

## Ton Konservelerinde Histamin Düzeylerinin Belirlenmesi

Doç. Dr. Candan VARLIK\*, Uzm. Yard. Hüseyin GÜN\*\*, Uzm. Nalan GÖKOĞLU\*

\* 1. Ü. Su Ürünleri Yüksek Okulu — Beykoz/İSTANBUL

\*\* TÜBITAK, MAM - Gıda ve Soğutma Tek. Bölümü Gebze/KOCAELİ

### ÖZET

Uskumru ve orkinos gibi kanlı balıklar fazla miktarda serbest histidin amino asidini içermektedir. Bu balıkların avlanmasıından sonra bu amino asit bozulma prosesi içinde dekarboksile olarak histamin biyojen aminini oluşturmaktadır. Uskumru ve ton balığının yenmesinden sonra meydana gelen «Scombroid poisoning» denen hastalığın nedeni de histamindir.

Bu çalışmada piyasadaki iki firmaya ait ton balığı konservelerindeki histamin düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu konservelerde histamin miktarı tayini ve duysal analizler yapılmıştır.

Elde ettigimiz bulgulara göre; örneklerin histamin düzeyi toksik düzey olan 80 ppm'ın altında olup insan sağlığına zarar vermeyecek düzey olduğu görülmüştür.

### SUMMARY

#### HISTAMINE AMINO ACID LEVELS IN CANNED TUNA FISH

Red muscled fish such as Mackerel and Tuna contain high levels of the amino acid histidine. After they are caught, as a result of decarboxylation during the decomposition process, the amino acid such fish forms histamine biogen amine which is responsible for the condition known as the «scombroid poisoning».

This paper aims at determining the histamine level in two different brands of canned tuna fish sold on the market. The study covered the measurement of the histamine amount in these products and certain sensorial analyses.

The results of the study showed that the histamine level in the samples analyzed was below the toxic level of 80 ppm and therefore not hazardous to human health.

### GİRİŞ

Balık etinde belirli kimyasal bileşiklerin oluşmasında mikrobiyal ve otolitik olaylar rol oynamamaktadır. Çeşitli kimyasal bileşiklerin farklı biçimlerde olması, balıkların avlanması, işleme ve pazarlama koşullarına bağlıdır.

«Balık zehirlenmesi» deyiminden farklı etiolojilere sahip bir dizi hastalık tabloları anlaşılmaktadır. Balık zehirlenmelerinin büyük bir kısmından, bazik aminoasitlerin biyojen amine olarak adlandırılan yıkım ürünlerini sorumludur. Biyojen aminler gıda maddelerinde doğal olarak bulunabildiği gibi, ekseriya mikrobiyal yıkım olaylarıyla oluşabilemektedir. Çeşitli gıda maddelerinde bulunan bazı biyojen aminlerin miktarları çizelge 1'de verilmiştir (SINELL, 1978).

Ringa ve Uskumru balıklarında, kas dokuda bol miktarda bazik amino asitler, özellikle histidin bulunur. Balıklar ileyi derecede bozuldukları zaman proteinlerin parçalanmasıyla özellikle mikrobiyal faaliyetin bir sonucu olarak biyojen aminler denilen toksik maddelerin oluşumu önem taşır. Bunların arasında histamin önemli bir yer tutar (KIETZMANN ve ark. 1969; İNAL, 1988).

Histamin balıklarda oluşan uçucu olmayan biyojen aminler grubuna dahildir. Histamin bu grubun diğer aminlerine göre çok önemli farmakolojik bir etkiye sahiptir. Seneler önce Japon ve Amerikan literatürlerinde «Scombroid poisoning» denen hastalığın uskumru ve ton balığının yenmesinden sonra meydana geldiği ve bunada bu balıklarda oluşan histaminin neden olduğu bildirilmiştir. Alman literatüründe de geçtiğimiz yıllarda ringa, hamst ve uskumru balıkları ve ürünlerinde histamin oluşumu ve gıda hijyenini yönünden problem oluşturduğu bildirilmektedir. Gıda hijyenini yönünden önemli olan histamin oluşumunun nedeni, balığın bozulması sırasında balıkta mevcut olan

**Özelge 1. Çeşitli Gıda Maddelerinde Bulunan Bazı Blyojen Aminlerin Miktarları  
(SINELL, 1978)**

	Gıda Maddesi	Serotonin ( $\mu\text{g/g}$ )	Tyramin ( $\mu\text{g/g}$ )	Dopamin ( $\mu\text{g/g}$ )	Norepinephrin ( $\mu\text{g/g}$ )	Histamin ( $\mu\text{g/g}$ )
Bitkisel Gıdalar	Olgunlaşmamış muz	30	—	8	2	—
	Muz kabuğu	50 - 100	65	—	—	—
	Olgunlaşmamış ananas	20	—	—	—	—
	Ananas suyu	25 - 35	—	—	—	—
	Domates suyu	12	—	—	—	—
	Lahana turşusu	—	20 - 95	—	—	7 - 200
	Lahana turşu suyu	—	—	—	—	40
	Soya lososu	—	1,76	—	—	—
	Bira	—	1,8 - 11,2	—	—	—
	Şarap	—	0 - 25	—	—	—
Peynir çeşitleri	Maya ekstraktı	—	0 - 2256	—	—	210 - 2830
	Çedar	—	0 - 1500	—	—	0 - 1300
	Kammembert	—	20 - 2000	—	—	0 - 480
	Emmentalar	—	225 - 1000	—	—	—
	Rokfor	—	27 - 1100	—	—	0 - 2300
Et	Parmesan	—	4 - 290	—	—	0 - 58
	Et ekstraktı	—	95 - 304	—	—	—
	Sığır karaciği	—	274	—	—	—
	Tavuk karaciği	—	100	—	—	—
Balık	Sosis	—	0 - 1237	—	—	—
	Orkinos	—	—	—	—	2040 - 5000
	Tuzlanmış kuru balık	—	0 - 470	—	—	—
	Tuzlu ringa	—	3000	—	—	—
	Orkinos konservesi	—	—	—	—	0 - 80
	Dondurulmuş orkinos	—	—	—	—	0 - 50
	Taze uskumru	—	—	—	—	0
	Bozulmuş uskumru	—	—	—	—	300
	Dumanlanmış uskumru	—	—	—	—	0 - 300

histidin'in bakteriyel olarak yıkımı bildirilmektedir (STEDE ve STOCKEMER, 1981). Ton balığının kan ve organlarında oldukça fazla miktarda serbest histidin bulunmaktadır. Ton balığından başka az miktarlarda ringa, hamsi, saralya, kalkan, balina, som balığı, alabalık, pisi balığı, morina balığı, bazı midye çeşitleri, karides, yengeç ve salyangoz da serbest histidin içermektedir. Ayrıca domuzun eti, süt ve kanı, tavşan kanı, şarap, çeşitli peynir cinsleri, maya ekstraktları, sosis, lahana turşusunda da serbest histidin bulunduğu bildirilmektedir (SCHULZE ve ark. 1979).

Balıklarda ki protein parçalanması, fazla miktardaki proteolitik enzimlerin yüksek aktivitesi ile çok kolaylaşmaktadır. Balık etinin bu enzim zenginliği, balıklardaki enzimatik olgunlaşma olayını süratlendirmektedir. Balık etinin hem enzimatik olgunlaşmasıyla hemde az veya çok bakteriyel yıkım olaylarıyla, proteinlerin parçalanma ürünleri olan aminoasitler farklı miktarlarda ortaya çıkarlar. Bu aminoasitlerden biride histidin olabilmektedir (WÜRZIGER VE DICKHAUT, 1978). Biyojen aminlerin biyosentezi çizelge 2'de verilmiştir (WORTBERG ve WOLLER, 1982).

Genel olarak enzimatik balık olgunlaşması, bakteri gelişmesinden ayrı edilememektedir. Hem enzimatik olgunlaşmada, hemde bakteriyel bozulmada protein yıkım ürünü olarak serbest histidin oluşturmaktadır. Özellikle ton balığı, palamut, uskumru gibi bol kanlı ve koyu kahverengi ikas kısımları bulunan balık cinsleri serbest histidin yönünden çok zengindir. Koyu kırmızı etli balıklarda 210-726 mg serbest histidin bulunmasına karşın açık renk ve beyaz etli balıklarda serbest histidin miktarı genellikle 0,5 mg dolaylarındadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Proteinlerin yıkımlanmasıyla oluşan biyojen aminlerin meydana gelmesinde üç ana yol vardır (SINEL, 1978);

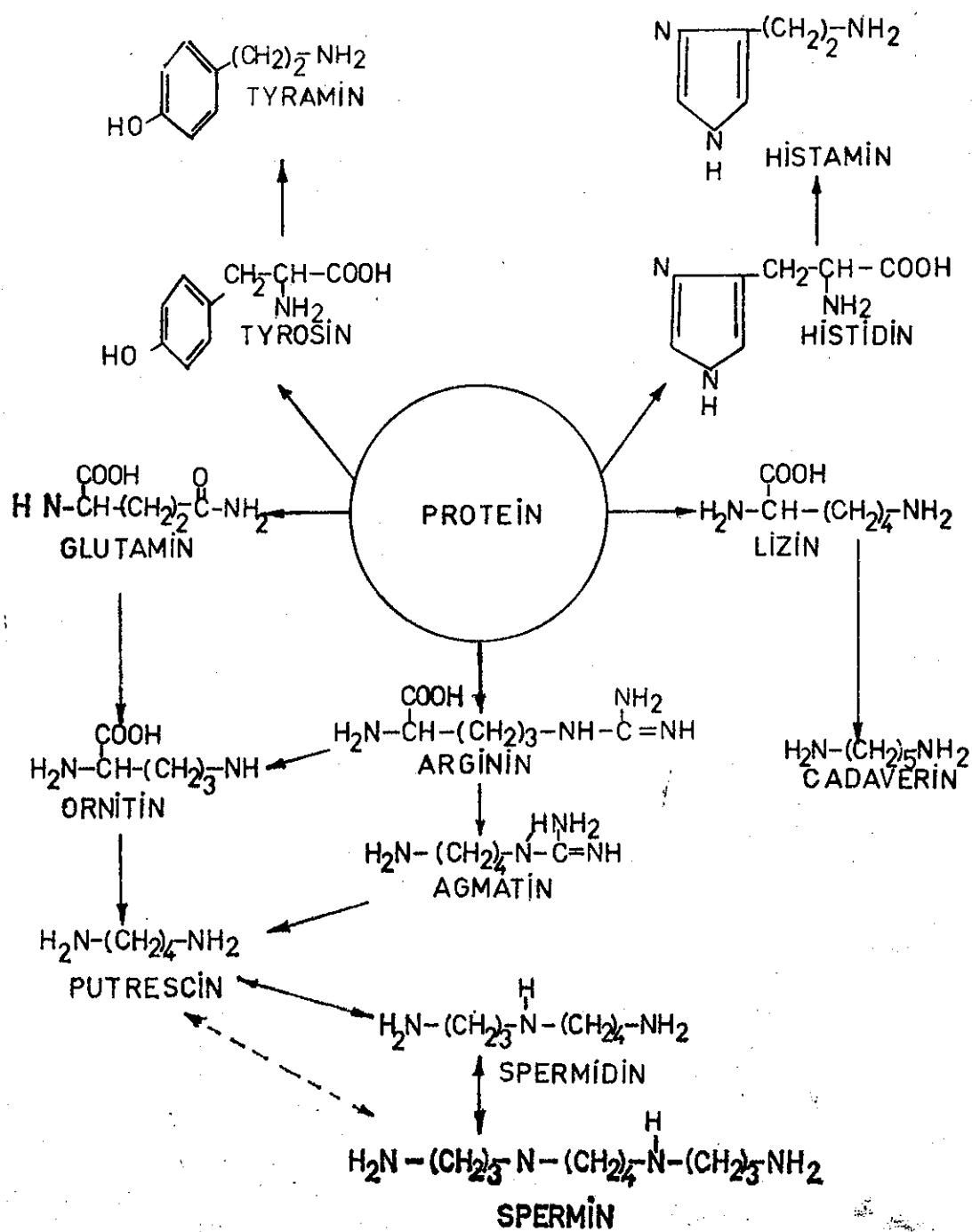
- 1 — Azotsuz metabolismma ürünlerinin aminleşmesi
- 2 — Amino asitlerin sekunder dönüşümü
- 3 — Azotlu bileşiklerin bazik parçalarına ürünlerinin hidrolitik çözünmesi.

Amino asitlerden karbondioksitin ayrılımasıyla bu amino asitin amini oluşmaktadır. Bu olay organa özgü enzimlerle olabildiği gibi mikrobiyal olarak şekillenmektedir. Amino asitlerden karbondioksitin ayrılmasına dekarboksilasyon, ilgili enzimde dekarboksilaz olarak anılır. Genellikle dekarboksilazlar ya spesifik olarak bir tek aminoaside yada bir dizi farklı aminoasitlere etki ederler. Dekarboksilasyon intermedier metabolizma olaylarında intravitam olarak cereyan eder. Dekarboksilasyonların hemen hepsinde mikrobiyal proteoliz gözlenmektedir. Çeşitli bakteri cinslerinin aminoasitleri dekarboksile etme kabiliyeti çok farklıdır. Bazı türler çok geniş spektruma sahip birçok aminoasidi dekarboksile eder. Bazı türler ise substrata özel dekarboksilaz olup yalnız bir tek amino asite etki ederler (SINELL, 1978).

Histidin ve diğer amino asitlerin dekarboksilasyonunda Proteus, Escherichia, Moraxella, Achromobacter, Aerobacter, Sarcina, Pseudomonas, Serratia ve keza anaerob spor oluşturan mikroorganizmalar sorumludur (KIETZMANN ve ark., 1969; SINELL, 1978; SCHULZE, 1978). Çeşitli mikroorganizmaların dekarboksilaz aktiviteleri araştırılmıştır ve Proteuslar histamin yapıcı mikroorganizmalar olarak adlandırılmıştır (KIETMANN ve ark., 1969; WÜRTZIGER ve DICKHAUT, 1978). Bunların optimum üreme koşulları 20°C ve pH 6-7 dir. Ancak bunlardan başka diğer mikroorganizmalar da histidin dekarboksilasyonunda az da olsa görev almaktadır (LUDORFF ve MEYER, 1973).

Balık zehirlenmelerinin büyük bir çoğunluğunun nedeni biyojen aminlerdir. Balık eti serbest histidin ve tirozin yönünden oldukça zengindir. Histidin dekarboksilaz enziminin etkisi, ilgili substratın mevcudiyetinin artmasıyla artar. Doğal olarak bakteriyel dekarboksilaz aktivitesi çok fazla olduğu zaman balık etinde histamin ve tıramin miktarında fazla olmaktadır (SINELL, 1978).

En iyi bilinen balık zehirlenmesi «Scombrotoxine Poisoning» denen uskumru zehirlenmesidir. Hastalık semptomları balığın yemesinden bir kaç dakika sonra belirmekte ve 8-12 saat



Çizelge-2 Biyogenaminlerin biyosentezi (WORT BERG, WOLLER 1982)

sonra geçmektedir. Baş ağrısı, baş dönmesi, yüz kızaması, üretilker oluşumu, kaşıntı, mide bulantısı, kusma, ishal, karın ağrısı, kalp çarpıntısı, hızlı nabız, ağız kuruluğu, susama, yutma güçlüğü gibi semptomlar müstererek olarak görülebildiği gibi tek tek de oluşmaktadır. Ölüm olayı ise çok nadirdir (SINELL, 1978).

Biyojen aminler paranteral alınmada çok yüksek toksisite göstermektedir. Oral alımında ise toksisite düşük olmaktadır. Biyojen aminler sağlıklı organizmada öncelikle barsaklarda olmak üzere, karaciğer, böbrekler ve akciğerlerde aminoaksidaz'a dönüşürler. Bu da panzehir olarak etki eder. Aminler dezamine olurlar ve ekseriya ilgili aldehitlere ve karbonik asitlere dönüşürler. Yüksek dozda biyojen amine alınmasında panzehir mekanizması yeterli olmamakta ve aminler resorbe edilmektedir (SINELL, 1978).

İnsanlarda 8-40 ppm histamin hafif, 70-1000 ppm orta 1500-4000 ppm histamin ağır zehirlenme olaylarına neden olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978; SINELL, 1978; SCHULZE ve ark., 1979). Buna karşın SCHULZE ve ark (1979) 50 ppm'e kadar histamin içeren balıkların yemesinden sonra herhangi bir zehirlenme belirtisi görülmemiğini, ancak 50-100 ppm konsantrasyonunda histamin içeren balıkların yemesinde hassas yapılı insanlarda hafif, 100-1000 ppm histamin konsantrasyonu belirgin toksik etki gösterdiği bildirmektedir. İnsanlarda 80 ppm hisatamin konsantrasyonu toksik düzeydir (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Histamin oluşumunun önlenmesinin bir yolu da, orkinos balığı yakalandıktan hemen sonra kesilmeli, kanı iyice akitilmalı ve soğutulmalıdır. Ayrıca balığın parçalanmasında omurilik boyunca seyreden «kan hattı» da denen bol kanlı et kısmı uzaklaştırılmalıdır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1979; SCHULZE ve ark., 1979; STEDE ve STOCKEMER, 1981).

Orkinos, uskumru, hamsi gibi histidini fazla miktarda içeren balıklardan yapılmış konservelerin yemesinden sonra histamin zehirlenmesinin görülmesi bu balıkların hijyenik

koşullarda işlenmemiş ve yeterli derecede soğutulmamış olmasından kaynaklanmaktadır. Diğer bir deyişle, bu balıklarda histamin konserveye işlemeden önce oluşmakta ve histamin ışıya karşı dirençli olduğundan oluşan histamin konservede mevcut olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978; SINELL, 1978; SCHULZE ve ark., 1979).

#### MATERIAL VE METOD

Çalışmada, iki ayrı firmanın farklı tarihlerde ürettiği yirmişer adet ton konservesi kullanıldı. Konserve içeriği ton balığının beyaz et kısmını ve sıvı yağ içermekte idi.

Histamin örnekten triklorasetik asit ile ekstrakte edildi. Ekstrakt zayıf asitli katyon değiştiricide saflaştırıldı ve ortofitaldialdehit ile derivatize edildikten sonra fluorimetrik olarak histamin miktarı belirlendi (STOCKEMER ve STEDE, 1979; ANON, 1982). Duyusal analizlerde Türk Standartları Enstitüsü'nce benimsenmiş duysal analiz şeması kullanıldı (ANON, 1988).

#### BULGULAR VE TARTIŞMA

İki ayrı firmanın ürettiği ton konservesinde yürütülen çalışmada elde edilen bulgular çizelge 3'de verilmiştir. Çizelgeden de anlaşılaçagi gibi tüm bulgular insanlar için toksik düzey olarak kabul edilen 80 ppm'in altında bulunmuştur.

Tüm örneklerde duysal analiz sonuçlarında herhangi bir sapma belirlenmemiştir. A firmasının ürettiği ürünlerdeki histamin düzeyleri 9,5-43,7 ppm, B firmasının ürünlerinde ise 8,2-43,6 arasında saptanmıştır.

Histamin oluşumunda; mikroorganizma ve organa özgü enzimlerin rol oynadığı ve bunların faaliyeti için depolama koşullarının önemli olduğu, histaminin materyalde kutulama işleminden önce oluştuğu ve yüksek sıcaklıkta parçalanmadığı göz önüne alındığında, bulgularımıza göre; çalışmada kullanılan örneklerin soğuk zincir ve hijyen koşullarına gereği gibi uyularak depolandığı ve işlendiği gözlenmiştir.

Würziger ve Dickhaut (1978) dumanlanmış uskumrularda yaptıkları duysal analiz ve his-

**Çizelge 3. Ton konservesi örneklerinde saptanan histamin düzeyleri ve duyusal analiz sonuçları**

Örnek Sıra No.	Histamin	ppm	Duyusal analiz	
	FİRMA - A	FİRMA - B	FİRMA - A	FİRMA - B
1	11,4	10,4	Farkedilebilir sapma yok	Farkedilebilir sapma yok
2	9,9	9,7	*	*
3	9,8	11,0	*	*
4	9,5	8,7	*	*
5	32,3	36,0	*	*
6	38,3	35,3	*	*
7	27,2	42,7	*	*
8	41,7	34,5	*	*
9	43,7	43,6	*	*
10	21,3	25,6	*	*
11	12,1	16,7	*	*
12	18,1	18,9	*	*
13	10,5	29,3	*	*
14	30,4	42,0	*	*
15	33,2	37,6	*	*
16	39,7	10,7	*	*
17	40,0	21,8	*	*
18	34,3	17,5	*	*
19	23,0	30,7	*	*
20	19,9	35,4	*	*

tamin düzeyini belirleme çalışmalarında; koku ve lezzet sapması olmayan örneklerde, histamin içeriğini 0-30 ppm arasında tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacıların yağlı ve sebzeli orkinos (ton) konservelerinde yaptıkları çalışmada da 0-80 ppm arasında histamin düzeyi saptamışlardır. Würziger ve Dickhaut (1978) herhangi bir koku ve lezzet sapması olmayan ton konservesi örneklerinde 0-40 ppm histamin düzeyi, hafif yada belirgin koku ve lezzet sapması belirlenen örneklerde ise 30-80 ppm histamin düzeyi tespit etmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar; görülebilecek koku ve lezzet sapmalarının, her zaman fazla miktarda histamin içeriğinin nedeni olmayacağı, yüksek düzeyde histamin içeren örneklerdeki koku ve lezzet sapmalarının da kutulama işleminden önce oluşmuş bozulmanın nedeni olabileceğini de bildirmektedir.

Duyusal analiz bulguları ile biyojen aminein miktarları arasında belirgin bir ilişki vardır. Balık örneklerindeki histamin miktarı 300 ppm'den fazla olduğunda duyusal bulgularda da sapma tespit edilmektedir (Schulze ve Zimmermann, 1980). Yağlı orkinos ve sardalya konservelerinde, Schulze ve Zimmermann'ın yürüttükleri çalışmada 300 ppm'in altında histamin içeren örneklerde duyusal bulgular yönünden bir sapma tespit edilememesine karşın daha yukarı konsantrasyonda histamin içeren örneklerde duyusal sapmalar belirlenmiştir. Yüksek miktarda histamin içeren örneklerde Kadaverin ve Tyramin biyojen amineinin de olması gereği düşünülsede, histamin miktarı 500 ppm'den az olduğu durumlarda da Kadaverin ve Tyramin bulunamamaktadır (Suchulze ve Zimmermann, 1980). Schulze ve ark. (1979) yaptıkları bir çalışmada ise duyusal analiz sonuçlarına göre koku ve lezzet sap-

ması göstermeyen yağlı sardalya konservele- rinde 500 - 600 ppm histamin tespit ettilerini. Ayrıca bu konservelerdeki bakteriyolojik analizlerinde negatif olduğunu bildirmiştirler. Schulze ve ark. (1979) toksikasyon belirtilerinin görülmesinde yenilen balık miktarı ve konservenin histamin içeriğinin de göz önüne alınması, ayrıca histamin içerikli kutulanmış ve sterilize edilmiş ürünlerde, bakteriyolojik analizin negatif olmasının, histaminin balıkta kutlama işleminden önce oluştuğunu ve sıcaklık etkisiyle parçalanmadığını yada çok az parçalandığını vurgulamışlardır.

Uzun süre dondurulmuş olarak depolanan orkinos balıklarında derin dondurmanın ve depolamanın histamin içeriğinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Ancak avlamadan sonra kanı az yada hiç akitilmamış derin dondurulmuş ve depollanmış, ork noslarda yüksek düzeyde histamin tespit edilmiştir (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Steide ve Stockemer (1981), farklı sıcaklık derecelerinde depoladıkları ringa ve uskumru filetoları ile ringa iç organlarında histamin ve trimetilamin düzeylerini saptılarıdır.

#### K A Y N A K L A R

- ANON (1982). Untersuchung von Lebensmitteln. Bestimmung des Histamingehaltes in Fischen und Fischerzeugnissen. Fluorimetrische Bestimmung. Referenzverfahren. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach s 35 LMBG 10.001/.
- ANON (1988). Kutulanmış balık konserveleri genel esasları TSE 353. TSE Ankara 1 - 24.
- BAUMGART, J.; GENUIT, A.; MECKLENBURG, Chr.; PRÖSL, P. (1979). Biogene Amine in Feinkost, Erzeugnissen. Fleischwirtschaft 59 (5), 719 - 722.
- İNAL, T. (1988). Besin hijyenisi. I. Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı s. 436 - 440.
- KIETZMANN, U.; PRIEBE, K.; RAKOW, D.; REICHSTEIN, K. (1969). Seefisch als Lebensmittel. Paul Parey Verlag, Hamburg - Berlin.
- LUDORFF W.; MEYER, V. (1973). Fische und Fischerzeugnisse. Paul Parey Verlag, Hamburg - Berlin.
- SCHULZE, K.; REUSSE, U.; TILLACK, J. (1979). Lebensmittelvergiftung durch Histamin nach Genuss von Ölsardinen. Archiv für Lebensmittelhygiene 30, 56 - 59.
- SCHULZE, K.; ZIMMERMANN, Th. (1980). Nachweis von biogenen Aminen in Thunfisch und Ölsardinenkonserven. Fleischwirtschaft. 60 (12) 2236 - 2240.
- SINELL, H.J. (1978). Biogene Amine als Risikofaktoren in der Fischhygiene. Archiv für Lebensmittelhygiene, 29, 206 - 210.
- STEDE, M.; STOCKEMER, J. (1981). Bildung von Histamin in frischen Heringen und Makrelen. Fleischwirtschaft 61 (11) 1746 - 1749.
- STOCKEMER, J.; STEDE, M. (1979). Quantitative Histamin - Bestimmung durch Fluorimetrie. Archiv für Lebensmittelhygiene 30, 59 - 61.
- WORTBERG, B.; WOLER, R. (1982). Zur Qualität und Frische von Fleisch und Fleischwaren im Hinblick auf ihren Gehalt an biogenen Aminen. Fleischwirtschaft. 62 (11), 1457 - 1463.
- WÜRZIGER, Johs.; DICKHAUT, G. (1978). Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamin in Fischen und Fischzubereitungen. Fleischwirtschaft, 6, 989 - 994.