

*The contents are protected by copyright. The distribution by unauthorized third parties is prohibited.*

Arch Lebensmittelhyg 72,  
89–93 (2021)  
DOI 10.2376/0003-925X-71-XX

© M. & H. Schaper GmbH & Co.  
ISSN 0003-925X

Korrespondenzadresse:  
Peter.paulsen@vetmeduni.ac.at

## Zusammenfassung

## Summary

<sup>1)</sup> Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln im Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Department für Nutztiere und Öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich; <sup>2)</sup> University of Prishtina, Faculty of Agriculture and Veterinary, Bulevardi „Bill Clinton“, 10000 Prishtina, Republic of Kosovo; <sup>3)</sup> Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika

## Gehalte an biogenen Aminen in Tierfutterkonserven und in zur Rohverfütterung bestimmter Rindermuskulatur (BARF)

### *Contents of biogenic amines in canned pet food and in beef-based BARF-food*

Peter Paulsen<sup>1)</sup>, Susanne Bauer<sup>1)</sup>, Egzon Kukleci<sup>1,2)</sup>, Frans J. M. Smulders<sup>1)</sup>, Zuzana Dičáková<sup>3)</sup>

In dieser Studie wurden die Gehalte an biogenen Aminen in 72 Proben von zur Rohverfütterung (BARF) bestimmtem Hundefutter aus Rindfleisch (gewolfte Fleisch in Würstchillen abgefüllt und tiefgekühlt vertrieben) und in 45 Tierfutterkonserven für Hunde (Alleinfuttermittel mit Rind-Anteil) ermittelt. Bei 7/72 BARF-Proben, aber bei keiner Konserve war die Summe der Amine Cadaverin, Histamin, Putrescin und Tyramin über 300 mg/kg Frischmasse, was auf Verderb hinweisen würde.

Zum Vergleich der BARF-Proben und der Tierfutterkonserven wurden die Amingehalte auf Trockensubstanz bezogen. Die Gehalte an Cadaverin, Putrescin und Tyramin waren in den BARF-Proben signifikant höher als in den Tierfutterkonserven (Medianwerte 31,5 vs. 24,2 mg/kg; 74,1 vs. <5 mg/kg und 86,5 vs. 27,6 mg/kg Trockenmasse), umgekehrt wiesen die Konserven signifikant höhere Histamin- (148,5 vs. 64,5 mg/kg Trockenmasse) und Sperminkonzentrationen (111,2 vs. 68,6 mg/kg Trockenmasse) auf.

Die mikroskopisch ermittelte Keimzahl (Direkte-Epifluoreszenz-Filter-Technik) der Tierfutterkonserven war mit  $6,16 \pm 0,40 \log_{10}/g$  signifikant niedriger als jene in den BARF-Proben ( $7,35 \pm 1,06 \log_{10}/g$ ). Beim Vergleich der beiden Produktgruppen muss berücksichtigt werden, dass die Konserven mit Rind neben Rindermuskulatur auch Anteile von Nebenprodukten der Schlachtung und Komponenten nicht-tierischer Herkunft enthalten, was zu Unterschieden im Aminmuster und auch in Art und Höhe der mikrobiellen Belastung führen kann. Die Ergebnisse zeigen, dass bei diesen Produktgruppen, und insbesondere bei BARF-Futter, Verbesserungsmöglichkeiten bei der Rohstoffauswahl, der Lagerdauer und -temperatur gegeben sind.

**Schlüsselwörter:** Putrescin, Cadaverin, Tyramin, Hundefutter, Gesamtkeimzahl

We studied the contents of biogenic amines in 72 samples of beef for raw-feeding of dogs (BARF, minced meat stuffed in sausage cases and sold deep-frozen) and in 45 samples of canned food (containing beef) for dogs. In 7/72 BARF samples, but in none of the canned food samples, the sum of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine exceeded 300 mg/kg fresh matter, which is indicative for spoilage.

For comparison of BARF samples and canned pet food, amine contents were calculated for dry matter. Contents of cadaverine, putrescine and tyramine were significantly higher in BARF samples than in canned food (31.5 vs. 24.2 mg/kg; 74.1 vs. <5 mg/kg and 86.5 vs. 27.6 mg/kg; all dry matter). In canned food, significantly higher median contents of histamine (148.5 vs. 64.5 mg/kg dry matter) and of spermine (111.2 vs. 68.6 mg/kg dry matter) were detected compared to BARF samples.

The number of bacteria in the samples was assessed by direct Epifluorescence-Filter-Technique and amounted to  $6.16 \pm 0.40 \log_{10}/g$  in canned samples, which was significantly lower than that in BARF samples ( $7.35 \pm 1.06 \log_{10}/g$ ).

When comparing results, it must be taken into account that canned feed samples contained variable amounts of slaughter-by-products and components of non-animal origin, which can account for differences in amine patterns and in the number of bacteria. Results indicate that there is potential for hygiene improvements with regard to selection of raw materials, and to the management of storage time and -temperature, more specifically for BARF feed.

**Keywords:** Putrescine, cadaverine, tyramine, dog food, total bacterial counts

*The contents are protected by copyright. The distribution by unauthorized third parties is prohibited.*

## Einleitung

Biogene Amine sind niedermolekulare stickstoffhaltige Moleküle, die entweder durch Decarboxylierung von Aminosäuren oder durch Synthesevorgänge gebildet werden. Nach der Anzahl der Amino- (bzw. Imino-) Gruppen werden Mono- von Polyaminen unterschieden. Letztere haben Bedeutung für Zellwachstum und -vermehrung und sind in metabolisch aktiven Zellen (z. B. in Lebergewebe) in höherer Konzentration nachweisbar. Monoamine wirken als Neurotransmitter bzw. -modulatoren (z. B. Dopamin), als Mediatoren der Entzündung und Allergie, entweder mit vasodilatatorischer (Histamin) oder vasokonstriktorischer (Tyramin) Wirkung (Gardini et al., 2016; Feddern et al., 2019; Ruiz-Capillas und Herrero, 2019; Simon Sarkadi, 2019).

Für die Amingehalte in Lebens- und Futtermitteln sind einerseits die originären Gehalte in den Rohstoffen von Bedeutung, andererseits können insbesondere durch bakterielle Aktivität die Amingehalte erhöht oder auch verringert werden (Gardini et al., 2016; Feddern et al., 2019). Dies betrifft nicht nur den mikrobiellen Verderb; insbesondere bei eiweißreichen Lebensmitteln, die fermentiert werden, liefern die beim Eiweißabbau freigesetzten Aminosäuren das Substrat für aminbildende Bakterien (Ruiz-Capillas und Jimenez-Colmenero, 2004). Die Aminbildung und damit Produktion alkalischer Substanzen dient unter anderem auch der Aufrechterhaltung des intrazellulären pH in dem zunehmend sauren Lebensmittel. Obwohl die Fähigkeit zur Aminbildung letztlich stammspezifisch ist, gibt es doch Bakteriengruppen, in denen die Fähigkeit zur Bildung bestimmter Amine häufiger anzutreffen ist (z. B. Tyraminbildung durch Enterokokken; Putrescin- und Cadaverinbildung durch Enterobacteriaceen; s.a. Gardini et al., 2016; Feddern et al., 2019).

Die Konzentration von Aminen in Lebens- und Futtermitteln kann als Indikator für Hygienemängel verwendet werden. Die gilt nicht nur für rohe (Ruiz-Capillas und Jimenez-Colmenero, 2004; Simon Sarkadi, 2019), sondern auch für pasteurisierte und sterilisierte, hermetisch verschlossene Lebens- und Futtermittel. Da Amine Sterilisationsprozesse überstehen, kann über die Bestimmung der Amingehalte in Lebens- oder Futtermittelkonserven eine Aussage über die Beschaffenheit der Rohstoffe zum Zeitpunkt der Abfüllung getroffen werden (Feddern et al., 2019; Ruiz-Capillas und Herrero, 2019). Höhere Gehalte an Mono- und Diaminen sind mit höheren Bakterienzahlen assoziiert, bei den Polyamingehalten kann während der Lagerung eine Verringerung eintreten. Für die hygienische Bewertung wurden verschiedene Maßzahlen vorgeschlagen, die je nach Matrix mit den sensorischen Veränderungen oder der Bakterienzahl korrelieren. Mietz und Karmas (1978) erarbeiteten für Fischereierzeugnisse folgenden „Biogene Amine Index“:  $BAI = (\text{Putrescin} + \text{Cadaverin} + \text{Histamin}) / (\text{Spermidin} + \text{Spermin} + 1)$ , wobei die Amingehalte in mg/kg Frischmasse einzusetzen sind. BAI Werte >10 weisen auf eine nicht-akzeptable Qualität hin. Für Fleisch wurde der Index nach Ruiz-Capillas und Jimenez-Colmenero (2004) vorgeschlagen, der als Summe der Gehalte an Putrescin+Cadaverin+Histamin+Tyramin errechnet wird. Bei Werten über 50 mg/kg ist von einem Verderb auszugehen. Bei zusammengesetzten Lebens- oder Futtermitteln ist zu berücksichtigen, dass die originären Amingehalte je nach Matrix etwas differieren (Feddern et al., 2019; Simon Sarkadi, 2019); insbesondere in inneren Organen sind die Polyamingehalte höher als z. B. in Muskulatur (Kalac, 2014).

Über Nahrung bzw. Futter zugeführte Amine können durch im Darmlumen befindliche Amino-Oxidasen inaktiviert werden (Feddern et al., 2019). Neben der alimentären Zufuhr sind die im Organismus endogen gebildeten Amine und auch die von Darmbakterien gebildeten Amine für die Aminbilanz des Organismus von Bedeutung. Beim Menschen sind gesundheitliche Auswirkungen alimentärer Amine möglich, wenn durch Medikamentengabe oder durch kompetitive Effekte die Aktivität der Amino-Oxidasen verringert ist. Schwellen- bzw. Toleranzwerte für Amingehalte in Lebensmitteln wurden von der EFSA (2011) erarbeitet; es gibt daneben noch auf nationale Verzehrgeohnheiten abgestimmte Berechnungen (z. B. Rauscher-Gabernig et al., 2009). Bei der Tierfütterung werden mögliche gesundheitsschädliche Effekte biogener Amine beim Geflügel berücksichtigt (Barnes et al., 2001; Feddern et al., 2019). In der Heimtierfutterindustrie haben Unverträglichkeitsreaktionen durch Histaminaufnahme Bedeutung (Verlinden et al., 2006; Craig, 2019). Höhere Histamingehalte sind insbesondere bei der Verarbeitung von überlagertem Thunfisch zu erwarten. Erhöhte Amingehalte haben auch Auswirkung auf die Futterakzeptanz; als Richtwerte werden <500 mg Histamin/kg für Thunfisch und allgemein in Heimtierfutter <300 mg/kg (Frischmasse) für die Summe aller Amine vorgeschlagen (Midwest Laboratories, undatiert). Biogene Amine werden als Gefahr für die Produktsicherheit gesehen, wobei Kontrollmaßnahmen die Auswahl der Rohstoffe als auch innerbetriebliche Abläufe (Lagerung, Stehzeiten) umfassen (FEDIAF, 2017; Kemin Nutrinsurance, 2020), da letztere eine deutliche Vermehrung von Mikroorganismen ermöglichen (Pammer et al., 2007). Tabelle 1 gibt eine Übersicht zu Amingehalten in Rohstoffen für die Tierfutterherstellung, insbesondere von Tiermehlen. Bei der Interpretation der Werte sind neben den verschiedenen Trockenmassen auch unterschiedliche Extraktions- (Bassanese et al., 2012) und Nachweismethoden (Learey et al., 2018) zu berücksichtigen. Auch handelt es sich hier um Einzelfuttermittel, die nur einen Teil der Futtermitteldarstellung darstellen.

In einer Arbeit zur mikrobiologischen Qualität in Wien angebotenen BARF-Proben wurden häufig Mikroorganismen in verderbsrelevanten Größenordnungen nachgewiesen (Koch et al., 2020). Damit ergab sich die Frage, ob in diesen BARF-Proben auch die Gehalte an biogenen Aminen entsprechend erhöht sind. In der vorliegenden Arbeit wurden nun die Gehalte an biogenen Aminen in 72 der 96 in der Wiener Studie untersuchten Proben bestimmt und über die Errechnung von Indexwerten eine hygienische Bewertung vorgenommen. Parallel wurden die Amingehalte und die Keimzahl (mikroskopisch nach Färbung) in Tierfutterkonserven (mit Rind; Alleinfuttermittel für Hunde) bestimmt und die Ergebnisse mit jenen der BARF-Proben verglichen.

## Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten 72 Proben von Hundefutter aus Rind zur Rohverfütterung („BARF-Proben“, in Würsthüllen abgefülltes zerkleinertes Fleisch, tiefgekühlt im Handel) und 45 Proben von Hundefutterkonserven. Die BARF-Proben waren in Rahmen einer anderen Arbeit (Koch et al., 2020) aus Geschäften in Wien bezogen worden und wurden bis zur Untersuchung bei -20 °C gelagert. Bei den Hundefutterkonserven handelte es sich um Alleinfuttermittel mit in der Produktbezeichnung ausgewiesenem Rindfleischanteil.

*The contents are protected by copyright. The distribution by unauthorized third parties is prohibited.*

**TABELLE 1:** Gehalte an biogenen Aminen in Tiermehlen und anderen Ausgangsstoffen für Tierfutter (Angaben in mg/kg Frischmasse; gerundet).

Cadaverin	Histamin min-max	Putrescin min-max	Spermidin min-max	Spermin min-max	Tyramin min-max	Probe	Literaturstelle
23-418	uNG-105	uNG-121	5-36	uNG-62	uNG-81	Fleischmehl	Bassanese et al., 2012
uNG-680	uNG-258	uNG-695	n. u.	n. u.	n. u.	Fleischmehl	Den Brinker et al., 2003
uNG-450	uNG-208	uNG-286	uNG-39	10-56	n. u.	Fleisch-Knochen-Mehl	Barnes et al., 2001
uNG-280	uNG-36	uNG-223	n. u.	n. u.	n. u.	Blutmehl	Den Brinker et al., 2003
57-85	5-7	29-45	14-17	13-19	21-31	Geflügelmehl	Learey et al., 2018
uNG-1350	uNG-167	7-1340	n. u.	n. u.	n. u.	Geflügelmehl	Den Brinker et al., 2003
140-879	28-95	84-390	19-53	55-96	n. u.	Geflügelmehl	Barnes et al., 2001
11-1430	uNG-1620	7-454	n. u.	n. u.	n. u.	Fischmehl	Den Brinker et al., 2003
64-557	8-1576	12-537	18-97	120-139	n. u.	Fischmehl	Barnes et al., 2001
uNG-595	uNG-538	4-537	uNG-27	uNG-16	uNG-334	Fisch	Paulsen et al., 2000
uNG-154	uNG-64	uNG-149	uNG-32	uNG-39	uNG-140	BARF- Rindermuskulatur	Diese Studie

n. u.: nicht untersucht; uNG: Gehalte unter der Nachweisgrenze

Die BARF-Proben wurden in sterile Plastiksäcke übergeführt und manuell geknetet (je nach Probenmenge 15–80mal), und dann eine Teilmenge von 100 g in einem Schneidmischgerät (Moulinette) homogenisiert. Der Inhalt der Konserven (je eine Verpackungseinheit von 100–800 g) wurde ebenfalls in einen sterilen Plastiksack übergeführt und dann wie den BARF-Proben weiter homogenisiert. Bei den BARF-Proben wurde die Trockenmasse gravimetrisch bestimmt (Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB, 2014), bei den Tierfutterkonserven wurde die am Etikett angegebene Trockensubstanz- bzw. Feuchtigkeitsangabe notiert.

Die biogenen Amine Cadaverin, Histamin, Putrescin, Tyramin, Spermidin und Spermin wurden als Dansylderivate auf einer RP-C<sub>18</sub>-HPLC Säule aufgetrennt, über UV Absorption (254 nm) detektiert und durch Peakflächenvergleich mit externen Standards quantifiziert (Paulsen et al., 1997). Die Nachweisgrenze betrug je nach Amin 1,5–2,8 mg/kg. Die Ergebnisse wurden in mg/kg Frischmasse angeben.

Die mikroskopische Bestimmung der Keimzahl in den Konserven und in den BARF-Proben erfolgte mittels Direkter-Epifluoreszenz-Filtertechnik (Färbung; ohne „Lebend“-„Tot“- Unterscheidung; Deibl et al., 1998). Eine 1:10 Probenverdünnung wurde durch ein 0,4 µm Isopore Filter (Millipore-Waters, USA) filtriert und dann noch in der Filtrationseinheit mit 2% Acridinorangefärbung (Sigma-Aldrich, USA) gefärbt. Zur Bestimmung der Keimzahlen wurden bei 1000facher Vergrößerung im UV Licht (Emission = 450–490 nm) in 10–15 Gesichtsfeldern alle orange fluoreszierenden Bakterien ausgezählt und unter Berücksichtigung von Probenverdünnung, filtriertem Volumen, Filter- und Sehfelddurchmesser die Keimzahl berechnet. Die Nachweisgrenze wurde durch die Untersuchung von dezimalen Verdünnungsreihen von Gram-negativen (*E. coli*, *Pseudomonas*) und Gram-positiven (*Micrococcus luteus*) Kulturen bestimmt, die Wiederfindung durch den Vergleich der in den BARF-Proben mikroskopisch bestimmten Keimzahlen mit den bei Koch et al. (2020) angeführten Ergebnissen der aeroben mesophilen Keimzahl. Die Nachweisgrenze betrug  $3,5 \times 10^5$ /g, die Wiederfindung durchschnittlich 68 % (61–75 %).

Aus den Amingehalten wurden Indizes zur Beurteilung der hygienischen Qualität errechnet; dazu wurden Werte unter der Nachweisgrenze auf 1 mg/kg gesetzt.

Die Prüfung auf Unterschiede hinsichtlich empfohlener Grenzwerte erfolgte mit dem  $\chi^2$  Test.

Für den Vergleich der Amingehalte der BARF-Proben und der Tierfutterkonserven wurden die Amingehalte auf Trockenmasse bezogen. Die Prüfung auf statistisch signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen den Amingehalten der Tierfutterkonserven und der BARF-Proben erfolgte durch verteilungsfreie Tests (Median-Quartile-Test bzw.  $\chi^2$  Test nach Brandt und Snedecor; Sachs, 1972). Die Ergebnisse wurden als Boxplots dargestellt.

Die Prüfung auf Unterschiede zwischen den mikroskopisch (mittels DEFT) erhaltenen Keimzahlen der BARF-Proben und den für die Konserven ermittelten DEFT-Zahlen erfolgte mittels t-Test.

## Ergebnisse und Diskussion

### Zusammensetzung der Proben

Bei den Konserven ist davon auszugehen, dass der „Fleischanteil“ neben Skelettmuskulatur auch Nebenprodukte der Schlachtung enthält. Der „Fleischanteil“ war auf den Etiketten mit 12–99 % angegeben, wobei dieser Anteil neben Skelettmuskulatur auch Nebenprodukte der Schlachtung umfasste. Der Anteil der einzelnen Nebenprodukte war nur bei wenigen Konserven quantitativ angegeben. 30/45 Proben wiesen Fleischanteile von >40 % auf. Bei der Beurteilung der Ergebnisse und der errechneten Indizes ist daher zu beachten, dass diese die hygienische Qualität eines Gemisches aus Komponenten tierischer und nicht tierischer Herkunft repräsentieren, während die BARF-Proben nur aus tierischen Geweben bestanden. Die Trockenmasse der BARF-Proben war mit  $25,5 \pm 0,2$  % statistisch signifikant höher als jene der Tierfutterkonserven ( $21,4 \pm 0,3$  %).

### Gehalte an biogenen Aminen, bezogen auf Frischmasse

Die mittleren Gehalte (Medianwerte) an Cadaverin, Histamin, Putrescin, Spermidin, Spermin und Tyramin waren in den Tierfutterkonserven 4,9; 31,6; <1,8; 18,3; 23,6; 6,1 mg/kg; in den BARF-Proben betrug die Werte 8,3; 16,1; 18,6; 17,4; 17,4 und 21,1 mg/kg. Die entsprechenden Maximalwerte betragen 25,1; 160,2; 24,9; 32,9; 39,3 und

*The contents are protected by copyright. The distribution by unauthorized third parties is prohibited.*

234,3 mg in Konserven und 153,9; 63,7; 148,9; 31,7, 38,5 und 140,0 mg/kg in BARF-Proben.

Die Summe der biogenen Amine Cadaverin, Histamin, Putrescin und Tyramin betrug für Tierfutterkonserven durchschnittlich (Medianwerte) 49,3 mg/kg und für BARF-Proben 64,8 mg/kg. Bei 47/72 BARF-Proben (65 %) und bei 20/45 Konservenproben (44,4 %) waren die Summen >50 mg/kg, was unter Anwendung des Grenzwertes für Fleisch (Ruiz-Capillas und Jimenez-Colmenero, 2004) auf Verderb hinweisen würde. Diese Häufigkeiten unterschieden sich signifikant. Bei 7/72 BARF-Proben war die Summe der Amine über 300 mg/kg, was als nicht akzeptabel einzustufen wäre (Midwest Laboratories, undatiert; Radosevic, 2007), bei den Konservenproben hingegen betrug die höchste Summe 252 mg/kg.

Der Biogene-Amine-Index (BAI) nach Mietz und Karmas (1978) betrug für die Tierfutterkonserven 0,91 (Median) und für BARF-Proben 1,29. BAIs >1 wurden bei 44/72 BARF-Proben und bei 20/45 Konserven errechnet; BAI Werte über 10, die auf Verderb hinweisen (Midwest Laboratories, undatiert), wurden bei keiner Probe ermittelt. Dieser ursprünglich für Fisch entwickelte Index berücksichtigt aber das in Fleisch gebildete Tyramin nicht (Ruiz-Capillas und Herrero, 2019) und ist deshalb für Fleischerzeugnisse nur eingeschränkt anwendbar.

In einer früheren Studie zu Amingehalten in Tierfutterkonserven des österreichischen Marktes (Paulsen et al., 2000) wurde ein etwas höherer durchschnittlicher BAI berichtet (1,6); der Medianwert betrug 12,8 mg/kg für Histamin, die Mediane für die anderen Amine waren unter 10 mg/kg. Die durchschnittlichen Amingehalte der 72 BARF Proben liegen aber in dem Bereich der Rohstoffe für die Tierfutterherstellung. Bei Rohstoffen aus Fisch sind höhere Amingehalte zu erwarten (Paulsen et al., 2000; Barnes et al., 2001; Den Brinker et al., 2003), was durch einen höheren Gehalt an freien Aminosäuren im Fischfleisch und die Anwesenheit decarboxylierender Bakterien erklärbar ist (Simon Sarkadi et al., 2019).

### Vergleich der Amingehalte in BARF-Proben und in Tierfutterkonserven

Für den Vergleich der Produktgruppen wurden die Amingehalte in mg/kg Trockenmasse herangezogen (Abb. 1).

Die BARF-Proben wiesen dabei signifikant höhere Cadaverin-, Putrescin- und Tyraminkonzentrationen, aber signifikant niedrigere Histamin-, und Spermingehalte auf als die Tierfutterkonserven. Während die Gehalte an Cadaverin-, Putrescin- und Tyramin als Indikatoren für Überlagerung oder Verderb von Fleisch gelten, sind höhere Polyamingehalte – diesfalls von Spermin – und auch Histamingehalte als Indiz für die Mitverarbeitung innerer Organe zu werten (s. Kalac 2014). Insbesondere Leber war als Zutat in 36/45 Konserven angegeben.

### Keimzahl in Konserven und in BARF-Proben

Die mittels DEFT in den Tierfutterkonserven ermittelte Keimzahl betrug  $6,16 \pm 0,40 \log_{10}/g$  (Median  $6,25 \log_{10}/g$ ), was unter der Berücksichtigung einer Wiederfindungsrate von durchschnittlich 68% einer Keimzahl

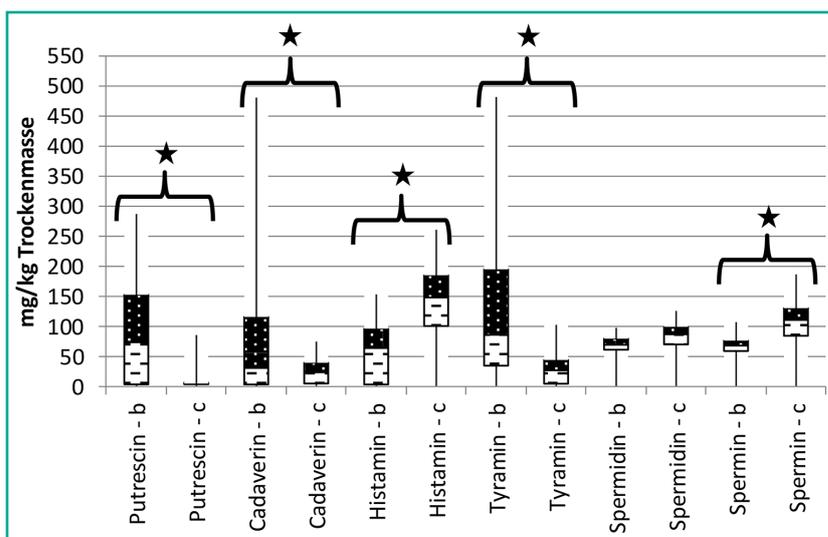
von  $6,4 \log_{10} \text{ kbE/g}$  entsprechen würde. Dieser Wert liegt nur geringfügig über den für Tierfutter vor der Sterilisation berichteten  $6,14 \log_{10} \text{ kbE/g}$  für die aerobe mesophile Keimzahl (Pammer et al., 2007). Die DEFT-Keimzahl der 72 BARF-Hundefutterproben betrug im Mittel  $7,35 \pm 1,06 \log_{10}/g$  (Median  $7,17 \log_{10}/g$ ), was einer aeroben mesophilen Keimzahl von  $7,52 \pm 1,06 \log_{10}/g$  (Median  $7,34 \log_{10}/g$ ; berechnet nach den Daten von Koch et al., 2020) entsprechen würde. Die Keimzahl in den BARF-Proben war signifikant höher als jene in den Tierfutterkonserven.

Das EU Prozesshygienekriterium (VO(EG) Nr. 2073/2005) für die aerobe mesophile Keimzahl in Hackfleisch („M“ =  $5 \cdot 10^6 \text{ kbE/g}$ ) wurde von 9/45 (20 %) Tierfutterkonserven und in 53/72 (74 %) der BARF-Proben (20 %) überschritten (Wiederfindungsrate berücksichtigt).

Da die Studie als Endproduktuntersuchung konzipiert war, können die Gründe für die vergleichsweise hohen Keimzahlen nicht angegeben werden. Die Arbeit kann aber als Basis für longitudinal orientierte Untersuchung entlang der Produktionskette dienen.

### Bezug der Amingehalte (Frischmasse) zu den Keimzahlen

Erhöhte Amingehalte als Folge bakterieller Aktivität sind ab Keimzahlen von  $7 \log_{10} \text{ kbE/g}$  zu erwarten (Gardini et al., 2016). Dieser Wert ist angesichts der unterschiedlichen Aminbildungsfähigkeit der Bakterienarten eher als Faustregel anzusehen. Bei den BARF-Proben mit aeroben mesophilen Keimzahlen  $>7 \log_{10} \text{ kbE/g}$  waren aber tatsächlich höhere Amingehalte nachweisbar als in den BARF-Proben mit aeroben mesophilen Keimzahlen bis zu  $7 \log_{10} \text{ kbE/g}$ . Während die Tyramin- (28,4 vs. 12,2 mg/kg) und Spermingehalte (71,6 vs. 47,6 mg/kg) nicht statistisch signifikant verschieden waren, ergab sich für die Putrescingehalte (Median 22,8 mg/kg vs. Median unter der Nachweisgrenze) ein statistisch signifikanter Unterschied. Dies kann durch den hohen Anteil von Pseudomonaden ( $7,0 \pm 1,5 \log_{10} \text{ kbE/g}$ ; Daten aus Koch et al., 2020) in den BARF-Proben erklärt werden (Gardini et



**ABBILDUNG 1:** Gehalte an biogenen Aminen in Hundefutter aus Rind zur Rohverfütterung („BARF“-Proben, „b“, n = 72) und in Hundefutter-Konserven („c“, n = 45) in mg/kg Trockenmasse; die helle Box umfasst den Bereich vom 1. Quartil zum Median, die dunkle Box den Bereich vom Median zum 3. Quartil; die vertikalen Linien geben das 5. und 95. Perzentil an. Statistisch signifikante ( $p < 0,05$ ) Unterschiede in den Amingehalten zwischen den beiden Produktarten sind mit Klammern und einem Stern dargestellt.

*The contents are protected by copyright. The distribution by unauthorized third parties is prohibited.*

al., 2016). Bei den 45 Konservenproben wiesen nur 2 Proben Keimzahlen über  $7 \log_{10}/g$  auf, weshalb ein Vergleich der Keimzahlen mit den Aminkonzentrationen nicht vorgenommen wurde.

## Schlussfolgerung

Die bei den BARF-Proben im Vergleich zu den Tierfutterkonserven höheren Cadaverin-, Putrescin- und Tyramingehalte und Keimzahlen zeigen Verbesserungsmöglichkeiten bei der Rohstoffauswahl, der Lagerdauer und -temperatur von BARF-Produkten auf, was im Rahmen einer Guten-Herstellungs-Praxis berücksichtigt werden muss (FEDIAF, 2017). Es zeigten sich aber auch den Konserven Verbesserungsmöglichkeiten hinsichtlich der Rohstoffauswahl.

## Danksagung

Fr. Ing. A. Pauker und Hrn. T. Seyerl sei für die Mitarbeit im Labor gedankt.

## Interessenkonflikt

Die Autorinnen und Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literaturverzeichnis

- Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB (2014):** L 06.00-3: Bestimmung der Trockenmasse in Fleisch und Fleischerzeugnissen. Beuth, Berlin.
- Barnes DM, Kirby YK, Oliver KG (2001):** Effects of biogenic amines on growth and the incidence of proventricular lesions in broiler chickens. *Poult Sci* 80: 906–911.
- Bassanese DN, Crawford-Clark S, Bowen BJ, Henderson LC, Barnett NW, Conlan XA (2012):** The determination and characterisation of 2-naphthylloxycarbonyl chloride derivatised biogenic amines in pet foods. *J Sep Sci* 36: 1110–1117.
- Craig JM (2019):** Food intolerance in dogs and cats. *J Small Anim Pract* 60: 77–85.
- Deibl J, Paulsen P, Bauer F (1998):** Die direkte Epifluoreszenz Filtertechnik als Methode der raschen Ermittlung der Gesamtkeimzahl in Fleisch und Fleischwaren. *Wien Tierarztl Monat – Vet Med Austria* 85: 327–333.
- Den Brinker CA, Rayner CJ, Kerr MG, Bryden WL (2003):** Biogenic amines in Australian animal by-product meals. *Austr J Experim Agric* 43: 113–119.
- EFSA – European Food Safety Agency (2011):** Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA J* 9:2393
- FEDIAF – European Pet Food Industry Federation (2017):** FEDIAF Guide to Good Practice for the Manufacture of Safe Pet Foods. FEDIAF, Brussels, Belgium.
- Feddern V, Mazzuco H, Fonseca FN, De Lima JMM (2019):** A review on biogenic amines in food and feed: toxicological aspects, impact on health and control measures. *Anim Prod Sci* <https://doi.org/10.1071/AN18076>
- Gardini F, Özogul Y, Suzzi G, Tabanelli G, Özogul F (2016):** Technological Factors Affecting Amine Content in Foods: A Review. *Front Microbiol* 7: 1218.
- Kalac P (2014):** Health effects and occurrence of dietary polyamines: a review for the period 2005-mid 2013. *Food Chem* 161: 27–39.
- Kemin Nutrinsurance (2020):** Pet food quality: understanding biogenic amines. <https://www.kemin.com/na/en-us/blog/pet-food-and-rendering/pet-food-quality--understanding-biogenic-amines>
- Koch J, Flekna G, Iben C, Smulders FJM, Paulsen P (2020):** Mikrobiologische Qualität von Muskelgewebe vom Rind zur Rohverfütterung an Hunde. *Wien Tierarztl Monat – Vet Med Austria* 107: 91–98.
- Learey JJ, Crawford-Clark S, Bowen BJ, Barrow CJ, Adcock JI (2018):** Detection of biogenic amines in pet food ingredients by RP-HPLC with automated dansyl chloride derivatization. *J Sep Sci* 41: 4430–4436.
- Midwest Laboratories (undatiert):** Biogenic Amines. Factsheet F423. Unter: [www.midwestlabs.com](http://www.midwestlabs.com)
- Mietz JL, Karmas E (1978):** Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. *JAOAC* 61: 139–145.
- Pammer HP, Hofbauer P, Paulsen P (2007):** Zur mikrobiologischen Bewertung von produktionsbedingten Wartezeiten vor der Sterilisation bei der Fleisch-Vollkonservenherstellung. *Ernährung/nutrition* 31: 399–407.
- Paulsen P, Bauer F, Vali S (1997):** Biogene Amine in Rohwürsten. I. Methodische Aspekte zur Bestimmung biogener Amine. *Fleischwirtsch* 77: 271–274.
- Paulsen P, Taub N, Dicakova Z, Bauer F (2000):** Ein Beitrag zum Vorkommen von biogenen Aminen in Futtermitteln für Hunde und Katzen. *Wien Tierarztl Monat – Vet Med Austria* 87: 236–240.
- Radosevic J (2007):** Analyzing amines. At: <https://www.petfoodindustry.com/articles/521-analyzing-amines>
- Rauscher-Gabernig E., Grossgut R., Bauer F., Paulsen P. (2009):** Assessment of alimentary histamine exposure of consumers in Austria and development of tolerable levels in typical foods. *Food Contr* 20: 423–429.
- Ruiz-Capillas C, Jimenez-Colmenero F (2004):** Biogenic Amines in Meat and Meat Products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44: 489–499.
- Ruiz-Capillas C, Herrero AM (2019):** Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods* 8: 62.
- Sachs L (1972):** *Angewandte Statistik*. Springer: Berlin-Heidelberg-New York; S. 237, 361.
- Simon Sarkadi L (2019):** Amino acids and biogenic amines as food quality indicators. *Pure Appl Chem* 9: 289–300.
- Verlinden A, Hesta M, Millet S, Janssens GPJ (2006):** Food Allergy in Dogs and Cats: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 46: 259–273.
- Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005** über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. *ABl. L338/1–26*.

### Adresse des korrespondierenden Autors:

Prof. Dr. Peter Paulsen  
Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln  
Institut für Lebensmittelsicherheit, Lebensmitteltechnologie und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin  
Department für Nutztiere und Öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich  
[Peter.paulsen@vetmeduni.ac.at](mailto:Peter.paulsen@vetmeduni.ac.at)