



## Formación de aminos bióxenos en ensilados de raigrás

Neste estudo coñecemos que son as denominadas aminos bióxenos e descubrimos o porqué da súa presenza e cales son os principais efectos nas vacas e, por tanto, na alimentación humana.

**Alexandre Udina**

Director técnico de Adial  
alexudina@adial.es

### QUE SON AS AMINAS BIÓXENAS?

**O**s problemas dunha mala fermentación nos ensilados de raigrás asóciáanse sobre todo ao efecto proteolítico dos clostridios, que degradan os aminoácidos a aminos bióxenos, ácido gamma-amino-butírico (GABA), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) e acedo isobutírico ou n-butírico (ácido butírico).

Tanto amoníaco como ácido butírico prodúcese durante a degradación dos aminoácidos mediante a desaminación (eliminación do grupo amino), mentres que as aminos bióxenos se forman pola descarboxilación, é dicir, libérase un grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ ).

Estas aminos son compostos nitroxenados e denomínanse 'bióxenos' porque se producen pola acción de organismos vivos (por encimas microbianos); realmente as aminos bióxenos tamén se xeran pola acción de enterobacterias e bacterias ácido lácticas (BAL), aínda que o efecto dos clostridios proteolíticos é o que maior incidencia ten nos niveis de aminos do ensilado. A súa presenza indica que o N amoniacal é producido por unha proteólise bacteriana debido a unha mala fermentación e non por unha proteólise encimática no acondicionado ou presecado, é dicir, é unha forma de diferenciar se o

N amoniacal foi produto dun exceso de secado ou ben dun problema de mala fermentación.



► A SÚA PRESENZA INDICA QUE O N AMONIAL É PRODUCIDO POR UNHA PROTEÓLISE BACTERIANA DEBIDO A UNHA MALA FERMENTACIÓN E NON POR UNHA PROTEÓLISE ENCIMÁTICA NO ACONDICIONADO OU PRESECADO

Figura 1. Molécula de putrescina (diamina)

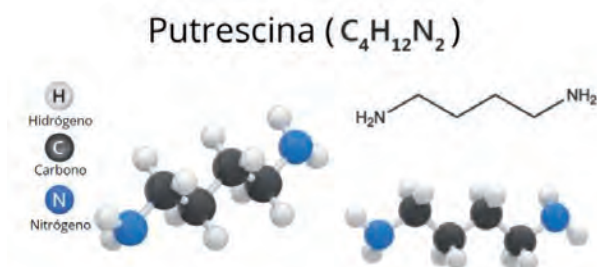


Tabla 1. Límites de aminas biógenas en ensilados (LKS, 2012)

| Concentración aminas* | Comentarios                                                                                                                                              |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <5 g/kg MS            | Niveis aceptables, aínda que se describiron algúns efectos negativos con só 1 g/kg MS ou 2 g/kg MS.                                                      |
| De 5 a 15 g/kg MS     | Niveis altos. Indica degradación de aminoácidos por microorganismos, con influencia negativa sobre a inxestión, produción de leite e problemas de saúde. |
| >15 g/kg MS           | Niveis moi altos, con influencia moi negativa en inxestión, produción e saúde. Non debería usarse o ensilado na ración.                                  |

\*Suma de putrescina + cadaverina + histamina + feniletilamina + triptamina + tiramina

### EFFECTOS DAS AMINAS BIÓXENAS NAS VACAS

As principais aminas biógenas no ensilado de raigrás son a putrescina, a cadaverina, a histamina, a feniletilamina, a triptamina e a tiramina. A suma de

todas estas debe ser inferior a 5 g/kg MS en calquera tipo de silo, segundo as recomendacións do LKS de Alemaña (Hoffman, 2012) [táboa 1].

As aminas biógenas teñen efectos negativos na saúde das vacas e na ►

## SILO-SPACE2: UNA CAJA DE ENSILAJE PARA UN BUEN RENDIMIENTO



- Tren de rodaje hidráulico Hidro-Tándem y Tridem = estabilidad



- Pared frontal reclinable (ayuda a la descarga)



- Cinta transportadora con doble accionamiento hidráulico y con 2 velocidades



- Bastidor autoportante, baja el centro de gravedad para una mejor estabilidad

## JOSKIN El especialista del transporte

- Con una capacidad de 44 m<sup>3</sup> hasta 59 m<sup>3</sup>, las cajas de ensilaje **JOSKIN** le garantizan una norma de calidad, así como un servicio postventa muy eficiente gracias al libro de piezas muy completo y personalizado
- Normas CE
- La robustez garantizada
- 3 años de garantía



**Táboa 2. Contido de aminos bióxenas (BA) en silos de raigrás (n=99)**

| En g/kg MS          | Putrescina | Cadaverina | Histamina | Feniletilamina | Triptamina | Tiramina | Total BA |
|---------------------|------------|------------|-----------|----------------|------------|----------|----------|
| Media               | 1,30       | 0,32       | 0,78      | 0,02           | 0,20       | 0,24     | 2,86     |
| Desviación estándar | 1,61       | 0,50       | 0,49      | 0,05           | 0,36       | 0,69     | 3,24     |
| Mínimo              | 0,00       | 0,00       | 0,00      | 0,00           | 0,00       | 0,00     | 0,00     |
| Máximo              | 10,40      | 3,08       | 2,55      | 0,28           | 2,32       | 4,04     | 20,70    |

Richardt, 2011

fertilidade. Segundo estudos de Ulbrich (2004) e de Hoffmann (2005), os principais son o efecto vasoactivo (pola tiramina, triptamina e feniletilamina), que provoca desordes no fluxo de sangue aos capilares, o que se asocia a problemas podais (laminite); a destrución de mucosa dixestiva (afectando a rume e intestino) e de mucosa dos órganos xenitais, que se asocia a problemas dixestivos e a problemas de fertilidade; o efecto inmunosupresor (sobre todo, polo efecto da histamina) e o aumento da presión sanguínea.

Diversas publicacións (Lingaas, 1992; Krizsan, 2007) recompilan traballos sobre a redución da inxestión segundo distintos niveis de aminos no ensilado cunha clara correlación positiva entre a dose e o efecto (ex. con 16 g aminos bióxenas/kg MS redúcese un 26 % a inxestión e con 7 g aminos bióxenas/kg MS redúcese un 7 % a inxesta). A máis aminos, máis efecto na redución de inxestión.

Existen outros estudos sobre a influencia das aminos e do amoníaco na inxestión onde non se observaron efectos (M. Van Os, 1994), pero chegouse á conclusión de que o tipo de aminos e a cantidade si son importantes para este efecto sobre a inxestión. Nestas investigacións usáronse mesturas de cadaverina, histamina, putrescina e tiramina, engadidas aos niveis xa presentes no silo, e nas conclusións incídese na relación entre efectos e cantidade de aminos.

En canto aos seus efectos negativos, hai que considerar que as aminos, ademais de poder ser inxeridas a través dos alimentos, tamén poden producirse no animal, por exemplo no rume cando hai un problema de acidose (Aschenbach, 2000). A baixas concentracións teñen un papel importante no desenvolvemento de funcións metabólicas e fisiolóxicas, pero a altas concentracións poden ter efectos negati-

vos. Por iso en alimentación humana a Unión Europea xa estableceu uns límites máximos de contido nos alimentos, que para a histamina é de 100 mg/kg.

O Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comisión, do 15 de novembro de 2005, relativo aos criterios microbiolóxicos aplicables aos produtos alimenticios, establece os criterios microbiolóxicos para determinados microorganismos e as normas de aplicación que deben cumprir os explotadores de empresas alimentarias ao aplicar as medidas de hixiene xerais e específicas recollidas no artigo 4 do Regulamento (CE) n.º 852/2004. En particular, establece criterios de seguridade alimentaria relativos á histamina e plans de mostraxe dos produtos procedentes de especies de peixes asociados a un alto contido de histidina.

En alimentos como as carnes e os peixes, a presenza de aminos relaciónase coa deterioración microbiana e é un indicador da frescura do alimento; no queixo as aminos débense a un mal estado hixiénico e á actividade non desexada de bacterias durante o proceso de maduración. A principal intoxicación alimentaria en persoas é por histamina asociada a reaccións alérxicas ("intoxicación histamínica"), dando problemas gastrointestinais, neurolóxicos, circulatorios, cutáneos etc.

Outro efecto das aminos é o mal cheiro do ensilado, que en presenza de cadaverina e putrescina cheirará a rancio e pútrido, moi desagradable.

### INTERPRETACIÓN ANALÍTICA E CORRELACIÓNS COS NIVEIS DE AMINAS BIÓXENAS

Nun estudo do LKS (W. Richardt, 2011) onde se analizaron 99 ensilados de raigrás, atopáronse contidos de 2,86 g aminos bióxenas/kg MS de media, con valores máximos de ata 20,7 g/kg MS. Analizáronse niveis ►►

► A SUMA DE TODAS ESTAS DEBE SER INFERIOR A 5 G/KG MS EN CALQUERA TIPO DE SILO

# NERGETIC DYNAMIC



Menores pérdidas  
Mayor eficacia

Los únicos con nitrógeno  
nítrico y amoniacal  
totalmente protegidos



**INTERGAL ESPAÑOLA, S.A.**

Torre Espacio - Pº de la Castellana 259 D, planta 47  
28046 MADRID  
ESPAÑA

APP: Fertiberia TECH



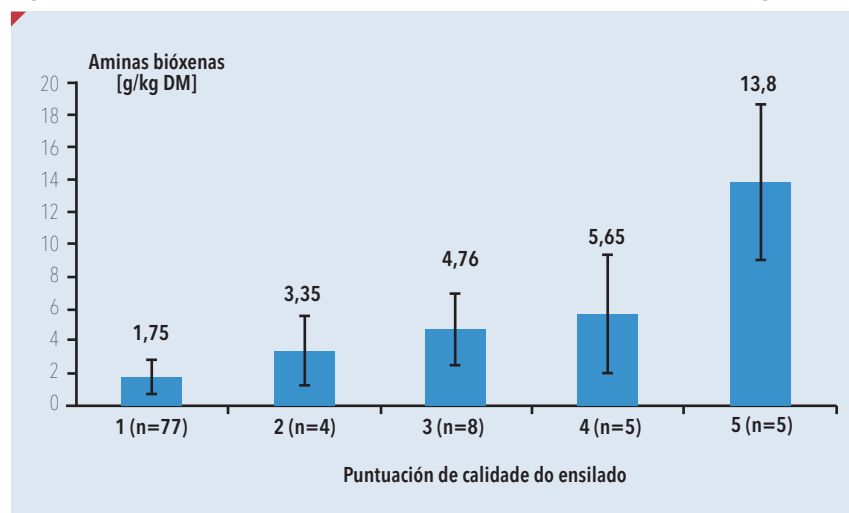
[www.tech.fertiberia.com](http://www.tech.fertiberia.com)



**Táboa 3. Correlación entre contido de aminos bióxenas (g/kg MS) e parámetros nutricionais**

|                           | MS (g/kg MS) | Cinzas (g/kg MS) | PB (g/kg MS) | Proteína verdadeira (g/kg MS) | UDPS (% PB) | B3   | Total BA |
|---------------------------|--------------|------------------|--------------|-------------------------------|-------------|------|----------|
| <b>Aminas totais (BA)</b> | -0,64        | 0,11             | -0,03        | 0,32                          | 0,37        | 0,20 | 0,49     |
| <b>Valor P</b>            | <0,05        | n.s              | n.s          | <0,05                         | <0,05       | n.s. | <0,05    |

**Figura 2. Relación entre calidade da fermentación e aminos bióxenas en raigrás**



DLG, 2006

► CANTO PEOR É A CALIDADE DA FERMENTACIÓN, MAIOR SERÁ O CONTIDO TOTAL DE AMINAS BIÓXENAS

para as 6 aminos que se consideran no total de aminos bióxenas dun ensilado (BA).

Tamén se realizaron estudos sobre a correlación de aminos bióxenas con outros nutrientes do silo e coa MS. Así, hai unha correlación negativa coa MS, é dicir, canto maior é a MS menos aminos se forman porque menos actividade de clostridio haberá no silo. Os ensilados moi húmidos teñen máis risco de actividade de clostridios e, en consecuencia, é onde máis aminos bióxenas se formarán. Cabe comentar que a presenza de clostridios non sempre implica unha produción de aminos, xa que hai clostridios sacarolíticos que poden producir butírico sen producir amoníaco nin aminos bióxenas.

O contido en proteína da forraxe e o seu fraccionado (segundo CN-CPS) non é válido para predicir o contido en aminos bióxenas, xa que nos ensilados mal fermentados (con niveis altos de butírico e acético) hai contidos máis altos de amoníaco e da fracción proteica C (proteína indixestible que pode formarse por complexos de aminoácidos + azucres) e, en cambio, a proteína soluble (fracción A) que inclúe os aminoácidos pode ser máis baixa. O substrato para a formación das

aminas serían os aminoácidos da fracción soluble (A), pero un nivel baixo pode ser, como xa indicamos, por efecto da mala fermentación.

Existe unha correlación moi clara entre o contido de ácido butírico, amoníaco e a calidade da fermentación do ensilado (DLG, 2006) cos niveis de aminos. Canto peor é a calidade da fermentación, maior será o contido total de aminos.

Durante a degradación de aminoácidos por microorganismos proteolíticos (clostridios), prodúcese, xunto ao butírico e o amoníaco, as aminos bióxenas. As aminos fórmanse maioritariamente pola acción dos clostridios, aínda que deben considerarse todas as vías metabólicas na súa formación. Se se fai unha correlación entre o contido en aminos e distintos parámetros do fermentativo, obsérvase claramente que a máis butírico, máis acético, máis etanol, máis amoníaco e peor calidade da fermentación, é dicir, máis niveis de aminos (táboa 4). ►►

# SOLO CON ENTEC<sup>®</sup> APROVECHAS TODOS LOS NUTRIENTES

# ENTE<sup>®</sup>TEC

## MAYOR EFICIENCIA EN EL USO DE LOS NUTRIENTES

Garantía de suministro de nitrógeno y fósforo desde las fases iniciales y durante todo el ciclo

## AHORRO DE APLICACIONES Y MAYOR FLEXIBILIDAD

Menos aplicaciones y fórmulas adaptadas a todos los momentos de aplicación

## COMPATIBLE CON LA PROTECCIÓN DEL CLIMA Y DEL MEDIO AMBIENTE

Reducción de las pérdidas de nitratos por lavado y de las emisiones de gases de efecto invernadero



EuroChem Agro Iberia, S.L.  
[www.eurochemiberia.com](http://www.eurochemiberia.com)

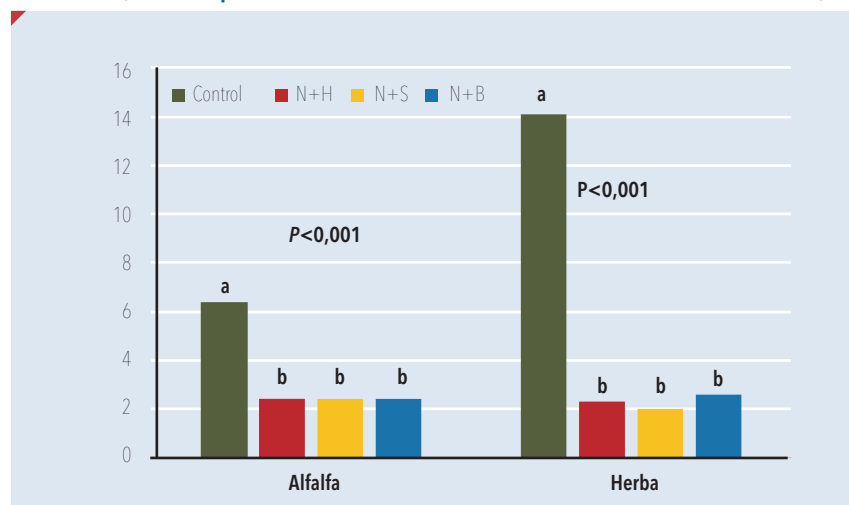


**EUROCHEM**

**Táboa 4. Correlación entre contido en aminos (g/kg MS) e parámetros do fermentativo (valores en % MS)**

|                 | Láctico | Acético | Butírico | Etanol | NH <sub>3</sub> (%N) | pH    | Calidade de fermentación |
|-----------------|---------|---------|----------|--------|----------------------|-------|--------------------------|
| Aminas bióxenas | -0,02   | 0,61    | 0,80     | 0,30   | 0,67                 | 0,41  | 0,80                     |
| Valor P         | n.s.    | <0,05   | <0,05    | <0,05  | <0,05                | <0,05 | <0,05                    |

W. Richardt, 2011

**Figura 3. Estudo sobre o efecto de aditivos de ensilaxe a base de nitrito sódico (N) respecto dun control no total de aminos bióxenas (g/kg MS) en ensilados de alfalfa e de herba (suma de putrescina, cadaverina, histamina, feniletilamina e tiramina)**

Nadeau, 2016

### CONTROL DA FORMACIÓN DE AMINAS MEDIANTE O USO DE ADITIVOS DE ENSILAXE

O uso de aditivos de ensilado que favorezan a fermentación láctica e, sobre todo, que inhiban os clostridios e as súas esporas é o mellor sistema de control dos niveis de aminos no ensilado. Unha vez formadas, xa non hai ningún tratamento eficaz (son termoestables e moi resistentes) e, ademais dos seus efectos negativos directos sobre a saúde e produción das vacas, poden combinarse con outros compostos nitroxenados e formarse nitrosaminas, que son potencialmente cancerixenas.

A recomendación é usar sempre un aditivo de ensilaxe ás doses adecuadas en función da MS e a fermentabilidade da forraxe para evitar a formación de aminos bióxenas inhibindo os clostridios proteolíticos. A mellor solución para eliminar clostridios sería combinar nitrito sódico (o único aditivo de ensilaxe eficaz e rexistrado para eliminar clostridios e esporas segundo DLG), hexamina e benzoato sódico, que, combinados, potencian o efecto bactericida sobre enterobacterias e clostridios, ademais de favorecer a fermentación láctica e a baixada de pH.

No desenvolvemento das probas de E. Nadeau (*Efectos de distintos aditivos con nitrito sódico nas perdas de materia seca, a fermentación e a formación de aminos bióxenas en silos de herba e alfalfa*, 2016) fixéronse comparativas de distintas combinacións de nitrito sódico con hexamina (N+H), nitrito sódico con sorbato de potasio e fórmico (N+S) e nitrito sódico con benzoato sódico (N+B), e observouse un efecto na mellora da fermentación e na redución das aminos bióxenas e tamén se observaron as correlacións entre aminos, butírico e amoníaco (figuras 4 e 5). O estudo conclúe que o nitrito sódico é efectivo para o control dos clostridios e para reducir os niveis de aminos bióxenas en ensilados de herbas ou de alfalfa, e a combinación de nitrito sódico con hexamina (hexametenetetramina) pode tamén substituírse por unha combinación de nitrito sódico con sorbato de potasio e formiato, ácido fórmico ou benzoato sódico.

Tamén se observou a mesma correlación para os ensilados de alfalfa entre o aumento de aminos bióxenas e o aumento dos niveis de ácido butírico no silo (figura 6). ►►



Altre S.L.  
C/ Tarbes nº10 entreplanta  
22005 HUESCA  
tlf: 974 231 664  
[www.altre.es](http://www.altre.es)  
e-mail: [ventas@altre.es](mailto:ventas@altre.es)

**REPRESENTANTE EN ESPAÑA**



**NOVATEX**

**SIEMPRE CON EL MÁXIMO DE CALIDAD**

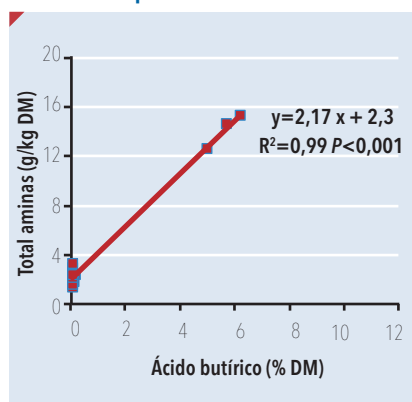
Todo lo necesario para el empacado y ensilaje (Cuerda, malla y estirable)

Ademais de facer as analíticas nutricionais convencionais, é moi recomendable levar a cabo algún tipo de analítica do fermentativo e valorar, sobre todo, os ácidos carboxílicos da fermentación (láctico, acético e butírico), para, segundo os valores que se atopen, realizar unha analítica máis específica de aminos bióxenas e cuantificar o seu contido total.

Nunha granxa de vacún de leite do norte de España con problemas produtivos os niveis analizados de aminos bióxenas (ver figura 3) foron de 2,20 g/kg MS cos niveis máis altos para a putrescina e a tiramina. Os problemas que tiñan de mamites, baixa produción e baixo consumo asóciáanse claramente ás aminos, aínda que os niveis están por baixo dos 5 g/kg MS de referencia, polo que se pode considerar de novo que non só hai que ter en conta o valor total de aminos senón a porcentaxe de cada unha delas e a sensibilidade dos animais para que os efectos sexan máis ou menos importantes. Resulta interesante referenciar o nivel de ácido gamma-aminobutírico (4,03 g/kg MS), un aminoácido non proteico que adoita clasificarse tamén como unha amina e hai autores que o suman a estas, de modo que se podería sumar ao valor de aminos para ter un global de aminos + GABA, que neste caso si é alto (6,23 g/kg MS).

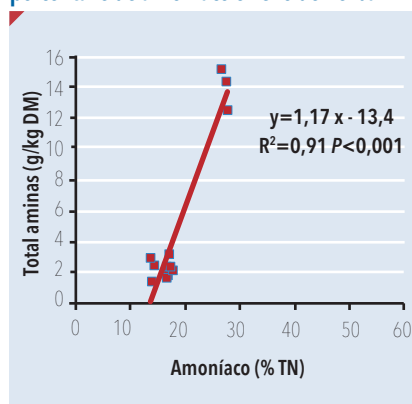
Adicionalmente pódense establecer pautas de manexo para reducir o risco de actividade de clostridios (manexo da materia seca, altura de corte, reducir contaminación por terra, manexo do xurro, picado, compactación etc.) no silo. Outro dos aspectos a considerar é a continuidade de efectos dos clostridios na calidade do leite e os derivados lácteos como o queixo, onde un reconto alto de esporas butíricas pode provocar problemas tecnolóxicos e tamén sanitarios, xa que estes poden producir aminos bióxenas durante a fermentación e maduración dos queixos cos riscos posteriores asociados ao seu consumo.

**Figura 4. Correlación en silo de herba entre aminos e porcentaxe de ácido butírico**



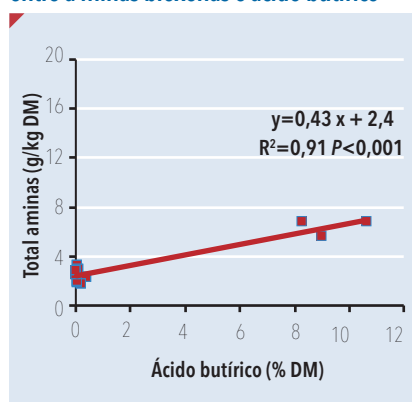
Nadeau, 2016

**Figura 5. Correlación entre niveis de aminos e porcentaxe de amoníaco en silo de herba**



Nadeau, 2016

**Figura 6. Correlación en ensilado de alfalfa entre aminos bióxenas e ácido butírico**



Nadeau, 2016

▶ NO QUEIXO AS AMINAS DÉBENSE A UN MAL ESTADO HIXIÉNICO E Á ACTIVIDADE NON DESEXADA DE BACTERIAS DURANTE O PROCESO DE MADURACIÓN

► EN ALIMENTACIÓN HUMANA A UE XA ESTABELECEU UNS LÍMITES MÁXIMOS DE CONTIDO NOS ALIMENTOS, QUE PARA A HISTAMINA É DE 100 MG/KG

## AGRADECIMENTOS

Recompilouse gran parte da información do artigo a partir de documentación técnica do laboratorio LKS de Alemaña e do técnico Wolfram Richardt. ■

## BIBLIOGRAFÍA

DLG: List of approved silage additives 2020

E.Nadeau, K.Weiss, H.Auerbach: Effects of different sodium nitrite containing additives on dry matter losses, fermentation pattern and biogenic amine formation in lucerne and grass silage. Conf.Forage Conserv., Slovak Republic, 2016, pp 117-118

International Silage Summit, Leipzig

2012: The future of silage preservation

International Silage Summit, Leipzig

2016: Future challenges in modern silage production systems

Katrin Gerlach (2016): The impact of silage quality parameters on feed intake

Kriszan, S.J. y A.T.Randby (2006): The effect of fermentation quality on the voluntary feed intake of grass silage by growing cattle fed silage as the sole source. J.Anim. Sci. 85, 984-996

Richardt, W. (2012): Silage quality and animal health. Conference 12th November in Lichtenwalde

Van Os,M. (1994): The influence of ammonia and amines on grass silage intake and intake behaviour in dairy cows. Elsevier/INRA (1995) 44, 73-85

**Táboa 5. Exemplo da analítica do fermentativo no LKS con valoración de aminas bióxeas en silo de herba**

| Resultados da analítica                                | Unidade        | Penso             | PB (g/kg MS)             | Proteína verdadeira (g/kg MS) |
|--------------------------------------------------------|----------------|-------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Materia seca                                           | g              | 262               | 1000                     | 280-350                       |
| Cinza crúa                                             | g              | 44                | 167                      | <100                          |
| Proteína crúa (PC)                                     | g              | 28                | 109                      | 130-180                       |
| Proteína crúa (PC) + NH <sup>3</sup> + N*              | g              | 40                | 154                      |                               |
| Fibra crúa                                             | g              | 85                | 323                      | 220-280                       |
| Extracto de etanol                                     | g              | 7                 | 28                       | 25-40                         |
| Azucres por debaixo do límite de detección             |                |                   |                          | 50-120                        |
| HFT (proba de produción de gas <i>in vitro</i> )       | MI/200 mg      | 8,5               | 32,3                     |                               |
| Fibra neutro deterxente (aNDFom)                       | g              | 131               | 499                      |                               |
| Fibra ácido deterxente (ADFom)                         | g              | 84                | 319                      |                               |
| <b>Aminas bióxeas</b>                                  |                |                   |                          |                               |
| Putrescina                                             | g              | 0,16              | 0,60                     |                               |
| Cadaverina                                             | g              | 0,18              | 0,71                     |                               |
| Histamina                                              | g              | 0,03              | 0,13                     |                               |
| Feniletilamina                                         | g              | 0,01              | 0,06                     |                               |
| Triptamina                                             | g              | <0,07             | <0,28                    |                               |
| Tiramina                                               | g              | 0,19              | 0,71                     |                               |
| Total aminas bióxeas                                   | g              | 0,58              | 2,20                     |                               |
| Ácido gamma-aminobutírico                              | g              | 1,06              | 4,03                     |                               |
| Valor pH                                               |                | 6,6               |                          | 4,2-4,8                       |
| Amoníaco                                               | % de total N   |                   | 27,8                     |                               |
| Proteína crúa pepsina-insoluble                        | % de CP        |                   | 51,8                     |                               |
| Proteína soluble (SP)                                  | % de CP        |                   | 33,5                     | 55-65                         |
| <b>Resultados enerxéticos</b>                          | <b>Unidade</b> | <b>Penso (kg)</b> | <b>Materia seca (kg)</b> | <b>Valor de referencia</b>    |
| Proteína crúa utilizable (uCP)                         | g              | 28                | 108                      | 130-160                       |
| Balance de nitróxeno no rume (rNB)                     | g N            | +1,9              | +7,4                     | 0 bis +4                      |
| Lactación enerxética neta (NEL)                        | MJ/kg          | 1,2               | 4,7                      | 5,8 -6,8                      |
| Enerxíametilmetabolizable (ME)                         | MJ/kg          | 2,1               | 8,1                      | 9,5-11,5                      |
| Calidade de fermentación: non serve para alimentar (5) |                |                   |                          |                               |

Granxa de vacún de leite, España (outubro, 2020)

## KOFASIL® MEJORA LA CALIDAD DEL ENSILAJE

Conservantes para ensilados de hierba



### QUÍMICOS

#### KOFASIL® LÍQUIDO / KOFASIL® PLUS GRANULAR

Premezcla líquida, lista para usar, no corrosiva, para forrajes húmedos de alta a moderada dificultad de fermentación.

- Nitrito sódico (E 250) 245.000 mg/kg
- Hexametilenoetramina 164.000 mg/kg
- Esta combinación inhibe los microorganismos perjudiciales: clostridios, enterobacterias y listerinas.

### BIOLÓGICOS

#### KOFASIL® LAC / KOFASIL® DUO

Preparado de inoculantes a base de bacterias lácticas para la mejora de la fermentación del silo.

- Lactobacillus plantarum DSM 3676
- Lactobacillus plantarum DSM 3677
- Lactobacillus buchneri DSM 13573