

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SARDALYA KONSERVELEERİNİN

HİSTAMİN BİYOJEN AMİNİ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

NALAN GÖKOĞLU

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ PROGRAMI

Danışman: Doç.Dr. Candan VARLIK

Haziran - 1993

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, piyasada satılan dört ayrı firmaya ait sardalya konservelerinin histamin trimetilamin, toplam uçucu bazik nitrojen düzeyleri araştırılmıştır.

Histamin analizlerinin; örneklerin hazırlanması, ekstrakte edilmesi ve katyon değiştiricide saflaştırılması aşamaları. İ.Ü.Su Ürünleri Fakültesinde, fluorometrede ölçüm işlemi TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü Çevre Bölümünde gerçekleştirilmiştir. Diğer Analizler ise Fakültede yürütülmüştür.

Bu tez konusunu bana öneren ve çalışmamın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam **Doç.Dr. Candan VARLIK**'a, fluorometrede ölçüm yapmama imkan sağlayan **TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü Çevre Bölümü Başkanı Prof.Dr. Hasan ÇİL** ve Çevre Bölümü Çalışanlarına, Laboratuar çalışmalarımın bazı aşamalarında yardımcı olan **Gıda Mühendisi Funda ŞENTÜRK**'e, tezin yazım aşamasında yardımcı olan eşim **Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Mehmet GÖKOĞLU**'na ve çalışmam süresince yardımını gördüğüm herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	III
ÖZ VE ABSTRACT	IV
I.GİRİŞ	1
I.1. Biyojen Aminler	3
I.2. Histamin	8
I.3. Histamin Zehirlenmesi	13
I.4. Histaminin Etkileri	13
I.5. Histamin Oluşumuna Neden Olan Mikroorganizmalar	14
I.6. Histamin Zehirlenmesine Neden Olan Gıdalar	17
1.6.1. Balık ve Balık Ürünleri	17
1.6.2. Et ve Et Ürünleri	21
1.6.3. Peynir	21
1.6.4. Şarap	24
I.7. Histamin Oluşumunun Kontrolü	24
I.7.1. Balığın Düşük Sıcaklıkta Depolanması	24
I.7.2. Hijyenik Uygulamalar	25
I.8. Histamin Tayin Yöntemleri	27
I.8.1. Fluorometrik Yöntemler	27
I.8.2. Enzimatik Yöntemler	28
I.8.3. Kromatografik Yöntemler	28
II. MATERYAL ve METOD	30
III. BULGULAR	31
IV. TARTIŞMA ve SONUÇ	41
V. ÖZET ve SUMMARY	50
VI. KAYNAKLAR	52
VII. ÖZGEÇMİŞ	60

TABLO LİSTESİ

SAYFA

Tablo 1. Bazı Amino Asitlerin Dekarboksilasyonu Sonucu Aminlerin Oluşumu	5
Tablo 2. Japonya'da 1970-1980 Periyodunda Histamin Zehirlenmesi Olayları	12
Tablo 3. Çeşitli Gıda Maddelerinde Bulunan Bazı Biyojen Aminlerin Miktarları	19
Tablo 4. Histamin Zehirlenmesi Yapabilen Balık Türleri	20
Tablo 5. Bazı Peynir Cinslerinin Tiramin ve Histamin İçerikleri	23
Tablo 6. 1. Gruptaki Örneklerin Histamin, TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları	33
Tablo 7. 2. Gruptaki Örneklerin Histamin, TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları	34
Tablo 8. 3.Gruptaki Örneklerin Histamin TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları	35
Tablo 9. 4.Gruptaki Örneklerin Histamin, TMA-N,TVB-N pH ve Duyusal Analiz Sonuçları	36
Tablo 10. Taze Sardalyaların Amino Asit Kompozisyonu	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Dört Grup Sardalya Konservesinin Histamin Konsantrasyonu Bakımından Değişim Aralıkları	37
Şekil 2. Dört Grup Sardalya Konservesinin TMA-N Konsantrasyonu Bakımından Değişim Aralıkları	38
Şekil 3. Dört Grup Sardalya Konservesinin TVB-N Konsantrasyonu Bakımından Değişim Aralıkları	39
Şekil 4. Dört Grup Sardalya Konservesinin TVB-N Bakımından Değişim Aralıkları	40

ÖZ
SARDALYA KONSERVELEERİNİN HİSTAMİN BİYOJEN
AMİNİ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Histamin, balıklarda histidin amino asidinin dekarboksilasyonu ile oluşan ve insanlarda zehirlenmeye neden olan bir biyojen amindir.

Bu çalışmada, piyasadaki 4 ayrı firmaya ait sardalya konservelerinin histamin düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Konservelerde üç örnek dışında sağlığa zarar verici düzeyde histamin konsantrasyonuna rastlanmamıştır.

ABSTRACT
INVESTIGATION ON THE HISTAMINE BIOGENIC AMINE IN
CANNED SARDINES

Histamine is a biogenic amine arising from the decarboxylation of the amino acid histidin. This amine gives rise to poisoning.

The aim of this study was to determine the levels of four different brands of canned sardine sold in the market.

The histamine levels were hazardous for health only in three samples.

I. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olan balık, çok kolay bozulabilen bir gıda maddesidir. Balığın bozulması ölümden sonra yavaş yavaş oluşan ve sonunda balığı insan gıdası olarak tüketilmeyecek hale getiren prosesler zincirinden ibarettir. Bozulmayla birlikte balıkta olan değişimler ilk bakışta renk, kıvam lezzet ve koku yönünden kendini gösterir. Bu da balığın kalitesinin düşmesine ve onun tüketilme özelliğinin kaybolmasına neden olur (İNAL, 1988).

Balıkların ölümden sonra uğradığı değişimler otolitik, oksidatif ve bakteriyel etkilerle gerçekleşir. Balık etinde belirli kimyasal bileşiklerin oluşmasında mikrobiyal ve otolitik faaliyetler önemli bir rol oynar. Balık etinde oluşan kimyasal değişimler:

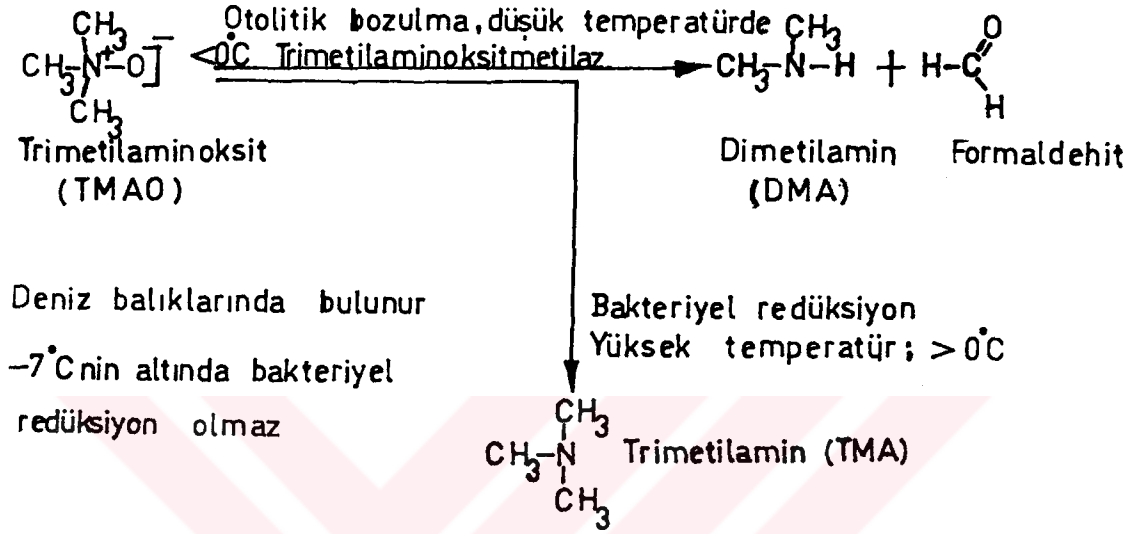
- Proteinlerin parçalanmasıyla oluşan değişimler
- Karbonhidratlarda oluşan değişimler
- Yağlarda oluşan değişimler
- Diğer değişimler şeklinde özetlenebilir (İNAL, 1988).

Ölümden sonraki ilk değişimler, asit ortamda otolitik enzimler aracılığı ile proteinlerin yıkımıdır. Bu olay pH değerinin 7 ve üzerindeki nötral ortam oluncaya kadar sürer (KIETZMANN ve ark., 1969).

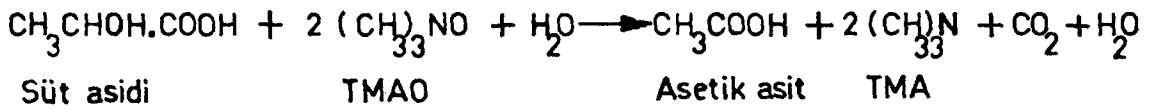
Bozulmayı gerçekleştiren değişimler mikrobiyal karakterdedir. Mikroorganizmalar önce kreatin, anserin, tirmetilaminoksit vs. gibi serbest amino asitleri içeren eriyebilir protein ve protein olmayan azotlu maddeleri yıkımlarlar. Bunların serbest hale geçişi hücrelerin ölümü ile olmaktadır (SCHORMÜLLER, 1968; KIETZMANN ve ark., 1969).

Deniz balıklarının kaslarında bulunan en önemli kimyasal madde trimetilaminoksit (TMAO) tir. Bakterilerin faaliyeti sonucu trimetilaminoksit (TMAO) trimetilamin (TMA) ne redükte edilir. Trimetilamin hoşla gitmeyen duyuşal değişimler oluşturur. Balık etinin TMAO miktarı mevsimlere ve balık türlerine göre değişimler gösterir. TMA miktarının tayini ile balıkların tazelik durumu hakkında karara varılır (İNAL, 1988).

TMAO sadece deniz balıklarında bulunur. Balığın depolanması sırasında *Micrococcus* ve *Achromobacter* familyasından bir seri mikroorganizma tarafından TMA trimetilaminoksidaz (trimetilaminoksitmetilaz (TMAO-ase)) yardımıyla TMA'e indirgenir.



Süt asidi ile bağlantılı olan trimetilamin indirgenmesi reaksiyonu glukoz yıkımından köken alır. Süt asidi burada hidrojen vericisi olarak rol oynar ve kendisi de asetik aside oksitlenir. Reaksiyon şu şekilde gösterilebilir (KIETZMANN ve ark., 1969).



Balıkta bozulmanın giderek ilerlemesiyle uçucu bazik azotlu maddelerin miktarı da artar. Bozulmanın daha ileri safhalarında amonyak oranı süratle artar. *Elasmobranchii* (kıkırdaklı balıklar) larde bozulmanın ilk döneminde kasın serbest ekstraktif maddesi olarak bulunan üreden bol miktarda amonyak oluşur (İNAL, 1988).

Balıklarda tazelik durumunun değişmesine bağlı olarak serbest amino asitlerin ve aminlerin miktarında da değişiklik olmaktadır.

Ringa ve Uskumru balıklarında, kas dokuda bol miktarda bazik amino asitler, özellikle histidin bulunur. Histidin zamanla histamine ve imidazol derivatlarına parçalanır. Uskumru balığında anserin ve taurin de fazla miktarda bulunur (İNAL, 1988).

Balıklar ileri derecede bozuldukları zaman kaslarında H_2S ve indol oluşur. Proteinlerin parçalanmasıyla özellikle mikrobiyal faaliyetin bir sonucu olarak biyojen aminler ve biyotoksinler denilen oluşum önem taşır. Bunların başında histamin önemli bir yer tutar.

I.1. Biyojen Aminler

Biyojen aminler, alifatik, aromatik özellikle heterosiklik bağları ile açıklanan organik bazlı moleküller olup, insan, hayvan, bitki ve mikroorganizmaların normal metabolizmasında yer alırlar (ERGİNKAYA ve VAR, 1989; GRAF, 1992).

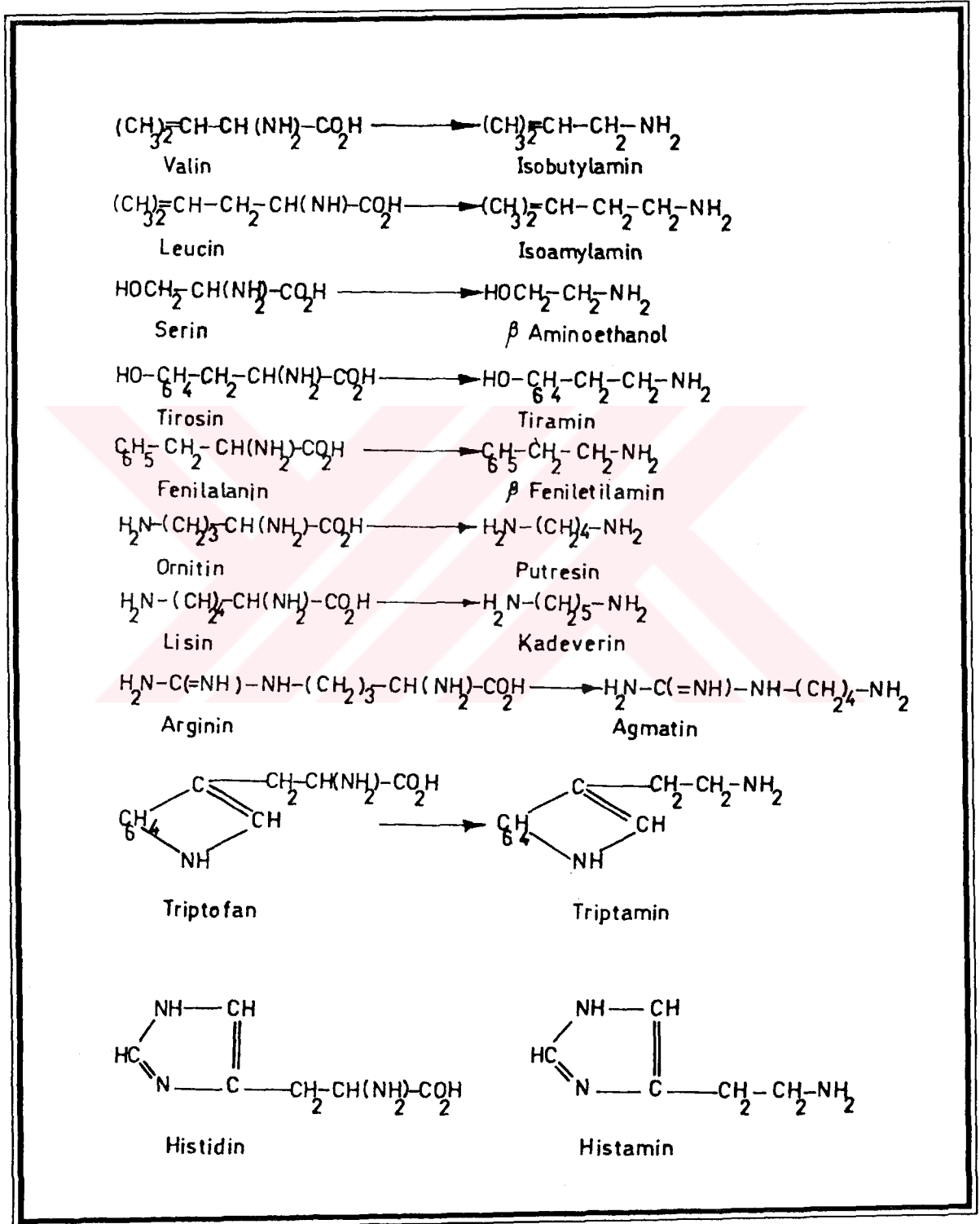
Biyojen aminler, gıdalarda ilgili amino asit üzerinde faaliyet gösteren bazı mikroorganizmaların amino asit dekarboksilaz aktivitesi ile oluşturulur (VECIANA-NOGUES ve ark., 1989).

Biyojen aminlere büyük ölçüde peynir, lahana turşusu ve şarap gibi fermente gıdaların bozulması sonucunda rastlanır (ERGİNKAYA ve VAR, 1989).

Bu aminlerin bazıları veya bunlardan oluşmuş maddeler insanlarda hormon olarak etkili olurlar. Kan sirkülasyonunun regülasyonunda ve transmitter madde olarak sinir sisteminde ve düz kaslarda önemli rol oynarlar. Bunlara örnek; adrenalin, histamin, tiramin, serotonin verilebilir (ASKAR, 1982).

Biyojen aminler vücutta mono ve diamino oksidazları parçalarlar. Diaminooksidaz enziminin herhangi bir ilaç veya alkol tarafından inhibe edilmesi durumunda biyojen amin içeren gıdanın tüketilmesi insanlar için tehlike yarattığı hatta ölüme yol

Tablo 1. Bazı aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu aminlerinin oluşumu (SINELL, 1978)



açabileceği tespit edilmiştir. Bu aminlerin önemi şöyle sıralanabilir (ERGİNKAYA ve VAR, 1989).

- Ürünün kalitesini, özellikle koku ve tadını bozarlar.
- Migrene neden olurlar.
- Gıda içerisinde yer alan aroma maddesinin küflenme ve parçalanmasına yol açarlar.
- Gıdalarda enzimatik olmayan esmerleşmede dolaylı rol oynarlar.
- Birkaç amino grubu, sinir sistemi ve hormonlarda yer alarak fizyolojik fonksiyon gösterirler.

Proteinlerin yıkımlanmasıyla oluşan biyojen aminlerin meydana gelmesinde üç ana yol vardır (SINELL, 1978).

- Azotsuz metabolizma ürünlerinin aminleşmesi
- Amino asitlerin sekonder dönüşümü
- Azotlu bileşiklerin, azotlu parçalanma ürünlerinin hidrolitik çözünmesi.

Amino asitlerden karbondioksitin ayrılmasıyla bu amino asitin amini oluşmaktadır. Bu olay organa özgü enzimlerle olabildiği gibi mikrobiyal olarak da şekillenebilmektedir. Amino asitlerden karbondioksitin ayrılmasına dekarboksilasyon, ilgili enzime de dekarboksilaz ismi verilir (SINELL, 1978).

Dekarboksilasyondan sorumlu dekarboksilazlar hem hayvansal ve bitkisel dokular tarafından hem de mikroorganizmalar tarafından oluşturulurlar. Bakteriler çok fazla dekarboksilaz aktivitesine sahiptirler. Enterobakteriler, *Proteus morganii*, *Kelebsiella pneumoniae* ve *Hafnia alvei*'nin dekarboksilaz aktivitesi olup, özellikle yüksek histidin dekarboksilaz aktiviteleri vardır. Fizyolojik barsak florası bakterileri de amino asitleri dekarboksile ederek, biyojen aminleri oluştururlar (GRAF, 1992).

Bazı amino asitlerden aminlerin oluşumu Tablo 1'de verilmiştir (SINELL, 1978).

Genellikle dekarboksilazlar ya özel olarak bir tek amino aside ya da bir dizi farklı amino asitlere etki ederler. Dekarboksilasyon intermedier metabolizma olaylarında intravitam olarak ceryan eder. Dekarboksilasyonların hemen hepsinde mikrobiyal

proteoliz gözlenmektedir. Çeşitli bakteri cinslerinin amino asitleri dekarboksile etme kabiliyeti çok farklıdır. Bazı türler çok geniş spektruma sahip birçok amino asidi dekarboksile eder bazı türler ise substrata özel dekarboksilaz olup, yalnız bir tek amino aside etki ederler (SINELL, 1978).

Amino asitlerin dekarboksilasyonuna genellikle pridoksal fosfat kofaktör olarak katılır. Böylelikle ilk olarak amino asit ve pridoksal fosfattan bir "Schiff bazı" oluşur. Pridin halkasındaki pozitif yüklenmiş N-atomunun elektron çekici etkisi ile mesomer bir ürün oluşması mümkün olur. Eğer amino asitin alfa-C atomu katyon olarak bir substituenti elimine edilebilirse bu ürün oluşabilir. Bu substituent karboksil grubu veya R artığı olabilir. Mesomer ara ürün C-atomuna bir protonun eklenmesi ve "Schiff bazı'nın primer amine hidrolizi aracılığı ile stabilize olur (GRAF, 1992). Bu nedenden ötürü proteinli yapılarda biyofiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerde biyojen aminlerin oluşumu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu demektir ki proteince zengin ve fermente edilmiş gıda maddelerinin elde edilmesi, işlenmesi, hazırlanması ve depolanmasında bu tip aminler oluşabilir. Biyojen aminlerin oluşumu şu faktörlere bağlıdır (RICE ve ark., 1976).

- Serbest amino asitlerin mevcudiyeti
- Dekarboksilaz aktivitesi yüksek mikroorganizmaların gelişimi ve dekarboksilazların oluşumu için uygun koşulların var olması.

Biyojen aminler parantral alımda çok yüksek toksisite göstermektedirler. Oral alımda ise çok az toksiktirler. Sağlıklı sıcak kanlı organizma öncelikle barsaklarda olmak üzere karaciğer, böbrek ve akciğerlerde aminooksidazları içerir. Bu aminooksidazlar panzehir görevi yaparlar. Barsakta oluşmuş veya besinlerle dışarıdan alınmış biyojen aminler sindirim kanalında ilk önce mukopolisakkaridlere bağlanırlar, böylece alınan miktarın %60'ı resorbe edilir barsak mukozasından geçişte, geniş ölçüde toksinin etkisizleştirilmesi oksidatif deaminasyon, N-metilizasyon veya asetilleşme ile oluşmaktadır. Böylelikle biyojen aminler kaide olarak ait oldukları aldehitlere veya karbonik asitlere dönüşürler. Biyojen aminlerin yüksek dozda alınmasında toksisitenin giderilmesi mekanizması yeterli olmamaktadır (GRAF, 1992).

En önemli aminler adrenalin, noradrenalin ve dopamin gibi feniletilamin derivatlarıdır. Adrenalin dolaşım sisteminde etkili olmaktadır. Adrenalin periferik damarların daralmasına ve kan basıncının aşırı miktarda artmasına neden olur. Adrenalinin en önemli biyokimyasal etkisi gilikojen rezervlerinin mobilizasyonu ile kan glukozunu yükseltmesidir. Dopamin, adrenalin ve noradrenalinin ana substansıdır. Noradrenalin merkezi sinir sisteminde iletim fonksiyonuna sahiptir. Noradrenalinin çok ufak dozları bile kan basıncını yükseltir (GRAF, 1992).

Histamin, serotonin ve tiramin doku hormonlarıdır. Histamin dokularda oluşmaktadır. En önemli etkileri kapillar damarların genişlemesi mide sekresyonunun artması, alerjik reaksiyonların belirmesidir. Histamin organizmada lokal kanamaları regüle edici olarak da etki eder. Serotonin de kan basıncında etkilidir ve barsak mukozasında oluşur, peristaltik hareketleri artırır. Tiramin kan basıncını yükseltir ve düz kasları uyarır (GRAF, 1992).

Biyojen aminlerin insan organizmasında bu fonksiyonlarının yanında başka etkileri de vardır. Aroma ve lezzet maddeleridirler, enzimatik olmayan esmerleşme olayında (mailard reaksiyonu) etkilidir. Alkaloidlerin ana unsurudurlar ve gıdaların kalite kontrolunda tamamlayıcı unsur olarak görev alırlar.

Genellikle aminler dekarboksilasyon ile amino asitlerden oluşur. Ancak bu yoldan başka iki şekilde daha aminlerin oluşması mümkündür. Bu yollar; aldehit ve ketonların aminleşmesi ve azotlu bileşiklerin yıkımlanmasıdır. Aminlerin fizyolojik inaktivasyonunun en önemli yolu, aminooksidaz aracılığı ile oksidatif dezaminasyondur (RICE ve ark., 1976). Aminler önce aldehitlere dönüşür, aldehitler de ya ilgili asitlere dehidre olurlar ya da alkollere redüklenirler (GRAF, 1992).

Biyojen aminlerin belirlenmesi, işleme, olgunlaşma ve depolama sırasında biyokimyasal ve mikrobiyolojik olarak proteinlerde değişimlerin olduğu ürünlerde yapılır (GRAF, 1992).

1.2. Histamin

Histamin; 4(2-amino etil) imidazol L, histidin amino asidinin dekarboksilasyonundan ortaya çıkan bir amindir (TAYLOR, 1986).

Histamin hayvansal dokunun bakteriyel bozulma ürünüdür. Ancak bakteriyel bozulma sonucu tiramin de oluşmaktadır (SINELL, 1978). Lisin ve ornitin yikimlanması ile de kadaverin ve putresin oluşmaktadır. Tiramin özellikle aminooksidaz engelleyici preparatla tedavi edilen kişilerde hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Kadaverin ve putresin histamin ile aynı zamanda alındığında histamin artışını kuvvetlendirici bir etkiye neden olmaktadır (PROEBE, 1979).

Histamin bir yönden yikim olayları indikatörüdür, diğer yönden gıda zehirlenmelerinden sorumlu bir maddedir (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978, PRIEBE 1979; STOCKEMER ve STEDE, 1979).

Birçok ülkede histaminin gıda kaynaklı hastalık olayları ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Histamin; peynir, şarap, lahana turşusu gibi fermente gıdaların normal bir bileşimidir. Mikrobiyal bozulmaya maruz kalan ton balığı gibi belli gıdalarda yüksek konsantrasyonda serbest histidin bulunuşu aynı zamanda büyük miktarda histamin oluşum ihtimalini de artırır (TAYLOR ve ark., 1978).

Gıdalarda bulunan az miktardaki histamin, tüketici için sağlık tehlikesi oluşturmaz. Fakat önemli ölçüde histamin oluşturma kapasitesine sahip *Proteus morganii* gibi belli mikrobiyal türler işleme sırasında bozulmaya olanak sağlar ve histamin içeriği sağlığa zararlı düzeye çıkabilir (TAYLOR ve ark., 1978).

Balıkta histaminin bulunuşu histamin zehirlenmesi yapmasının yanında balık bozulmasının da bir göstergesidir.

Taze balıkta biyogen amin içeriği çok düşüktür ve biyogen amin bulunuşu bozulmayla ilgilidir. Bu nedenle histamin, tiramin ve genelde tüm biyogen aminler özellikle balık ve balık ürünlerinde kalite belirleyicisi ve mikrobiyal bozulma indeksi olarak kullanılır (VECIANA-NOGUES ve ark., 1989; VIDAL-CAROU ve ark., 1990).

Balıkta bozulmanın teşhis edilmesi uzun süre bir problem olmuştur. Balık bozulmasını teşhis eden en yaygın ve en hızlı yöntem, duyuusal yöntemdir. Fakat bu yöntem, bozulmayı kesin olarak tayin edebilecek deneyimli kişilere ihtiyaç gösterdiğinden, kimyasal bir yöntemin bulunması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Bozulmayı tayin edecek bir kimyasal yöntem bulmak için birçok araştırma yapılmıştır. Kimi araştırmacılar uçucu asitleri bozulma indeksi olarak alırken, kimisi lipid değişimleri, yağ asidi kompozisyonu, uçucu bazlar, uçucu indirgen maddeler, nükleotid yıkım ürünleri ve diğer kimyasalları bozulma göstergesi olarak almışlardır. Son zamanlarda da uçucu aminler, dimetilamin ve trimetilamin gibi çeşitli aminler üzerinde durulmuştur (MEITZ ve KARMAS, 1977).

Histamin düzeyleri ve balık bozulması arasındaki ilişki ilk olarak GIEGER tarafından incelenmiştir (HUI ve TAYLOR, 1988). Ton balığında bir kimyasal bozulma belirleyicisi bulmak amacıyla yapılan bir çalışmada histamin, putresin ve kadaverin miktarının bozulmayla birlikte arttığı gözlenmiştir (MEITZ ve KARMAS, 1977).

Histamin genellikle taze balıkta 50 ppm'den daha az düzeylerde mevcuttur (WALTERS, 1984; GOUYGOU, 1987).

Bu aminin gıdalarda yüksek düzeylerde bulunması histamin zehirlenmesine neden olmasından dolayı bazı ülkeler yasal düzenlemeler yaparak, belli gıdalar ve özellikle balık ve balık ürünleri için maksimum kabul edilebilir histamin içeriğini belirlemişlerdir (VIDAL-CAROU ve ark. 1990).

GOUYGOU (1989) maksimum kabul edilebilir düzeyi 100 ppm olarak belirtirken, TAYLOR ve ark. (1978) toksik olarak kabul edilen minimum konsantrasyonu 1000 ppm olarak belirtilmiştir. VECIANA-NOGUES ve ark. (1989) ise kabul edilebilir maksimum limitlerin ülkeden ülkeye değişebileceğini (10 ila 1000 ppm arasında) belirtmişlerdir.

İntoksikasyonun klinik belirtilerinin başlaması için bir yemekte 70-1000 mg histamin alınması gerekir (TAYLOR ve ark., 1978).

İnsanlarda 8-40 ppm histamin hafif, 70-1000 ppm histamin 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 yenmesinden sonra herhangi bir zehirlenme belirtisi görülmediğini, ancak 50-100 ppm konsantrasyonda histamin içeren balıkların yenmesinde hassas yapılı insanlarda hafif, 100-1000 ppm histamin konsantrasyonu belirgin bir toksik etki gösterdiği bildirilmektedir. İnsanlarda 80 ppm histamin konsantrasyonu toksik düzeydir (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Taze ve işlenmiş çeşitli balık türlerinin tüketimiyle ortaya çıkan bazı gıda zehirlenmesi olayları belirtilen ürünlerdeki yüksek histamin düzeyleri nedeniyle olmuştur.

Histaminin toksik etkilerinin ortaya çıkması *Scombridae* (ton, uskumru, palamut, ıspanyol uskumrusu) ve *Scomberesocidae* (zurna balığı) familyalarına ait balıkların tüketimiyle ilgilidir. Çünkü bu balıklar kas dokularında yüksek düzeyde serbest histidin amino asidi içerirler. Histamin zehirlenmesi bu balıkların tüketimiyle sık sık ortaya çıktığından eskiden "Scombridae" veya "Scombrototoxic" balık zehirlenmesi olarak isimlendirilmiştir. Bununla birlikte scombroid olmayan balıkların ve hatta diğer gıdaların da bu tip zehirlenmeye sebep olması nedeniyle bunun yerine "Histamin Zehirlenmesi" ifadesi tercih edilmiştir (TAYLOR, 1985; TAYLOR, 1988).

Histamin zehirlenmesi dünyada belli tip balıkların çok tüketildiği ülkelerde yaygın olmuştur. Histamin zehirlenmesinin belirtilerine benzer bir hastalık 1800'lerde balık tüketimiyle ortaya çıkmıştır. O tarihlerde histamin zehirlenmesi henüz teşhis edilmemiştir. Histamin zehirlenmesini ilk olarak Japon bilim adamları teşhis etmişlerdir. Japonya'da 1950'lerden beri histamin zehirlenmesi olayları kaydedilmiştir.

Diğer ülkelerde histamin zehirlenmesi teşhisi 1970'lere kadar başlamamıştır. 1970'den sonra zehirlenme olaylarını en çok belirten ülkeler; Japonya, Amerika Birleşik Devletleri ve İngiltere olmuştur. Kanada, Yeni Zelanda, Fransa, Almanya, Norveç, İsveç, Çekoslovakya, Hollanda, Avustralya, Sri-Lanka, Endonezya, Güney Afrika ve Mısır dahil çeşitli ülkelerde histamin zehirlenmesi olaylarına daha az rastlanmıştır (TAYLOR, 1986).

Histamin zehirlenmesi, Japonya'da 1350'lerde gıda kaynaklı hastalığın esas nedeni olarak teşhis edilmiştir. KAWABATA ve ark (1956) 1951'den 1954'e kadar Japonya'da olan 14 histamin zehirlenmesi olayı hakkında epidemiyolojik bilgi yayınlamıştır. Bu 14 olaydan 11'i kurutulmuş balık yenmesiyle, kalan 3 olay ise konserve balık yenmesiyle ortaya çıkmıştır.

Japonya'da histamin önemli bir gıda kaynaklı hastalıktır. Tablo 2'de Japonya'da 1970-1980 periyodunda histamin zehirlenmesi olaylarının bir özeti verilmektedir (TAYLOR, 1986).

Fransa'da histamin zehirlenmesi olayları 1940'lardan sonra kaydedilmiş olup yıllarda bu olaylar en çok ton balığının yenmesiyle ortaya çıkmıştır. 1956'da Fransa'da olan büyük bir zehirlenme olayında 500 kişi etkilenmiştir. Yine Fransa'da 1980'den 1983'e kadar 10 olay olmuş, bu olayların 5'inden ton balığı, 5'inden sardalya, ringa, gravyer peyniri sorumlu olmuştur.

Tablo 2. Japonya'da 1970-1980 periyodunda görülen histamin zehirlenmesi olaylar (TAYLOR, 1986).

Yıl	Olay Sayısı	Sorumlu Gıda (Olay Sayısı)
1970	5	Uskumru (2) İstavrit (1) Ton (1) Bilinmeyen (1)
1971	2	Ton (1) Uskumru (1)
1972	4	Ton (2) Uskumru (1) Tavuk (1)
1973	3	İstavrit (2) Hamsi (1)
1974	1	Kamaboko (1)
1975	7	Ton (3) Uskumru (1) İspanyol Uskumrusu (1) Sardalya (1) Scombroid balık (1)
1976	4	Ton (2) Uskumru (1) Scombroid Balık (1)
1977	3	Ton (1) Sardalya (1) Kılıç (1)
1978	2	Ton (1) Uskumru (1)
1979	7	Ton (5) Kılıç (1) Yunus Balığı (1)
1980	4	Ton (2) Uskumru (1) Sardalya

I.3. Histamin Zehirlenmesi

Histamin zehirlenmesi, genellikle yüksek düzeylerde histamin içeren gıdaların alınmasıyla ortaya çıkan gıda kaynaklı bir intoksikasyondur. Hastalık bir intoksikasyon olduğu için inkübasyon süresi çok kısadır. Bu süre yemeğin alınmasından sonra birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişir. Hastalığın süresi de kısadır. Birkaç saat içerisinde belirtiler yavaşlar. Fakat bazen bu belirtiler birkaç gün sürebilir (TAYLOR, 1986).

Histamin zehirlenmesi genellikle oldukça hafif bir hastalıktır. Genel belirtileri; deride kırmızı lekeler, kızarma, terleme, ağızda yanma ve kabarma hissidir. Pek sık rastlanmayan diğer belirtiler ise, mide bulantısı, kusma, diare, mide ağrısı, baş ağrısı, dilin şişmesi, yüzün şişmesi ve baş dönmesidir (EDMUND ve EITENMILLER, 1975; TAYLOR, 1986). Bu belirtiler müşterek olarak görülebildiği gibi tek tek de oluşmaktadır. Ölüm olayı ise çok nadirdir (SINELL, 1978).

Histamin zehirlenmesinin belirtileri kesin değildir. Belirtilerin çoğu gıda kaynaklı veya gıda kaynaklı olmayan diğer hastalıklardan olmuş olabilir. Histamin zehirlenmesi teşhisde sık sık gıda alerjileriyle karıştırılır. Gıda alerjilerinde ve histamin zehirlenmesinde aynı belirtiler görülür ve antihistaminler her iki hastalığın tedavisinde de aynı etkiyi gösterir (TAYLOR, 1986).

I.4. Histaminin Etkileri

Histamin güçlü bir biyolojik işleve sahiptir. Histamin alerjik bir reaksiyon sırasında mast hücrelerinden bırakılan bir kimyasaldır. Toksik potansiyelinden dolayı alerjki reaksiyonlarda aracı görevi görür (TAYLOR, 1986).

Histamin, mide asidinin salgılanması gibi fizyolojik fonksiyonlara da sahiptir. Küçük dozajlarda histamin fizyolojik açıdan bir gerekliliktir, fakat dozaj arttığında toksik etki gösterir (TAYLOR, 1986).

Toksisitesine rağmen histamin vücut için yabancı bir madde değildir. Vücutta histaminin çoğu özel hücrelerde depolanır. Büyük histamin deposu mast hücreleridir ve mast hücreleri çoğu dokularda bulunur. Diğer bir histamin deposu ise kan basofilidir. Mast hücreleri ve basofiller histamin sentez ederler (TAYLOR, 1986).

Histamin, kardiovaskular sistem üzerinde de etkilidir. İnsanda histaminin vaskular sistem üzerindeki etkisinin bir sonucu, hipotansiyon yüz yanması ve baş ağrısı oluşur. Ayrıca histamin kapillar geçirgenliğin artmasını da uyarır ve bunun sonucunda ödem, ürtiker ve kan vizkozitesinde artış olur. Yüksek konsantrasyonda histamin alınması şok da yapabilir (TAYLOR, 1986).

Histamin kalp üzerinde de direk uyarıcı etkisi vardır. Kalp kontraksiyonunu artırır. Ekstra vaskular düz kasların kontraksiyon ve relaksasyonuna neden olabilir. İnsanda histaminin esas görevi kontraksiyondur. Düz kas kontraksiyonu özellikle görülür, çünkü histamin başlangıçta mide-barsak sistemine girer. İntestinal düz kas kontraksiyonu karın kramplarına, ishale ve kusmaya neden olur (TAYLOR, 1986).

Histamin aynı zamanda duyu ve motor sinirlerinin etkili bir uyarıcısıdır. Bu uyarı ağrı ve acı oluşumunda önemlidir. Ayrıca histamin merkezi sinir sisteminde bir sinir ileticisidir (TAYLOR, 1986).

I.5. Histamin Oluşumuna Neden Olan Mikroorganizmalar

Gıdalarda histamin, histidin dekarboksilazın katalizlediği bir enzimatik dekarboksilasyon ile L-histidin amino asidinden oluşur. Eskiden histamin oluşumunun otolitik bir işlem olduğu düşünülürdü, halbuki bugün gıdalarda histamin oluşumunun histidin dekarboksilaz enzimi içeren bakterilerin gelişmesinin bir sonucu olduğu bilinmektedir. Scombroid balıklar genellikle kas dokularında büyük miktarda serbest histidin bulundurmaları nedeniyle histamin zehirlenmesi yaparlar. Bu serbest histidin, bakteriyel histidin dekarboksilaz için bir substrat olarak hizmet eder. Otolitik veya bakteriyel proteolizis doku proteinlerinden serbest histidinin bırakılmasında bir rol oynayabilir (TAYLOR, 1986).

Histidin dekarboksilaz bakteriler arasında geniş bir şekilde dağılmamıştır. Enzim *Enterobacteriaceae* / özellikle *Proteus* türleri) *Clostridium* ve *Lactobacillus*'ların belli türlerinde bulunur. *Klebsiella pneumoniae* ve *Lactobacillus buchneri* gibi diğer türlerin yalnızca birkaç suşunda mevcut iken *Proteus morganii* gibi bazı türlerin bütün suşlarının histidin dekarboksilaz içerdiği görülür (TAYLOR, 1986). Dekarboksilazlar normalde yüzey mikroflorasından köken alan bakterilerce oluşturulurlar (KIMATA ve TANAKA, 1954).

Histamin oluşumuna neden olan en önemli bakteriler Enterobakterilerdir. *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei* histamin oluşumuna katkıda bulunan en önemli bakterilerdir.

BEHLING ve TAYLOR (1982) histamin oluşumuna katılan bakterileri iki katagoride incelemişlerdir. Birincisi büyük miktarlarda histamin oluşturabilen türler, ikincisi az miktarlarda histamin oluşturabilen türlerdir. *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii* ve *Escherichia coli* az miktarda histamin oluşturabilen türlere dahil olurken, *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterobacter aerogenes* fazla histamin oluşturabilenler katagorisine dahil olmuştur.

Çeşitli mikroorganizmaların dekarboksilaz aktiviteleri araştırılmış ve histamin oluşumuna en sık neden olan bakterilerin *proteus* türleri olduğu görülmüştür. *Proteus*ların optimum gelişme koşulları 20°C sıcaklık ve 6-7 pH'dır. Ancak bunun dışında diğer mikroorganizmalarda histidin dekarboksilasyonunda rol alırlar (KIETZMANN ve ark., 1969; LUDORFF ve MEYER 1973; WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Histidin dekarboksilaz oluşturduğu bilinen bakteriler *Clostridium*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Vibrio*, *Proteus*, *Aeromonas* ve *Photobacterium*'dur (OKUZUMI ve ark., 1981).

Scombroid ve diğer balıklarda histamin oluşturmaktan sorumlu esas bakteri *Proteus morganii*'dir. Fakat aynı zamanda *Proteus vulgaris* ve *Proteus mirabilis* de histamin oluşumundan sorumludur. *Proteus*ların ve özellikle *P.morganii*'nin bulunuşu histamin zehirlenmesinin bir kriteridir (KIMATI ve KAWAI, 1953).

FRANK ve Ark. (1983) ton balığından *P.vulgaris*, *P.mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio algnolyticus*'u izole etmişler ve histamin oluşturduğunu bulmuşlardır.

TAYLOR ve ark. (1979) ton balığından yapılan sashimi'den *Klebsiella pneumoniae* izole etmişler ve sashimi ile ilgili balık zehirlenmesi olaylarından sorumlu bakterinin *K.pneumoniae* olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Başka çalışmalarda da *Acinetobacter iwoffii*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter sp.*, *Hafnia alvei*, *Proteus morganii*, *P.mirabilis*, *P.Vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Vibrio algnolyticus* izole edilmiş ve hepsinin de histidin dekarboksilaz aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (MIDDLEBROOKS ve ark. 1988; FRANK ve ark., 1983).

BEUTLING (1987)'in yaptığı bir çalışmada da *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve diğer *Pseudomonas* türleri ile *Citrobacter freundii*'in yoğun şekilde histamin oluşturduğunu fakat aynı zamanda *Salmonella arizona*, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli*, *Aeromonas* ve *Achromobacter*'lerin de histamin oluşumuna katıldığını tespit etmişlerdir.

YOSHINAGA ve FRANK (1982) ise histidin içeren kültür ortamında histamin oluşturan izolatlar olarak *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Vibrio algnolyticus*'u teşhis etmişlerdir.

Bakteriyel türlere ve çevresel gelişme parametrelerine bağlı olarak 19-30°C'de en fazla histamin oluştuğu saptanmıştır (ARNOLD ve ark., 1980). Ayrıca, 4 ve 6°C'lerde histamin oluşumunun çok düşük düzeylerde olduğu da ifade edilmiştir (KIMATA ve KAWAI, 1953; EDMUND ve EITENMILLER-, 1975).

Buna karşın 5°C'de gelişip 30°C'de gelişemeyen ve histamin oluşturma kabiliyetine sahip bakteriler de vardır. Bu bakteriler için herhangi bir genus teşhis edilmediğinden, N-grup bakteriler olarak isimlendirilmişlerdir. Deniz suyunda her zaman görülebilen bu bakterilerle deniz balıkları kontamine olabilir ve avlamadan sonraki soğuk depolama süresinde balıkta histidinden histamin oluşumuna neden olabilirler. Gıda hijyeni açısından bu bakteriler çok önemlidir.

N-grup bakterileri balıktan büyük miktarda izole etmek güçtür. Çünkü balıktaki toplam bakteri sayısının %1'inden azdırlar ve izole edilebilmeleri için seçici bir ortam yoktur (OKUZUMI ve ark.,1982).

I.6. Histamin Zehirlenmesine Neden Olan Gıdalar

Biyojen amin içeren çeşitli gıdalar histamin zehirlenmesi yapabilmektedir. Çeşitli gıda maddelerinde bulunan biyojen aminlerin miktarları Tablo 3'de verilmiştir (SINELL, 1978).

Histamin zehirlenmesine neden olan gıdalar ve etki şekilleri kısaca şöyledir.

I.6.1. Balık ve Balık Ürünleri

Balık histamin zehirlenmesi olaylarında adından en sık söz edilen gıdadır (TAYLOR, 1986). Balıklardaki protein parçalanması, fazla miktardaki proteolitik enzimlerin yüksek aktivitesi ile çok kolaylaşmaktadır. Balık etinin bu enzim zenginliği, balıklardaki enzimatik olgunlaşma olayını hızlandırmaktadır. Balık etinin hem enzimatik olgunlaşmasıyla, hem de az veya çok bakteriyel yıkım olaylarıyla protein parçalanma ürünleri olan amino asitler farklı miktarlarda ortaya çıkarlar. Bu amino asitlerden biri de histidin olabilmektedir (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978 VARLIK ve ark., 1992).

Balıklarda proteinlerin parçalanmasıyla biyojen aminler ve biyotoksinler olarak bilenen toksik maddeler oluşur ve bu oluşan biyojen aminlerden birisi de histamindir (KIETZMANN ve ark., 1969; İNAL, 1988; VARLIK ve ark. 1992).

Histamin zehirlenmelerinde adından en çok söz edilen balıklar Tablo 4'de verilmiştir (TAYLOR, 1986).

Scomberesocidae ve *Scombridae* familyalarına ait Scombroid denen balıklar histamin zehirlenmelerinde çok görülür. Çeşitli ton balığı türleri, skipjack, palamut, uskumru, ispanyol uskumrusu, mavi yüzgeçli ton balığı scombroid balıklar katagorisine dahildirler (EDMUND ve EITENMILLER-1975; TAYLOR, 1986; MIDDLEBROOKS ve ark., 1988; VECIANA-NOGUES ve ark., 1988).

Histamin herşeyden önce ton balığı ve sardalyalarda düşündürücü konsantrasyonda oluşmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978; PRIEBE, 1979; STOCKEMER ve STEDE, 1979).

Ton balığının kan ve organlarında oldukça fazla miktarda serbest histidin bulunmaktadır. Ton balığından başka hamsi, ringa, sardalya, kalkan, balina, som balığı, alabalık, pisi balığı, morina balığı, bazı midye çeşitleri, karides, yengeç ve salyangoz da serbest histidin içermektedir. Ayrıca domuzun et, süt ve kanı, şarap, çeşitli peynir cinsleri, maya ekstraktları, sosis, lahana turşusunda da serbest histidin bulunduğu bildirilmektedir (VARLIK ve ark. 1992).

Dünyada histamin zehirlenmesi olaylarında en çok görülen balık türü ton balığı ve uskumrudur. Çünkü bunlar diğer scombroid balıklara nazaran daha çok tüketilmektedir (TAYLOR, 1986).

Kanlı koyu kırmızı renkli kas kısımlarının oldukça fazla olmasının dışında, çok fazla miktarda serbest histidin içermesi uskumru cinsi balıklar için tipiktir. Diğer balıkların ve uskumru cinsi balıkların beyaz etli kısmının aksine myoglobin, yağ ve histidin yönünden zengin koyu kırmızı renkli et kısmı ortalama üç kez daha fazla proteolitik aktivite göstermektedir. Bu da fazla miktarda koyu kırmızı renkli et kısmı içeren balıklarda lezzet değişimi olarak gözlenen histamin oluşması için, serbest amino asit olan histidinin mevcudiyeti şarttır. Oluşan histamin miktarı da substrat olarak bulunan serbest histidin miktarına bağlıdır. Balıklarda histidinin histamine dekarboksilasyonu çok hızlı olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978).

Scombroid olmayan balıkların belli türleri de histamin zehirlenmesi yapabilir. Zehirlenmeye neden olan scombroid olmayan balık türleri ülkeye göre değişim göstermektedir. Bu da ülkelerin tüketim alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır. Örneğin Amerika Birleşik Devletlerinde histamin zehirlenmesine en çok neden olan balık yunus balığı (*Coryphaena hippurus*)dır. Oysa diğer ülkelerde yunus balığından kaynaklanan histamin zehirlenmesi olayı yok denecek düzeydedir. Çünkü bu balık Amerika'da yaygın olarak diğer ülkelerde ise çok az tüketilmektedir (TAYLOR, 1986).

Almanya ve Japonya'da histamin zehirlenmesine en çok neden olan balık sardalya, İngiltere'de ise ringa'dır.

Tablo 3. Çeşitli gıda maddelerinde bulunan bazı biyojen aminlerin miktarları (SINELL, 1978)

Gıda Maddesi	Seratonin (µg/g)	Tyramin (mg/g)	Dopamin (mg/g)	Norepinephrin (mg/g)	Histamin (µg/g)
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 sosu	-	1,76	-	-	-
Bira	-	1,8-11,2	-	-	-
Şarap	-	0-25	-	-	-
Maya ekstraktı	-	0-2256	-	-	210-2830
Çedar	-	0-1500	-	-	0-1300
Kammembert	-	20-2000	-	-	0-480
Emmentalar	-	225-1000	-	-	-
Rokfor	-	27-1100	-	-	0-2300
Parmesan	-	4-290	-	-	0-58
Et ekstraktı	-	95-304	-	-	-
Sığır karaciğeri	-	274	-	-	-
Tavuk karaciğeri	-	100	-	-	-
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

**Tablo 4. Histamin zehirlenmesi yapabilen bazı balık türleri
(TAYLOR, 1986)**

Genel İsim		Bilimsel İsim
	Familiya	Cins ve Tür
Sarı yüzgeçli orkinos	Scombridae	Thunnus albacares
Mavi yüzgeçli orkinos	"	Thunnus atlanticus
Mavi yüzgeçli orkinos	"	T.maccoyii
Büyük göz orkinos	"	T.obesus
Mavi yüzgeçli orkinos (Atlantik)	"	T.thynnus thynnus
Uzun kuyruk orkinos	"	T.tonggol
Skipjack orkinos	"	Ethynnus pelamis
Little tunny	"	E.alletteratus
Black skipjack	"	E.lineatus
Selender orkinos	"	Allothunnus fallai
Bullet tuna	"	Auxis rochei
Gobena balığı	"	A.thazard
Palamut	"	Sarda sarda
İndo-Pasifik palamut	"	S.orientalis
Doğu pasifik palamutu	"	S.chiliensis
Avustralya palamutu	"	S.australis
Uskumru	"	Scomber scombrus
Kolyos	"	Scomber japonicus
Kral uskumru	"	Scomberomorus cavalla
İspanyol uskumrusu	"	S.maculatus
Zurna balığı	Scomberesocidae	Scomberesox saurus
Pasifik zurna b.	"	Colobalis saira
Lüfer	Pomatomidae	Pomatomus saltator
Yunus balığı (lambuka)	Corphaenidae	Corphaena hippurus
İstavrit	Carangidae	Trachurus trachurus
Sarı kuyruk	"	Seriola dorsalis
Sarı kuyruk	"	S.dumerilii
Ringa	Clupediae	Clupea harengus harengus
Çaça		C.sprattus
Sardalya		Sardine pilchardus
Hamsi	Engraulidae	Engraulis encrasicolus

1.6.2. Et ve Et Ürünleri

Et ürünlerinde histamin düzeyleri hakkında fazla bir bilgi yoktur. TAYLOR ve ark (1978) çeşitli gıdalarda histamin düzeylerini araştırmışlar sığır eti, domuz eti, hindi eti gibi etlerde histamini çok düşük düzeylerde bulmuşlardır. Bununla birlikte sosisler bazen yüksek düzeyde histamin içerebilir. sosislerde histamin oluşumunda fermentasyon önemli bir rol oynar. Yarı kuru sosisler laktik asit kültürlerinin ilavesiyle kısa bir süre için fermente edilirken, kuru sosisler daha uzun sürede doğal mikroflora tarafından fermente edilir. Bu sosislerin olgunlaşma işlemi sırasında ve özellikle olgunlaşmanın ilk üç gününde histamin konsantrasyonu artar. Fermente sosislerde histamin konsantrasyonu olgunlaşma işleminin süresine bağlı olarak değişir. Fermentasyon koşulları da oluşan histamin miktarını etkileyebilir. Histamin miktarı fermentasyon koşullarıyla kontrol edilebilir. Histamin oluşumu fermentasyonun ilk devrelerinde istenmeyen bakterilerin bulunuşu nedeniyle olduğundan çok sıkı kalite kontrol işlemlerini halk sağlığı açısından gerekli kılmaktadır (TAYLOR ve ark., 1978).

Bozulmuş et ürünlerinde amin miktarı fazladır ve etlerde biyojen amin içeriği bir kalite kriteri olmalıdır (LAKRITZ ve ark., 1975; SLEMER, 1981).

1.6.3. Peynir

Peynirlerin çoğu histidin amino asidini histamine dönüştürebilen histidin dekarboksilaz aktivitesine sahiptir. Peynirlerde biyolojik olarak aminlerin oluşumunda esas faktör, dekarboksilasyon için serbest amino asitlerin bulunuşudur. Peynirler oksidaz aktivitesine sahip olmadığından daha düşük düzeylerde amin içerirler ve amin içerikleri oksidaz kabiliyetine sahip süt ürünleri starterleri kullanılarak kontrol edilebilir (VOIGT ve EITENMILLER, 1978).

Histamin zehirlenmesi olaylarında peynirin potansiyel bir rolü vardır. Peynirle ilgili ilk histamin zehirlenmesi olayı Hollanda'da Gouda peynirinin yenmesinden sonra çıkmıştır. Fakat en önemli olay 1978'de Amerika'da swiss peynirinden kaynaklanan ve 38 kişiyi etkileyen bir olaydır. Swiss peyniri ile ilgili ikinci bir olay yine Amerika'da görülmüş ve bu olaydan 6 kişi etkilenmiştir. Fransa'da da gravyer peynirinin yenmesiyle ortaya çıkan bir olaydan söz edilmiştir (TAYLOR, 1986).

Çeşitli peynirlerin histamin ve tiramin içerikleri Tablo 5'de verilmiştir (VOIGT ve EITENMILLER, 1978).

Peynirin olgunlaşması sırasında proteolitik enzimler vasıtasıyla kazein yavaş yavaş parçalanır. Bu da daha sonra serbest amino asit içeriğinin artmasına neden olur. Fakat bazı amino asitler sonradan yıkım reaksiyonlarına uğrayabilir. Dekarboksilasyon böyle bir reaksiyondur. Spesifik bakteriyel dekarboksilazlar tarafından dekarboksilasyon reaksiyonu katalizlenir ve sonuçta karbondioksit ve bir amin oluşur. Bu oluşan aminler biyojen aminlerdir. Peynirlerde bulunan en önemli biyojen aminler tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin, feniletilamin'dir. Genellikle peynirler çok fazla amin içermezler fakat bazen de yüksek düzeylerde bulunabilir. Amince zengin peynirlerin tüketimi intoksikasyona sebep olur (JOOSTEN ve STADHOUDERS, 1987).

Yapılan birçok çalışmada süt ürünlerinde spesifik bir ortamda, bir veya iki amino asidi dekarboksile etme kabiliyetinde olan birçok bakterinin geliştiği bulunmuştur. Örneğin *Lactobacillus buchneri*'nin bir suşu histidin dekarboksilaz içerirken, çoğu Enterokoklarında tirozin dekarboksilaz aktivitesi olduğu bulunmuştur. Çoğu koliform bakteriler de putresin ve kadaverin oluşturabilmektedir (JOOSTEN ve STADHOUDERS, 1987).

Yapılan birçok çalışmada süt ürünlerinde spesifik bir ortamda, bir veya iki amino asidi dekarboksile etme kabiliyetinde olan birçok bakterinin geliştiği bulunmuştur. Örneğin *Lactobacillus buchneri*'nin bir suşu histidin dekarboksilaz içerirken, çoğu Enterokoklarında tirozin dekarboksilaz aktivitesi olduğu bulunmuştur. Çoğu koliform bakteriler de putresin ve kadaverin oluşturabilmektedir (JOOSTEN ve STADHOUDERS, 1987).

Peynirlerde biyojen amin bulunuşu büyük ölçüde çiğ sütün mikrobiyal kalitesine bağlıdır. Eğer pastörize edilmemiş süt kullanılırsa laktobasillerle kontaminasyonu önlemek güçleşir. Bu bakteriler olgunlaşmanın ilk devrelerinde kolayca çoğalır (JOOSTEN ve NORTHOLT, 1987).

**Tablo 5. Bazı peynir cinslerinin tiramin ve histamin içerikleri
(VOIGT ve EITENMILLER, 1978)**

Peynir	Tiramin (mg/g)	Histamin (mg/g)
Çedar	0.27	0.21
Colby	0.21	0.07
Edam	0.31	-
Gouda	0.29	0.08
Swiss	0.41	-
Roquefort	0.36	0.05
Cammembert	0.12	0.07
Limburger	0.12	-
Permesan	0.28	-
Mozarella	0.16	-
Gourmandise	0.09	0.15
Danbo	0.62	-
Port-Salut	0.15	-
Bour Sault	0.11	-

Sütte çok düşük düzeyde bulunmasına rağmen, peynirde özellikle çok uzun bir olgunlaşma periyodundan sonra oldukça yüksek düzeylerde serbest amino asit bulunur. Bu çoğalma parakazein üzerine birçok enzimin hidrolitik aktivitesi nedeni ile olur. Peynirlerde histamin oluşumu üzerine sıcaklık, tuz konsantrasyonu, su içeriği, peynirin mikroflorası, pıhtılaştırıcı enzimler ve pastörizasyonun önemli etkileri vardır (JOOSTEN, 1988).

1.6.4. Şarap

Şaraplarda histaminin bulunuşu, alkol fermentasyonunda kullanılan maya, malolaktik fermentasyon bakterisi ve kontaminant mikroorganizmalarla ilgili bir olaydır (VIDAL-CAROU ve ark., 1989).

Alkol, aminlerin barsak duvarından geçişini kolaylaştırarak histaminin etkisini kuvvetlendirebilir. Histamin içeren şarap ve peynirin birlikte alınması histamin zehirlenmesine sebep olur (JOOSTEN, 1988).

Şaraplarda histamin tayini için çok az sayıda metod bulunmaktadır.

1.7. Histamin Oluşumunun Kontrolü

Gıdalarda histamin oluşumunu kontrol etmek için bazı önlemler alınabilir. Düşük depolama sıcaklığı ve hijyenik uygulamalar bu önlemlerin başında gelir.

1.7.1. Balığın Düşük Sıcaklıkta Depolanması

Balık endüstrisinde avlamadan sonra balığın düşük sıcaklıkta depolanması, bakteriyel histamin oluşumunu kontrol eden en önemli faktördür.

Histamin oluşumuna katkıda bulunan bakteriler balığın solungaçlarında ve barsaklarında bulunur. Yüksek sıcaklıkta depolamanın uzaması durumunda kas dokusuna bakterilerin geçişi ile doku histidininin histamine dönüşmesi söz konusudur (BEHLING ve TAYLOR, 1982; TAYLOR, 1986).

Depolama sıcaklığının ortamdaki bakteriyel histamin oluşumu üzerinde önemli bir etkisi vardır. ARNOLD ve ark. (1980) *P.morganii* ve *P.vulgaris* tarafından histamin oluşumunun 30°C'de optimum olduğunu ve 7°C'de bu oluşumun geciktirildiğini belirtmişlerdir. BEHLING ve TAYLOR (1982) *P.morganii* ve *K.pneumoniae* ile benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Histamin oluşumuna katkıda bulunan bakterilerin çoğu mezofiliktir ve düşük sıcaklıkta depolamayla gelişmeleri etkin bir şekilde kontrol edilebilir. Bununla birlikte psikrofil bakteriler de histamin oluşumuna katılabilirler (OKUZUMI ve ark., 1981).

Değişik tip balıklarda histamin oluşumu üzerine depolama sıcaklığının etkisi üzerine yürütülmüş birçok çalışmada 0°C veya altında depolanan balıkta önemsenmeyecek kadar az miktarda histamin oluştuğu gözlenmiştir. Balıkta histamin oluşumu için optimum sıcaklık limiti değişebilir. Bu limit 15-20°C olabildiği (KIMATA ve KAWAI, 1953) gibi 30-38°C de olabilir (FRANK ve YOSHINAGA, 1981). Buna karşın 0-10°C depolama sıcaklıklarında da önemli miktarda histamin oluşabilmektedir (STEDE ve STOCKEMER 1981).

BEHLING ve TAYLOR (1982) histamin oluşumunda sıcaklığın etkisini araştırdıkları bir çalışmada *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii* ve *Escherichia coli* ile çalışmışlar ve 15,30,37°C'lerde *P.morganii* ve *K.pneumoniae*'nin büyük miktarlarda histamin oluşturduğunu ve oluşumun 37°C'de en hızlı olduğunu bulmuşlardır. Aynı çalışmada 30 ve 37°C'de *H.alvei*, *C.frenundii* ve *E.coli* toksikolojik olarak önemli düzeyde histamin oluşturmuşlardır.

Sıcaklık histamin oluşumunu etkileyen önemli bir faktör olduğuna göre, avlamadan sonra derhal buzlama veya yaklaşık -1°C'ye soğutulmuş deniz suyunda depolama ve daha sonra dondurma uygulamaları ile histamin oluşumu kontrol edilebilir.

1.7.2. Hijyenik Uygulamalar

Histamin oluşumuna katkıda bulunan mikroorganizmalar balığın deri solungaç, barsak ve kas dokularında bulunur ve bunlar balığın normal mikroflorasını oluşturur. Fakat *P.morganii* ve *K.pneumoniae* gibi histamin oluşumu ile ilgili Enterobakteriler deniz suyunun normal mikroflorasına dahil değildir. Balığın mikroflorası genellikle onun aquatic çevresinin mikroflorasını yansıtır. Yeni yakalanmış bir deniz balığının tipik mikroflorasını *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Vibro*, *Micrococcus*, *Bacillus* ve *Coryneformlar* oluşturur (TAYLOR, 1986).

Avlandıktan sonra balıkçı teknesinde, işleme ünitesinde ve dağıtım sisteminde balığın, histamin oluşturan bakterilerle kontaminasyonu mümkündür. Bu nedenle histamin oluşumu her aşamada hijyenik uygulamalarla kontrol edilebilir.

Orkinos, uskumru, hamsi gibi histidini fazla miktarda içeren balıklardan yapılmış konservelerin yenmesinden sonra histamin zehirlenmesinin görülmesi bu balıkların hijyenik koşullarda işlenmemiş ve yeterli derecede soğutulmamış olmasından kaynaklanmaktadır. Diğer bir deyişle bu balıklarda histamin konserveye işlenmeden önce oluşmakta ve histamin ısıya karşı dirençli olduğundan oluşan histamin konserveye mevcut olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978; SINELL, 1978; SCHULZE ve ARK, 1979).

Orkinos balıklarında histamin oluşumunu önlemenin bir yolu da, orkinos balığı yakalandıktan sonra hemen kesilmeli, kanı iyice akıtılmalı 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).

Histamin oluşumu başka uygulamalarla da kontrol edilebilir. Örneğin modifiye atmosferde depolamayla histamin oluşumunun geciktirilebileceği ve bu uygulamanın özellikle düşük sıcaklıkta çok etkili olduğu belirtilmiştir (WATTS ve BROWN, 1982).

Ayrıca soğuk uygulamayla birlikte tuzlama, histamin oluşumunu engellemede kombine etki göstermektedir (ABABOUCHE ve ark., 1986). Yapılan bir çalışmada *K.pneumoniae* tarafından histamin oluşturulmasının ortamın tuz konsantrasyonunun arttırılmasıyla azaltılabileceği gösterilmiştir (TAYLOR ve WOYCHIK, 1982).

Balığı avlamadan hemen sonra dondurmak da histamin oluşumunu kontrol etmede etkilidir. Yapılan araştırmalarda dondurulmuş balık kasında histamin oluşmadığı gözlenmiştir (OTA ve KANEKO, 1958; ABABOUCHE ve ark., 1986).

I.8. Histamin Tayin Yöntemleri

Histamin analizi için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bunlardan yalnızca birkaçı gıdalarda histamin aranması için geliştirilmiştir. En eski histamin tayin yöntemi biyolojik tayin yöntemidir. Fakat bu yöntem yerini daha kolay ve daha doğru kimyasal yöntemlere bırakmıştır. Histamin tayini için en yaygın yöntemler fluorometrik, enzimatik ve kromatografik yöntemlerdir (TAYLOR, 1986).

I.8.1. Fluorometrik Yöntemler

Bu yöntem, gıda ekstraktının bir anyon değiştirme, histaminin ortofitalaldehit ile derivatizasyonu ve sonuçtaki bileşiğin floresensinin ölçülmesi işleminden ibarettir.

Önceleri histamin tayininde kolorimetrik yöntemler kullanılıyordu. Daha sonraları kolorimetrik yöntemlerin pek memnun edici olmadığı görüldü ve fluorometrik yöntemler geliştirildi.

Kolorimetrik ve fluorometrik yöntemin her ikisinin de kullanıldığı bir çalışmada fluorometrik yöntemin hızlı hassas ve ucuz olması nedeniyle pratik kullanıma sahip olduğu, örnek hazırlama için az çaba gerektirmesi nedeniyle de kısa sürede uygulanabilecek bir yöntem olduğu ortaya konulmuştur (STARUSKIEWICZ, 1972).

LERKE ve BELL (1976); STEDE ve STOCKEMER (1979) de histamin belirlenmesinde fluorometrik tayin yönteminin en spesifik, hassas ve pratik yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Histaminin fluometrik tayini konusunda pek çok çalışma yapılmıştır. LERKE ve BELL (1976) ton balığında histamin tayini için bir fluorometrik yöntem geliştirmişlerdir.

CHAMBERS ve STARUSKIEWICZ (1978) peynirlerde histaminin fluorometrik tayini üzerine çalışmışlardır. TAYLOR ve ark. (1978) da balık ürünleri, et ürünleri ve peynir gibi birçok gıdaya uygulanabilecek bir fluorometrik yöntem geliştirmişlerdir. VIDAL-COROU ve ark (1989) şaraplarda ve alkollü içkilerde uygulanabilen bir

fluorometrik yöntem geliştirilmişler ve aynı araştırmacılar daha sonraki bir çalışmalarında bu yöntemin et ve et ürünlerine de uygulanabileceğini göstermişlerdir (VIDAL-COROU ve ark. 1990).

TAYLOR ve LİEBER (1977) 6 ayrı fluorometrik yöntemi karşılaştırmışlar ve ortofitalaldehit'e dayanan fluorometrik yöntemin histamin analizleri için en hassas yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Ortofitlalaldehit'in hassasiyetinin yüksek olmasından dolayı fluorometrik yöntemler daha doğru sonuç verirler. Yüksek deercede floresans vermesi için ortofitalaldehit kullanılması geniş ilgi uyandırmış ve birçok araştırmacının metoduna temel olmuştur.

Ortofitaaldehit ile kondensasyonu takiben histaminin fluorometrik olarak tayin edilmesi tamamiyle histamin için spesifik değildir. Histidin, histidil peptitler, spermidin, spermin gibi diğer aminler için de geçerlidir (TAYLOR, 1986).

1.8.2. Enzimatik Yöntemler

Kan ve diğer biyolojik örneklerde histamin analizleri için çeşitli enzimatik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, histamin N-metiltransferaz (HMT) ve radyoaktif S-adenosil metionin enzimlerini kullanırlar. Enzimatik yöntemlerin hassasiyeti fluorometrik yöntemlerden daha yüksektir. Fakat bu yöntemler gıdalarda histamin analizlerinde yaygın bir şekilde kullanılmamıştır (TAYLOR, 1968).

1.8.3. Kromatografik Yöntemler

Kromatografik yöntemler iki katagoriye ayrılır; basit yarı kantitatif yöntemler ve daha ayrıntılı kantitatif yöntemler. Ayrıntılı kantitatif yöntemler Gaz Likit Kromatografisi (GLC) veya Yüksek Basınç Likit Kromatografisi (HPLC) isterken yarı kantitatif yöntemler İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)'ne dayanır (TAYLOR, 1986).

İnce tabaka kromatografisine dayanan yöntemler pahalı laboratuvar ekipmanı istemez. Oysa HPLC ve GLC için ekipman giderleri yüksektir ve bu tip ekipman her zaman bulunamayabilir. Gıdalardan histamin analizleri için çeşitli TLC sistemleri geliştirilmiştir. Metanol : Amonyak (20:1) ve koloroform : metanol : amonyak (2:2:1) en iyi çözücü sistemleridir. Bir TLC plakasında aynı anda birçok örnek analiz edilebilir (TAYLOR, 1986).

Histamin için özel olarak geliştirilmiş kromatografik yöntemler mevcuttur.

STARUSKIEWICZ ve BOND (1981) putresin ve kadaverin diaminlerinin kantitatif tayini için onların perfluoropropionil derivatlarını kullanarak bir gaz kromatografisi yöntemi geliştirmişlerdir.

WALTERS (1984) bir katyon değiştirici kolon kullanarak yapılan bir likit kromatografik yöntem üzerinde çalışmıştır.

MEITZ ve KARMAS (1977) ton balığında bozulmayı tayin etmek için bir kimyasal yöntem geliştirmek üzere yaptıkları bir çalışmada yüksek basınç likit kromatografisi ile histamin tayin yöntemi geliştirmişlerdir. GOUYGOU ve ark. (1987), HUI ve TAYLOR (1993) da yüksek basınç likit kromatografisi ile histamin tayini konusunda çalışmışlardır.

Yaptığımız bu çalışmada, piyasada satılan sardalya konservelerinin histamin içeriklerinin saptanması amaçlanmıştır. Verilen literatür bilgilerine göre histamin balıkta mikrobiyal faaliyet sonucu oluşmakta ve belirli konsantrasyonları insanlarda toksik etki göstermektedir.

Balık konservelerinde bulunan histamin konsantrasyonu o konserveinin ham materyalinin kalitesini göstermesi açısından çok önemlidir. Çünkü balıkta histamin konserveye işlenmeden önce oluşmakta ve oluşan histamin ısıya dirençli olduğundan konserveinde mevcut olmaktadır. Bu bakımdan histamin balığın işlenmeden önceki kalitesi ve işleme koşullarını yansıtan önemli bir parametredir.

İşlenmiş balık ürünlerinin dayanıklı ve sağlıklı olmasının temel şartı taze, kaliteli ham materyal kullanılması ve işlemenin hijyenik koşullarda yapılmasıdır.

II. MATERYAL VE METOD

Araştırma materyali olarak piyasada satılan dört ayrı firmaya ait yağda hazırlanmış sardalya konserveleri seçildi. Örnekler en çok tüketilen firmaların örneklerinden rastgele olarak ve 20'şer adet alındı.

Örneklerin hepsinde histamin, trimetilamin (TMA-N), Toplam Uçucu Bazik Nitrojen (TVB-N) ve Duyusal analizler yürütülmüş ve pH ölçümleri yapılmıştır.

Histamin örneklerden triklorasetik asit ile ekstrakte edilmiş, ekstrakt zayıf asitli katyon değiştirici de saflaştırılmış ve ortofitalaldehit (DPT) ile derivatize edildikten sonra fluorometrik olarak histamin miktarı belirlenmiştir (LERKE ve BELL, 1976) STOCKEMER ve STEDE 1979; ANON, 1982).

Trimetilamin miktarı tayini Bysted ve ark. tarafından modifiye edilmiş DYER'e göre yapılmıştır (SCHORMÜLLER, 1968). Trimetilamin örnekten triklorasetik asit ile ekstrakte edilip, trimetilamin dışındaki diğer bazlar formaldehit ile fikse edildikten sonra, trimetilamin bazik ortamdan toluen ile ekstrakte edilmiş ve daha sonra da pikrik asit ile reaksiyona sokulmuş ve spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir.

Toplam Uçucu Bazik Azot Tayini (TVB-N) Antonacopoulos tarafından modifiye edilmiş LUCKE ve GEDEL'e göre yapılmıştır (SCHORMÜLLER, 1968). Homojenize edilmiş örneğe magnezyum oksit ilavesinden sonra su buharı distilasyonu ile uçucu bazlar ayrılmış ve HCl'de toplanan distilat ayarlı bir baz ile titre edilerek TVB-N miktarı belirlenmiştir.

Duyusal analizlerde Türk Standartları enstitüsünce benimsenmiş duyusal analiz şeması kullanılmıştır (ANON, 1988).

pH ölçümleri pH-metre ile gerçekleştirilmiştir.

III- BULGULAR

Piyasadaki dört ayrı firmaya ait sardalya konservelerinde yürütülen çalışmada elde edilen bulgular Tablo 6,7,8,9'da ayrı ayrı verilmiştir.

Histamin içeriği açısından gruplar incelendiğinde 1. ve 4. gruplardaki tüm örneklerde histamin konsantrasyonu toksik düzey olarak kabul edilen 80 ppm'in altında kalırken, 2.grupta bir örnek ve 3. grupta iki örnek bu sınırın üzerine çıkmıştır.

1. gruptaki örneklerin histamin konsantrasyonu 0.2-2.1 ppm arasında saptanmış olup, ortalama 0.75 ppm bulunmuştur.

2. gruptaki örneklerin histamin konsantrasyonu 1.8-6.4 ppm arasında olup ortalama 3.46 ppm bulunmuştur.

3. gruptaki örneklerin histamin konsantrasyonu 2.7-6.0 ppm arasında ve ortalama 4.46 ppm olarak bulunmuştur.

4. gruptaki örneklerin histamin konsantrasyonu 2.7-6.0 ppm arasında ve ortalama 4.46 ppm olarak bulunmuştur.

Histamin konsantrasyonu bakımından gruplar karşılaştırıldığında en yüksek konsantrasyon 3.gruptaki örneklerde saptanmış olup bunu sırasıyla 2.,4. ve 1.gruplar izlemiştir.

Trimetilamin konsantrasyonunu incelediğimizde 1.grupta 6-15 mg/100 g arasında ve ortalama 9.7 mg/100 g olarak saptanmıştır.

2. grupta trimetilamin konsantrasyonu 8.2-17 mg/100g arasında ve ortalama 11.05 mg/100g bulunmuştur.

3. grupta trimetilamin konsantrasyonu 7,0-11.1 mg/100g arasında ve ortalama 8.9 mg/100g düzeyindedir.

4. gruptaki örneklerin trimetilamin konsantrasyonu ise 5.7-11.2 mg/100g arasında ve ortalama 9.1 mg/100 g olarak bulunmuştur.

Ortalama trimetilamin içeriği bakımından gruplar karşılaştırıldığında dört grupta da birbirine yakın değerler bulunduğu görölmektedir. 10-12 mg/100 g olarak belirtilen bozulmuşluk düzeyinin ortalamaların hiç birinde aşılmadığı ancak örnekler tek tek incelendiğinde bazı örneklerin bu düzeyin biraz üzerinde kaldığı gözlenmiştir.

Toplam Uçucu Bazik Nitrojen (TVB-N) değerleri açısından grupları incelediğimizde

1. gruptaki örneklerin TVB-N içeriğinin 47.7-49 mg/100g arasında ve ortalama 47.4 mg/100g
- 2.gruptaki örneklerin 41.3-54 mg/100g arasında ve ortalama 48.4 mg/100g,
3. gruptaki örneklerin 37.8-63 mg/100g arasında ve ortalama 47.1 mg/100g,
4. grupta ise 47-52.1 mg/100g arasında ve ortalama 49.5 mg/100g arasında olduğu görölmektedir. Bütün grupların ortalama TVB-N içeriği birbirine paralel bulunmuştur.

Grupların pH değerleri ise; 1. ve 2. grupta ortalama 6.3, 3. grupta 6.5 ve 4.grupta 6.2 bulunmuştur.

Duyusal bulgular yönünden 1. ve 4. grup örneklerinin tümünde fark edilebilir bir sapma gözlenmemiş olup 2. grupta bir ve 3.gruptaki iki örneğin tadında hafif bir acılık hissedilmiş ve bu üç örneğin alınmasından bir süre sonra panelistlerin bazılarında alerjik şikayetler alınmıştır. Bunun dışında 2. ve 3. grubun diğer örneklerinde farkedilebilir bir sapma görölmemiştir.

Bütün grupların histamin, trimetilamin, Toplam Uçucu Bazik Nitrojen konsant-rasyonları ve pH değerlerinin değişim aralıkları Şekil 1,2,3,4 de verilmiştir.

Tablo 6. 1.gruptaki örneklerin histamin, TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları

Örnek Sıra No	Histamin ppm	TMA-N mg/100g	TVB-N mg/100g	pH	Duyusal Analiz
1	2.1	6.6	46.2	6.39	Farkedilir bir sapma yok
2	0.6	9.1	48.3	6.34	"
3	1.0	8.3	47.6	6.30	"
4	0.5	15.0	47.5	6.32	"
5	0.8	9.1	48.1	6.38	"
6	0.4	11.8	46.6	6.31	"
7	0.6	9.0	47.7	6.30	"
8	0.2	6.0	45.8	6.34	"
9	0.5	6.9	46.7	6.33	"
10	0.5	14.5	47.8	6.37	"
11	0.7	11.2	47.2	6.32	"
12	0.6	8.5	48.8	6.39	"
13	1.0	9.7	49.0	6.40	"
14	0.5	10.2	48.8	6.37	"
15	0.5	11.5	47.7	6.35	"
16	0.8	9.2	45.7	6.30	"
17	1.2	6.8	47.6	6.31	"
18	1.6	10.0	48.3	6.37	"
19	0.7	11.6	47.6	6.35	"
20	0.2	9.7	46.5	6.32	"

$\bar{X} =$ 0.75 9.7 47.4 6.34
SD(n-1) 0.45 2.39 0.97 0.18

Tablo 7. 2.gruptaki örneklerin histamin, TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları

Örnek Sıra No	Histamin ppm	TMA-N mg/100g	TVB-N mg/100g	pH	Duyusal Analiz
1	3.5	12.9	41.3	6.30	Farkedilebilir sapma yok
2	151.5	17.0	45.2	6.35	Hafif acılık var
3	1.8	11.7	44.8	6.49	Farkedilebilir sapma yok
4	2.0	8.3	54.6	6.26	"
5	6.4	10.2	52.4	6.39	"
6	4.2	11.1	48.1	6.40	"
7	3.8	9.8	44.4	6.38	"
8	3.1	13.0	54.3	6.25	"
9	2.7	12.2	50.5	6.36	"
10	1.9	11.7	50.8	6.41	"
11	5.2	8.7	54.1	6.21	"
12	2.5	12.2	45.8	6.47	"
13	4.7	9.3	44.2	6.38	"
14	6.0	9.7	50.2	6.32	"
15	1.8	13.0	47.7	6.23	"
16	2.0	11.7	51.1	6.31	"
17	4.3	10.0	50.0	6.32	"
18	5.0	8.2	48.8	6.29	"
19	3.1	9.1	44.1	6.27	"
20	1.9	11.1	47.2	6.35	"

$\bar{X}$ = 3.4 11.0 48.4 6.33
SD(n-1) 1.66 2.09 3.83 0.076

Tablo 8. 3.gruptaki örneklerin histamin, TMA-N, TVB-N, pH ve Duyusal Analiz Sonuçları

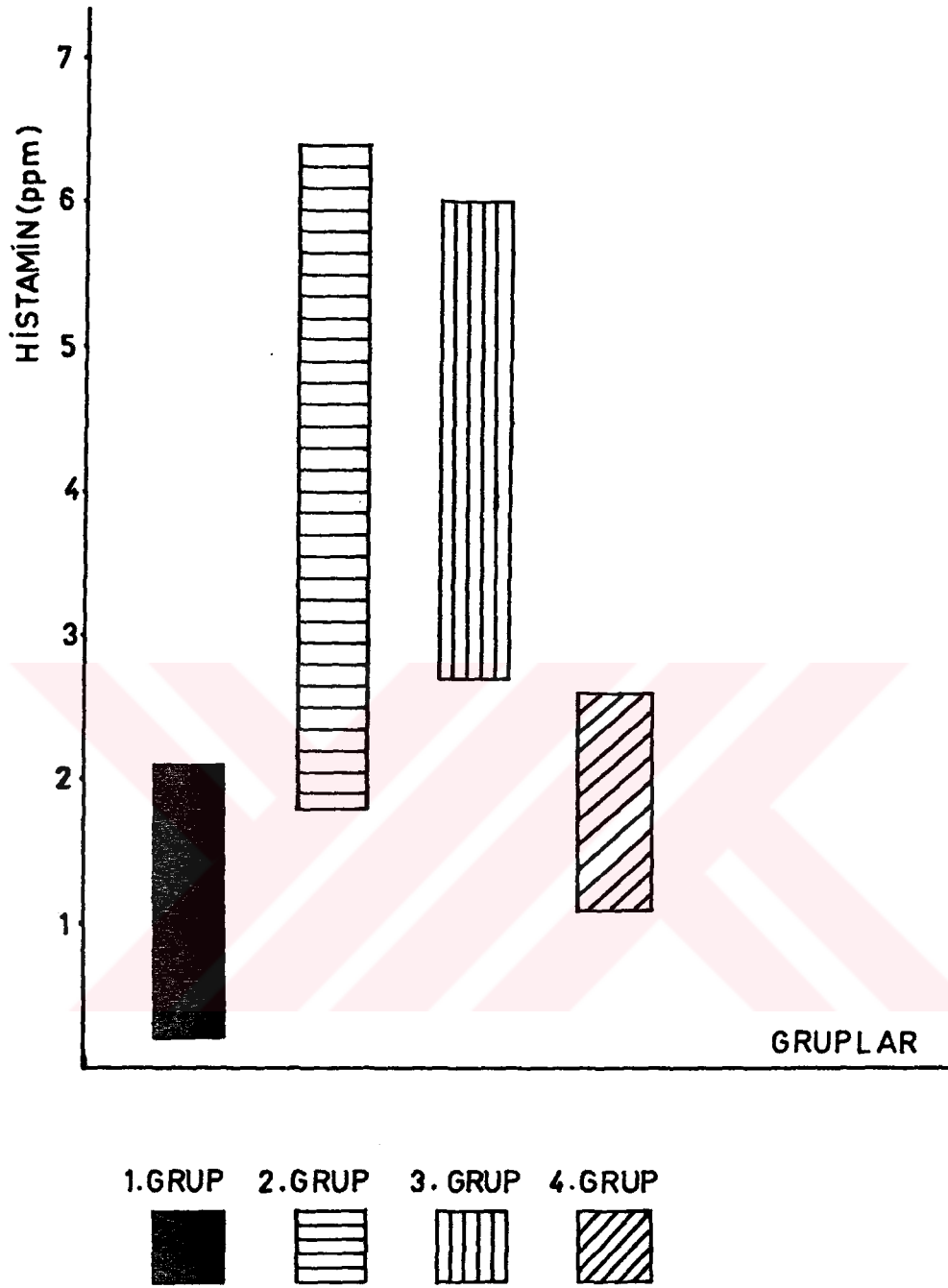
Örnek Sıra No	Histamin ppm	TMA-N mg/100g	TVB-N mg/100g	pH	Duyusal Analiz
1	6.0	7.75	42.0	6.58	Farkedilir sapma yok
2	195.0	7.4	63.0	6.63	Hafif Acı
3	169.5	11.0	51.8	6.64	"
4	2.7	9.1	40.6	6.39	Farkedilir sapma yok
5	4.6	9.7	38.0	6.63	"
6	3.8	10.2	42.1	6.58	"
7	4.1	7.7	66.0	6.61	"
8	5.6	9.2	40.0	6.65	"
9	5.2	10.0	37.8	6.53	"
10	4.2	8.1	51.3	6.52	"
11	5.8	8.3	50.8	6.63	"
12	4.2	9.1	43.7	6.51	"
13	4.3	12.0	61.2	6.52	"
14	3.1	7.6	35.5	6.21	"
15	3.6	8.1	38.1	6.33	"
16	4.6	11.1	57.6	6.61	"
17	2.8	10.0	42.0	6.40	"
18	6.0	7.3	40.5	6.21	"
19	4.6	7.0	51.7	6.53	"
20	5.2	7.9	50.1	6.48	"

$\bar{X}$ 4.4 8.9 47.1 6.50
SD(n-1) 0.98 1.43 2.91 0.140

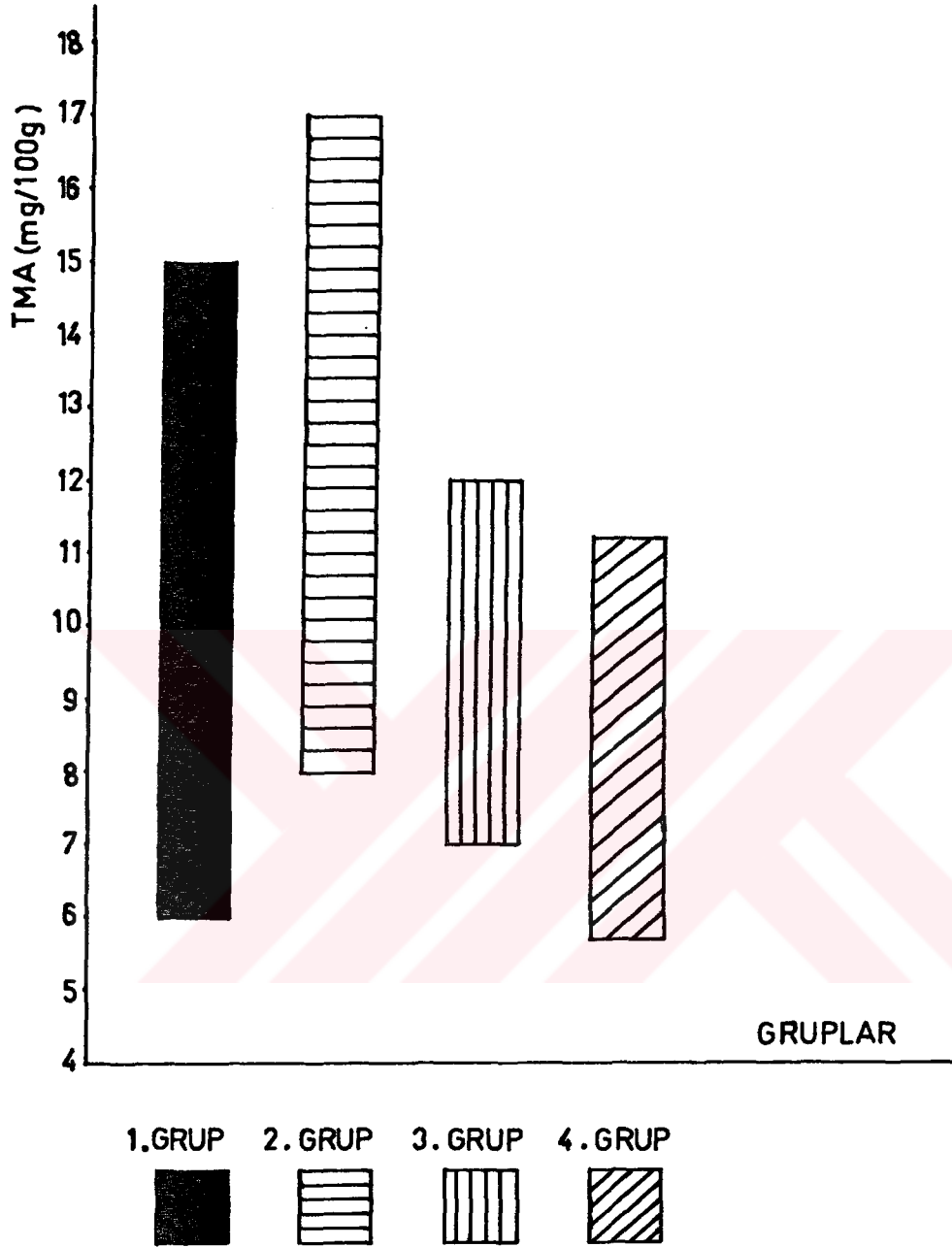
Tablo 9. 4.gruptaki örneklerin histamin, KMA-N, TVB-N, pH ve duyusal analiz sonuçları

Örnek Sıra No	Histamin ppm	TMA-N mg/100g	TVB-N mg/100g	pH	Duyusal Analiz
1	1.6	10.0	49.0	6.43	Farkedilir sapma yok
2	1.6	11.1	50.2	6.24	"
3	1.1	7.8	50.4	6.21	"
4	2.1	6.5	49.0	6.23	"
5	2.6	10.0	48.7	6.32	"
6	2.0	8.1	51.2	6.31	"
7	1.8	9.0	50.3	6.28	"
8	1.1	11.2	49.1	6.41	"
9	2.3	5.7	47.0	6.22	"
10	2.1	7.8	52.1	6.30	"
11	1.8	7.6	49.0	6.27	"
12	1.6	9.2	51.3	6.23	"
13	2.4	11.0	48.7	6.23	"
14	2.1	9.3	49.0	6.32	"
15	1.7	8.5	50.0	6.21	"
16	2.3	8.2	49.0	6.28	"
17	1.6	10.0	48.7	6.31	"
18	1.8	11.2	51.1	6.30	"
19	2.0	9.5	49.0	6.29	"
20	1.8	11.0	49.1	6.30	"

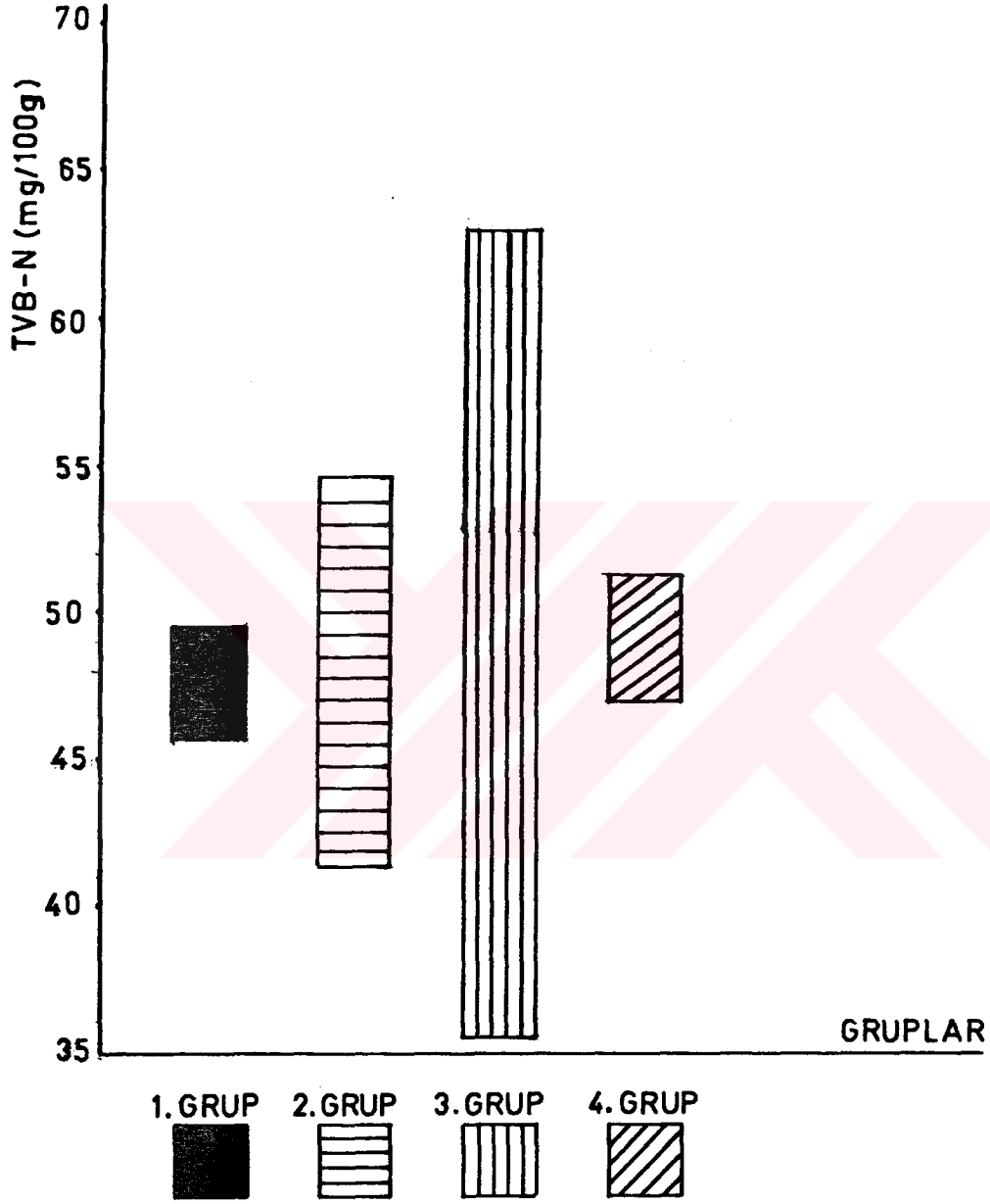
$\bar{X}$ = 1.87 9.13 49.5 6.28
SD(n-1) 0.37 1.60 1.20 0.059



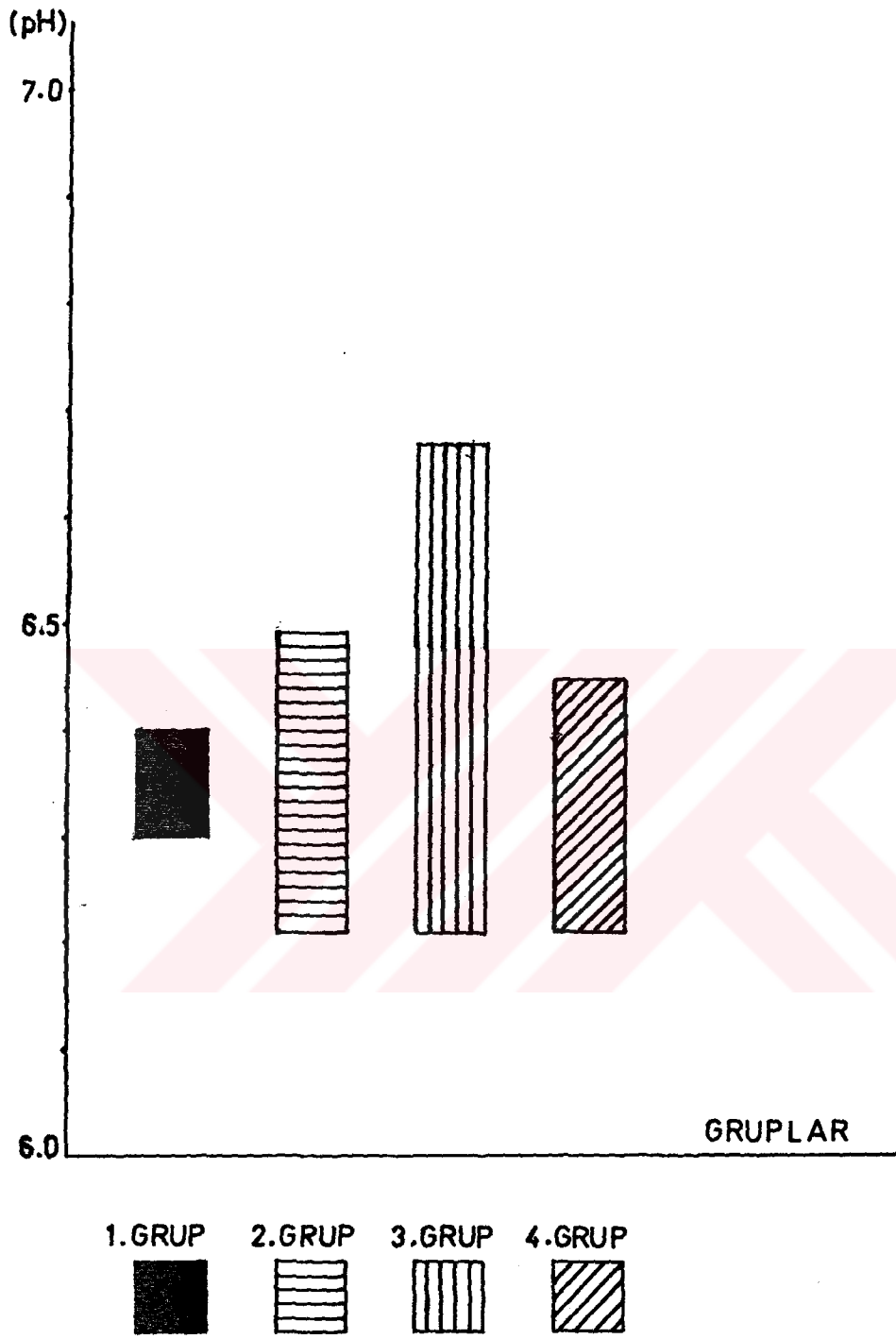
Şekil 1. Dört grup sardalya konservesinin histamin konsantrasyonu bakımından değişim aralıkları



Şekil 2. Dört grup sardalya konservesinin trimetilamin (TMA-N) konsantrasyonu bakımından değişim aralıkları



Şekil 3. Dört grub sardalya konservesinin Toplam Uçucu Bazik Nitrojen konsantrasyonu bakımından değişim aralıkları



Şekil 4. Dört grup sardalya konservesinin pH değerleri değişim aralıkları

IV- TARTIşMA VE SONUÇ

Histamin zehirlenmesi yüksek düzeyde histamin içeren gıdaların tüketiilmesiyle ortaya çıkan bir intoksikasyondur.

İnsanlarda 8-40 ppm histamin hafif, 70-1000 ppm histamin orta, 1500w4000 ppm histamn ağır zehirlenme olaylarına neden olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978). Buna karşın SCHULZE ve ark. (1979) 50 ppm'e kadar histamin içeren balıkların yenmesinden sonra herhangi bir zehirlenme belirtisi görölmediğini, ancak 50-100 ppm konsantrasyonda histamin içeren balıkların yenmesinde hassas yapılı insanlarda hafif 100-1000 ppm histamin konsantrasyonunun da belirgin bir toksik etki gösterdiğini bildirmektedirler. insanlar için histamin konsantrasyonunun toksik düzeyi 80 ppm olarak kabul edilmektedir (WÜRZIGER ve DICKHAUT).

Çalışmamızdaki dört grup sardalya konservelerinin histamin konsantrasyonu (üç örnek dışında) 80 ppm olan toksik düzeyin altında kalmıştır.

Taze sardalya balığı scombroid bir balık olmamasına rağmen yüksek düzeyde serbest histidin içeren ve histamin oluşumuna karşı hassas bir balıktır (ABABOUCH ve ark., 1991). Sardalyanın amino asit kompozisyonu Tablo 10'da verilmiştir.

Balıktaki histamin oluşumu, mevcut histidinin bakteriyel dekarboksilasyonunun bir sonucu olduğu düşünölürse, balığın depolama ve işleme koşullarında bakteriyel faaliyet engellenemezse, yüksek düzeyde serbest histidin içeren bir balıkta büyük miktarda histamin oluşması kaçınılmazdır. Bu nedenle balıkta histamin bulunuşu işleme ve depolama koşullarını göstermesi bakımından önemlidir. Ancak histamin ısıya karşı son derece dirençlidir ve 116° C'de 90 dakikada parçalanabilmektedir (RICE ve ark., 1976). Bu durumda konserve balıklarda bulunan histamin konserveye işlenmeden önce oluşmakta ve histamin ısıya karşı dirençli olduğundan konserve mevcut olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978, SINELL, 1978, SCHULZE ve ark. 1979). Bu açıdan histamin konserve balık ürünlerinin ham materyalinin kalitesini gösteren bir parametre olarak kullanılabilir (VECIANA-NOGUES ve ark., 1989).

Bu literatür bilgileri ışığında, çalışmamızdaki 1. ve 4.gruplardaki örneklerin depolama ve işlenmesi sırasında hijyen kurallarına gereği gibi uyulmuş ve kaliteli ham materyal kullanılmış olduğunu ancak 2. ve 3. grupların bazı örneklerinde saptanan yüksek düzeydeki histamin konsantrasyonunun bazen hijyen şartlarının yeterince yerine getirilememiş olmasından dolayı ortaya çıktığını söyleyebiliriz.

SCHULZE ve ark. (1979) yaptıkları bir çalışmada yağlı sardalya konservelerinin 500-600 ppm'lik bir histamin konsantrasyonu tespit etmelerine rağmen bakteriyolojik açıdan herhangi bir olumsuzluğa rastlamamış olmalarını, histaminin balıkta kutulama işleminden önce oluştuğuna ve sıcaklık etkisiyle parçalanmamış olduğuna bağlamaktadırlar.

Taze balıkta biyogen amin içeriği çok düşüktür. Balıkta biyojen amin bulunması bozulmayla ilgilidir. Bu nedenle biyogen aminler balık ve balık ürünlerinin bozulma belirleyicisi olarak görülürler (VECIANA-NOGUES ve ark. 1989; VIDAL-CAROU ve ark., 1990).

MEITZ ve KARMAS (1977) taze ton balığının konserveye işlenmeden önce bozulma derecesini gösteren bir kalite belirleyicisi geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada histamin, putresin, kadaverin, spermidin, spermin düzeylerinin bozulmayla ilişkisini araştırmışlar ve bozulmuş ton balığında putresin, kadaverin ve özellikle histamin düzeyleri artarken spermin ve spermidin'in azaldığını belirtmişlerdir.

Balık ve ürünlerinin tazeliğinin belirlenmesinde kullanılan başka kimyasal yöntemler de vardır. Bu yöntemlerden birisi de trimetilamin (TMA-N) miktarı tayinidir. TMA-N miktarı, balık türlerine, avlanma yer ve yöntemlerine ve depolama koşullarına bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir (KIETZMANN ve ark., 1969). Balık etinde TMA-N miktarının ölçümü taze olarak satılan deniz balıklarındaki mikrobiyal bozulma düzeyini göstermek bakımından önemlidir.

TMA-N bakımından yenilebilirlik sınır değerleri araştırmacılara göre farklılıklar göstermektedir. LUDORFF ve MEYER (1973) balık ürünlerindeki TMA-N limit değerlerini şu şekilde belirtmektedirler.

4 mg/400g TMA-N'e kadar "iyi"
10 mg/100g TMA-N'e kadar "pazarlanabilir"
12 mg/100g TMA-N'e kadar "bozulmuş"

KARNOP ve ark. (1978) TMA-N bakımından yenilebilirlik sınır değerini 15 mg/100 olarak bildirmişlerdir. STOCKEMER ve NIEPER (1984) ise TMA-N yenilebilirlik sınır değerini 12 mg/100g olarak belirtmişlerdir. SCHORMÜLLER (1968) de uluslararası standartlara göre 10-15 mg/100g limit değeri verildiğini belirtmektedir.

Çalışma örneklerimizin ortalama TMA-N değerleri yukarıda belirtilen limit değerlerinin altında kalmıştır. Ancak örnekler tek tek incelendiğinde bazı örneklerde TMA-N miktarının bu sınırların biraz üzerine çıktığı görülmektedir.

WOOTON ve ark. (1989) 20 çeşit deniz ürününde uçucu ve uçucu olmayan aminleri incelemişler ve bu ürünlerin altısında 7-803 mg/kg düzeyinde histamin tespit ederlerken örneklerin tümünde 33-279 mg/kg TMA-N saptamışlardır. Bazı örneklerde hiç histamine rastlamazken yüksek düzeyde TMA-N bulunduğunu saptamışlardır.

STEDE ve STOCKEMER (1981) +3 ve +6 °C'lerde depoladıkları taze ringa ve uskumrulara histamin ve TMA-N değişimlerini incelemişler ve her ikisinin de kabul edilebilirlik sınırlarını aştığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların çalışmasında histamin sıcaklığa bağlı olarak TMA-N sıcaklığa bağlı olmaksızın artmıştır. Ringa ve uskumru filetolarında sırasıyla 38 mg/kg ve 35 mg/kg histamin, 153 mg/kg ve 133 mg/kg TMA-N saptamışlardır.

Moraxella'lar ve *Flavobacter*'ler ve *Microoclar*ın yeni avlanmış balıklarda belirli bir oranda var olması depolama sırasında *Pseudomonas* ve *Alteromanad*'ların gelişimini engellemektedir. Mikrofloradaki bu değişim trimetilamin oksidin trimetilamine indirgenmesinin artması şeklinde biyokimyasal olarak kendini göstermektedir (STEDE ve STOCKEMER, 1981). Bu da bize konserveledeki TMA-N'nin balıkta konserveye işlenmeden önceki depolama ve işleme koşullarından kaynaklanan bakteri gelişmesinin bir sonucu olarak, işlemeden önce oluştuğunu göstermektedir.

Balık ve balık ürünlerinin tazeliğinin belirlenmesinde kimyasal yöntemlerden Toplam Uçucu Bazik Nitrojen tayini en çok kullanılan yöntem olup önemli bir parametredir (LANG, 1979; REHBEIN ve OEHLenschlaeger).

Toplam Uçucu Bazik Nitrojen (TVB-N) yönünden yenilebilirlik sınır değerleri ise şöyle belirtilmiştir. KIETZMANN ve ark. (1969) balık ürünlerinin TVB-N değerlerine göre kalite sınıflandırmasını aşağıdaki gibi belirtmektedirler.

- 25 mg/100g'a kadar "çok iyi"
- 30 mg/100g'a kadar "iyi"
- 35 mg/100g'a kadar "pazarlanabilir"
- 35 mg/100g'dan büyük "bozulmuş"

KARNOP ve ark. (1978) balıklarda TVB-N yönünden yenilebilirlik sınır değerini 40 mg/100g olarak bildirmesine karşın, LUDORFF ve MEYER (1973) balıklarda 35 mg/100g TVB-N değerini pazarlanabilir, 40 mg/100g TVB-N değerini ise bozulmuş olarak değerlendirmektedirler.

Çalışmamızdaki örneklerin ortalama TVB-N içerikleri bu belirtilen sınırın biraz üzerinde bulunmuştur. VECIANA-NOGUES ve ark. (1989) konserve balık ürünlerinde uçucu maddelerin tayini ile kaliteyi belirleminin mümkün olmadığını belirtmektedirler. Çünkü konserve balıkların imali sırasında uygulanan ısı ile bu değerler değişmektedir. Örneklerimizdeki TVB-N içeriğinin yüksek bulunması uygulanan ısı ile işlemden kaynaklanmış olabileceğinden, bu değerler balığın bozulmuş olduğunu göstermez. Zaten duyusal analiz sonuçları da bunu ispatlamaktadır.

KIETZMANN ve ark. (1969) gıdaların depolanmasında ürünün kalitesini belirleyen en önemli kriterin duyusal analiz sonuçları olduğunu ve duyusal analiz sonuçları uygun olmayan bir ürünün tüketime sunulamayacağını belirtmişlerdir.

Çalışmamızdaki histamin analizi sonuçları duyusal analiz sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde 1. ve 4. gruptaki örneklerde histamin toksik düzeyin altında kalırken duyusal analiz sonuçlarında da herhangi bir sapma tespit edilmemiştir. 3. ve 4. gruplardaki üç örnek dışındaki tüm örneklerde de duyusal olarak sapma gözlenmemiş ancak sözü edilen diğer üç örneğin tadında hafif bir acılık hissedilmiştir.

Ayrıca bu üç örneğin yenmesinden sonra bazı panelistlerden mide bulantısı ve kaşıntı gibi şikayetler alınmıştır. Buradan duyuşsal analiz sonuçlarının histamin sonuçları ile paralellik gösterdiği görölmektedir.

WÜRZIGER ve DICKHAUT (1978) dumanlanmış uskumrularda yaptıkları duyuşsal analiz ve histamin düzeyini belirleme çalışmalarında koku ve lezzet sapması olmayan örneklerde, histamin içeriğini 0-30 ppm arasında tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacıların yağlı ve sebzei orkinos konservelerinde yaptıkları çalışmada da 0-80 ppm arasında histamin düzeyi saptamışlardır. Herhangi bir koku ve lezzet sapması olmayan ton konservelerinde 0-40 ppm histamin düzeyi, hafif ya da belirgin koku ve lezzet sapması belirlenen örneklerde ise 30-80 ppm histamin düzeyi tespit etmişlerdir. ayrıca bu araştırmacılar görölebilecek koku ve lezzet sapmalarının her zaman fazla miktarda histamin içeriğinin nedeni olmayacağını yüksek düzeyde histamin içeren örneklerdeki koku ve lezzet sapmalarında kutulama işleminden önce oluşmuş bozulmanın nedeni olabileceğini de bildirmektedirler.

SCHULZE ve ZIMMERMANN (1980) duyuşsal analiz bulguları ile biyojen amin miktarları arasında belirgin bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar ton ve sardalya konservelerinde yaptıkları çalışmada 300 ppm'in altında histamin içeren örneklerde duyuşsal bulgular yönünden bir sapma görölmemesine rağmen daha yüksek konsantrasyonda histamin içeren örneklerde duyuşsal sapmalar gözleendiğini belirtmişlerdir. Yine MEITZ ve KARMAS (1977) da yaptıkları çalışmada duyuşsal analiz bulguları ile histamin bulgularının uyum içinde olduğunu göstermişlerdir.

Bazı araştırmacılar ise duyuşsal analiz sonuçları ile histamin sonuçları arasında ilişki olmadığını belirtmektedirler. WÜRZIGER ve DICKHAUT (1978) ton ve sardalya konservelerinde başlamış olan bozulma ile histamin arasındaki ilişkinin kesin olarak anlaşılamadığını ve duyuşsal özelliklerle histaminin paralellik göstermediğini belirtmişlerdir. KARNOP (1988) da 400-500 ppm'e kadar histamin içeriği ile duyuşsal kalite arasında ilişki olmadığını bildirmiştir. Ancak, örnekte çok az miktarda histamin bulunması onun bozulmamış olduğunu göstermez (SCHULZE ve ark. 1979). Nitekim WÜRZIGER ve DICKHAUT (1978) çok taze dediği ton konservelerinde 80 ppm histamin saptamışlardır.

**Tablo 10. Taze sardalya balığının amino asit kompozisyonu
(ABABOUCHE ve ark., 1991).**

Amino asit	Serbest amino asit içeriği mg/100g	Toplam amino asit içeriği mg/g
Treonin	13.9	10.3
Valin	14.6	15.9
Metiyonin	4.6	9.2
Sistin	0	1.6
İzolöysin	6.9	13.4
Löysin	13.7	22.1
Fenilalanin	9.7	12.3
Tirozin	3.9	9.4
Lisin	20.0	29.0
Triptofan	0.0	0.0
Serin	9.0	9.6
Glutamin	29.9	40.9
Prolin	19.2	10.0
Glisin	13.9	15.7
Alanin	56.0	17.4
Histidin	288.8	10.6
Arginin	54.0	17.7
Taurin	128.6	1.3
Ornitin	7.5	0.085

Çeşitli araştırmalarda saptanmış olan histamin değerleri şu şekilde belirtilmiştir. VECIANA-NOGUES ve ark (1989) yaptıkları çalışmada yağlı sardalya konservelerinde histamin konsantrasyonunu 11.82 ppm. yağlı ton konservelerinde 14.47 ppm olarak saptamışlardır.

GOUYGOU ve ark (1987) histamin tayin yöntemi geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada ton konservelerinde ortalama 17.9 ppm histamin konsantrasyonu bulmuşlardır. VIDAL-CAROU ve ark. (1990) marine hamsilerde ortalama 24.97 ppm histamin konsantrasyonu belirlemişlerdir.

VARLIK ve ark. (1992) da iki ayrı firmanın ürettiği ton konservelerinde histamin düzeylerini 9.5-43.7 ppm ve 8.2-43.6 ppm olarak tespit etmişlerdir.

TAYLOR ve ark. (1978) ise ton konservelerinde ortalama histamin konsantrasyonunu 34.6 ppm, uskumru konservelerinde 22.5 ppm ve sardalya konservelerinde 7.9 ppm olarak belirlemişlerdir.

Çalışmamızdaki dört grup sardalya konservesinin histamin konsantrasyonu TAYLOR ve ark. (1978)'nin sonuçlarına yakınlık göstermektedir. Diğer araştırmacılarının bulgularının altında kalmaktadır.

Balık ve balık ürünlerinde histamin oluşumu; sıcaklık ile işleme ve depolama koşullarına bağlıdır. Yüksek sıcaklık ve uygun olmayan koşullarda fazla miktarda histamin oluşur.

VECIANA-NOGUES ve ark. (1989) marine hamsi örneklerinde soğukta ve oda sıcaklığında depolama sırasında histamin ve tiramin içeriği değişimini inceledikleri çalışmada, yüksek sıcaklıkta özellikle histaminin önemli ölçüde arttığını gözlemişler ve histamin oluşumunu önlemek için böyle bir ürünün soğukta saklanması gerektiğini belirtmişlerdir.

GHEORGE ve ark. (1970) 8°C'de 11 gün, -8°C'de 8 ay depolanan balıkta histamin konsantrasyonunun toksik düzeyin altında kaldığını bildirmişlerdir.

SCHMIDTSDOF (1970) 20° C'de 2 gün bekletilip daha sonra balık protein konsantrasyonuna işlenen ringa balığının 800 ppm gibi yüksek bir histamin konsantrasyonuna ulaştığını bulmuşlardır.

ABABOUCHE ve ark. (1991) bir kısmını buzda, bir kısmını oda sıcaklığında depoladıkları sardalyalarda oda sıcaklığında 24 saat sonra histaminin 2350 ppm'e ulaşırken, buzda depolananlarda bu düzeye 8 gün sonra ulaşıldığını belirtmişlerdir.

Bu literatür verileri doğrultusunda, balık ve balık ürünlerinde histamin oluşumunun engellenmesi veya oluşum ihtimalinin minimuma indirilmesi için balıkların avlamadan hemen sonra işlemeye ve satışa değin soğukta saklanması histamin oluşumunu önleme konusunda yapılması gereken ilk iş olmalıdır. Çünkü özellikle histidini yüksek düzeyde içeren balıklarda histamin konserveye işlenmeden önce oluşmakta ve histamin ısıya karşı dirençli olduğundan oluşan histamin konservede mevcut olmaktadır (WÜRZIGER ve DICKHAUT, 1978; SINELL, 1978; SCHULZE ve ark., 1979).

Histamin oluşumunun önlenmesi konusunda dikkat edilmesi gereken diğer bir husus, işleme ve depolama sırasında hijyen kurallarının yerine getirilmesidir. Histamin oluşumunun bakteri faaliyetinin bir sonucu olduğu düşünülürse bu hususun göz ardı edilemeyecek kadar önemli olduğu anlaşılır.

ABABOUCHE ve ark. (1986) Fas'da ticari olarak işlenmiş çeşitli balık türlerinin histamin düzeylerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada yüksek düzeyde histamin-konsantrasyonlarına rastlamışlar ve bunun balığın uygun olmayan koşullarda işlenme ve depolanmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Orkinos cinsi balıklarda histamin oluşumunu önlemenin bir yolu da avlandıktan hemen sonra kesilip kanının akıtılmasıdır (WÜRZIGER ve DICKHAUT 1978; SCHULZE ve ark. 1979; STEDE ve STOCKEMER, 1981).

Sonuç olarak; histamin; bol miktarda serbest histidin amino asidi içeren balıklarda bu amino asidin bakteriyel faaliyet ve organa özgü enzimler vasıtasıyla oluşturulan bir biyojen amindir. Bu biyojen aminin 80 ppm'in üstünde olan düzeyleri insan için toksiktir ve histamin zehirlenmesi denen bir hastalığa neden olur. Halk sağlığı açısından böyle bir olayın ortaya çıkmasını önlemek için bu tip balıkların avlama, depolama ve işlenmesi sırasında her aşamada hijyen kurallarına uyulması, depolama sıcaklığının düşük tutulması gereklidir.

Konserve balık ürünlerinde histamin konserveye işlenmeden önce oluştuğuna göre bu ürünlerin kalite kontrolünde bu parametrenin ölçümü ürünün işleme koşulları hakkında fikir vermesinin yanında sağlıklı tüketilme imkanı da sağlar.

Ülkemizde bugüne kadar histamin konusunda herhangi bir çalışma yapılmamış olduğundan çalışma sonuçlarımızın, işleme koşullarının iyileştirilmesinin gerekliliği konusunda işlemeciyi bilinçlendirmesi, tüketiciyi uyarması ve yasal bir limit belirlemek üzere yetkilileri harekete geçirmesi çalışmamızı amacına ulaştıracaktır.

V- ÖZET

SARDALYA KONSERVELERİNİN HİSTAMİN BİYOJEN AMİNİ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Histamin, histidin amino asidinin dekarboksilasyonundan oluşan bir biyojen amindir. Histamin zehirlenmesi ise yüksek düzeylerde histamin içeren gıdaların yenmesinden sonra ortaya çıkan bir intoksikasyondur. Uskumru, orkinos, palamut, sardalya gibi histidini yüksek düzeyde içeren balıklar histamin zehirlenmesine çok sık neden olan balıklardır.

Bu çalışmada, 4 ayrı firmaya ait sardalya konservelerinde histamin düzeylerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Konservelerde histamin miktarı tayini yanında trimetilamin (TMA-N), Toplam Uçucu Bazik Nitrojen (TVB-N) ve duyusal analizlerle pH ölçümleri de yapılmıştır.

3 grup sardalya örneklerinde sırasıyla 1., 2., 3., 4. gruplarda ortalama histamin konsantrasyonu 0.75 ppm, 3.46 ppm, 4.46 ppm ve 1.87 ppm bulunmuştur.

Örneklerin trimetilamin (TMA-N) düzeyleri yine sırasıyla ortalama olarak 9.7 mg/100g, 11.0 mg/100g, 8.9 mg/100g 9.1 mg/100g bulunmuştur.

Toplam Uçucu bazik Nitrojen (TVB-N) düzeyleri ise ortalama olarak sırasıyla 47.4 mg/100g; 48.4 mg/100g; 47.1 mg/100g; 49.5 mg/100g bulunmuştur.

Duyusal analiz sonuçları bakımından yüksek histamin içerikli üç örnek dışında herhangi bir sapma belirlenmemiştir.

Sonuç olarak; üç örnek dışında 4 grup sardalya konservelerinin tüm örneklerinde belirlenmiş olan histamin konsantrasyonu toksik düzey olarak kabul edilen 80 ppm'in altında bulunmuş olup, sağlık açısından herhangi bir tehlike oluşturmamaktadır.

SUMMARY

INVESTIGATION ON THE HISTAMINE BIOGENIC AMINE IN CANNED SARDINES

Histamine is a biogenic amine arising from the decarboxylation of the amino acid histidin. Histamine poisoning is a food-born intoxication resulting from the ingestion of foods that contain unusually high level of histamine. Sickness is related with the consumption of fish containing high levels of histamine such as tuna, mackerel, bonito, sardine.

The aim of this study was to determine the histamine levels in four different brands of canned sardine sold on the market.

Analyses of histamine, TMA-N, TVB-N, sensory were performed and the pH was measured.

The histamine levels in all samples of first on fourth groups were lower than toxic level of 80 ppm, only one sample in the second group and two samples in the third group contained higher histamine level than toxic level.

The concentrations of histamine were found in the first, second, third and in the fourth group as 0.75 ppm, 3.46 ppm, 4.46 ppm, 1.87 ppm respectively.

TMA-N levels of samples were 9.7 mg/100g, 11.0mg/100g, 8.9 mg/100g 9.1 mg/100g respectively.

TVB-N levels were 47.4 mg/100g, 48.4 mg/100g, 47.1 mg/100g, 49.5 mg/100g respectively.

In sensorical analyses, only in three samples a deviation was observed. In all other cases, no deviations were determined.

At the end of this study the found histamine levels were lower than 80 ppm, which is toxic. Only in three samples the histamine levels were hazardous for health. In other samples of canned sardines the histamine levels were not hazardous.

VI. KAYNAKLAR

ABABOUC, L.; ALAOUI, M.M.; BUSTA, F.F., 1986; Histamine Levels in Commercially Processed Fish in Morocco Journal of Food Protection Vol.49 No 11 p. 904-908.

ABABOUC, L.; AFILAL, M.E.; BENABDELJELIL, H. 1991: Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in Sardine (*Sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28 C) and in ice. International journal of Food Science and Technology 26, 297-306.

ANON 1982 : Untersuchung von lebensmitteln. Bestimmung des Histamingehaltes in Fischen und Fischer zeugnissen. 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.

ARNOLD, S.H.; PRICE, R.J.; BROWN, W.D. 1980 : Histamine formation by Bacteria Isolated from skipjack Tuna *Katsuwonus pelamis*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific fisheries 46 (8) 991-995.

ASKAR, A. 1982: Biogene Amine in Lebensmitteln und ihre Bedeutung. Ernährungs-Umschau 99, 143-148.

BEHLING, A.R.; TAYLOR, S.L. 1982; Bacterial Histamine Production as a function of Temperature and Time of Incubation. Journal of Food Science Vol 47 p. 1311-1314.

BEUTLING, V.D. 1987; Untersuchungen zur Histamin verwertung durch gramnegative Mikroben. Mh. Vet. Med. 42 (1987). 210-212.

CHAMBERS, T.L.; STARUSKIEWICZ, W.F. 1978: Fluorometric Determination of Histamine in cheese j-Assoc. off. Anal. Chem. Vol.61 No 5 p. 1092-1097.

EDMUND, W.J.; EITENMILLER, R.R. 1975; Effect of Storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of Aquatic species. J.of food science vol 40 p.516-519.

ERGİNKAYA, Z.: VAR. I. 1989; Et ve Et Ürünlerinde Biyogenik Aminler. Gıda 14 (3) 171-174.

FRANK, H.A.; YOSHINAGA, D.H.; NIP, W.K. 1981 Histamine formation and honeycombing during decomposition of skipjack Tuna, *Katsuwonus pelamis*, at elevated temperatures. Mar. Fish. Rev. 43 (10): 9.

FRANK, H.A.; YOSHINAGA, D.H.; WU, I.P. 1983. Nomograph for estimating histamine formation in skipjack Tuna at elevated temperatures. Mar.Fish.Rev 45 (4-6): 40.

GHEORGHE, V.; MANEA, M.JANTEA, F; BAD-OPRISESCU, D. 1970; Preservation of frozen Atlantic cod and horse mackerel. 2-changes in physicochemical and bacteriological indices of spoilage Industria Alimentaria 21:301 (Abstracted in Food Science Technology Abstracts (1972) 4: 11R 620J.

GOUYGOU, J.P.; SINQUIN; DURAND, P. 1987: High Pressure Liquid Chromatography Determination of Histamine in fish. J.of food sci: Vol 52 No 4 p. 925-927.

GRAF.W. 1992: Untersuchungen zum vorkommen und zur Bildung von Histamin in Hartkäse. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

HUI, J.Y.; TAYLOR, S.L. 1983: High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Putrefactive Amines in Foods J.Assoc. off. Anal. Chem. vol 66 No:4 p.853-857.

İNAL, T. 1988: Besin Hijyeni, İ.Ü.Veteriner Fak.Ders Notları.

JOOSTEN, H.M.L.J.: NORTHOLT, M.D. 1987: Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese 2. Decarboxylative properties of some non-starter bacteria. Neth. Milk. Dairy J. 41, 259-280.

JOOSTEN, H.M.L.J.: STADHOUDERS, J. 1987; Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 1. Decarboxylative properties of starter bacteria. Neth.Milk Dairy J.41, 247-258.

JOOSTEN, H.M.L.J. 1988: Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3.Factors influencing the amounts formed. Neth.Milk Dairy J.41, 329-357.

KARNOP, G.; MÜNZER, R.; ANTONACOPOULOS, N. 1978: Einfluss der Bestrahlung an Bord auf die Haltbarkeit von Rotbarsch. Archiv für Lebensmittelhygiene 29, 49-53.

KARNOP, G. 1988; Histamin in Salzsardellen. Archiv für Lebensmittelhygiene 39, 57-84.

KAWABATA, T.; ISHIZAKA, K.; MIURA.T. 1956: Studies on the allergy like food poisoning associated with putrefaction of marine product. VI Influence of trimethylamine and trimethylamine oxide added to histamine of sardine upon their own action in vivo. Bull.jap.Soc. Fish 21; 1177.

KAWABATA, T.; ISHIZAKA, T.; MIURA.T.; SASAKI, T. 1956: Studies on the food poisoning associated with putrefaction of marine products. 7 An outbreak of allergy-like food poisoning Caused by "Sashimi" of *Parathunnus mebachi* and the isolation of causative bacteria. Bull. Jop.Soc.Sci. Fish. 22:41.

KIETZMANN, U; PRIEBE, K RAKOV, D.; REICHSTEIN, K. 1969. Seefisch als Lebensmittel. Paul Parey Verlag. Hamburg Berlir. 368 sf.

KIMATA, M.; KAWAI, A. 1953. The Freshness of fish and the amount of histamine Presented in the Meat, 1. Memoirs of the Research Institute for food Science, Kyoto Univ. No.5,25.

LAKRITZ, L.; SPINELLI, A.M.; WASSERMANN, A.E. 1975: Determination of amines in fresh and processed pork. J.Agr. Food Chem. 23. 344-346.

LANG, K. 1979. Der Fluchtige Basenstickstoff (TVB-N) beim Binnenland in den Verkehr Gebrachten frischen Seefischen. Archiv für lebensmittelhygiene 30, 215-217.

LERKE, P.A.; BELL, L.D. 1976; A Rapid Fluorometric Method for The Determination of Histamine in Canned Tuna.J.of Food Sci. Vol 41, 1281-1284.

LUDORFF, A.; MEYER, U. 1973. Fische und Fisherzeugnisse. Paul Parey Verlag. Berlin und Hamburg. 219-309.

MEITZ, J.L.; KARMAS, E. 1978. Polyamine and Histamine Content of Rockfish, Salmon, Lobster and Shrimp as an Indicator of decomposition.Journal Association of Official Analytical Chemists 61 (1-3) 139-145.

MIDDLEBROOKS, B.L.; TOOM, P.M.; DOUGLAS, W.L.; HARRISON, R.E.; MCDOWELL, S. 1988: Effects of Storage Time and Temperature on the Microflora and Amine Development in Spanish Mackerel (*Scomberomorus Maculatus*). Journal of Food Scinece Vol 53. No: 4. p. 1024-1028.

OKUZUMI, M.; OKUDA.B; AWANO, M. 1981. Isolation of Psychrophilic and Halophilic histamine forming Bacteria from Scomber Japonicus.Bull. of the Jap. Soc.of Sci. Fish. 47 (12) 1591-1598.

OKUZUM, M.; OKUDA, S.; AWANO, M. 1982. Occurrence of Psychrophilic and Halophilic Histamine-forming Bacteria (N-group Bacteria) on lin Red Meat fish Bull. of the Jap. Soc. of Sci. fish 48 (6) 799-804.

OMURA, Y.; PRICE, R.J.; OLCOTT, H. 1978; Histamine-Forming Bacteria Isolated From Spoiled Skip jack Tuna and Jack Mackerel. Journal of Food Sci. Vol 43 1779-1781.

OTA, F.; KANEKO, K. 1958: On the Formation of Amine in fish muscle. VII. effect of freezing on the histamine formation in the thawed fish muscle. Bull. of the Jap. of Sci. Vol 24 No 1 p. 140-143.

PRIEBE, K. 1979: Brauchbarkeit der dünnschicht-Elektrophorese für die Histamin bestimmung in Fischen und Fischerzeugnissen. Fleischwirtsch. 59 (11) 1658-1661.

REHBEIN, HB; OEHLenschlaeger, J. 1982. Zur Zusammensetzung der TVB-N Fraktion (fluchtige Basen) in Savren Extrakten und Alkalischen Destillaten von Seefisch. Archiv für Lebensmittelhygiene 33, 44-48.

RICE, S.L.; EITENMILLER, R.R.; KOEHLER P.E. 1976: Biologically active amines in food: a review. J. Milk. Food Technol, 39, 353-358.

SCHMIDTSDORF, W. 1970: Fish Protein Hydrolysate. Requirements of production in relation to, possible toxin formation - when. Fren Center International Symposium Series 14: 287 (Abstracted in Food Science and Food Technology Abstracts (1971) 3: 9R 375).

SCHORMÜLLER, J. 1968. Handbuch der Lebensmittelchemie Band III/2 Teil. s. 1482-1537. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.

SCHULZE, K.; REUSE, V.; 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: Biogee Amine als Risikofaktoren in der Fischhygiene. Archiv für Lebensmittelhygiene, 29.206-210.
- SLEMER, J. 1981: Biogene Amine als potentieller chemischer, Qualitätsindikator für fleisch. Fleischwirtsch. 61, 921-924.
- STARUSKIEWICZ. 1977. Fluorometric determination of histamine in tuna-colloaborative study. J.Assoc. Official Agri.Chem 60 (5) 1131-1136.
- STARUSKIEWICZ, W.F.; BOND,J. 1981: Gas chromatographic Determination of Cadaveine Putrescine, and Histamine in Foods. J.Assoc. off. Anal-chem. Vol 64 No:3, 584-591.
- 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 Lebensmittel hygiene 30, 59-61.
- STOCKMER, J.; NIEPER. L. 1984; Parameter zur Beurteilung des Verderbs von Nordsee Krabben (*Crangan Crangon*) Archiv für lebensmittelhygiene, 35. 5-7.
- SUMNER, J.J.; SPECKHARD, M.W.; SOMERS, E.B.; TAYLOR, J.L. 1985. Isolation of histemine producing *Lactobacillus buchneri* from swiss cheese implicated in a food pasoning outbreak. Appl.Environ.Microbiol. 50, 1094.
- TAYLOR, S.L.; LIEBER, E.R. 1977: Specificity and sensitivity of Seven Histamine Deteciton Methods. Journal of food Science Vol 42 No:6 p.1584-1586.

TAYLOR, S.L.; LEATHERWOOD, M.; LIEBER, E.R. 1978a : A survey of Histamine Levels in Sausages journal of Food Protection Vol 41 No:8 p.634-632.

TAYLOR, S.L.; LIEBER, E.R.; LEATHERWOOD, M. 1978B: A simplified method for histamine analysis of foods journal of food science Vol 43 p. 247-250.

TAYLOR, S.L.; GUTHERTZ, L.S.; LEATHERWOOD, M.; LIEBER, E.R. 1979: Histamine Production by *Klebsiella pneumoniae* and an Incident of scombroid Fish Doisoning. Applied and Enviromental Microbiology, feb. 1979, p.274-278.

TAYLOR, S.L.; WOYCHIK, N.A. 1982: Simple medium for assesing quantitative production of histamine by *Enterobacteriaceae*, Food Proc. 45, 747.

TAYLOR, S.L.; 1985: Food Allergies. Food Technology. 39 (2): 98.

TAYLOR, S.L.; 1986: Histamine Food Poisoning : Toxicology and Clinical Aspects. CR.C.Critical Reviews in Toxicology and Clinical Aspects. CR.C.Critical Reviews in Toxicology 17, 91-117.

TAYLOR, S.L.; 1988: Marine Toxins of Microbial origin Food-technol 42 (3) 94-98.

VARLIK, C.; GÜN, H.; GÖKOĞLU, N. 1992 Ton Konservelerinde Histamin Düzeylerinin Belirlenmesi Gıda Cilt 17 Sayı: 4, s.239-245.

VECIANA-NOGUES, M.T.; VIDAL-COROU, M.C.; MARINE-FONT, A. 1989. Histamine and Tyramine in Preserved and Semi-preserved Fish Products.J.of Food sci. Vol 54 No:6, 1653-1655.

VIDAL CAROU, M.C.; IZQUIERDO-PULIDO; MARINE -FONT, AB.1989: Spektrofluorometric Determination of Histamine in wines and other Alcholic Beverages. J.Assoc.off.Anal.Chem.Vol.72 No: 3 p.412-415.

VIDAL COROU, M.C.; VECIANA NOGUES, M.T.; MARINE FONT, A.1990: Spectrofluorometric determination of Histamine in Fish and Meat Products.J.Assoc.off.And-Chem. Vol 71 No:4. p.565-567.

VOIGT, M.N.; EITENMILLER, R.R.1978: Role of Histidine and Tyrosine Decarboxylases and Mono-and Diamine oxidases in Amine Build-Up.in Cheese.J.of food Prot.Vol 41 No:3 p.182-186.

WALTERS, M.J. 1984: Determination of Histamine in Fish by liquid Chromatography with Post-Column Reaction and Fluorometric Detection J.Assoc.off.Anal Chem. Vol.67 No: 6 p.1040-1043.

WATTS, D.A.; BROWN, W.D. 1982: Histamine formation in abusively stored pasific mackerel: effect of CO₂-modified atmosphere .J.Food Sci. 47,138.

WOOTON,MB;SILALAH, J; WILLS, R.B.H. 1989: Amine Levels in Some Asian Seafood Products.J.Sci. Food Agric 49.503-506.

WÜRZIGER, J.; DICKHAUT, G; 1978: Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamin in Fischen un Fischzubereitungen. Fleischwirtschaft 6,989-994.

YOSHINAGA, D.H.; FRANK, H.A.1982: Histamine Producing Bacteria in Decomposing Skip jack Tuna (*katsuwonus pelamis*). Applied and Environmental Microbiology. August p-447-452.

VII. ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında İzmir'in Dikili ilçesinde doğdum. İlk ve ortaokulu Antalya'da Lise öğrenimimi Muğla'da tamamladım. 1982 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilim ve Teknolojisi bölümüne girdim. Fakülte öğrenimimi 1986 yılında tamamladım. 1989 yılında İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde Su ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Programında Yüksek Lisans'a başladım. "Alabalığın Dumanlanması ve Raf Ömrünün Belirlenmesi" konulu tezimle 1991 yılında yüksek lisansımı tamamladım. Halen İ.Ü.Su Ürünleri Fakültesinde uzman olarak görev yapmaktayım.