

TON KONSERVELERİNDE HİSTAMİN

Selma GÜVEN * Sinan KOÇ **

ÖZET

Çalışmada insan bünyesinde gıda zehirlenmelerine yol açan histaminin ton konservelerindeki durumu incelenmiştir. Bu nedenle hammadde olarak kullanılan dondurulmuş ton balığı (70 örnek) ve konserve edilmiş ton balığı (160 örnek) örneklerindeki histamin miktarları saptanmıştır. Histamin tayini spektrofotometrik yöntemle 475 nm dalga boyunda yapılmıştır. Histamin miktarları dondurulmuş ton balığı örneklerinde 5-137 mg/kg arasında, ortalama değer 23 mg/kg; konserve ton balığı örneklerinde ise 5-48 mg/kg arasında, ortalama değer 28 mg/kg bulunmuştur. Bir adet dondurulmuş ton balığı örneğinde saptanan 137 mg/kg histamin değeri dışında, tüm örnekler 48 mg/kg değerinin altında kalarak, insan sağlığı bakımından risk oluşturan 80 mg/kg değerini aşmamıştır.

Anahtar Kelimeler. Ton Konservesi, Histidin, Histamin, Spektrofotometrik yöntem

SUMMARY

Histamine in Canned Tuna Fish

In this study, 70 frozen tuna fish samples as raw material for canning produce and 160 canned tuna fish samples were analysed for histamine content by using spectrophotometric method. In the frozen tuna fish samples, 5-137 mg/kg histamine content with average value of 23 mg/kg were determined. Canned tuna fish samples gave 5-48 mg/kg histamine values with average value 28 mg/kg histamine content. All of the samples showed below 48 mg/kg histamine value. They didn't reach 80 mg/kg histamine which is hazard value for human health except one sample gave 137 mg/kg histamine.

Key Words: Canned tuna, Histidine, Histamine, Spectrophotometric method

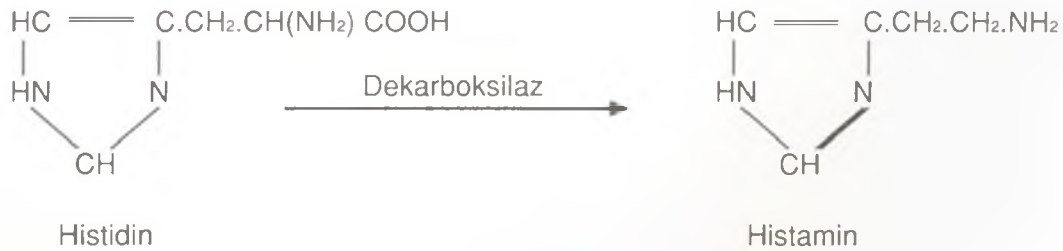
1. GİRİŞ

Histamin organik bazlı bir molekül yapısına sahiptir ve uçucu olmayan biyojen aminler grubundan yer almaktadır (Erginkaya ve Var, 1989; Varlık ve ark., 1992).

Histamin çoğunlukla bünyesinde fazla miktarda serbest histidin amino asidi bulunan Uskumrugiller familyasına ait olan ton, uskumru gibi balık türlerinde önem taşımaktadır. Histamin bu tür balıkların yapısında bulunan ve histidin dekarboksilaz enzimi üreten bakterilerin faaliyetleri sonucunda histidin dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır (Rawles ve Ark., 1996).

Yüksek düzeyde histamin içeren deniz ürünleri tüketiminden kaynaklanan, Scombroid poisoning (Uskumrugiller zehirlenmesi) insanlar için gıda kaynaklı bir intoksikasyon, zehirlenme olayıdır (Bean ve Griffin, 1990; Stratton ve Ark., 1991; FDA, 1994).

Pan ve James (1985)'e göre histidin amino asidinin dekarboksilasyon yoluyla histamine dönüşümü aşağıdaki şekilde formüle edilmektedir.



ABD Gıda ve İlaç Örgütü FDA, kritik kontrol noktaları HACCP programında, sağlığa zararlı doz olarak 50 mg/ kg'ın sınır değer olarak alınmasını önermiştir (Craven ve Ark., 1995). Gıda maddelerinde 80 mg/kg histamin varlığı, zehirlenme nedeni olarak gösterilmekte, 8-40 mg/kg hafif, 70-1000 mg/kg orta, 1500-4000 mg/kg ağır düzeyde histamin zehirlenme miktarı olarak kabul edilmektedir (Würziger ve Dickhaut, 1978). Bünyesi duyarlı kişilerde 30-40 mg/kg histamin düzeyinin bile zehirlenmeye neden olabileceği ifade edilmektedir (Erginkaya ve Var, 1989).

Ton ve kolyos gibi uskumrugiller familyasına ait balıkların kas dokuları bakteriyel histidin dekarboksilaz enziminin substratı olarak görev yapan serbest histidin amino asidini fazla miktarda içermektedir. Histidini histamine dönüştüren enzim balıklarda histamin birikimine yol açmaktadır. Bu durumda balık konservelerinde histamin oluşumuna neden olan faktörlerin başında balıktaki serbest histidin miktarı gelmektedir. Kırmızı etli ve kanlı balıklarda fazla miktarda histidin bulunmaktadır. Ton balığının farklı cinsleri olarak bilinen ve konserveye işlenen balıklardan; Skipjack'te 1340 mg/100 g, Yellowfin'de 1220 mg/100 g, Little'da 1090 mg/100 g ve Bigeye'da 745 mg/100 g serbest histidin saptanmıştır (Suyama ve Yoshizawa, 1973; Stratton ve Ark., 1991).

Histamin üretimine neden olan bakteriler çoğunlukla çubuk şeklinde ve gram (-) olup Enterobacteriaceae familyasına dahildir (Yoshinaga ve Frank, 1982). Bu bakterilerin histamin oluşumundaki etkinlikleri ortam sıcaklığı 20°C ve pH 6,0-7,0 olduğunda optimaldir (Kimata, 1961; Ludorff ve Meyer, 1973).

Kim ve Ark. (1999), buz ile muhafaza edilmiş ve dondurulmuş yapıdaki Albocore cinsi ton balıklarını 0, 25, 30 ve 37°C' lerde 7 gün süreyle depolayarak bakteriyel gelişme ve histamin oluşum durumlarını incelemiştir. Histamin oluşumu için optimal sıcaklığın 25°C olduğunu ve bütün halde muhafaza edilen balıkların temizlenmiş balıklara oranla daha fazla histamin oluşturduğunu saptamışlardır.

Ton balıklarının konserveye işlenmeden önceki muhafaza yöntemlerinden; buz ile, kimyasal koruyucu katkısı veya dondurarak muhafaza şekillerinin, uygulanan muhafaza sıcaklığının ve süresinin, dondurulmuş olanların çözündürme yönteminin ve süresinin histamin oluşumuna etkili faktörler olduğu kaydedilmiştir (Pan ve James, 1985).

Balıkların büyüklükleri de histamin oluşumuna etkili olmaktadır. Aynı işlemleri gören 3,5 kg'lık Yellowfin cinsi ton balığında 6,9 mg/kg histamin bulunurken, 2,3 kg'lık Skipjack cinsi ton balığında histamin varlığı 56,1 mg/kg düzeyinde bulunmuştur. Skipjack cinsi balıkla yapılan bir çalışmada histaminin balığın baş ve kuyruk kısımlarında az miktarda bulunmasına karşın, karın kısmında ve bağırsak boşluğunda yüksek miktarda bulunduğu görülmüştür (Yoshinaga ve Frank, 1982).

Konserve işlemi sırasında pişirilen balıklara uygulanan soğutma sıcaklık derece ve süresinin de etkili olduğu belirtilmektedir. Soğutma işleminin 4°C ve 24 saati geçmeyen sürede uygulanması önerilmiştir. Balığın deri, kılçık ve siyah etlerinin 30 dakikayı geçmeyen sürede ayrılması, kutu kapamada gecikmemesi yapılan öneriler arasındadır (Pan ve Ark., 1982).

Yapılan çalışmada, konserve üretimi için çeşitli ülkelerden ithal edilen ve hammadde olarak kullanılan donmuş yapıdaki ton balıkları ile iç ve dış pazar için hazırlanmış son ürün ton konserve örneklerindeki histamin miktarları tesbit edilmiştir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Çalışmada bir özel sektör firması tarafından ithal edilen ton konserve üretiminde kullanılan dondurulmuş ton balığı örnekleri ile konserve edilen ton balığı örnekleri deneme materyali olarak kullanılmıştır. Alınan örnekler ortalama ağırlığı 2,4 kg olan Skipjack cinsi balıklar ile ortalama ağırlığı 4,0 kg olan Yellowfin cinsi donmuş ton balığı örnekleridir. Ton konserve örnekleri 185, 1000 ve 1700 g'lık teneke kutu ambalajlarından alınmıştır.

2.2. Metot

Ton balığı örneklerinin histamin miktarlarının tayininde, AOAC' nin (Association of Official Analytical Chemists) resmi analiz metodlarından "Kimyasal Metod" (Anon., 1980) kullanılmıştır. Spektrofotometrik bu yöntemin uygulamasında Shimadzu 160A-UV spektrofotometresinden faydalanılmıştır.

2.3. Örneğin Hazırlanması

Donmuş yapıdaki ton balığı örnekleri laboratuvar sıcaklığında (20-25°C) çözündürüldükten sonra balığın boyun kısmından kuyruğuna kadar gövdenin farklı yerlerinden küçük parçalar kesilerek alınmıştır. Konserve kutulardan ise dolgu sıvısı uzaklaştırıldıktan sonra örnek alınmıştır. Balık örnekleri delik çapları 1,5-3,0 mm olan kıyma makinesinden 3 kez geçirilmiştir. Her defasında ezilmeyen kısımlar ayrılmıştır.

2.4. Histamin Analizi

Kıyma makinesinden geçirilerek homojen hale getirilen balık örneklerinden 10 g alınarak üzerine 50 ml metanol ilavesiyle yüksek devirli bir blenderde 2 dakika süreyle öğütülmüştür. 100 ml'lik bir ölçü balonuna alınan örnek, su banyosunda 60°C 15 dakika süreyle tutulmuştur. 25°C'ye soğutulan ölçü balonu içindeki örnek metanol ilavesiyle 100 ml'ye tamamlanmıştır. Whatman 1 filtre kağıdından süzülerek elde edilen filtrat benzen-butil alkol karışımı ile ekstrakte edildikten sonra içinde süksinik asitli pamuk bulunan kolondan geçirilerek saflaştırılmıştır. Sülfirik asit çözeltisi ile elue edildikten sonra diazonium çözeltisi (4-nitroanilin ve sodyum nitrit çözeltilerinin kullanmadan hemen öncesinde karıştırılmasıyla hazırlanır ve coupling buffer çözeltisi (sodyum metaborat ve sodyum karbonat içeren çözelti) ile renklendirilmiştir. Spektrofotometrede 475 nm dalga boyunda örneklerin absorbans değerleri ölçülmüştür. Kör değer elde etmek için % 5' lik (v/v) metanol numune gibi işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen değer hesaplama körü olarak kullanılmış, cihazda okuma için kör olarak numunelerin elue edildiği isobutil metil keton kullanılmıştır. Numuneler ile aynı işlemlere tabi tutularak kör ve standart çözeltilerin de absorbans değerleri ölçülmüş ve elde edilen bulgular;

Histamin mg/kg = (a - b) / (c - b) x SF formülüne uygulanarak örneklerdeki histamin miktarları bulunmuştur. Burada;

a : Örnek absorbansı

b : Kör (% 5 (v/v) metanol) absorbansı

c : Standart histamin absorbansı (25 µg histaminin)

SF :Seyreltme Faktörü (1000 x 0,025) / ((10/100) x (5/100) x 5) = 1000

3. SONUÇ ve TARTIŞMA

Farklı aralıklarla alınan ton balığının donmuş hammadde örnekleri ile konserve edilmiş ton balığı örneklerinde saptanan histamin miktarları Çizelge 1'de verilmiştir.

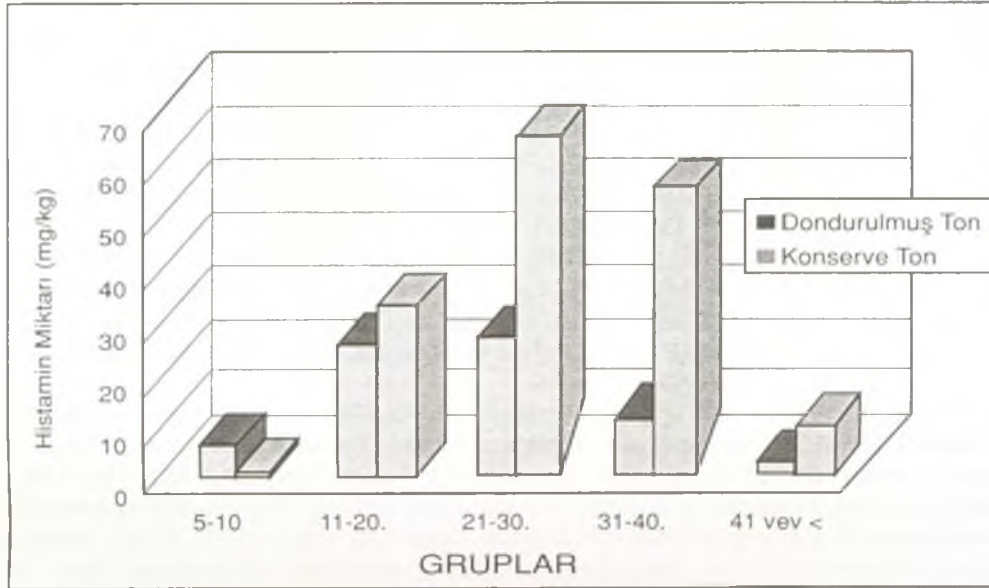
Çizelge 1. Dondurulmuş Ton Balığı (70) Hammaddesi ile Konserve Ton Balığı (160) Örneklerinin Histamin Miktarları ve Dağılım Oranları.

ÖRNEĞİN CİNSİ	HİSTAMİN MİKTARI (mg/kg)	DAĞILIM ORANI (%)
DONDURULMUŞ TON BALIĞI	5-10	9.6
" " "	11-20	35.7
" " "	21-30	37.2
" " "	31-40	15.7
" " "	48	1.4
" " "	137	1.4
KONSERVE TON BALIĞI	5-10	0.6
" " "	11-20	20.0
" " "	21-30	40.0
" " "	31-40	33.7
" " "	41-48	5.7

Donmuş yapıdaki ton balığı hammaddesinden alınan 70 örneğin 6'sında 5-10 mg/kg, 25'inde 11-20 mg/kg, 26'sında 21-30 mg/kg, 11'inde 31-40 mg/kg, birinde 137 mg/kg histamin bulunmuş olup, ortalama değer 23 mg/kg olmuştur. Ton konserve örneklerinden 160 adedinin birinde 5-10 mg/kg, 32'sinde 11-20 mg/kg, 64'ünde 21-30 mg/kg, 54'ünde 31-40 mg/kg ve 9 örnekte 41-48 mg/kg değerleri arasında bulunmuştur. Ortalama değer ise 28 mg/kg dir.

Ton balığının dondurulmuş hammadde ile konserve edilmiş örneklerin histamin değerleri örnek sayılarına göre gruplandırılarak Şekil 1'de gösterilmiştir.

Şekil 1. Ton Balığı ve Konserve Edilmiş Örneklerinin Histamin Miktarına Göre Gruplandırılması.



Varlık ve ark., (1992) ton konservelerindeki histamin düzeylerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarında iki özel kuruluşa ait 40 adet ton konserve örneğinde histamin miktarlarını 8,2-43,7 mg/kg arasında saptamışlardır.

Rohani ve ark., (1985) ton konservesi ihracatında problemler yaşanması sonrasında fabrikalardan topladıkları 3 grup örnekte ortalama 159, 94 ve 23 mg/kg histamin tespit etmişlerdir. Taylor ve ark. (1978) yerel marketlerden topladıkları ton konservesi örneklerinde ortalama histamin miktarını 34,6 mg/kg (16,0 - 74,1 mg/kg aralığında) olarak tespit etmişlerdir. Mietz ve Karmas (1977) biyojen aminleri kullanarak bir kalite indeksi oluşturmak üzere yaptıkları çalışmada, duyuşsal olarak "iyi" ve "sınırdan" olarak nitelendirilen iki grup ticari ton konservesinde sırasıyla ortalama 1,41 (0,28-4,02) mg/kg ve 37,09 (8,12-80,28) mg/kg histamin değerlerini tespit etmişlerdir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi tarafımızdan analiz edilen 160 adet ton konserve örneğinde ise histamin miktarları 5-48 mg/kg arasında değişmiştir. Sonuçların birbirine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Çalışmada elde edilen bulgular literatür değerleri ile uyum göstermektedir. Ayrıca ton konserve örneklerinin histamin değerleri toksik değer olarak kabul edilen 80 mg/kg değerinin altında kalmıştır.

Gerek işleme tesislerine hammadde olarak sunulacak balıkların, gerekse işlenmeden tüketime sevkedilecek balıkların mutlak suretle uygun muhafaza işlemlerine tabi tutulmaları gerekmektedir. Histamin, ısıya mukavim olduğundan ısıtma işlemi görmüş konserveleşmiş hammadde kalitesi ve işleme tekniklerinin yeterliliği konusunda indikatör olarak kullanılabilir. Konservasyon hataları dışında son üründe histamin oluşumu söz konusu değildir. Bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda hammaddenin fabrikaya ulaşıncaya dek uygun şekilde muhafaza edildiğini ve yine uygun işleme teknikleri ile son ürünün elde edildiğini söylemek mümkündür.

Histamin toksikasyonu mekanizmasının tam olarak aydınlatılamadığı ifade edilmektedir. Zehirlenme vakalarında sinerjik etkilerinden dolayı histaminin yanı sıra diğer biyojen aminlerin de tespit edilmesi gerektiği, son dönemlerde resmi olarak da dile getirilmektedir. Biyojen amin tayinlerinde ise farklı analiz metodlarının kullanılması ve bazen birbiriyle çelişen veriler elde edilmesi, resmi bir analiz metodunun bulunmaması konusunu problem olarak karşımıza çıkarmaktadır. Bu hususların tümü şu anda üzerinde çalışılan ve bundan sonra da araştırmacıların ilgisini bekleyen konuları oluşturmaktadır.

4. KAYNAKLAR

- ANONYMOUS, 1980. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C., 18.012, 18.064, 18.065, 18.066.
- BEAN, N.H. and GRIFFIN, P.M., 1990. Foodborne Disease Outbreaks in the United States, 1973-1987. J.Food Prot. 53:804-817.
- FOOD and DRUG ADMINISTRATION, 1994. Proposed Rules. Fed.Reg. 59:4149. CRAVEN, C., HILDERBRAND, K., KOLBE, E., SYLVIA, G., DAESCHEL, M., GLORIA, B. And AN, H. 1995. Understanding and Controlling Histamine Formation in Troll-Caught Albacore Tuna: A Review of Preliminary Findings from the 1994 Season.
- ERGİNKAYA, Z., VAR, I. 1989. Et ve Et Ürünlerinde Biyojenik Aminler. Gıda, 14 (3) 171-174.
- KIM, S.H., AN, H and PRICE, J. 1999. Histamine Formation and Bacterial Spoilage of Albacore Harvested Off the U.S. Northwest Coast. Journal of Food Science. Vol. 64, No. 2.
- KIMATA, M., 1961. The Histamine Problem. In Fish as Food. Ed: BORGSTROM, G. Academic Press, Vol.: 1, 329-352. New York.
- LUDORFF, W., MEYER, V. 1973. Fische und Fischerzeugnisse. Paul Parey Verlag. Hamburg-Berlin.
- MIETZ, J.L., KARMAS, E., 1977. Chemical Quality Index of Canned Tuna As Determined by High-Pressure Liquid Chromatography. Journal of Food Science, 42: 155-158.
- PAN, B.S., JAMES, D., 1985. Histamine in Marine Products: Production by Bacteria, Measurement and Prediction of Formation. FAO Fisheries Technical Paper 252. P:62, Rome.
- PAN, B.S., KUO, J.M. and LUO, S.W., 1982. Determination of Histamine in Scombroid Fish - A Comparison on Methodology. Food Sci., 9:1-9, Taiwan.
- RAWLES, D.D, FLICK, G.J., and MARTIN, R.E., 1996. Biogenic Amines in Fish Shellfish. Adv. Food Nutr. Res. 39: 329-364.
- ROHANI, A.C., AZIZAH, I., MAMOT, S., 1985. Histamine Determination In Fish and Fish Products.

- MARDI Res. Bull., 13, 2: 155-161.
- STRATTON, J.E., HUTKINS, R.W., TAYLOR, S.,L, 1991. Biogenic Amines in Cheese and Other Fermented Foods. A Review Journal of Food Protection. 54(6) 460-470.
- SUYAMA, M. And YOSHIZAWA, Y., 1973. Free Amino Acid Composition of The Skeletal Muscle of Migratory Fish. Bull.Jap.Soc.Sci. Fish., 39:11339-43.
- TAYLOR, S.L., LIEBER, E.R., LEATHERWOOD, M., 1978. A Simplified Method for Histamine Analysis of Foods. Journal of Food Science, 43: 247-250.
- VARLIK, C., GÜN, H., GÖKOĞLU, N., 1992. Ton Konservelerinde Histamin Düzeylerinin Belirlenmesi. Gıda 17 (4) 239-245.
- WÜRZIGER, J., DICKHAUT, G., 1978. Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamine in Fischen und Fishzubereitungen. Fleischwirtschaft. (6) 989-994.
- YOSHINAGA, D.H., FRANK, H.A., 1982. Histamine Producing Bacteria in Decomposing Skipjack Tuna. Appl. Environ. Microbiol. 44:447-452.