialdehyd (OPA)

Die am meisten angewendete Derivatisierungsmethode für die Analyse von Aminosäuren und biogenen Aminen ist die OPA-Methode, welche fluoreszierende

Derivate ergibt, die mit HPLC gut trennbar und bis in den fmol-Bereich nachweisbar sind.

OPA zeigt eine sehr hohe Sensitivität, aber reagiert ausschließlich mit primären Aminen und bildet instabile Komplexe. (FISCHER E., 2006; SCHÜLLER I., 2007))

Dansylchlorid

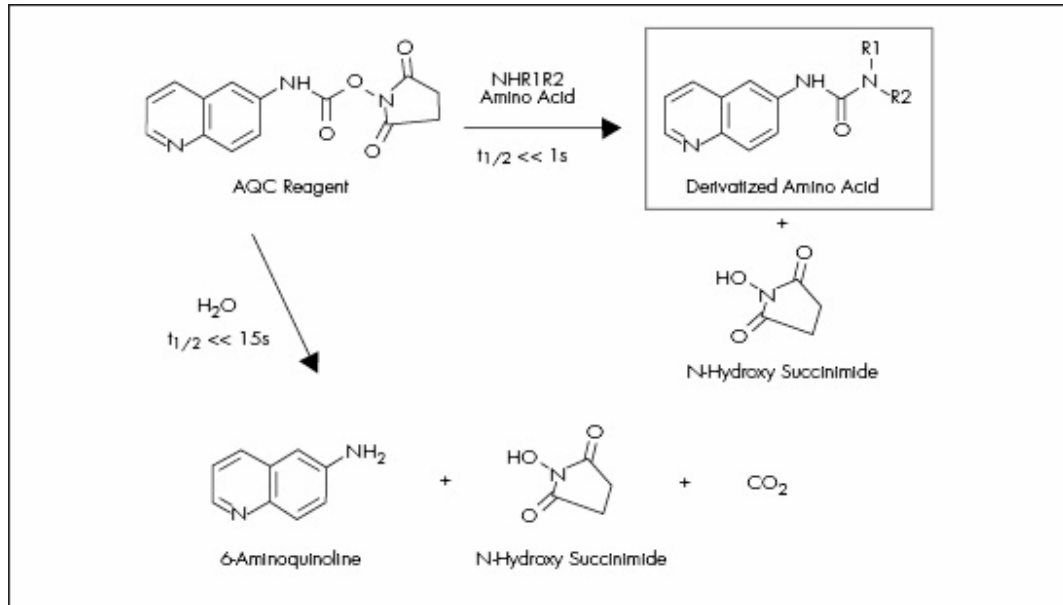
Dansylchlorid ist ein nicht spezifisches Reagenz, weil es nicht nur mit primären und sekundären Aminogruppen reagiert, sondern auch mit Phenolen, aliphatischen Alkoholen und einigen Zuckern. (Fischer E., 2006)

Die Nachweisgrenze für Histamin des Verfahrens liegt bei 5,9 mg/kg. (CHLOUPEK, 2001)

6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamat (AQC)

AQC reagiert mit primären und sekundären Aminen und ergibt stabile, fluoreszierende Derivate. Die Derivate bleiben bei Raumtemperatur bis zu einer Woche stabil und die Nachweisgrenze für Histamin liegt bei 0,08 mg/100g für Essig. Das Proben-Handling ist wenig zeitaufwendig und die Reaktion geht sehr schnell vor sich. Die in einer Minute gebildeten Derivate sind hoch fluoreszierend, überschüssiges Reagens stört die Trennung nicht. (FISCHER E., 2006; WATERS, 2003; SCHÜLLER I., 2007)

Abbildung 13 Reaktionsschema der AccQ•Tag-Derivatisierung
(WATERS, 2003)



Sonstiges

Enzymatische Methoden, sowie Radioimmunoassays und ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay system) wurden ebenfalls für die Detektion von Histamin verwendet. Der Vorteile hierbei sind die Schnelligkeit des Verfahrens, sowie die geringen Kosten im Gegensatz zu einer HPLC Anlage. (SANTOS, 1996)

3. Material und Methoden

Eine von FISCHER (2006) beschriebene Analysemethode zur Bestimmung biogener Amine in Schokolade wurde für diese Arbeit herangezogen und dementsprechend modifiziert.

3.1. Instrumentelle Anordnung

Die Analyse der biogenen Amine erfolgte mit RP-HPLC auf einem ternären Chromatographie-System:

LC 1090 Series II Agilent

ZORBAX Eclipse XDB-C18, 5 µm, 150 x 4,6 mm

Agilent

mit Vorsäule C18e, 5 µm

MERCK

Fluoreszenzdetektor

Agilent FLD 1100 Series

Weitere Geräte und Hilfsmittel

Ultraschallbad

Econo-Clean

Heizplatte mit Magnetrührer

IKA® Werke RCT basic

pH-Meter

WTW® pH 540 GLP

Einmalspritzen

BRAUN® Injekt 2 ml

Membranfilter

Schleicher & Schuell® 0,45 µm

Faltenfilter

Macherey-Nagel® Ø 150 mm

Pipetten

Bechergläser

Erlenmeyerkolben

Glastrichter

3.2. Chemikalien, Reagenzien

Einzelstandards der biogenen Amine

Ethanolamin-hydrochlorid ≥ 98 %	Fluka
Histamin-dihydrochlorid ≥ 99 %	Fluka
Tyramin-hydrochloride ≥ 99 %	SIGMA
1,4-Diamino-butan-dihydrochlorid ≥ 99 %	Fluka
Cadaverin ≥ 97 %	Fluka
Tryptamin-hydrochlorid ≥ 99 %	SIGMA
2-Phenylethylamin-hydrochlorid ≥ 99 %	Fluka
Spermidin-trihydrochlorid $\geq 99,5$ %	SIGMA
Spermin-tetrahydrochlorid $\geq 99,5$ %	SIGMA

Chemikalien zur Herstellung der mobile Phase für HPLC

Natriumacetat-Trihydrat	MERCK
Tetrahydrofuran (THF)	SIGMA
Essigsäure	MERCK
Methanol HPLC grade	MERCK

Chemikalien zur Herstellung von Mischstandards und Standardlösungen

Perchlorsäure (PCA)	MERCK
Natriumhydroxid (NaOH)	MERCK

Chemikalien zur Probenaufbereitung

Perchlorsäure (PCA)	MERCK
Natriumhydroxid (NaOH)	MERCK
Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) purum	SIGMA

Chemikalien zur Derivatisierung

Waters AccQ. Fluor™ Reagent Kit:

AccQ.Fluor™ Borate Buffer	WATERS
AccQ.Fluor™ Reagent Powder	WATERS
AccQ.Fluor™ Reagent Diluent	WATERS

3.3. Herstellung von Lösungen und Reagenzien

3.3.1. Mobile Phase

Essigsäure 10 %:

Herstellung einer 1:10 Verdünnung aus 100%-iger Essigsäure

Essigsäure 1 %:

Herstellung einer 1:10 Verdünnung aus 10%-iger Essigsäure

Natriumacetat-Lösung (1% THF in 0,05M NaAc, pH-Wert 6,6):

- 6,8 g NaAc einwiegen und mit 990 ml H₂O-bidest. auffüllen
- Zugabe von 10 ml Tetrahydrofuran
- Einstellen des pH-Wert mit 10 %-iger und 1%-iger Essigsäure
- Filtration der Lösung über 0,45 µm Filter (Vakuumpumpe)

Methanol 20 %:

400 ml bidest. Wasser und 100 ml Methanol

3.3.2. Stammlösungen und Standardmischungen

Natriumhydroxid 0,1 M

0,2 g Natriumhydroxid (40g/mol) ad 50 ml

3.4. Berechnung des Gehaltes an biogenen Aminen

Da die biogenen Amine im Körper nur als Reinsubstanz vorliegen, benötigt man für den Gehalt in Lebensmitteln einen Umrechnungsfaktor. Dieser berechnet den Gehalt der biogenen Amine in Reinsubstanz (ohne HCl).

Tabelle 25 Faktoren zur Berechnung

Biogenes Amin		Faktor
Ethanolamin	$\frac{\text{ETA} \times \text{HCl}}{97,55\text{g (MG)}/\text{Mol}}$	1,597
Histamin	$\frac{\text{HIST} \times 2 \text{ HCl}}{184,07\text{g}/\text{Mol}}$	1,656
Tyramin	$\frac{\text{TYR} \times \text{HCl}}{173,65\text{g}/\text{Mol}}$	1,266
Putrescin	$\frac{\text{PUT} \times 2 \text{ HCl}}{161,08\text{g}/\text{Mol}}$	1,83
Cadaverin	$\frac{\text{CAD}}{102,18\text{g}/\text{Mol}}$	1,0
Tryptamin	$\frac{\text{TRY} \times \text{HCl}}{196,68\text{g}/\text{Mol}}$	1,227
Phenylethylamin	$\frac{\text{PEA} \times \text{HCl}}{157,65\text{g}/\text{Mol}}$	1,30
Spermidin	$\frac{\text{SPD} \times 3 \text{ HCl}}{254,63\text{g}/\text{Mol}}$	1,75
Spermin	$\frac{\text{SPM} \times 4 \text{ HCl}}{348,19\text{g}/\text{Mol}}$	1,72

3.5. Einzelstandard-Stammlösungen

Die Amine werden im 20 ml Messkolben in 0,6 M Perchlorsäure (PCA) gelöst.

Aminstandards	MG	Einwaage [mg/20ml]	Faktor*
Ethanolamin x HCl	97,55	31,06	1,597
Histamin x 2 HCl	184,07	32,45	1,656
Tyramin x HCl	173,65	24,36	1,266
Putrescin x 2 HCl	161,08	36,29	1,83
Cadaverin	102,18	54,50	1,0
Tryptamin x HCl	196,68	70,61	1,227
Phenylethylamin x HCl	157,65	25,90	1,30
Spermidin x 3 HCl	254,63	32,61	1,75
Spermin x 3 HCl	348,19	33,50	1,72

*Umrechnungsfaktor von hydrochlorierter Substanz auf Reinsubstanz (ohne HCl) – weil im Körper nur als Reinsubstanz vorliegend.

3.6. Erstellen einer Kalibration zur Quantifizierung biogener Amine in Lebensmittelproben

Um eine quantitative Analyse der biogenen Amine zu ermöglichen, werden Kalibrationskurven der einzelnen Amine mittels Standards erstellt. Folgende Abbildungen zeigen Kalibrationsgeraden aus 4 Einzelmessungen mit unterschiedlichen Konzentrationen. Die Kalibrationsgeraden wurden für folgende biogenen Amine angefertigt: Ethanolamin, Histamin, Tyramin, Putrescin, Cadaverin, Tryptamin, Spermin, Spermidin.

Abbildung 14 Kalibrationsgerade Ethanolamin

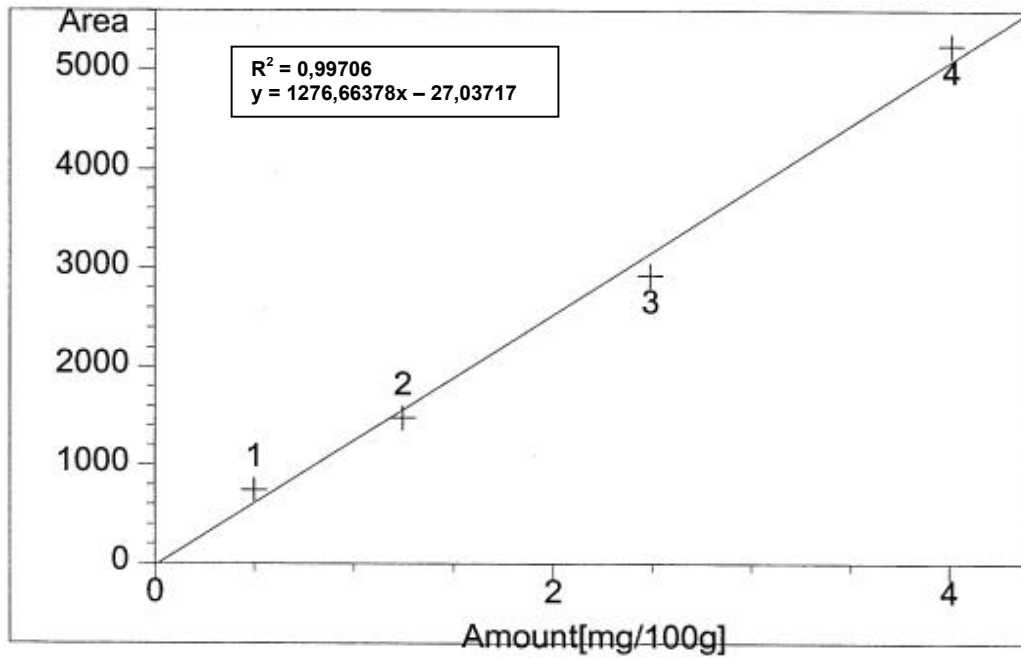


Abbildung 15 Kalibrationsgerade Histamin

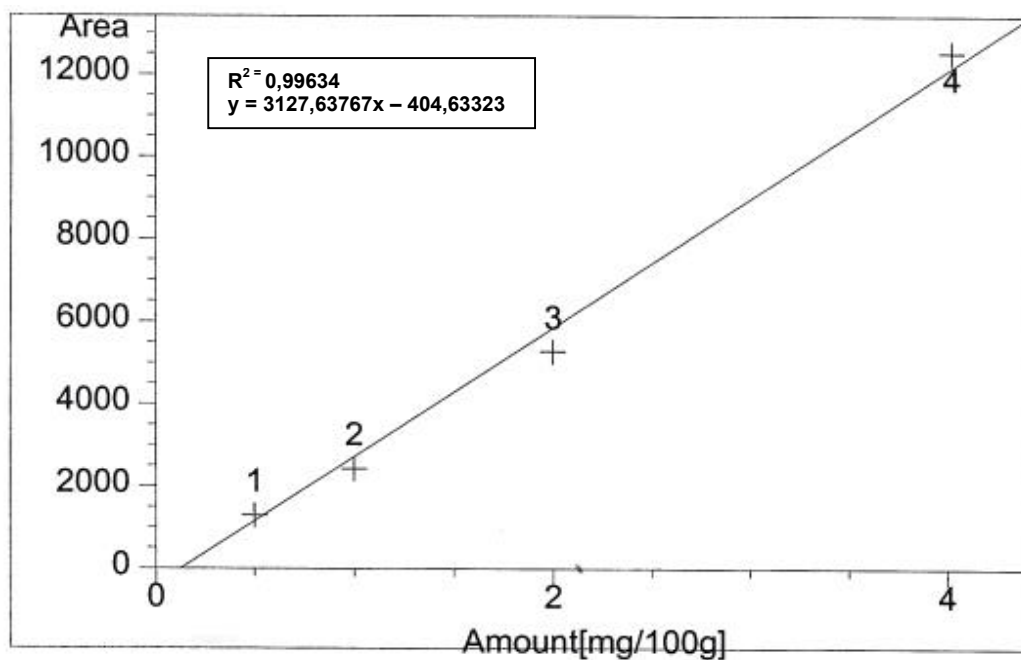


Abbildung 16 Kalibrationsgerade Tyramin

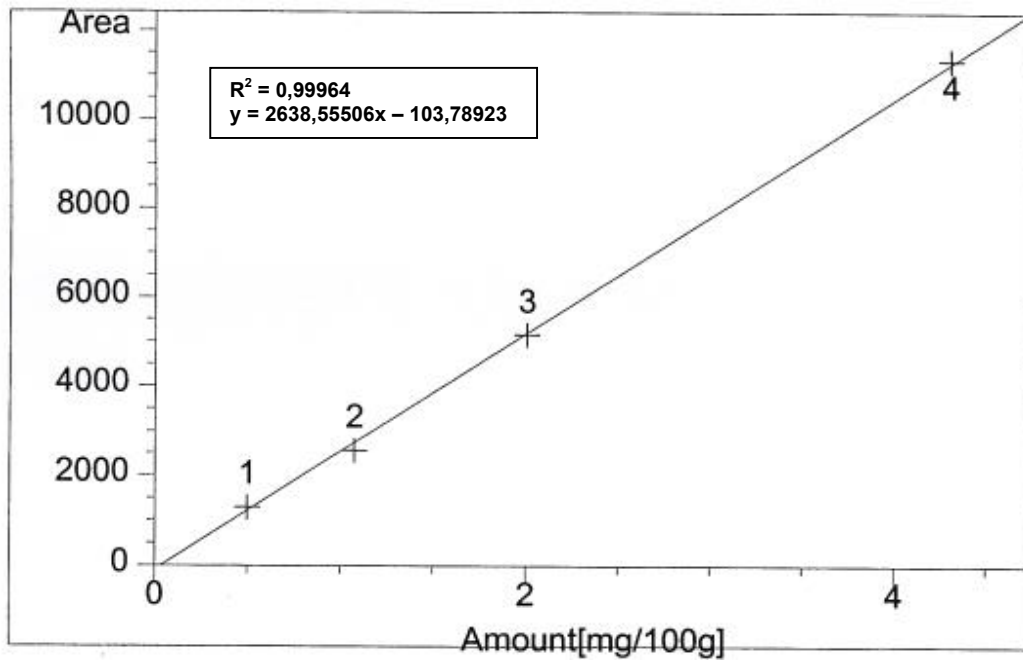


Abbildung 17 Kalibrationsgerade Putrescin

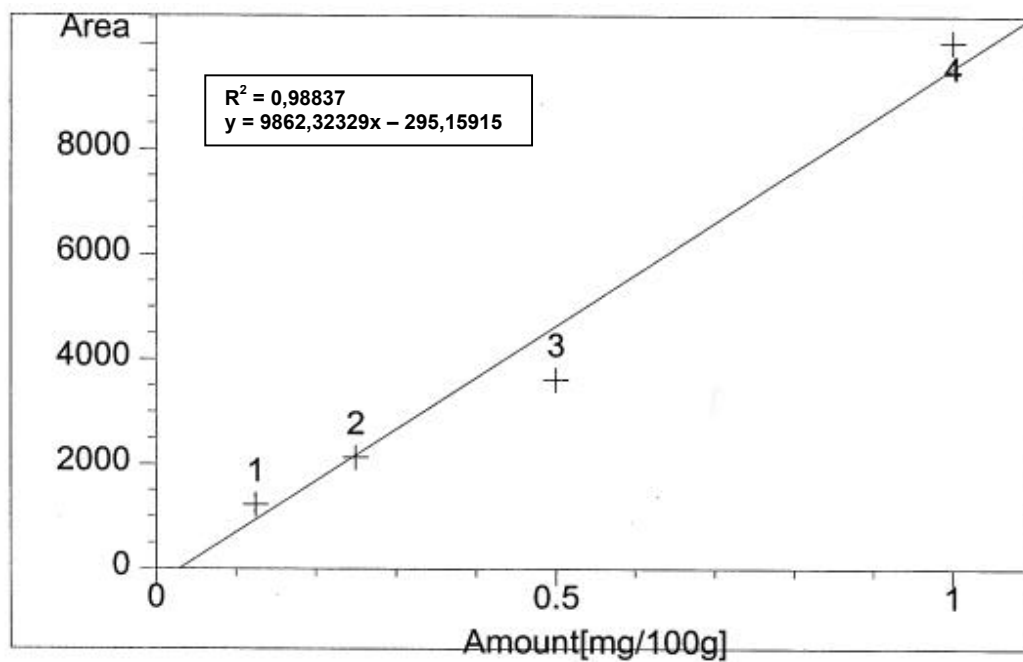


Abbildung 18 Kalibrationsgerade Cadaverin

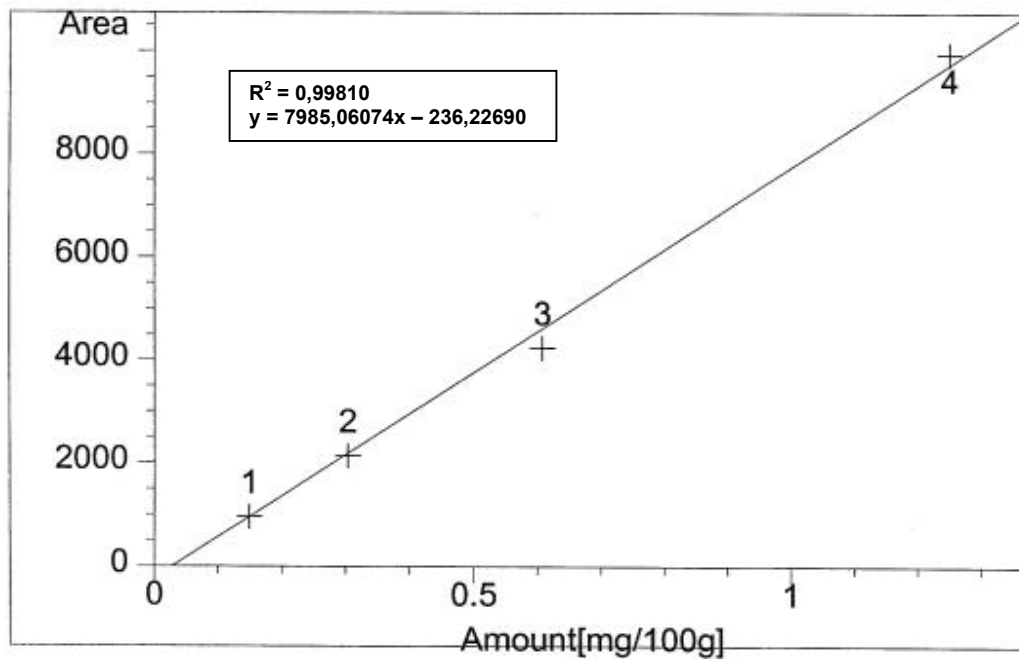


Abbildung 19 Kalibrationsgerade Tryptamin

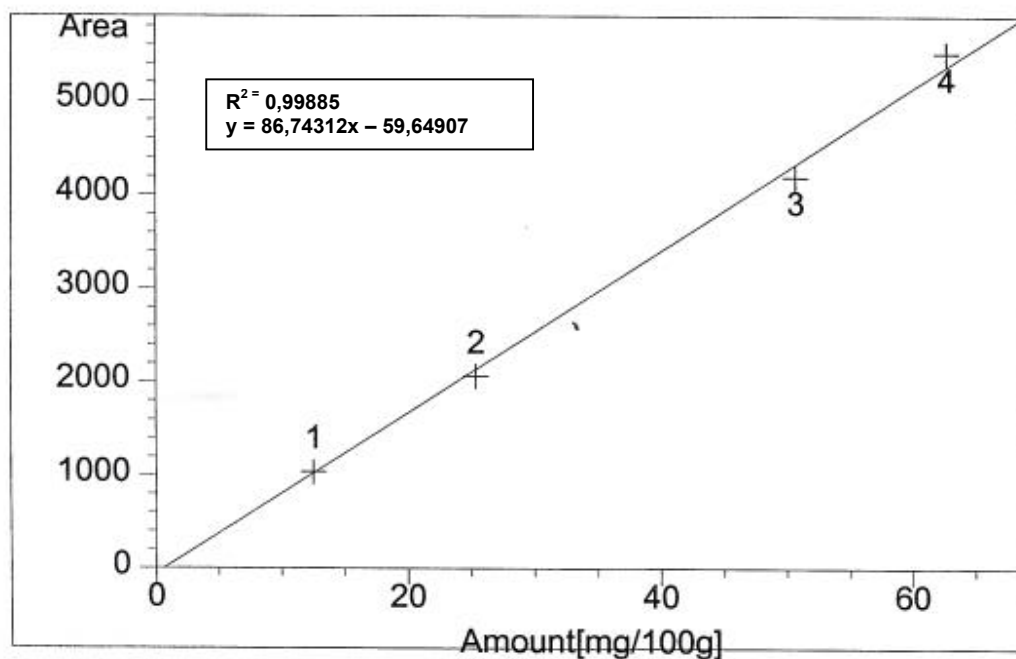


Abbildung 20 Kalibrationsgerade Phenylethylamin

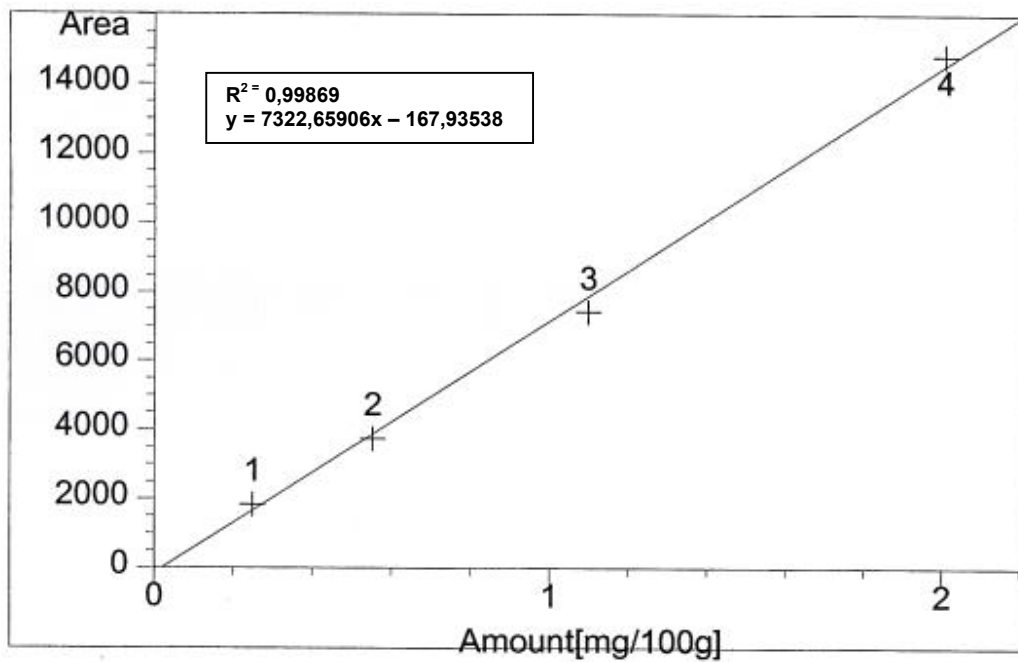


Abbildung 21 Kalibrationsgerade Spermidin

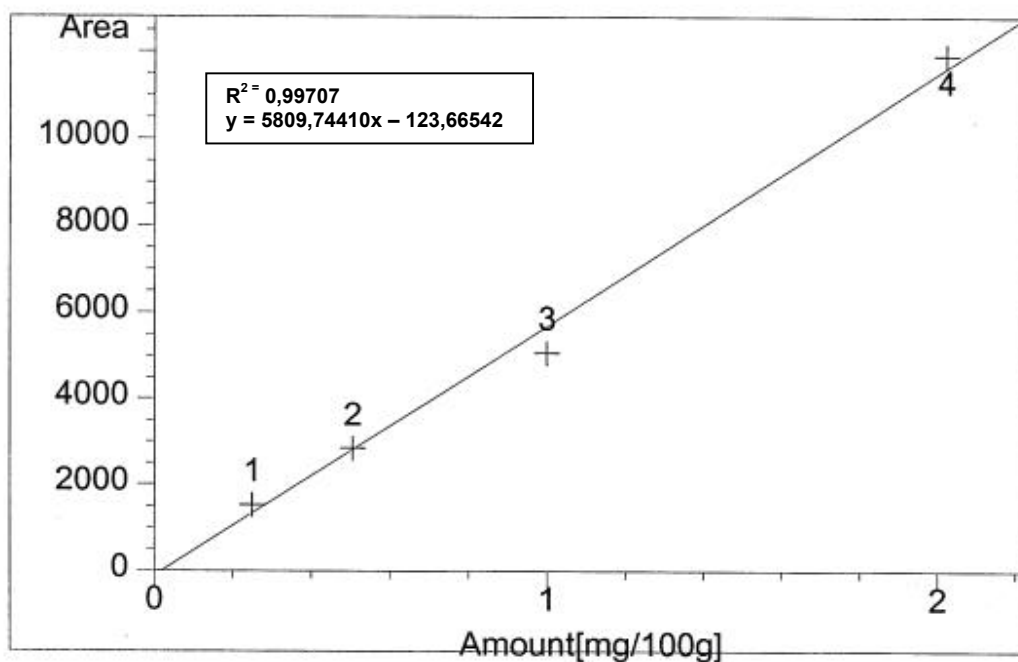
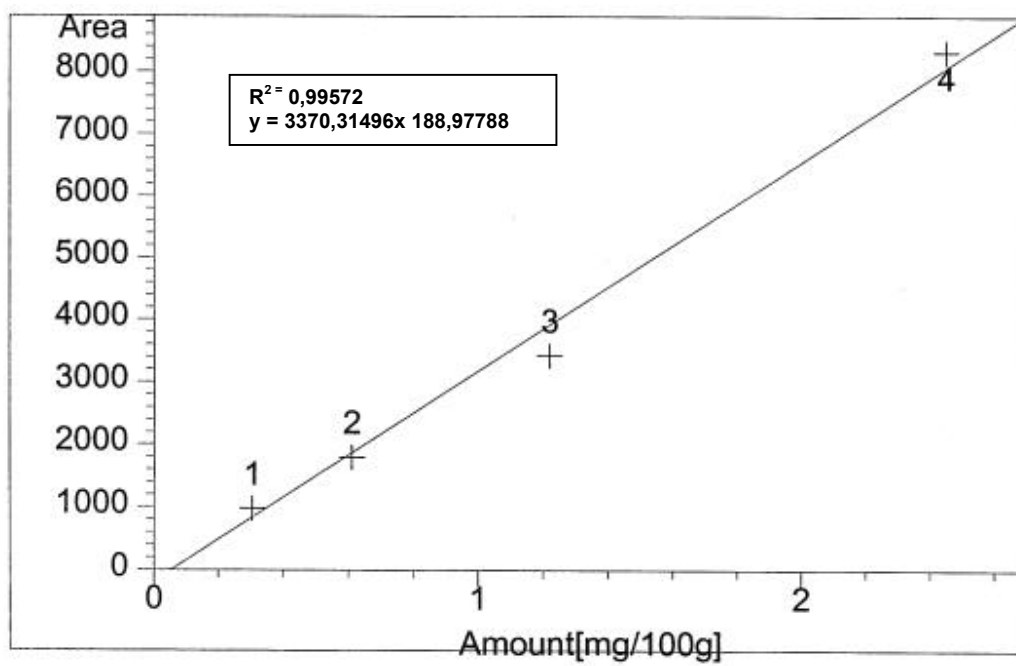


Abbildung 22 Kalibrationsgerade Spermin



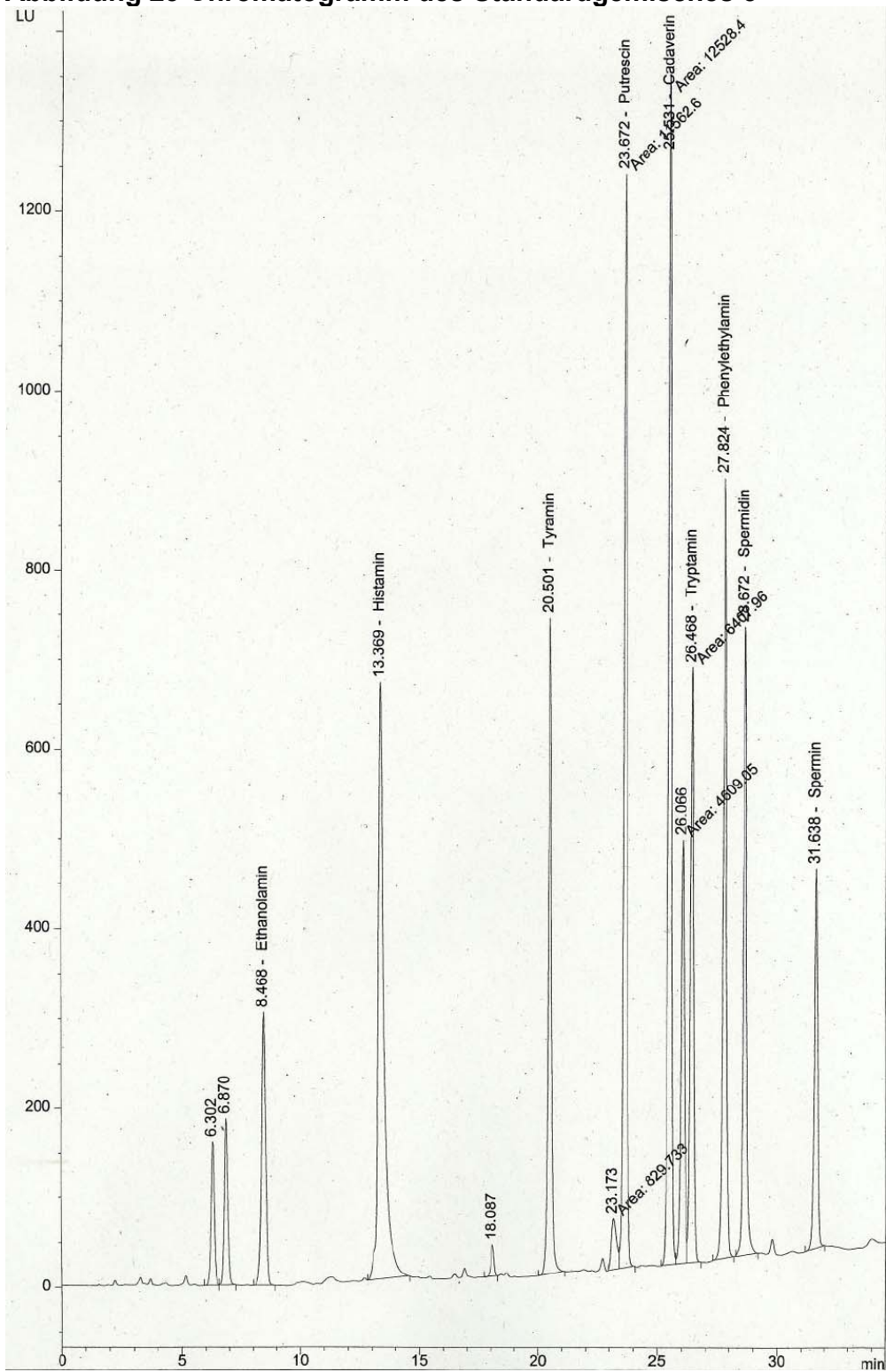
3.7. Zumischung der Einzelstandards

Nur durch die Einzelstandard-Zumischung kann die Identität der Peaks bestätigt werden. Bis ein schönes Chromatogramm zu sehen war bzw. eine klare Zuordnung der Peaks gewährleistet werden konnte, mussten mehrere Messungen mit unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt werden. Die nachstehende Abbildung zeigt die Standardmischung 5 mit den folgenden Konzentrationen:

Biogene Amine	c
Ethanolamin	2,431
Histamin	2,449
Tyramin	2,405
Putrescin	0,991
Cadaverin	1,362
Tryptamin	57,5
Phenylethylamin	0,996
Spermidin	1,165
Spermin	1,217

c= Konzentration [mg/L]

Abbildung 23 Chromatogramm des Standardgemisches 5



3.8. Wiederfindung

Eine dreifache Ermittlung der Wiederfindung wurde in *Essig* für Ethanolamin, Histamin, Tyramin, Putrescin, Cadaverin, Tryptamin, Phenylethylamin, Spermidin und Spermin durchgeführt.

Tabelle 26 Erste Wiederfindung biogener Amine in Essig [mg/L]

Analyt	Soll	Ist	%WFR
ETA	1,033	0,98	95
HIS	0,97	0,96	98
TYR	0,96	0,958	99
PUT	1,018	0,96	94
CAD	0,565	0,4	71
PEA	0,406	0,399	98
SPD	0,471	0,352	88
SPM	0,486	0,442	91

Tabelle 27 Zweite Wiederfindung biogener Amine in Essig [mg/L]

Analyt	Soll	Ist	%WFR
ETA	1,033	1	97
HIS	0,97	0,916	94
TYR	0,96	0,928	96
PUT	1,018	0,946	92
CAD	0,565	0,398	70
PEA	0,406	0,394	97
SPD	0,471	0,392	89
SPM	0,486	0,475	97

Tabelle 28 Dritte Wiederfindung biogener Amine in Essig [mg/L]

Analyt	Soll	Ist	%WFR
ETA	2,43	2,27	93
HIS	2,45	2,31	94
TYR	2,41	2,33	97
PUT	1,61	1,26	80
CAD	1,36	0,96	71
PEA	0,99	0,87	89
SPD	1,22	1,15	94
SPM	1,17	1,01	86

Tabelle 29 Mittelwerte der Wiederfindungsraten biogener Amine in Essig [%]

Analyt	Erste WF	Zweite WF	Dritte WF	Mittelwert
ETA	95	97	93	95
HIS	98	94	94	95
TYR	99	96	97	97
PUT	94	92	80	89
CAD	71	70	71	70
PEA	98	97	89	95
SPD	88	89	94	90
SPM	91	97	86	91

3.9. Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen:

- 9fache Rauschen der Basislinie als Bestimmungsgrenze
- 3fache Rauschen der Basislinie als Nachweisgrenze

Tabelle 30 Bestimmungsgrenzen

Biogenes Amin	[mg/100g] für Schokolade bzw. [mg/L] für Essig	Biogenes Amin	[mg/100g] für Schokolade bzw. [mg/L] für Essig
Ethanolamin	0,25		
Histamin	0,25	Phenylethylamin	0,1
Tyramin	0,25	Spermidin	0,2
Putrescin	0,125	Spermin	0,1
Cadaverin	0,1		

Tabelle 31 Nachweisgrenzen

Biogenes Amin	[mg/100g bzw. L]	Biogenes Amin	[mg/100g bzw. L]
Ethanolamin	0,08		
Histamin	0,08	Phenylethylamin	0,03
Tyramin	0,08	Spermidin	0,06
Putrescin	0,04	Spermin	0,03
Cadaverin	0,03		

3.10. Gradientenprogramm

Tabelle 32 Gradientenprogramm zur Trennung der Biogenen Amine

Zeit [min]	Eluent A [%]*	Eluent B [%]*	Flussrate [min/ml]
0.00	15.0	85.0	1.000
9.00	20.0	80.0	1.000
9.50	27.0	73.0	1.000
40.00	80.0	20.0	1.000
40.10	15.0	85.0	1.000
50.0	15.0	85.0	1.000

Laufmittel A: 100 % Methanol

Laufmittel B: 1 % THF in 0,05 M NaAc-Lösung (pH-Wert 6,6)

Säulentemperatur: 55°C

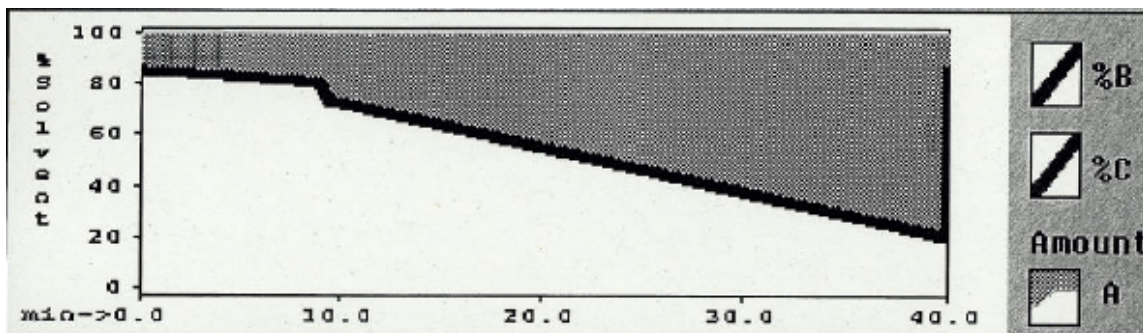
Injektionsvolumen: 5 µl

Detektor (FLD)

Extinktion: 250 nm

Emission: 395 nm

Abbildung 24 Gradientenprogramm



3.11. Probenaufstellung

3.11.1. Schokolade

Sorte/Marke	Kakaoanteil	Herkunft
1) Spar natur pur	34 % Kakaoanteil	
2) Zotter Asiherca	40 % Kakaoanteil	Nicaragua
3) Zotter Talamanca	40 % Kakaoanteil	Nicaragua
4) Zotter L. Hispaniola	40 % Kakaoanteil	Dom. Rep.
5) Suchard Zart & Dunkel	50 % Kakaoanteil	
6) Ritter Sport	50 % Kakaoanteil	
7) Goutier	50 % Kakaoanteil	
8) Suchard Velma	50 % Kakaoanteil	
9) Zotter L. Manabi	50 % Kakaoanteil	Ecuador
10) Choceur	55 % Kakaoanteil	
11) Alnatura	58 % Kakaoanteil	
12) Zotter La Cruz Rio Grande	60 % Kakaoanteil	Nicaragua
13) Zotter Hispaniola	60 % Kakaoanteil	Dom. Rep.
14) Zotter Manabi	60 % Kakaoanteil	Ecuador
15) Zotter Inti Select	60 % Kakaoanteil	Peru
16) Choceur	65 % Kakaoanteil	
17) Spar natur pur	70 % Kakaoanteil	
18) Moser Roth Edel Bitter	70 % Kakaoanteil	
19) Lindt	70 % Kakaoanteil	
20) Choco Lina (mit Schafmilch)	70 % Kakaoanteil	
21) Alnatura	70 % Kakaoanteil	
22) Zotter El Oro	70 % Kakaoanteil	Ecuador
23) Zotter Horizont Cuveè	70 % Kakaoanteil	Nicaragua
24) Zotter El Naranjillo	70 % Kakaoanteil	Peru

25)Suchard Noir	70 % Kakaoanteil	
26)Manner	70 % Kakaoanteil	
27)Zotter Talamanca	70 % Kakaoanteil	Panama
28)Zotter Uncrisproca	70 % Kakaoanteil	Nicaragua
29)Zotter Satipo Pangoa, 16 h conchiert	70 % Kakaoanteil	Peru
30)Zotter Satipo Pangoa, 20 h conchiert	70 % Kakaoanteil	Peru
31)Swiss Frey Emotion	70 % Kakaoanteil	
32)Swiss Frey	72 % Kakaoanteil	
33)Rausch Tobago	75 % Kakaoanteil	
34)Choceur	75 % Kakaoanteil	
35)Rausch Tembadoro	80 % Kakaoanteil	
36)Zotter Don Teodoro	80 % Kakaoanteil	Nicaragua
37)Zotter Don Urtado & Don Francisco	80 % Kakaoanteil	Nicaragua
38)Zotter Waslala	80 % Kakaoanteil	Nicaragua
39)Zotter Don Catalino	80 % Kakaoanteil	Nicaragua
40)Zotter Piura	80 % Kakaoanteil	Peru
41)Lindt	85 % Kakaoanteil	
42)Suchard Noir	86 % Kakaoanteil	
43)Zotter Piura	90 % Kakaoanteil	Peru
44)Zotter Piura	100 % Kakaoanteil	Peru

3.11.2. Essig

Sorte/Marke	Hersteller	Säureanteil
1) Sherry-Essig	Mautner-Markhof	k.A.
2) Bio-Apfel-Essig	Natur pur	5 %
3) Rotwein-Essig	Sasso	7,1 %
4) 7-Kräuter-Essig	Mautner-Markhof	
5) Walnuss-Essig	Mautner-Markhof	
6) Kirsch-Essig	Gölles	
7) Balsamico Rosso	Villa Matilde	5,1 %
8) Balsamico di Modena	Villa Matilde	6 %
9) Balsamico Bianco	Villa Matile	5,4 %
10)Hesperiden-Essig	Mautner-Markhof	7,5 %
11)Schilcher-Essig	Fam. Lazarus	
12)Aceto Balsamico	Castello	
13)Aceto Balsamicodi Modena	De Spar	6 %
14)Weißwein-Essig	Frischerauer	6 %
15)Bio-Apfelessig	Bierquelle	5%
16)Apfel-Essig	Salatfreund	5 %
17)Kräuter-Essig	Castello	
18)Brombeer-Essig	Fischerauer	5 %
19)Quitten-Essig	Rudersdorf-Bergler	5,1 %
20)Apfel-Essig	Privat/O.	
21)Apfelmost-Essig	Privat/F.	
22)Reis-Essig	Bamboo Garden	
23)Rotwein-Essig	Gölles	
24)Steirischer Apfel-Essig	Pelzmann	6 %
25)Aceto Balsamico	Gölles	

26) Himbeer-Essig	Gölles
27) Umeboshi (japanische Pflaumen) Essig	Naturgarten
28) Apfel-Essig	Lomee

3.12. Probenaufbereitung und Derivatisierung

3.12.1. Schokolade

- a. 5 g geriebene Schokolade in Becherglas einwiegen und 30 ml 0,6 M Perchlorsäure zugeben
- b. Probe auf Heizplatte mit Uhrglas bei 150°C, 15 min. schmelzen
- 1 Probe am Ultraschallgerät bei 65°C, 15 min. schmelzen
- 2 Heiß Filtrieren über Faltenfilter in 50 ml Messkolben
- 3 Mit warmer PCA den Filtrerrückstand im Becherglas mehrmals (3-4 Mal) spülen, bis Filtrat Marke erreicht hat. (Erst nachleeren, wenn Filtrat durch Filter getropft ist)
- 4 Kühlen auf Zimmertemperatur
- 5 Filtrat gegebenenfalls nochmals bis zur Marke auffüllen
- 6 1 g Polyvinylpolypyrrolidon in Becherglas einwiegen und 20 ml Probe hinzufügen.
- 7 30 min. rühren
- 8 Filtrieren über Faltenfilter
- 9 1:1 des klaren Überstandes in Membranfilter rückpuffern mit 0,55 M NaOH. Der pH-Wert der Probe soll 3,5 bis 4 sein.
- 10 Vortexen
- 11 Membranfiltrieren mit Glasfaservorfilter
- 12 Derivatisierung:
 - 60 µl Boratpuffer
 - 20 µl Probe
 - 20 µl Reagenz (6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidylcarbamate)
- 13 Exakt 10 min. bei 55°C ins Wasserbad
- 14 Abkühlen auf Zimmertemperatur und umfüllen in Vial für HPLC

3.12.2. Essig

- a. 20 g Essig in Becherglas einwiegen
- b. Mit 1 g Polyvinylpolypyrrolidon entfärben
- c. Probe auf Rührer stellen und 20 min rühren
- d. Filtrieren über Faltenfilter
- e. 1:1 des Überstandes in Membranfilter rückpuffern mit 0,55 M NaOH. Der pH-Wert der Probe soll 3,5 bis 4 sein.
- f. Vortexen
- g. Membranfiltrieren mit Glasfaservorfilter
- h. Derivatisierung:
 - a. 60 µl Boratpuffer
 - b. 20 µl Probe
 - c. 20 µl Reagenz (6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidylcarbamate)
- i. Exakt 10 min. bei 55°C ins Wasserbad
- j. Abkühlen auf Zimmertemperatur und umfüllen in Vial für HPLC

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Wahl der Probenaufbereitung

Die Probenaufbereitungsmethode von FISCHER, 2006 brachte kein optimales Ergebnis. Zu viele Verunreinigungen und Peaks, die den Standards nicht zuzuordnen waren, waren letztendlich dafür verantwortlich, eine eigene Probenaufbereitung zu verwenden.

Die optimale Methode für die Probenaufbereitung konnte im Endeffekt erst nach einem Monat unzähliger Modifizierungen ermittelt werden.

4.2. Wahl der Derivatisierung

Es wurde die Derivatisierung mit 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidylcarbamate (AQC) angewendet. Die Derivate bleiben bei Raumtemperatur bis zu einer Woche stabil und die Nachweisgrenzen für Histamin liegen bei 0,25 mg/100g für Schokolade und 0,08 mg/100g für Essig. Diese Derivatisierung ist somit eine ausgezeichnete Methode für die vorliegende Fragestellung.

4.3. Problematik Detektion von Tryptamin

Die Quantifizierung von Tryptamin war aufgrund der komplexen Probenmatrix und der daraus resultierenden Überlagerung unidentifizierbarer Peaks nicht möglich.

Es war demnach nicht möglich Tryptamin mit dieser Methode eindeutig zu identifizieren.

4.4. Problematik der niedrigen Wiederfindung bei Cadaverin

Bereits beim Ansetzen der Standards, verfärbte sich das Cadaverin nach kürzester Zeit in eine gelbliche Farbe. Die Verfärbung deutet auf eine äußerst rasche Abbaureaktion des Cadaverins hin, welche auch die schlechte Wiederfindungsrate erklärt.

4.5. Biogene Amine in Schokolade

Insgesamt wurden 44 Schokoladeproben (siehe Tabelle 32) in Doppelbestimmung untersucht. Die Schokoladen wurden nach ihrem Kakaogehalt in Gruppen eingeteilt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen steigendem Kakaogehalt und dem Gehalt an biogenen Aminen ersichtlich zu machen.

Die Ergebnisse der Untersuchung sind einerseits tabellarisch dargestellt, andererseits wurden sie graphisch in den nachfolgenden Abbildungen (z.B. Abbildung 25 – Chromatogram einer Schokoladenprobe) aufbereitet.

Tabelle 33 : Gehalt [mg/100g] an biogenen Aminen in Schokolade

Anz.	Kakaogehalt (%)	Herkunft	Biogene Amine [mg/100g]*								
			EA*	His*	Tyr*	Put*	Cad*	Phe*	Spd*	Spm*	GBA*
1	34	keine Angabe	5,3	0	0,89	0,25	0,31	0,15	0,34	0,31	7,55
2	40	Nicaragua	5,4	0	1	0,15	0,16	0,13	0,25	0,47	7,56
3	40	Nicaragua	3,6	0	0,58	0,12	0,1	0,15	0,28	0,24	5,07
4	40	Dom. Rep.	4,95	0	0,08	0,035	0,035	0,035	0,045	0,06	5,24
5	50	keine Angabe	6,9	0	0,85	0,12	0	0,45	0,51	0,3	9,13
6	50	keine Angabe	3,8	0	1,16	0,16	0,11	0,23	0,42	0,21	6,09
7	50	keine Angabe	4,4	0	1,3	0,63	0,78	0,31	0,62	0,28	8,32
8	50	keine Angabe	3,2	0	0,61	0,09	0	0,21	0,26	0,21	4,58
9	50	Ecuador	3,5	0	1,1	1,2	1,2	0,29	0,23	0,24	7,76
10	55	keine Angabe	7,2	0	0,97	0,15	0	0,28	0,87	0,38	9,85
11	58	keine Angabe	4,2	0	0,95	0,27	0,2	0,33	0,73	0,36	7,04
12	60	Peru	3,9	0	1,74	1,29	1,35	0,47	0,53	0,32	9,6
13	60	Dom. Rep.	4,3	0	3,1	1,7	2,4	0,87	0,56	0,43	13,36
14	60	Nicaragua	4,3	0	1,7	0,15	0	0,38	0,72	0,41	7,66
15	60	Ecuador	3,85	0	2,44	1,22	1,35	0,4	0,6	0,41	10,27
16	65	keine Angabe	5,6	0	1	0,19	0,12	0,28	0,7	0,34	8,23
17	70	Ecuador	3,65	0	2	0,64	0,79	0,46	0,66	0,35	8,55
18	70	Peru	4,5	0	2	0,23	0,09	0,57	0,86	0,4	8,65
19	70	Peru	4,4	0	1,9	0,3	0,11	1	0,47	0,12	8,3

20	70	Peru	5,1	0	1,8	0,24	0,11	0,52	0,85	0,42	9,04
21	70	Nicaragua	4,45	0	1,66	0,68	0,79	0,57	0,76	0,4	9,29
22	70	keine Angabe	4,2	0	3,3	0,79	0,94	0,62	0,97	0,34	11,16
23	70	aus Schafmilch	2,9	0	1,1	0,15	0	0,41	0,56	0,26	5,38
24	70	keine Angabe	3,9	0	1,4	0,16	0,11	0,46	0,49	0,3	6,82
25	70	keine Angabe	4,3	0	2	0,2	0	0,25	0,5	0,41	7,66
26	70	keine Angabe	4,9	0	0,92	0,15	0,17	0,36	0,64	0,26	7,4
27	70	keine Angabe	4,4	0	1,3	0,29	0,27	0,35	0,62	0,39	7,62
28	70	keine Angabe	6	0	0,53	1,6	2,2	0,92	1,1	0,88	13,23
29	70	Nicaragua	2,9	0	2,6	0,3	0,4	0,59	0,54	0,26	7,59
30	70	Nicaragua	4,5	0	1,9	0,18	0,2	0,55	0,51	0,4	8,24
31	70	keine Angabe	8,7	0	2,4	0,31	0,09	0,78	1	0,57	13,85
32	72	keine Angabe	3,95	0	1,5	0,13	0	0,22	0,57	0,19	6,56
33	75	keine Angabe	5,1	0	0,96	0,18	0	0,27	0,78	0,38	7,67
34	75	Tobago	3,6	0	1,5	0,29	0,31	0,38	0,86	0,47	7,41
35	80	Nicaragua	4,45	0	1,47	0,42	0,5	0,59	0,63	0,47	8,51
36	80	Nicaragua	4,1	0	2,7	0,37	0,48	0,59	0,71	0,47	9,42
37	80	Tembadoro	4,43	0	1,69	0,26	0,25	0,4	0,72	0,33	8,08
38	80	Nicaragua	4,3	0	3,5	0,36	0,45	0,71	0,65	0,38	10,35
39	80	Peru	4,28	0	4,5	0,54	0,52	0,55	0,93	0,46	11,78
40	80	Nicaragua	4,79	0	3,2	0,5	0,49	0,59	0,68	0,42	10,67
41	85	keine Angabe	2,4	0	1,6	0,13	0	0,35	0,29	0	4,77

42	86	keine Angabe	3,1	0	1,6	0,4	0,45	0,46	0,85	0,44	7,3
43	90	Peru	4,1	0	0,82	1,2	1,1	0,65	0,73	0,48	9,08
44	100	Peru	4,5	0	1,2	2,2	2,2	0,93	0,75	0,68	12,46

* Mittelwerte aus Doppelbestimmung

Abbildung 25 Chromatogramm –100 % Kakaoanteil

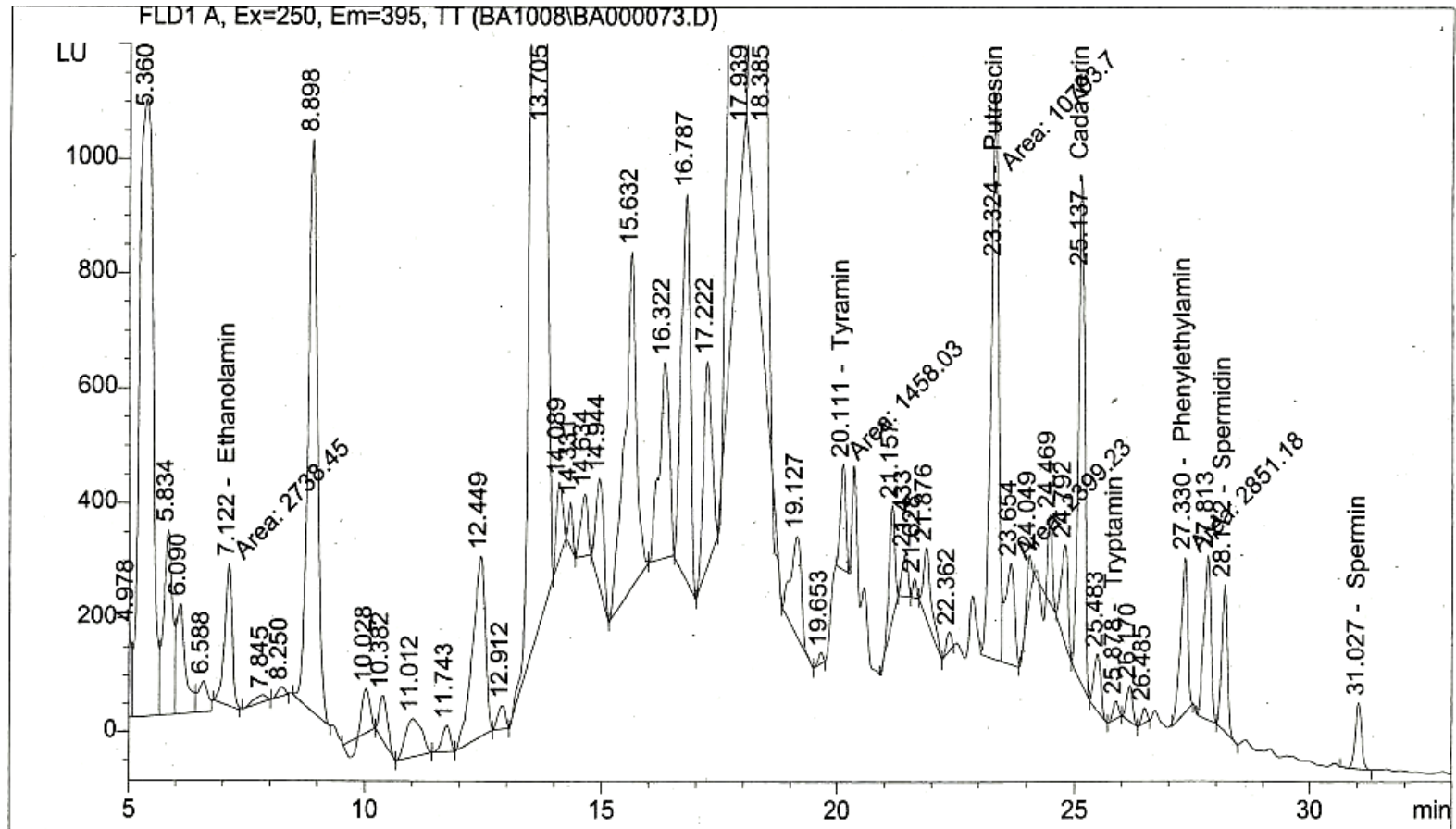
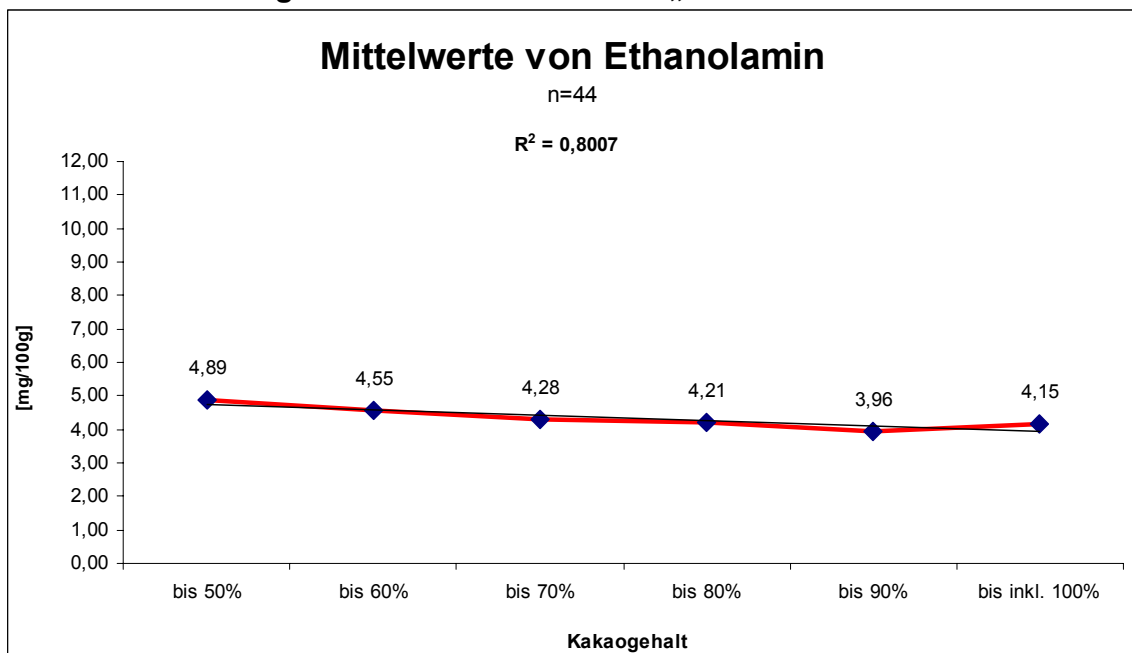


Abbildung 26 Trend der Mittelwerte „Ethanolamin“



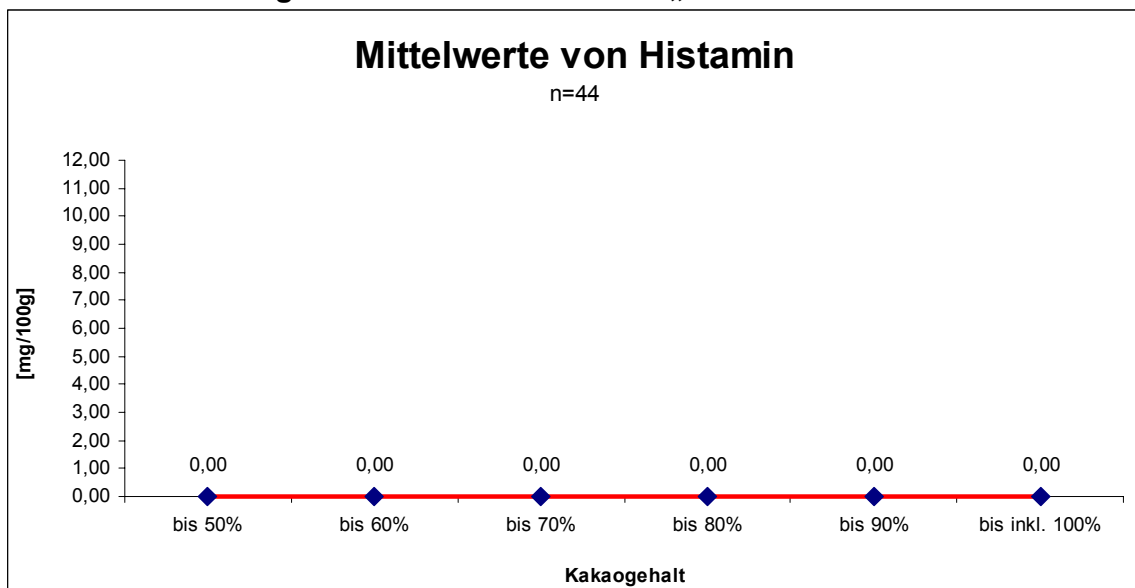
In den höchsten Konzentrationen wurde das biogene Amin Ethanolamin gefunden. Der Maximalwert lag bei 8,7 mg/100g in einer Schokolade mit 70 % Kakaogehalt. Ethanolamin zeigt im Mittel einen leichten Abfall mit steigendem Kakaogehalt. Dies könnte in der Zugabe von Lecithin begründet liegen.

Ethanolamin entsteht über Phosphatidyl-L-Serin aus Phosphatidylcholin (Lecithin). (LÖFFLER G., 2002)

Lecithin spielt eine wichtige Rolle bei der plastischen Viskosität und der Fließgrenze von Schokolade. (SÜSSWARENTECHNIK, 2000)

Die Kakaobohne enthält Kakaofett, welches für einen schönen Schmelz und Bruch verantwortlich ist. Schokoladen mit hohem Kakaogehalt haben also schon von vornherein eine bessere Viskosität aufgrund ihres höheren Gehaltes an Kakaofett im Vergleich zu Milkschokoladen. Die Lecithinzugabe bei Milkschokoladen wird demnach am höchsten sein und reduziert sich mit der Zunahme der Kakaoprozente. (KLEINERT J., 1997)

Abbildung 27 Trend der Mittelwerte „Histamin“



Wie in der Literatur oftmals beschrieben, dass Schokolade kein Histamin enthält, konnte auch anhand unserer Ergebnisse gezeigt werden. Keiner der 44 Schokoladenproben enthielt das biogene Amin Histamin.

Abbildung 28 Trend der Mittelwerte „Tyramin“

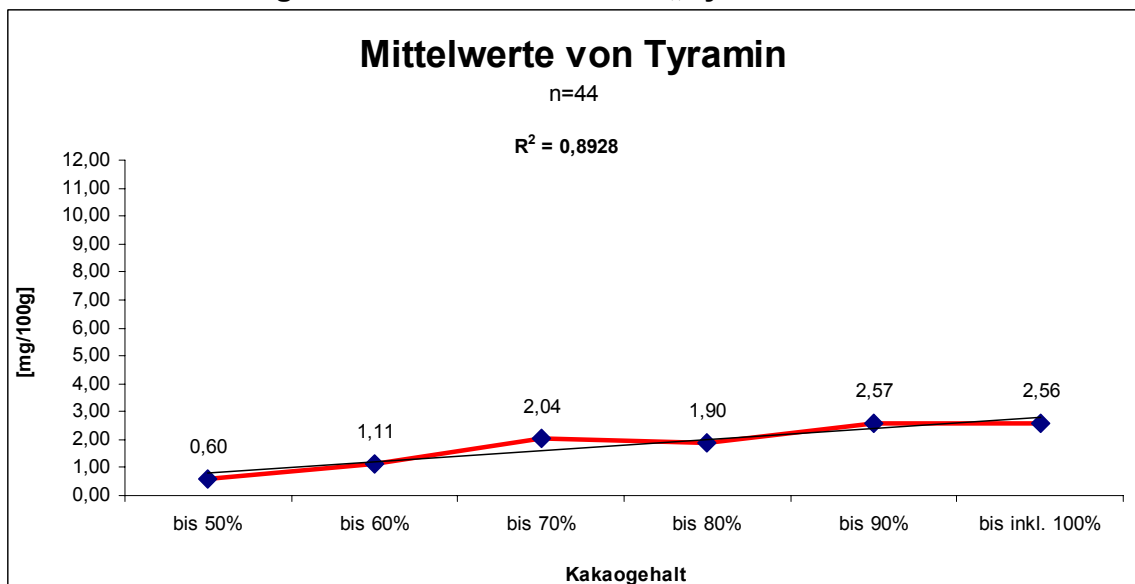
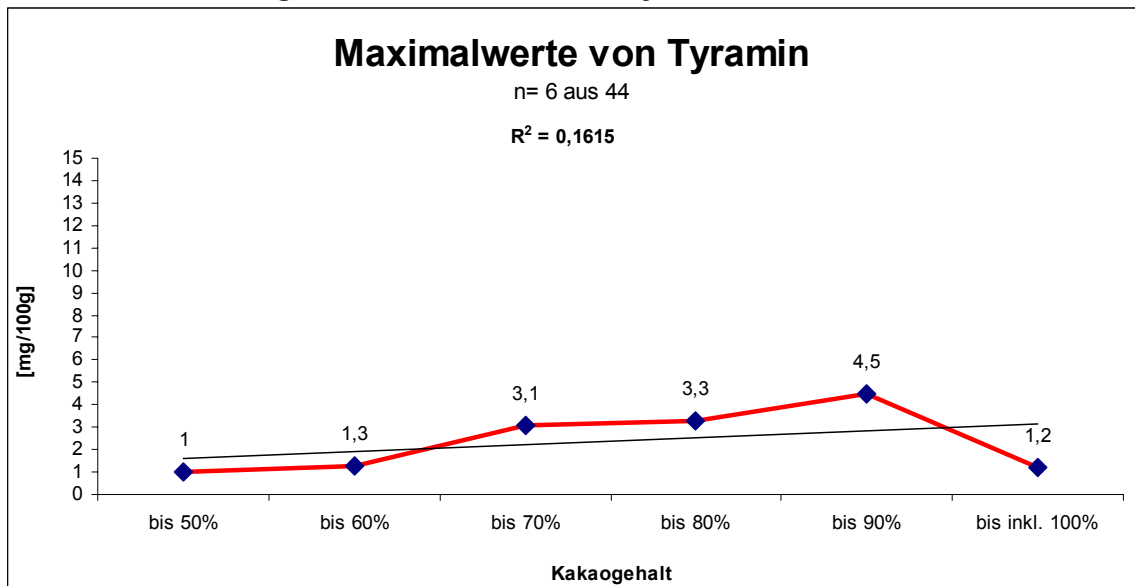


Abbildung 29 Maximalwerte von Tyramin



Aus den 44 Proben wurde in jeder Schokolade Tyramin gefunden. Der Maximalwert von 4,5 mg/100g konnte in einer 90 % Schokolade festgestellt werden. Die Mittelwerte zeigen, dass es einen Zusammenhang zwischen steigendem Kakaogehalt und der Konzentration an Tyramin in Schokoladen gibt. Je höher der Kakaogehalt, desto höher die Konzentration von Tyramin.

Abbildung 30 Trend der Mittelwerte „Putrescin“

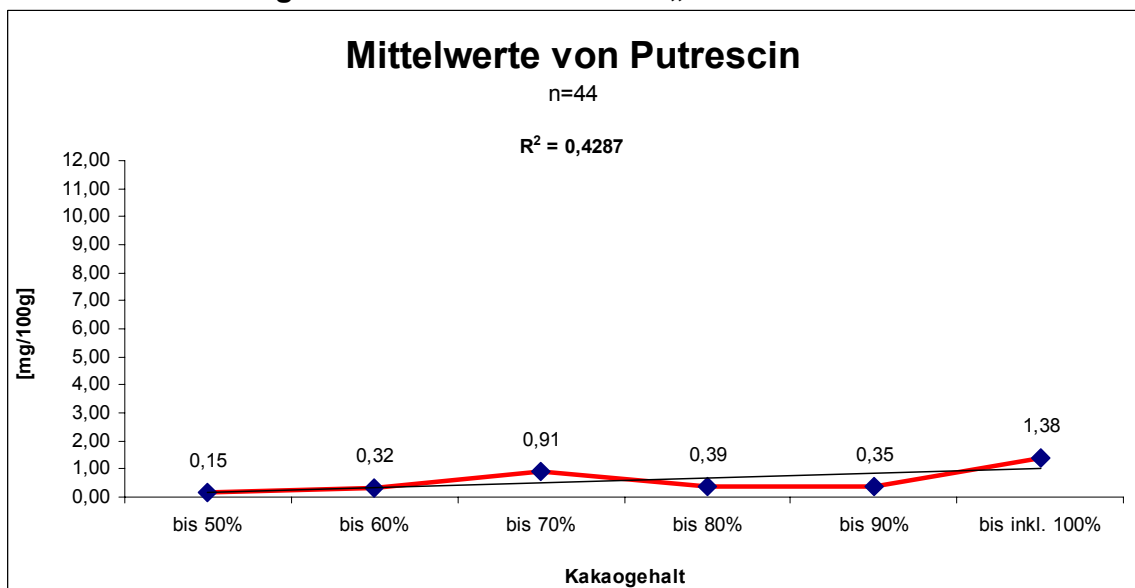


Abbildung 31 Trend der Mittelwerte „Cadaverin“

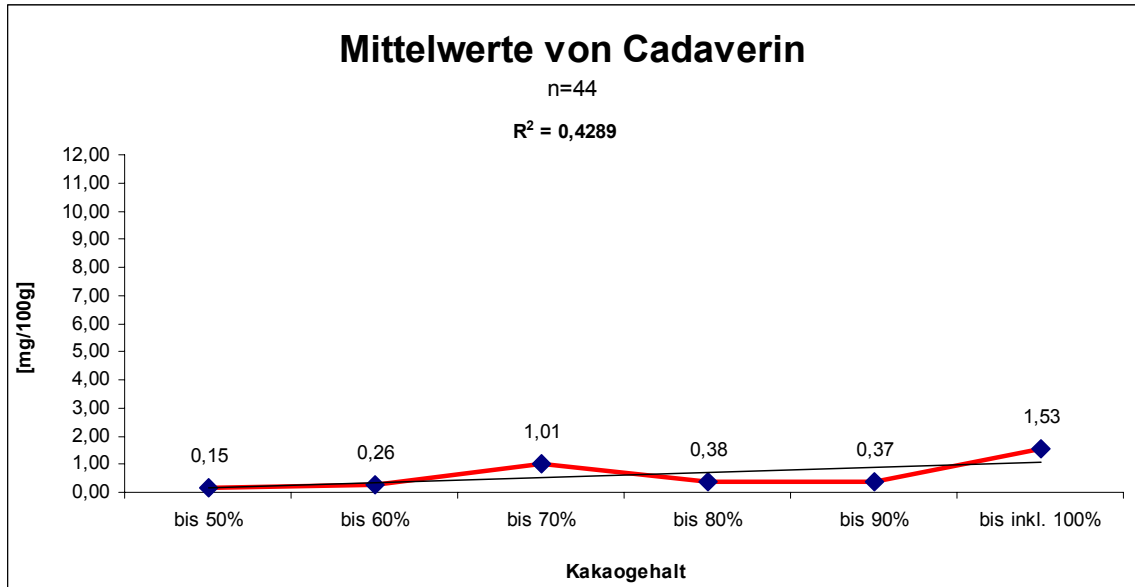


Abbildung 32 Trend der Mittelwerte „Phenylethylamin“

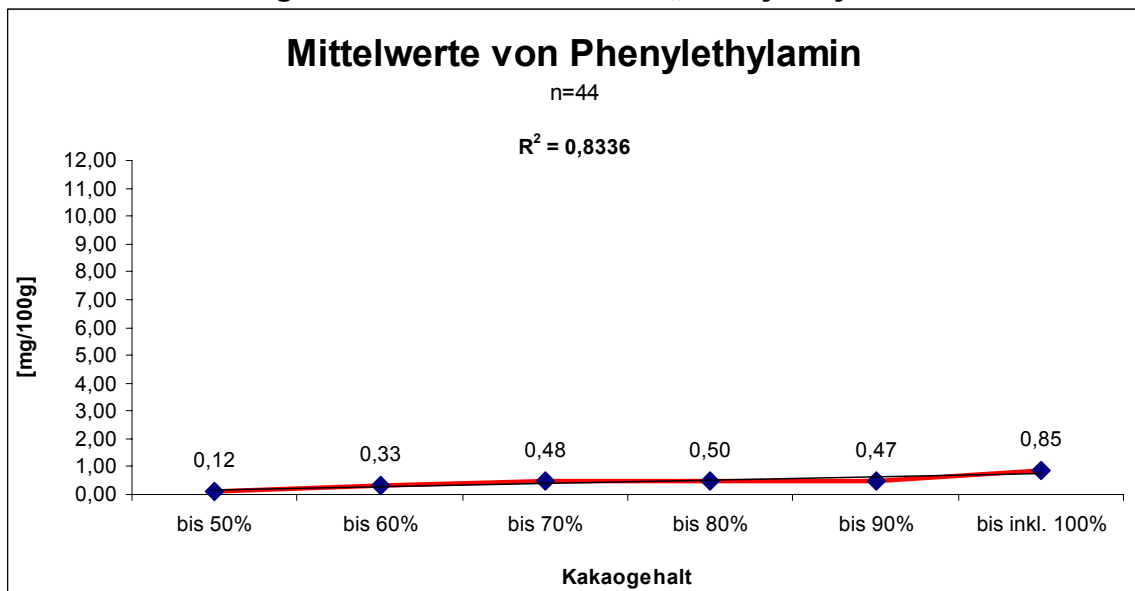


Abbildung 33 Maximalwerte von Phenylethylamin

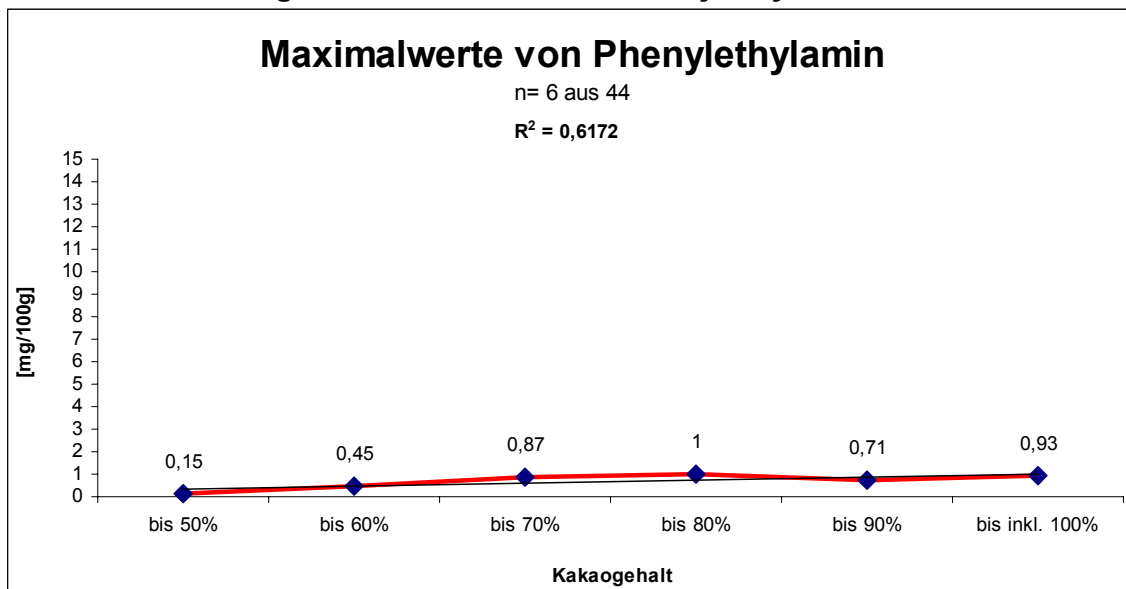


Abbildung 34 Trend der Mittelwerte „Spermidin“

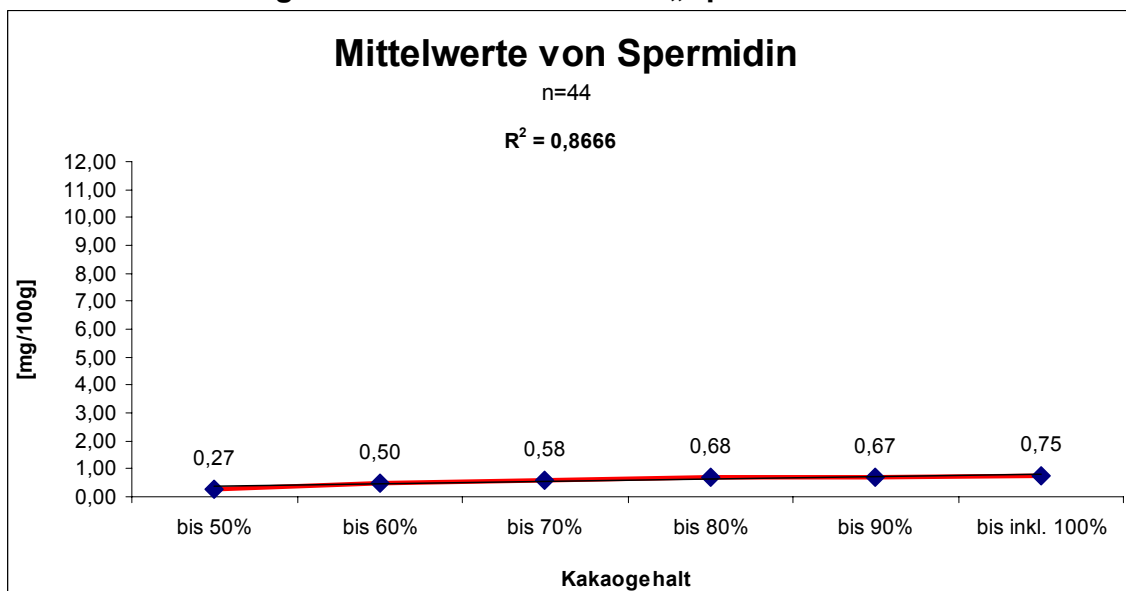
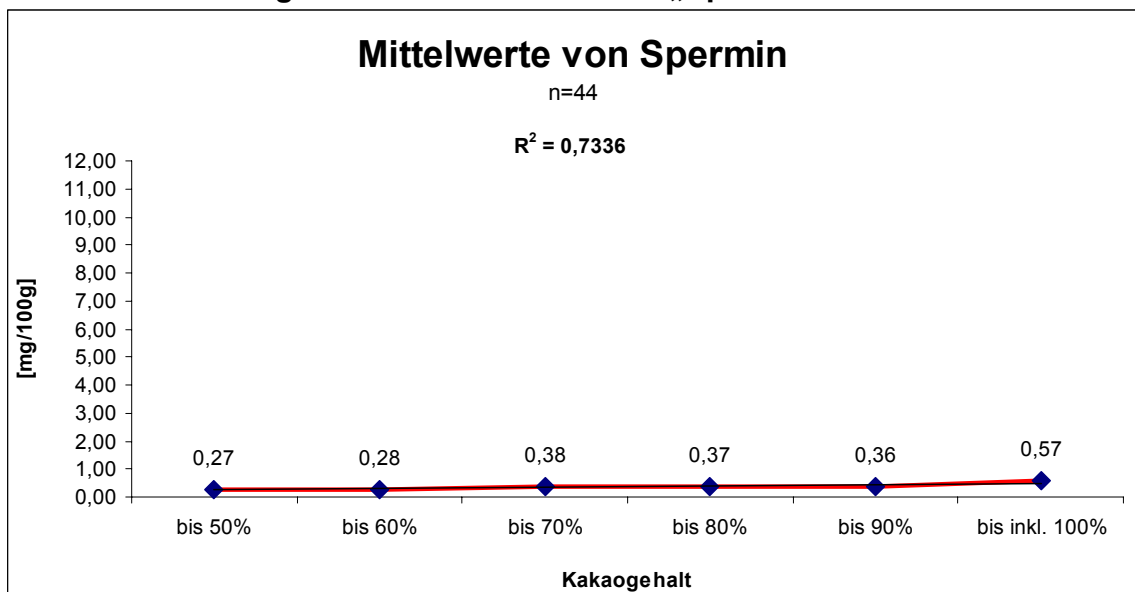


Abbildung 35 Trend der Mittelwerte „Spermin“



Die Gehalte an Putrescin, Cadaverin, Phenylethylamin, Spermidin und Spermin sind allesamt in den untersuchten Schokoladen gering.

In allen Graphiken kann man den Trend beobachten, dass sich der Amingehalt im Mittel mit steigendem Kakaogehalt erhöht.

Den höchsten Wert an Putrescin und Cadaverin konnte in Schokoladen mit 60 % Kakaoanteil beobachtet werden.

Putrescin: 1,7 mg/100 g

Cadaverin: 2,4 mg/100 g

Die Maximalwerte der biogenen Amine Phe, Spd und Spm wurden alle in Schokoladen mit einem Kakaogehalt von 70 % gefunden.

Phenylethylamin: 1 mg/100 g

Spermidin: 1,1 mg/100 g

Spermin: 0,88 mg/100 g

Abbildung 36 Trend der Mittelwerte „Biogene Amine Gesamt“

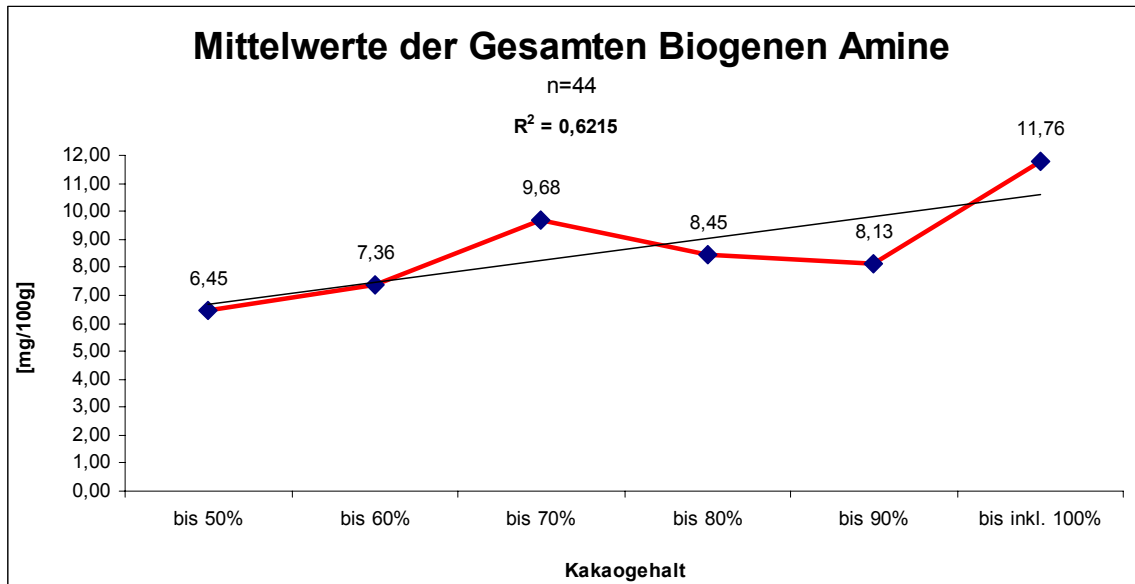
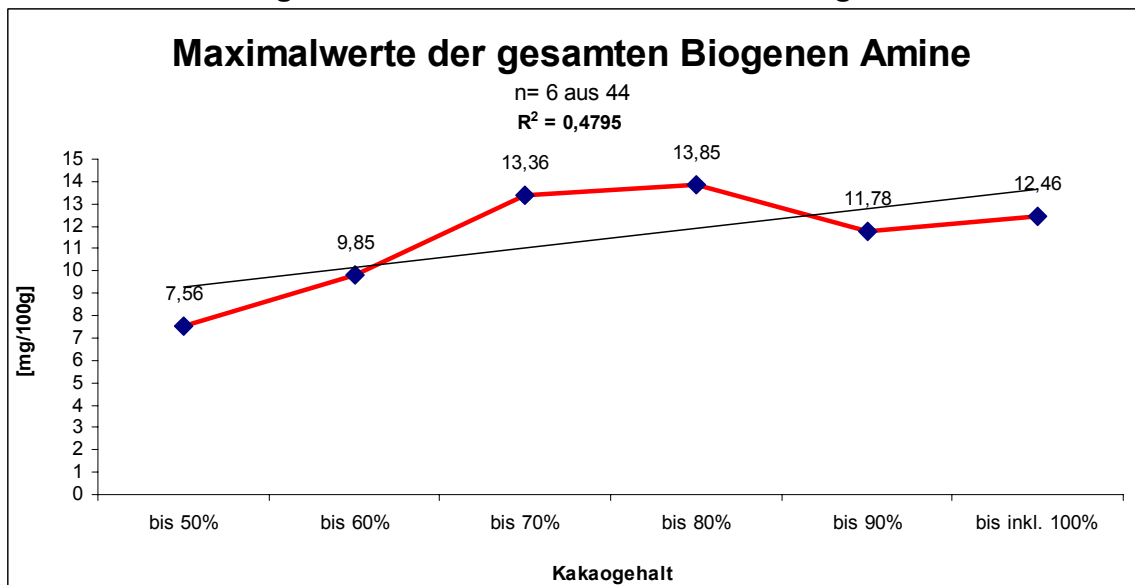


Abbildung 37 Maximalwerte der Gesamten Biogenen Amine



Anhand der Grafik kann man erkennen, dass es einen allgemeinen Trend für die Steigung der Konzentration an biogenen Aminen mit Zunahme des Kakaogehaltes gibt.

Bei den Mittelwerten kann man einen Ausreißer nach oben bei den 70 %igen Schokoladen, sowie einen kleinen Ausreißer nach unten bei den 90 %igen Schokoladen erkennen.

4.5.1. Relevanz des Anbaubgebietes

In der Grafik werden die biogenen Amine Histamin, Tyramin und Phenylethylamin aufgrund ihrer direkten Wirkung hinsichtlich der Histaminintoleranz dargestellt.
(HOLZHAMMER et al., 2006)

Abbildung 38 Mittelwerte von Schokoladen bis 70 %

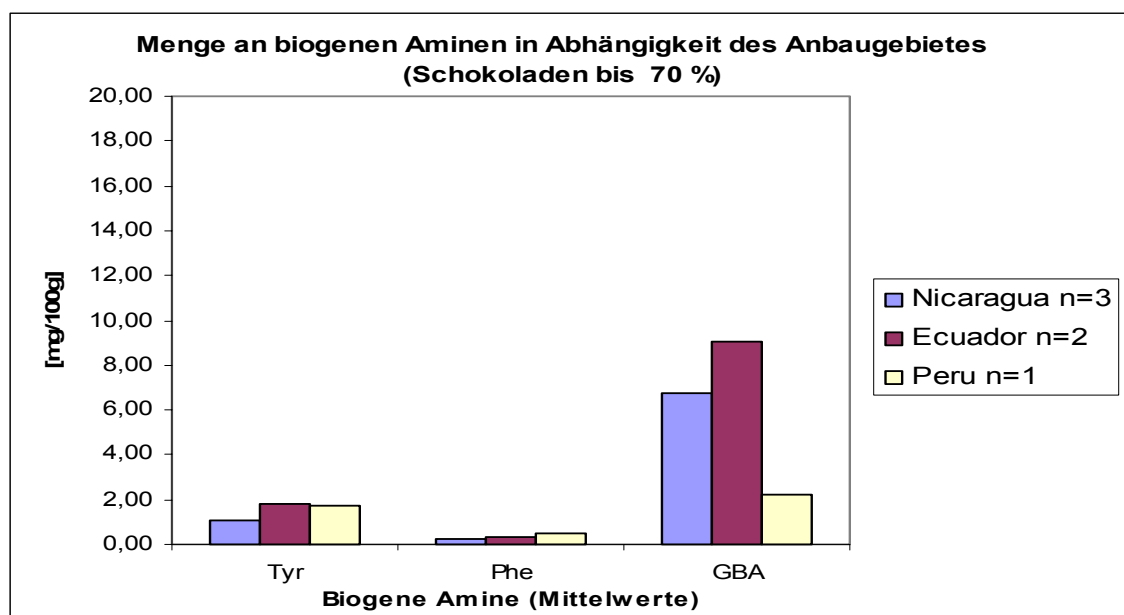
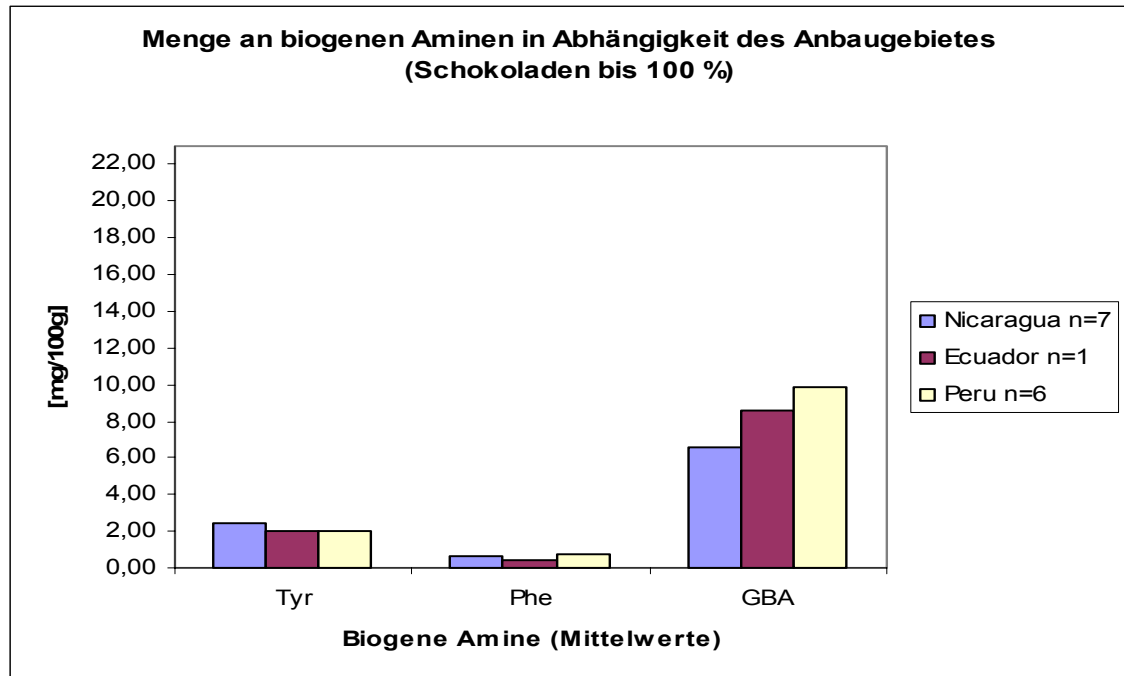


Abbildung 39 Mittelwerte von Schokoladen bis 100 %



Die Konzentrationen der biogenen Amine im Vergleich der verschiedenen Anbaugesbiete variiert nicht sonderlich. Anhand der Ergebnisse könnte man also behaupten, dass das Anbaugesbiet auf die Menge an biogenen Aminen in Schokolade keinen signifikanten Unterschied verursacht. Da der Probenumfang aber äußerst gering ist, erscheint eine konkrete Aussage schwierig.

4.6. Biogene Amine in Essig

Untersucht wurden 28 verschiedene Essige. Es wurde großer Wert auf die Vielfalt an Essigen gelegt, um eine konkrete Aussage über die Sorten im Bezug auf die Histaminintoleranz treffen zu können.

Tabelle 34 : Analyseergebnisse biogener Amine in Essig

Anz.	Essig	Biogene Amine [mg/L]*								
		EA	His	Tyr	Put	Cad	Phe	Spd	Spm	GBA
1	Sherry Essig	2,4	0	0,12	0,05	0	0	0,3	0	2,87
2	Apfel-Essig	5,2	0,4	0	0	0	0	1,9	0	7,5
3	Rotwein-Essig	1,45	0,8	0,8	0,25	0	0	0,4	0,7	4,4
4	7-Kräuter-Essig	0	0	0	0,57	0	0	0,6	0,17	1,33
5	Walnuss-Essig	0	0	0	0,5	0,1	0	0,5	0	1,1
6	Kirsch Essig	2,7	0	2,2	0,8	0,5	0,1	0	0,5	6,8
7	Balsamico Rosso	4,2	0,5	0,5	0,1	0	0	0	1,1	6,4
8	Balsamico di	3,7	0	0,5	1,1	0,3	0,2	0	0,9	6,7
9	Balsamico	3,6	0	0	0,1	0	0	0	0	3,7
10	Hesperiden Essig	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	Schilcher-Essig	0	0	0	0	0	0	0,28	0,2	0,48
12	Aceto balsamico	3	0,4	0,9	0,6	0	0	0	0	4,9
13	Aceto balsamico	3,3	0	0,4	0,1	0	0	0	0	3,8
14	Weißwein Essig	0,7	0	0,3	0	0	0	0,2	0	1,2
15	Bio Apfelessig	0,6	0	0	3,4	0	0	0,4	0	4,4

16	Apfelessig	1,3	0	0	0,5	0	0	0,2	0	2
17	Kräuteressig	0,5	0	0	0,1	0	0	0,2	0	0,8
18	Brombeeressig	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0,3
19	Quittenessig	0	0	0,74	0,12	0	0	0	0	0,86
20	Apfelessig	0	0	0	0,12	0	0	0,4	0	0,52
21	Apfelmostessig	0	0	0	0	0	0	0,48	0	0,48
22	Reisessig	0,28	1,4	3,9	1,55	1,33	0,28	0	0	8,74
23	Rotweinessig	4,6	1,13	1,08	2,17	0,1	0,4	0,4	0,4	10,28
24	steir. Apfelessig	2,5	0	0,86	0,73	0	0	1,7	7,2	12,99
25	Aceto balsamico	4,5	0	0	0,1	0	1,97	0	0	6,57
26	Himbeeressig	1,6	0	12	0,42	0	0,25	0,36	0	14,62
27	Umeboshi Essig (Pflaumen-Essig)	3,5	0	18,9	1,2	0	0,4	0,4	0	24,4
28	Apfelessig	0,8	0	0	0,3	0	0	0	0	1,1

* Mittelwerte aus Doppelbestimmung

Abbildung 40 Chromatogramm Rotweinessig

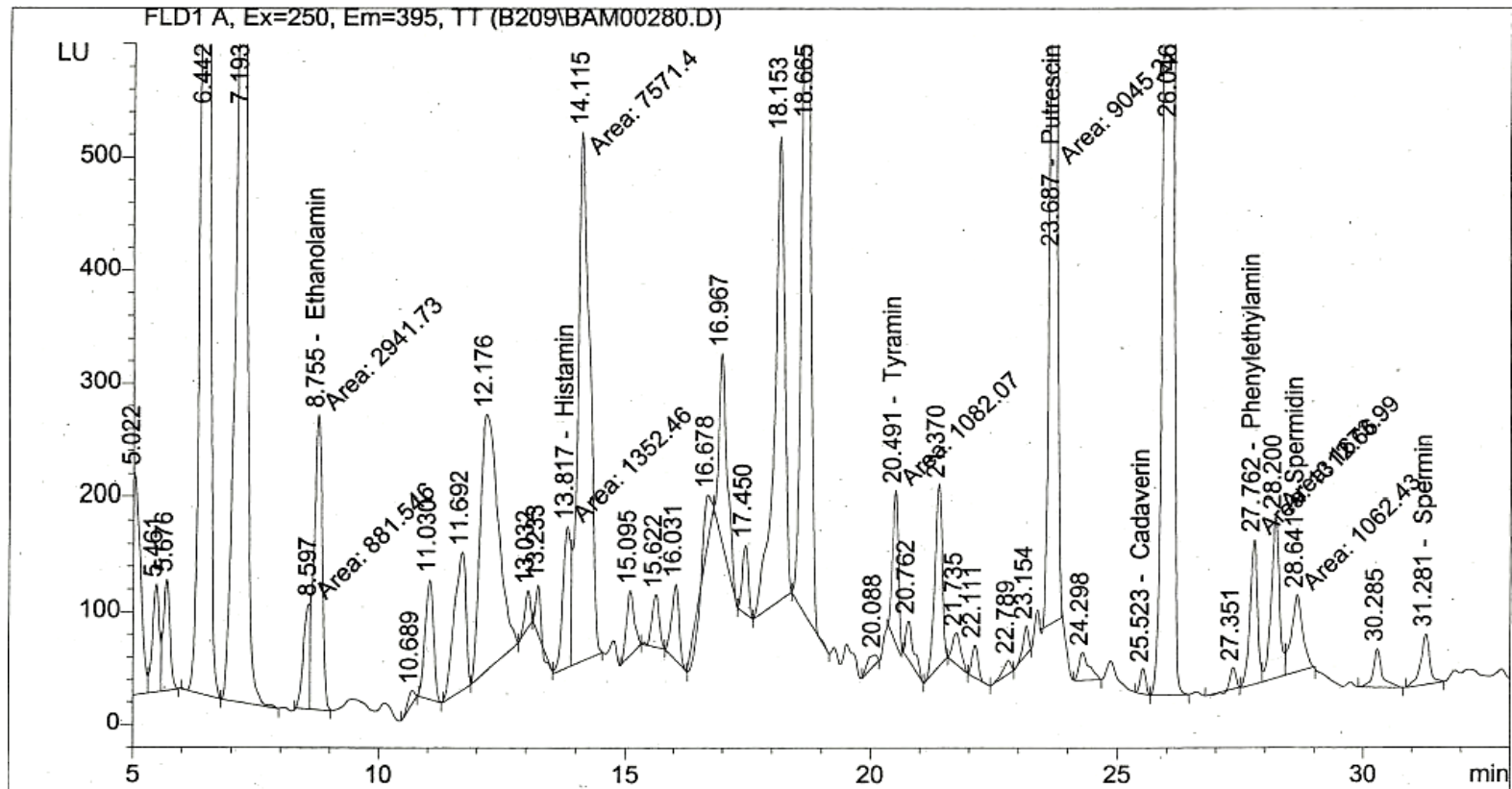
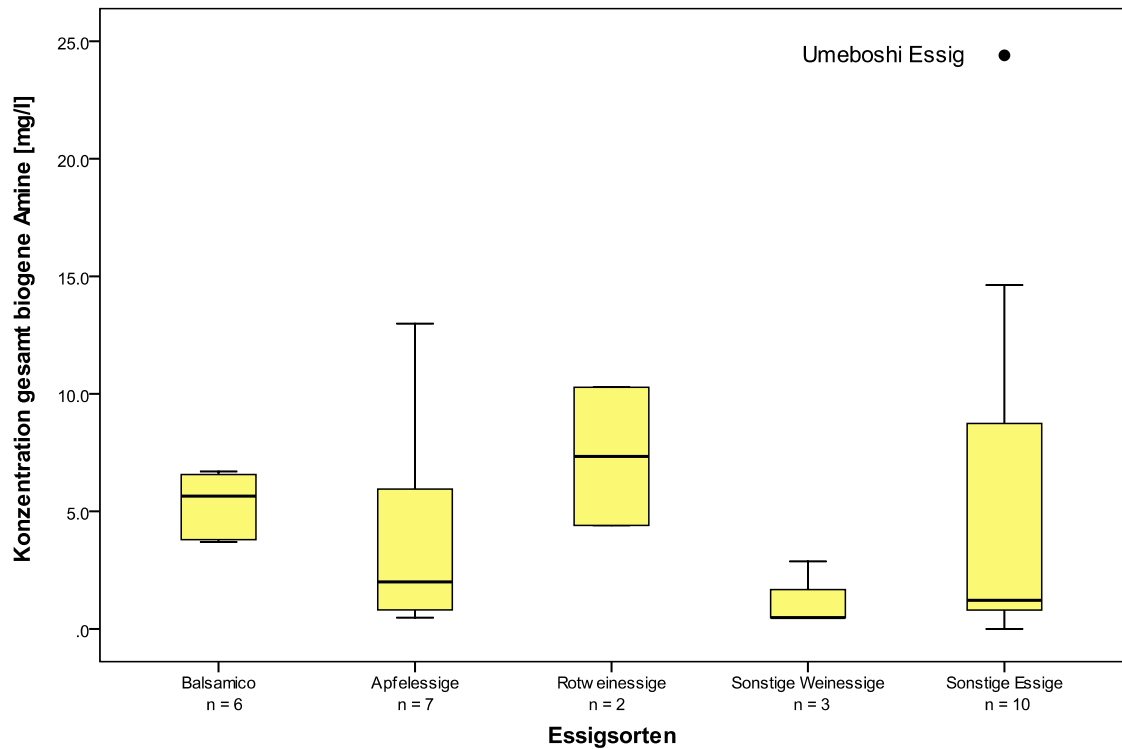


Abbildung 41 :Mittelwerte an gesamten biogenen Aminen in Essigen



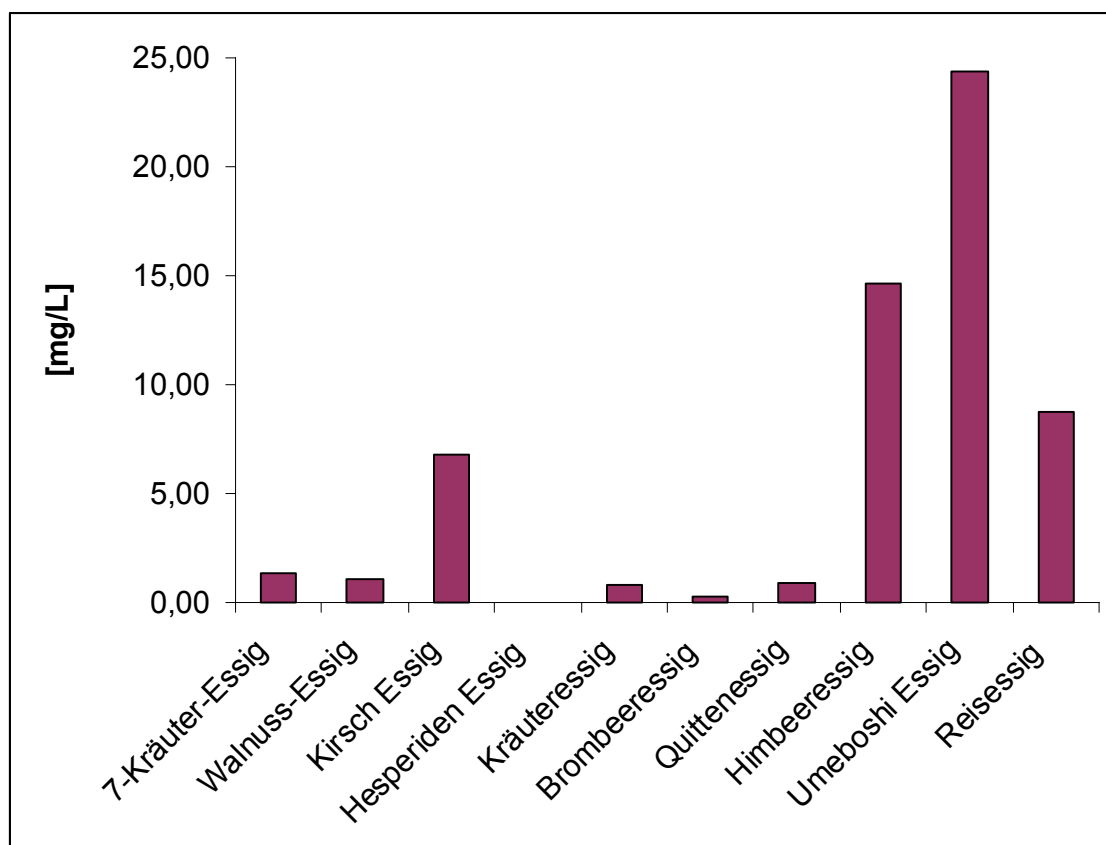
Da Rotwein laut Literatur die höchsten Konzentrationen an biogenen Aminen (besonders an Histamin) enthält, ist es nicht verwunderlich, dass auch der Rotwein-Essig im Mittel die höchsten Werte aufweist.

Eine weitere Erklärung für die höhere Konzentration im Mittel der Rotweinessige im Gegensatz zu den Apfelessigen könnte durch den niedrigeren pH-Wert des Rotweinessigs erklärt werden. Durch die Essigsäurebildung aus den ursprünglichen Weinen kommt es zu einer Absenkung des pH-Wertes. Die Histaminmenge und Tyraminmenge erhöht sich bei niedrigerem pH-Wert. (PÄTZOLD M. et al., 2005; BEUTLING et al., 1996)

Ein Zusammenhang zwischen dem Säuregehalt und der Konzentration an biogenen Aminen konnte jedoch nicht hergestellt werden. Die Säuregehalte der verschiedenen Essige weichen voneinander nicht sonderlich ab.

4.6.1. Relevanz der Essigsorte in verschiedenen Essigen

Abbildung 42 Biogene Amine in sonstigen Essigen



*Messungen aus Doppelbestimmung

Umeboshi-Essig zeigt den höchsten Gehalt an biogenen Aminen mit einer Konzentration von 24,4 mg/L. Umeboshi-Essig wird aus Pflaumen hergestellt, welche laut Literatur reich an biogenen Aminen sind. (VFED, 2009)

Ebenfalls reich an biogenen Aminen laut Literatur sind Himbeeren. (VFED, 2009) Dies konnte anhand unserer Messungen ebenfalls bestätigt werden. Der Gehalt betrug 14,62 mg/L.

Auch Reis-Essig hat eine hohe Konzentration (8,74 mg/L) an biogenen Aminen. Dies könnte daran liegen, dass Reis-Essig aus Reiswein hergestellt wird.

5. Schlussbetrachtung

Die Literatursuche zum Thema Histaminintoleranz hat sich als sehr schwierig heraus kristallisiert. Insbesondere Studien über den Metabolismus, sowie Schwellenwerte von Ethanolamin, Tyramin, Phenylethylamin, Cadaverin, Putrescin, Spermin und Spermidin sind nicht vorhanden. Aufgrund der geringen Anzahl zur Thematik Histaminintoleranz, scheint diese wissenschaftlich im angloamerikanischen Raum weitgehend unerforscht zu sein.

5.1. Die Bedeutung der Analyseergebnisse für die Histaminintoleranz

5.1.1. Ethanolamin

Bis dato ist nicht bekannt, dass Ethanolamin selbst Intoleranz-Symptome auslöst. Ethanolamin wird über das Enzym MAO abgebaut. Intoleranz-Symptome in Zusammenhang mit Ethanolamin könnten durch eine Hemmung der DAO aufgrund hoher Ethanolaminkonzentrationen und damit ein stärkerer Effekt anderer biogener Amine, hervorgerufen werden, da diese nicht schnell oder vollständig genug abgebaut werden können.

Die erhaltenen Werte in Schokolade und Essig sind, selbst hinsichtlich eines sekundären Auslösers, nicht für die Histaminintoleranz relevant.

5.1.2. Histamin

Von den untersuchten biogenen Aminen ist Histamin von größtem Interesse. Wie bereits in der Literatur beschrieben, konnte auch in dieser Arbeit festgestellt werden, dass Schokolade kein Histamin enthält.

Schokolade ist somit hinsichtlich des Histamins unbedenklich.

Von den untersuchten 28 Essigproben konnte in 6 Essigen Histamin nachgewiesen werden. Die Werte lagen im Mittel bei 0,77 mg/L, wobei die höchsten Werte der Rotweinessig mit 1,13 mg/L und der Reissessig mit 1,4 mg/L mit betrugen.

Bezieht man sich auf den Schwellenwert von 2 mg/L bei alkoholischen Getränken von SILLA SANTOS (1996), könnte ein Konsum von 1,8 L Rotweinessig oder 1,4 L Reissessig, Intoleranz-Symptome auslösen.

Da der Konsum dieser Mengen nicht realistisch erscheint, kann man auch Essige für unbedenklich hinsichtlich des Histamins einstufen.

5.1.3. Tyramin

Wie bereits im Literaturüberblick erwähnt, behaupten einige Autoren, dass Tyramin Intoleranz-Symptome auslösen kann. LÜTHY et al. (1983) konnten nach einer Gabe von 25 mg Tyramin bei 7,4 % seiner Probanden Effekte feststellen. Somit ist es schwierig eine Aussage über die Bedeutung für die Histaminintoleranz zu treffen.

Geht man von einem möglichen Schwellenwert von 25 mg Tyramin aus, könnten 1,3 L des Umeboshi Essigs (Pflaumen-Essig) für Beschwerden ausreichen. Bei der Schokolade konnte nur ein Maximalwert von 4,5 mg/100 g bei einer Schokolade mit 80 % Kakaogehalt festgestellt werden.

Berücksichtigt man die Faktoren: die unrealistische Menge die man an Essig zu sich nehmen könnte, den unsicheren „Schwellenwert“ aus der Literatur und den äußerst geringen Analysewert in der Schokolade, können beide Lebensmittel als unbedenklich für die Histaminintoleranz eingestuft werden.

5.1.4. Phenylethylamin

Den höchsten Wert von 1 mg/100 g erreichte eine Schokolade mit 80 % Kakaoanteil.

Geht man von einem Schwellenwert von 5 mg laut LÜTHY et al. (1983) aus, könnten Effekte nach einem Konsum von 5 Tafeln einer 80 %igen Schokolade (500 g) auftreten. Phenylethylamin konkurriert auch nicht um das Enzym DAO, sondern wird mittels MAO abgebaut.

Der Verzehr von 5 Tafeln Schokolade ist äußerst unwahrscheinlich, bzw. die Aufnahme von 2,5 L Balsamicoessig noch unwahrscheinlicher.

Man kann somit davon ausgehen, dass der Gehalt an Phenylethylamin in Schokolade und Essig für die Histaminintoleranz keine Bedeutung hat.

5.1.5. Putrescin, Cadaverin, Spermidin, Spermin

Das gleichzeitige Vorhandensein von Putrescin, Cadaverin, Spermidin, Spermin und Histamin kann zu einer Verstärkung der Histaminintoleranzreaktionen führen, weil all diese Amine durch die Diaminoxidase abgebaut werden. Dadurch kann Histamin nicht rasch genug metabolisiert werden, es kommt zur Anhäufung einer höheren Konzentration im Körper und dies kann bei empfindlichen Personen zu entsprechenden Symptomen führen. (RAINER, 2005)

Es liegen leider auch für Putrescin, Cadaverin, Spermidin und Spermin keine Schwellenwerte vor, um eine konkrete Aussage über die gemessenen Werte in Schokolade und Essig hinsichtlich der Histaminintoleranz treffen zu können.

5.1.6. Gesamt biogene Amine

Interessant für die Histaminintoleranz, aber leider noch zu wenig erforscht, ist vor allem das Zusammenspiel aller biogenen Amine. Die Histaminintoleranz ist ein komplexes System aus histaminhaltigen Lebensmitteln, Histaminliberatoren und biogenen Aminen, die um das gleiche Enzym konkurrieren.

Bei den Schokoladenproben konnte ein Maximalwert an biogenen Aminen von 13,85 mg/100 mg bei einer Schokolade mit einem Kakaogehalt von 80 % gemessen werden.

Den höchsten Wert bei den Essigen erreichte der Umeboshi-Essig (Pflaumen-Essig) mit einem Gesamt-Amin-Gehalt von 24,4 mg/L.

Über die analysierten Werte der gesamten biogenen Amine kann keine Aussage über die Histaminintoleranz getroffen werden, da Schwellenwerte hinsichtlich der maximalen Aufnahme von biogenen Aminen (gesamt) für das Auftreten von Symptomen fehlen.

5.2. Zusammenhang zwischen Kakaogehalt, Anbaugebiet des Kakaos und dem Gehalt an biogenen Aminen

Es konnte ein Zusammenhang zwischen Kakaogehalt und der Menge an biogenen Aminen in der Schokolade festgestellt werden: Je höher der Kakaoanteil in der Schokolade ist, desto höher ist die Konzentration an biogenen Aminen.

Das Anbaugebiet des Kakaos scheint aufgrund der Untersuchungen keinen Einfluss auf die Konzentration an biogenen Aminen in Schokolade zu haben, obwohl es in der Literatur behauptet wird und es auch Sinn machen würde.

Ein Problem diesbezüglich stellt sicher die geringe Kenntnis über die Herkunft des Kakaos dar. Viele Schokoladenhersteller beziehen ihre Rohsubstanz von verschiedenen Lieferanten und somit aus verschiedenen Anbaugebieten. Die

meisten Schokoladen sind daher eher ein Kakaomix aus verschiedenen Ländern und können daher nicht einem bestimmten Anbaugebiet zugeordnet werden.

Fazit:

Dass Schokolade wie auch Essig Auslöser für die Histaminintoleranz sind, ist nach den erhaltenen Werten äußerst unwahrscheinlich.

5.3. Analytik

Hinsichtlich der Methodenoptimierung der Analytik von biogenen Aminen, mussten mehrere Varianten der Probenaufbereitung durchprobiert werden. Die besten Peaks konnten mit einer dreifachen Extraktion mit PCA plus Entfärbung (PVPP) bei Schokolade, sowie einer Entfärbung (PVPP) bei Essig erreicht werden. Aufgrund der äußerst komplexen Probenmatrix und Überlagerungen von Peaks, konnte das biogene Amin Tryptamin nicht eindeutig identifiziert werden.

5.4. Aussichten

Dass nicht nur Histamin für das Auslösen von allergieähnlichen Symptomen verantwortlich ist, wurde in sämtlichen Studien publiziert. Es wäre daher wünschenswert, weiterführende Studien zu Schwellenwerten vor allem von Tyramin und Phenylethylamin in Erwägung zu ziehen.

Weiters wäre es sinnvoll, einen Grenzwert hinsichtlich der gesamten biogenen Amine zusätzlich zum Histamin in der EU-Regulation zu diskutieren. Auch andere biogene Amine können sich, wenn in hohen Mengen vorhanden, äußerst toxisch auswirken.

Ebenfalls wäre es interessant, wie sich die Rangordnung bei biogenen Aminen verhält, die um das gleiche Enzym konkurrieren. Was wird bei gleichzeitigem Vorhandensein von z.B. Histamin und Spermin bevorzugt abgebaut?

Eine Kennzeichnung histaminreicher Lebensmittel wäre für Betroffene eine große Hilfestellung im Alltag.

6. Zusammenfassung

Histamin ist eine körpereigene Substanz die durch allergische Reaktionen, bestimmte Stoffe (z.B. Medikamente) oder bei Verletzungen freigesetzt wird. Der Abbau des Histamins erfolgt vorwiegend durch das Enzym Diaminoxidase. Normalerweise kann aufgenommenes Histamin schnell verstoffwechselt werden und der Verzehr histaminreicher Lebensmittel ist daher unbedenklich. Bei einer Histaminintoleranz hingegen ist der Abbau durch eine verminderte bzw. verzögerte Enzym-Aktivität unvollständig, und es kommt zur Ansammlung des Histamins im Körper und führt zu allergieähnlichen Symptomen.

Manche Lebensmittel enthalten selbst kein Histamin, sondern andere biogene Amine (Ethanolamin, Tyramin, Phenyethylamin, Tryptamin, Putrescin, Cadaverin, Spermin, Spermidin), welche teilweise auch durch das Enzym Diaminoxidase abgebaut werden. Nimmt man also andere biogene Amine in hohen Mengen auf, und verzehrt anschließend selbst nur geringe Mengen an Histamin, steht das Enzym zum Abbau von Histamin nicht mehr zur Verfügung und es kommt zu Intoleranzbeschwerden.

Untersucht wurden die Lebensmittel Schokolade und Essig, da diese einer der häufigsten Auslöser von Intoleranz-Beschwerden für Betroffene sind.

In keiner der untersuchten Schokoladenproben konnte Histamin gefunden werden.

Von den analysierten Essigproben konnte in 6 Essigen Histamin nachgewiesen werden. Die Werte lagen im Mittel bei 0,77 mg/L, wobei die höchsten Werte der Rotweinessig mit 1,13 mg/L und der Reisessig mit 1,4 mg/L ml betrugen.

Festgestellt wurde, dass sich die Konzentration an biogenen Aminen mit steigendem Kakaogehalt erhöht. Laut den Untersuchungen besteht kein Zusammenhang zwischen dem Anbaugebiet und der Menge an biogenen Aminen in Schokolade.

Schokolade und Essig sind aufgrund der erhaltenen Ergebnisse hinsichtlich der Histamin-Intoleranz unbedenklich.

7. Summary

Histamine is produced naturally in the body and is able to be released by allergic reaction, certain substances (for example drugs) or physical injuries.

The major histamine-degrading enzyme is DAO (diamine oxidase). Normally applied histamine is able to be metabolized quickly and therefore the consumption of foods which are rich in histamine is harmless. People who suffer from histamine-intolerance are not able to degrade the histamine completely. Either the enzyme activity is reduced or delayed. The result is an accumulation of histamine in the body and accordingly this causes allergic symptoms. Some foods don't contain histamine but other biogenic amines like ethanolamine, tyramine, phenyl-ethylamine, tryptamine, putrescine, cadaverine, spermine and spermidine. Some of these other biogenic amines are degraded also by DAO. In the case of consuming these other biogenic amines in great quantities, following even low amounts of histamine, the degrading enzyme DAO is not available any more and allergic symptoms are the result.

Chocolate and vinegar were investigated, because they were established as common for foods which are causing allergic symptoms in people who are suffering from histamine-intolerance.

None of the investigated chocolate samples contained histamine. In vinegar 6 samples were found which contained histamine. The average amount of histamine was at a level of 0,77 mg/L, whereas the maximum amounts were reached by a red wine vinegar at 1,13 mg/L and by a rice vinegar at 1,4 mg/L.

It was observed that the concentration of biogenic amines is rising with increasing cocoa content.

According to the results there is no relation between the growing area of the cocoa and the amount of biogenic amines in chocolate.

In summary it is found that chocolate and vinegar have no relevance in consideration of the histamine-intolerance and are therefore harmless.

8. Literatur

1. ASKAR A., TREPTOW H. (1986): Biogene Amine in Lebensmitteln. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.
2. BEUTLING D. M. (1996): Biogene Amine in der Ernährung. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
3. CHLOUPEK (2001): Bestimmung von Histamin in Fisch und Fischerzeugnissen mittels HPLC. Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit.
4. CRNOGLAVAC M. (2004): Biogene Amine: Ihre Rolle in Gesundheit und Krankheit und orthomolekulare Behandlungsmöglichkeiten. Orthomedis Speziallabor AG. Rapperswil.
5. Die Zeit (Homepage). www.zeit.de/2008/50/M-Seekrankheit; Zugriff am 01.03.2009
6. FISCHER E. (2006): Bestimmung biogener Amine in Lebensmitteln mit HPLC und UPLC. Diplomarbeit.
7. Floridsdorfer Allergiezentrum (Homepage). www.faz.at, Zugriff am 01.03.2009
8. GIBB CM., DAVIS PTG., GLOVER V., STEINER TJ., CLIFFORD R. F., SANDLER M. (1991): Chocolate is a migraine-provoking agent. Cephalalgia 11:93-5
9. GIRNDT T. (2007): Histaminintoleranz: Allergisch auf Thunfischpizza. VFEDaktuell 96:6-11
10. HOLZHAMMER J., WÖBER C. (2006): Alimentäre Triggerfaktoren bei Migräne und Kopfschmerz vom Spannungstyp. Schmerz 20:151-159.

11. JARISCH R., GÖTZ M., HEMMER W. et al. (2004): Histamin-Intoleranz, Histamin und Seekrankheit. THIEME Verlag, Stuttgart.
12. KIRSCHBAUM J., BUSCH I., BRÜCKNER H. (1997): Determination of Biogenic Amines in Food by Automated Pre-column Derivatization with 2-Naphthyloxycarbonyl Chloride (NOC-Cl). Chromatographia 49 No 3/4.
13. KIRSCHBAUM J., BUSCH I., BRÜCKNER H. (1999): Determination of Biogenic Amines in Food by Automated Pre-column Derivatization with 2-Naphthyloxycarbonyl Chloride (NOC-Cl). Chromatographia 45: 263-268.
14. KLEINERT J. (1997): Handbuch der Kakaoverarbeitung und Schokoladenherstellung. Behr-Verlag, Zürich.
15. LÖFFLER G. (2002): Basiswissen Biochemie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
16. LÜTHY J., SCHLATTER C. (1983): Biogene Amine in Lebensmitteln: Zur Wirkung von Histamin, Tyramin und Phenylethylamin auf den Menschen. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung; 177:439-443
17. MAINTZ L., BIEBER T., NOVAK N. (2006): Die verschiedenen Gesichter der Histaminintoleranz. Dtsch Arztebl 2006; 103:A3477-83
18. MAINTZ L., NOVAK N. (2007): Histamine and histamine intolerance. Am J Clin Nutr; 85:1185-96.
19. MATISSEK R., STEINER G. (2006): Lebensmittelanalytik – Grundzüge, Methoden, Anwendungen. Springer Verlag, Berlin Heidelberg
20. MISSBICHLER A., PFISTERER M. (2007): Biogene Amine und Histamin – Genuss oder Verdruss. Ernährung aktuell 2007; 3:6-9.

21. NUßBAUMER K. (2006): Analytik biogener Amine und freier Aminosäuren in Milchprodukten sowie die Bestimmung des nativen β -Lactoglobulins als Erhitzungsindikator in ESL-Milch mittels HPLC und UPLC. Diplomarbeit
22. PÄTZOLD M., JOHN A., BAUER K.H., PATZ C.D., WILL F., DIETRICH H. (2005): Untersuchung ausgewählter Inhaltsstoffe in Apfel- und Weinessigen. Ernährungsumschau 52/7
23. PECHANEK U. (2007): Biogene Amine und Polyamine in Lebensmitteln. Österreichische Apotheker Zeitung 11.
http://www.oeaz.at/zeitung/3aktuell/2007/11/haupt/haupt11_2007biogene.html
24. PECHANEK U., PFANNHAUSER W., WOIDICH H. (1983): Untersuchung über den Gehalt biogener Amine in vier Gruppen von Lebensmitteln des österreichischen Marktes. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und – Forschung; 176:335-340
25. RAINER G.(2005): Biogene Amine im steirischen Wein. Diplomarbeit
26. RAUSCHER-GABERNIG E., GROSSGUT R., BAUER F., PAULSEN P.(2007): Histamin in Lebensmitteln – Toxikologie, Gehalte und Aufnahme. Ernährung aktuell 3 1-5
27. RAUSCHER-GABERNIG E., GROSSGUT R., BAUER F., PAULSEN P.(2008): Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. Organohalogen Compounds 70: 2066-2069
28. Regulation (EC) 2073/2005. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union L 338, pp. 1-26.

29. SANTOS S. M. H. (1996): Biogenic amines: their importance in foods. International Journal of Food Microbiology 29:213-131
30. SCHILLER-FRÜHWIRT I. (2005): Histaminintoleranz: Nachweis der Histaminintoleranz mittels Diaminoxidase-Bestimmung. Hauptverband der österreichischen Sozialversicherungsträger.
31. SCHLEIP T. (2006): Richtig einkaufen bei Histamin-Intoleranz. TRIAS Verlag, Stuttgart.
32. SCHOLLENBERGER M. (1996): Die Entwicklung und Anwendung Chromatographischer Verfahren mit chemischer Derivatisierung und selektiver Detektion zur Erfassung von biogenen Aminen und Aminosäuren in Lebensmitteln. Dissertation
33. SCHÜLLER I. (2007): Bestimmung von freien Aminosäuren und biogenen Aminen in Lebensmitteln mittels Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC). Diplomarbeit.
34. SHALABY A. R. (1996): Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research International 29:675-690.
35. STENEBOERG A. (2007): Biogene Amine – Ernährung bei Histamin-Intoleranz. Umwelt & Gesundheit. 2/2007
36. Süßwarentechnik (Homepage); www.suesswarentechnik.de; Zugriff am 15.02.2009
37. Verband für Ernährung und Diätetik e.V. (2007): Histaminallergie. VFEDaktuell. 96/2007
38. VOET D., Voet J.G., Pratt C.W. (2002): Biochemie, Weinheim, Wiley-VCH VerlagGmbH & Co. KGaA.

39. Waters Cooperation (2003): Waters AccQ.Fluor Reagent Kit. Care and Use Instruction Sheet.
40. WEIß Claudia (2009): Biogene Amine. Ernährungsumschau 3/09:172-179.
41. WURZINGER G. (2008): Merkblatt zur Histaminintoleranz. Lungenabteilung des LKH Hörgas/Enzenbach und der Pulmologischen Tagesklinik des LKH Graz West.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Seteram Lucy
Geburtsdatum: 17.06.1982
Geburtsort: Oslo
Staatsbürgerschaft: Österreich
Familienstand: ledig

Ausbildung:

Studium: *Ernährungswissenschaften* an der Universität Wien
seit 2003
Reifeprüfung: Juni 2002 Handelsakademie Weiz (Steiermark)
Schulbildung: 1996 – 2002 Handelsakademie
1992 – 1996 Hauptschule
1988 – 1992 Volksschule

Praktika:

Zeitraum: 27.11.2007 – 21.12.2007
Firma: *Österreichische Gesellschaft für Ernährung*
Tätigkeit: Übersetzungen von Fachbeiträgen
Literaturrecherchen
Mithilfe bei der Organisation und Durchführung des „European Symposium on Healthier Aging“

Zeitraum: 01.08.2007 – 30.09.2007
Firma: *Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit*
Tätigkeit: Erstellung interner Schulungsunterlagen mit Schwerpunkt „Fette und Öle“
Mitarbeit im mikrobiologischen Labor
Fettsäureanalysen
Sensorische Lebensmittelüberprüfung

Zeitraum: 01.12.2006 – 22.12.2006
Firma: *Institut für medizinische und sportwissenschaftliche Beratung*
Tätigkeit: Ernährungsberatung von Leistungssportlern
Erstellen von Fachartikel im Bereich Sporternährung
Erstellen von Speiseplänen

Praktische Tätigkeiten und Erfahrungen:

<i>Zeitraum:</i>	seit 08.01.2008
<i>Firma:</i>	Österreichische Krebshilfe
<i>Tätigkeit:</i>	Assistentin der PR-Abteilung
<i>Zeitraum:</i>	01.03.2008 – 30.06.2008
<i>Firma:</i>	Sandoz GmbH
<i>Tätigkeit:</i>	Verfassen der Broschüre Calcium Sandoz
<i>Zeitraum:</i>	11.08.2007 – 28.06.2008
<i>Firma:</i>	MANUS Massageschule
<i>Tätigkeit:</i>	Lehrtätigkeit der Fächer Ernährungslehre und Sporternährung
<i>Zeitraum:</i>	01.02.2007 – 30.06.2007
<i>Firma:</i>	Schütz Marketing Service
<i>Tätigkeit:</i>	Telefonische Betreuung von Ärzten und Apotheken
<i>Zeitraum:</i>	01.08.2005 – 31.01.2007
<i>Firma:</i>	Tinnitronics GmbH
<i>Tätigkeit:</i>	Patientenbetreuer für Tinnitusbetroffene
<i>Zeitraum:</i>	01.08.2004 – 31.07.2005
<i>Firma:</i>	Telebiz Telemarketing und Vertriebsmanagement ges.m.b.H.
<i>Tätigkeit:</i>	Call Center Agent
<i>Zeitraum:</i>	01.10.2003 – 31.05.2004
<i>Firma:</i>	Media & Mehr GmbH
<i>Tätigkeit:</i>	PR-Tätigkeiten
<i>Zeitraum:</i>	01.08.2002 – 31.01.2003
<i>Firma:</i>	Manpower GmbH
<i>Tätigkeit:</i>	Assistentin der Verkaufsabteilung

Sprachkenntnisse:

<i>Englisch:</i>	perfekt in Wort und Schrift (zweisprachig aufgewachsen)
<i>Italienisch:</i>	Maturaniveau in Wort und Schrift

Sonstiges:

<i>Auslandsaufenthalt:</i>	Feber 2003 – Juni 2003 Australien und Neuseeland
<i>EDV-Kenntnisse:</i>	gesamtes Office-Paket perfekte Maschinenschreibkenntnisse
<i>Kurse:</i>	FIT – Lehrwarteausbildung an der Sportakademie Graz PADI Tauchschein