

Gıdalarda Biyojen Aminlerin Varlığı ve Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Hilal ÇOLAK¹Harun AKSU¹¹Istanbul Üniversitesi,Veteriner Fakültesi,Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Istanbul

ÖZET

Biyojen aminler, amino asitlerin dekarboksilasyonu ile oluşan azotlu bileşiklerdir. Gıdalarla fazla miktarda alınmaları sonucu, gıda zehirlenmelerine neden olduklarından, özellikle histamin ve tiramin halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Bu derlemede, gıdalarda biyojen aminlerin varlığı ve amin üretiminde etkili olan faktörler son literatürler de değerlendirilerek ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Gıda, Biyojen aminler, Histamin, Tiramin.

Presence of Biogenic Amines in Foods and Factors Affecting Amine Formation

SUMMARY

Biogenic amines are nitrogenous compounds formed by decarboxylation of amino acids. Histamine and tyramine have particular importance in public health, causing food poisoning as a consequence of excessive intake by food. In this review, it was mentioned the presence of biogenic amines in food and the affecting factors in biogenic amine production considering the recent literatures.

Key words: Food, Biogenic amines, Histamine, Tyramine.

GİRİŞ

Biyojen aminler, amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan azotlu bileşiklerdir (15,26,35). Bu aminler, kimyasal olarak alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin, β -fenilettilamin) veya heterosiklik (histamin, triptamin) yapıda olabilirler (32,35). Biyojen aminler, gıdalarda mikrobiyel enzimler tarafından spesifik serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu meydana gelmektedir (4,7,17,30,45). Gıdalarda oluşan en önemli biyojen aminler histamin, tiramin, putresin, kadaverin, β -fenilettilamin, triptamin, spermidin ve spermin olup, bu aminler sırasıyla histidin, tirozin, ornitin, lizin, fenil alanin, triptofan ve arginin amino asitlerinden dekarboksilazların etkisi ile oluşmaktadır (21,31,35,37). Spermin ve spermidin putresinden de meydana gelebilmektedir (21).

Biyojen aminlerin, vücutta önemli birçok biyolojik rolleri mevcuttur. Protein, hormon ve nükleik asit sentezinin ilk basamağını oluştururlar (19,26,32,35). Putresin, spermin, spermidin gibi poliaminler canlı hücrelerin vazgeçilmez bileşenleridir. Ayrıca poliaminler, bağırsaklardaki immunolojik sistemde ve normal metabolik fonksiyonların aktivitesinin sürdürülmesinde de gereklidir (35).

Halk Sağlığı Açısından Biyojen Aminlerin Önemi

İnsan ve hayvanların biyolojik fonksiyonlarında önemli role sahip olan biyojen aminler, gıdalarla fazla miktarda alındıklarında toksik etkiler gösterebilirler (35,37). Genel olarak biyojen aminlerin neden olduğu en sık görülen toksik etkiler; ciddi baş ağrıları, hipo veya hipertansiyon, çeşitli alerjik reaksiyonlardır. Daha ciddi durumlarda, intracerebral hemoraji ve ölüm olayları da meydana gelebilmektedir (9).

Biyojen aminlerin neden olduğu zehirlenmelerden en sık görüleni histamin ve tiramin zehirlenmesidir (20). Histamin, balık, peynir, et ürünleri gibi gıdalarda tespit edilmiş en toksik amin (8) olup; etkisini, kardiovasküler sistem ve çeşitli salgı bezlerinin selüler membranlarında bulunan reseptörlere bağlanmak suretiyle gösterir (37). Histamin zehirlenmesinden

(scombroid poisoning) en çok scombroidae familyasına (uskumru, ton balığı, torik vb.) ait balık türlerinin (15,16,45) sorumlu tutulmasına rağmen, bu familyaya ait olmayan türler (sardalya, hamsi, ringa) ve peynir de bu zehirlenmeye neden olabilmektedir (1,37). Histamin zehirlenmesinin, Amerika Birleşik Devletleri'nde deniz ürünlerinin tüketimi ile en sık görülen hastalıklardan ilk üçü arasında bulunduğu bildirilmektedir (4). Toksik etkileri bireylerin intestinal fizyolojisine göre değişiklik gösterebilmesine rağmen en belirgin semptomlar, ürtiker, lokalize yanmalar, mide bulantısı, ciddi solunum zorlukları, baş ağrısı, hipotansiyon ve çarpıntıdır (20,30,37).

Tiramin zehirlenmesi, peynir reaksiyonu (cheese reaction) olarak adlandırılmaktadır (37,40). Tiramin, temel olarak sempatik sinir sistemine periferel vazokonstriksiyon ile kan basıncını arttırarak, indirekt olarak etki eder. Peynirin, monoaminoksidaz inhibitör (MAOI) ilaçlarla tedavi gören hastalarda hipertensif rahatsızlıklara neden olan başlıca gıda olduğu bildirilmiştir (37). MAOI ilaçların kullanımı, detoksifikasyon sistemini inhibe ettiği için yüksek konsantrasyonda "presser amin" (örneğin tiramin), başta hipertansiyon krizi oluşturmak üzere kana geçer (30,37,45). Bu nedenle, tiramin, triptamin ve β -fenilettilamin presser amin olarak adlandırılmaktadır.

Putresin, kadaverin gibi diaminler ise nitritlerle reaksiyona girme yatkınlıkları ve potansiyel karsinojen nitrozaminler oluşumu nedeniyle, mutajenik öncül maddeler olarak değerlendirilmektedir (7,17,28,30). Bu aminler, ısıyla nitrozopirolidin ve nitrozopiperidin meydana getirerek, piperidin ve piperidine dönüşür (28,37). Bu yüzden pişirme (kızartma), serbest nitrozamin bulunan çiğ üründe, bunların oluşumunu arttırmaktadır. En bilinen karsinojenik nitrozaminleri oluşturan diğer aminler, agmatin ve poliaminlerden spermin ve spermidindir. Bunlar, en çok balık, et ve sebze ürünlerinde bulunmaktadır. Gıdada bir kez amin oluşumu meydana geldikten sonra onu imha etmek oldukça güçtür (35). Yüksek sıcaklık uygulamalarının gıdalarda mevcut biyojen aminler üzerine önemli bir azalma göstermediği bulunmuştur (37).

İnsan vücudu, biyojen aminlerin neden olduğu çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkmasını önleyen kuvvetli bir detoksifikasyon sistemine sahiptir. Bu detoksifikasyon sistemi monoaminoksidaz (MAO), diaminoksidaz (DAO) ve histamin-N-metil transferaz (HNMT)'dan oluşmaktadır (21,33,35). Normal şartlarda, gıdalarla alınan biyojen aminler, bu enzimler ile toksik olmayan ürünlere çevrilir. Fakat, yüksek miktarlarda biyojen aminlerin alınması, detoksifikasyon metabolizmasının çeşitli farmakolojik ajanlar (sıtma tedavisi ilaçları, antidepresif etkili ilaçlar vb.) ile inhibe edilmesi, genetik olarak detoksifikasyon enzimlerinin eksikliği, gastrointestinal rahatsızlıklar, alkol alımı (18,25) gibi nedenlerden dolayı detoksifikasyonun yapılamaması sonucu, gıda zehirlenmeleri ortaya çıkabilmektedir (19,35). Ayrıca, gıdalarda biyojen aminlerin bir arada bulunmasının da toksik etkilerin ortaya çıkmasında önemi büyüktür. Tiramin MAO, triptamin DAO, β -fenilettilamin, DAO ve HNMT enzimlerini inhibe etmektedir (30). Spermin ve spermidin ise gastrointestinal duvardan histamin geçişini arttırmaktadır (37).

Biyojen aminlerin neden olduğu çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkması, bireysel farklılıklara, gıdalarla alınan biyojen aminlerin türüne, aminlerin bir arada bulunmasına bağlı olarak değişebildiğinden toksik doz miktarları için farklı değerler bildirilmiştir. Bir öğünde, 40 mg'ın üzerinde biyojen amin alınması, potansiyel toksik olarak değerlendirilmektedir (37). Gıdada, 1000 mg/kg oranında amin bulunmasının ise sağlık açısından dikkate değer bir risk olduğu bildirilmektedir (35).

Gıdalarda Biyojen Aminlerin Varlığı

Biyojen aminlere, mikrobiyel ve biyokimyasal aktivite için uygun koşulların olduğu durumlarda, serbest amino asit veya protein içeren hemen hemen bütün gıdalarda rastlanabilir (8,35). Özellikle balık ve ürünleri, et ve et ürünleri, peynir gibi çeşitli gıdalarda, bira, şarap, lahana turşusu gibi fermente ürünlerde, önemli miktarda oluştuğu bildirilmektedir (37).

Balık ve balık ürünleri, histamin zehirlenmesinden sorumlu tutulan başlıca gıda olarak değerlendirilmektedir. Bu konu ile ilgili yapılmış bir çok çalışma mevcut olup, bu ürünlere biyojen amin içerikleri bakımından dikkat edilmesi gerekmektedir. Feier ve Goetsch (14), hamsi ve tatlı su levreği örneklerinde bazı biyojen aminleri araştırdıkları çalışmalarında, inceledikleri hamsi örneklerinde ortalama putresin, kadaverin, histamin ve tiramin oranlarını sırasıyla 18, 107, 650 ve 111 mg/kg ; tatlı su levreği örneklerinde ise ortalama putresin ve kadaverin oranlarını 83 ve 119 mg/kg seviyelerinde tespit etmişlerdir. Omura ve ark. (29) tarafından yapılan bir çalışmada, taze ton balıkları 5 gün süreyle oda sıcaklığında (20-25°C) bırakıldıktan sonra histamin miktarı, 7140 mg/kg olarak saptanmıştır. Oda sıcaklığında ve buzdaki muhafaza edilen sardalyalarda oluşan biyojen aminler üzerine yapılan bir çalışmada da, oda sıcaklığında 24 saat sonra histamin, kadaverin ve putresin miktarları sırasıyla 2350, 1050 ve 300 ppm iken, buzdaki örneklerde histamin ve kadaverin miktarlarının benzer seviyelere 8 gün sonra ulaştığı, putresin oluşumunun ise önemsiz olduğu bildirilmektedir (32). Veciana-Nogues ve ark. (45), yarı konserve hamsilerde üretim ve depolamada oluşan değişiklikler üzerine bir çalışma yapmışlardır. Salamurada ve

yağda paketlenen hamsilerde oda sıcaklığında depolamada, yüksek histamin ve triptamin oluşumu gözlemlenmiş, dondurarak muhafazanın ise amin oluşumunu önlediği bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada da sardalya, uskumru ve ton balığı konservelerinde histamin seviyelerinin genellikle 2000 ppm'den daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (23).

Piştirilmiş veya piştirilmemiş kasaplık hayvan etlerinde de çeşitli biyojen aminlerin varlığı üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır. Smith ve ark. (39)'nın yaptığı bir çalışmada 120 gün 1°C'de depolanan vakum paketlenmiş sığır etlerinde biyojen amin oluşumu araştırılarak, depolamanın 20. gününden itibaren önemli seviyelerin tespit edildiği bildirilmiştir. Bauer ve ark. (2) tarafından ise sığır ve domuz etlerinin +4°C'de depolanması süresince tiramin, kadaverin ve putresin miktarlarında artış kaydedilerek; bu biyojen aminlerin miktarının depolamanın 35. gününde 150 mg/kg'ı geçmediği, bozulma gözlemlendikten sonra ise biyojen amin konsantrasyonunun 1000 mg/kg'ın üzerine çıktığı belirtilmektedir. Nakamura ve ark. (28)'nin yaptığı bir çalışmada domuz etinin poliamin (spermidin, spermin, putresin ve kadaverin) içeriği incelenerek, taze domuz eti örneklerinde bu aminlerin miktarları oldukça düşük (0.1-6.9 mg/100g) bulunmuştur. Buna karşılık, bozulmuş domuz etlerinde spermin, spermidin, putresin ve kadaverin miktarlarının sırasıyla; 2796, 1013, 351 ve 40.8 mg/100 g seviyelerinde bulunabildiği belirtilmektedir.

Fermente sucuklarla ilgili yapılan bir çok çalışmada bu üründe biyojen aminlerin önemli miktarlarda bulunabildiği rapor edilmiştir (3,17,42,44). Sucuklarda oluşan en önemli biyojen aminler, putresin, histamin, kadaverin, tiramin, triptamin, β -fenilettilamin, spermidin ve spermin'dir (31). Sucuklarda tespit edilen biyojen amin seviyeleri için genellikle çok değişik değerler belirtilmiştir. Bu değişik konsantrasyonlar, olgunlaşma prosesinin süresindeki farklılıklar ve değişiklikler, fermantasyondan sorumlu doğal mikrofloranın dekarboksilaz aktivitesindeki değişiklikler, bazı aminlerin metabolizması ve biosentezi, kullanılan etin kalitesindeki büyük farklılıklar gibi faktörlerden etkilenebilmektedir (36,37).

Tschabrun ve ark. (42), Avusturya'da üretilen fermente sucuklarda yaptıkları incelemelerde, histamin seviyelerini 1-600 mg/kg kuru madde olarak bulmuşlardır. Avusturya'da satışa sunulan fermente sucuklarda Paulsen ve ark. (31)'nin yaptığı diğer bir çalışmada, benzer sonuçlar rapor edilmiş olup, histamin seviyelerinde görülen farklılığın, üreticiden üreticiye değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Koehler ve Eitenmiller (22) tarafından sucuk örneklerinde triptamin, tiramin ve β -fenilettilamin seviyelerinin incelendiği bir çalışmada, tiramin seviyesinin diğer ikisine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Örneklerde, en yüksek tiramin miktarı 374 mg/kg, ortalama olarak 133 mg/kg, β -fenilettilamin ve triptamin miktarları ise ortalama 184 mg/kg ve 29 mg/kg olarak bulunmuştur. Finlandiya'da üretilen sucuklarda bulunan biyojen aminlerin araştırıldığı bir çalışmada, tiraminin en sık rastlanılan amin olduğu belirtilerek, 82-110 mg/kg seviyelerinde tespit edildiği bildirilmiştir. Diğer aminlerden histaminin, 1-200 mg/kg, β -fenilettilaminin 1-48 mg/kg ve triptaminin 10-91 mg/kg düzeylerinde bulunduğu rapor edilmiştir (12). Hernandez-Jover ve ark. (18) tarafından İspanya'daki et ve et ürünlerinin biyojen amin içerikleri

üzerine yapılan bir çalışmada, incelenen tüm örneklerde spermin ve spermidin bulunduğu belirtilerek; spermin miktarının 6.4-62.1 mg/kg, spermidinin ise 0.7-13.8 mg/kg arasında değiştiği bildirilmektedir. Örneklerde bulunan tiramin, histamin, putresin ve kadaverin seviyelerinin çok büyük farklılıklar gösterdiği ve özellikle fermente örneklerde bulunduğu belirtilmektedir. Biyojen amin miktarlarının, fermente örneklerde 300 mg/kg'ın üzerine çıkarken, genellikle ısı işlemi görmüş et ürünlerinde düşük seviyelerde (10 mg/kg) bulunduğu rapor edilmiştir. Mısır'da üretilen sucuklar ile yapılan bir çalışmada ise, histamin, putresin ve kadaverin miktarları ortalama olarak sırasıyla; 5.2, 38.6 ve 19.2 mg/kg ; tiramin, triptamin, β -fenilettilamin miktarları ortalama olarak sırasıyla 19.2, 12.7 ve 33.2 mg/kg; spermin ve spermidin miktarları ise ortalama 1.7 ve 2.3 mg/kg olarak tespit edilmiştir (38).

Peynirler, biyojen amin miktarları bakımından önem taşıyan gıdalar arasında bulunmaktadır. Peynirlerde oluşan en önemli biyojen aminler; tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin ve β -fenilettilamin olup bu aminlerin miktarı, olgunlaşma süresince artmaktadır (30,37). Koehler ve Eitenmiller (22), inceledikleri çeşitli peynir örneklerinde tiramini en yaygın bulunan amin olarak tespit etmişlerdir. Örneklerde en yüksek tiramin konsantrasyonu 1320 mg/kg, ortalama olarak 216 mg/kg, β -fenilettilamin seviyesi ise 102 mg/kg olarak bulunmuştur. İncelenen örneklerdeki triptamin seviyesinin daha düşük oranlarda bulunduğu belirtilerek, ortalama olarak 20 mg/kg olduğu bildirilmiştir. Vale ve Gloria (43) ise Brezilya'da üretilen peynirlerde yaptıkları incelemelerde örneklerin tümünde spermin bulunduğunu belirterek; kadaverin, tiramin, histamin ve putresin miktarlarının sırasıyla 111, 21.25, 19.65 ve 17.37 mg/100 g olarak tespit edildiğini bildirmektedir. Spermin, agmatin, β -fenilettilamin, serotonin, spermidin ve triptamin ise 4.1 mg/100 g'dan daha düşük olarak saptanmıştır.

Bira ve şarap gibi fermente içkiler, çeşitli biyojen aminleri önemli miktarlarda içerebilmektedir. Buiatti ve ark. (9), inceledikleri alkollü ve alkolsüz bira örneklerinde histamin, tiramin, triptamin, β -fenilettilamin, putresin, kadaverin, spermin ve spermidinin varlığını araştırmışlardır. Histamin ve sperminin saptanamadığı çalışmada, diğer altı amin tayin edilebilecek düzeyde bulunarak, miktarlarının 0.1-17.2 ppm arasında değişiklik gösterdiği belirtilmektedir. Tiramin ve putresinin en yüksek düzeylerde tespit edildiği çalışmada, alkollü ve alkolsüz bira örnekleri arasında biyojen amin miktarları yönünden önemli bir fark bulunamamıştır. Şaraplarda yapılan bir çalışmada, beyaz, kırmızı ve pembe şaraplarda histamin, tiramin, putresin ve kadaverin miktarları araştırılarak, bu aminlerin en fazla kırmızı şarap örneklerinde sırasıyla, 4.67, 3.38, 7.8, ve 0.54 mg/l düzeyinde olduğu rapor edilmiştir. Kırmızı şarapların, beyaz şaraplara göre daha yüksek biyojen amin düzeyine sahip olduğu bildirilmektedir (10).

Lahana turşusunda da biyojen aminler önemli miktarlarda bulunabilmektedir. Bu ürün ile yapılan çeşitli çalışmalarda, histamin düzeyinin 24.4-100 mg/kg arasında, putresin miktarının ise 150 mg/kg'ın üzerinde bulunabildiği rapor edilmiştir (19). Kalac ve ark. (21), inceledikleri örneklerde ortalama tiramin, putresin ve kadaverin miktarlarının sırasıyla 174,146 ve 50 mg/kg olduğunu, histaminin ise 7.8 mg/kg

olarak tespit edildiğini bildirerek; triptamin, spermidin ve özellikle spermin miktarlarının oldukça düşük bulunduğunu belirtmişlerdir. Hornero-Mondez ve Garrido-Fernandez (19) ise çeşitli fermente sebzelerin salamuralarında, en yüksek konsantrasyonda putresin olmak üzere, farklı düzeylerde biyojen amin tespit etmiştir.

Mandalina, portakal, limon, ahududu, çilek, üzüm ve greyfurttan elde edilen meyve suları veya nektarları, değişik konsantrasyon ve yapıda biyojen amin içerebilmektedirler. Bunların başında ise putresin gelmektedir (35,37). Ayrıca, kakao tanelerinde ve kakaodan yapılan çikolata, çikolata ürünleri ve şekerlemelerde doğal olarak β -fenilettilamin bulunabilmektedir. Alglerden (su yosunları) yapılan karamela veya şekerlemelerde ise histamin ve kadaverine rastlanmıştır (35).

Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Gıdalarda biyojen aminlerin üretiminde, amino asitleri dekarboksile edebilme yeteneğine sahip bakteriler rol oynamaktadır. Bakteriler tarafından üretilen dekarboksilaz enzimi ile amino asitlerde bulunan α -karboksil grubu ayrılarak ilgili amin üretilmektedir. Otolitik veya bakteriyel olarak oluşabilen proteoliz olayı, proteinlerden serbest amino asitlerin meydana gelmesine neden olduğundan, dekarboksilaz reaksiyonları için substrat sağlanmış olur. Amino asit dekarboksilasyonu için, pridoksal fosfata bağımlı olan ve olmayan reaksiyonlar olmak üzere iki mekanizma tanımlanmaktadır (16,37).

Amin üreten en önemli bakteriler, Enterobacteriaceae familyasına ait türler, Clostridium, Bacillus, Pseudomonas ve Photobacterium cinsi bakteriler, laktik asit bakterilerinden Lactobacillus, Streptococcus, Pediococcus ve Carnobacterium cinsleri olarak bildirilmektedir (4,8,15,35,37). Et ve et ürünlerinden, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus morgani* ve *Edwardsiella spp.* gibi amin üreten koliformlar, Pediococcus, Streptococcus ve Micrococcus türleri yanında (26,37), *Lactobacillus brevis*, *L.divergens* ve *L.hilgardii* gibi amin üreten obligat heterofermentatif laktik asit bakterileri ile fakültatif heterofermentatif *L.carnis* ve homofermentatif *L.curvatus* izole edilmiştir (24,26).

Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumunda, amin üreten mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitesini etkileyen bazı faktörlerin sağlanması gereklidir. Bunlardan pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu, starter kültürlerin varlığı en önemli faktörlerdir (26,37,41).

a) Sıcaklık ve pH'nın Etkisi

pH, dekarboksilaz aktivitesini ve dolayısıyla biyojen amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Biyojen amin oluşumunun, asidik ortamlarda bakteri için koruyucu bir mekanizma olduğu bildirilmektedir (25,26,27,41). Asidik ortamlarda amino asit dekarboksilaz aktivitesi daha güçlü olmaktadır. Amin oluşumunda pH 4.0-5.5 arasındaki koşullar optimum olarak bulunmuştur (35,41).

Asidik ortamlarda (pH 5.0), *Lactobacillus bulgaricus*'un amino asit ilave edilerek kuvvetlendirilmiş MRS broth'da daha fazla histamin, tiramin ve triptamin ürettiği tespit

edilmiştir (25). Glukoz gibi fermente olabilen karbonhidratların varlığı, bakterilerin gelişmesini ve amino asit dekarboksilaz aktivitesini artırır. Çünkü, şekerin parçalanması ile laktik asit oluşumundan dolayı, pH düşüşü sağlanmaktadır. Glukoz konsantrasyonunun %0.5-2 olduğu durumlar, optimal kabul edilirken (27), %3'ü aştığı durumlarda enzim oluşumu inhibe olmaktadır (35). Beutling (5), *Enterococcus faecalis*'in L-tirozin ve glukoz ilave edilmiş broth'ta pH 5.0-8.0 arasında yüksek miktarlarda tiramin ürettiğini bildirmektedir. Hızlı bir tirozin dekarboksilasyonu için optimum pH 7.0 olarak bulunmuştur. Glukozun bakterinin üremesi bakımından tiramin oluşumuna kuvvetli bir etkisi olduğu, fakat tirozin dekarboksilaz aktivitesi üzerine etki etmediği belirtilmektedir. Sucuk üretiminde kullanılan GDL (Glucano-delta-lactone), suda glukonik aside hidroliz olur. Bu şekilde hızlı bir pH düşüşü sağlanır (25,26). Maijala ve ark. (26) tarafından yapılan bir çalışmada, kıyma örneklerine GDL ilave edilerek sağlanan pH azalmasının biyojen aminler üzerine etkisi araştırılmıştır. GDL ilavesi ile kontrol grubuna göre, hızlı bir pH düşüşü yanında toplam bakteri, koliform, fekal streptokok sayıları ile histamin ve putresin seviyelerinde de önemli bir azalma sağlanmıştır. Ancak, doğal özelliklerinden ötürü, laktik asit bakterileri etkilenmemiştir.

Sıcaklık, bakterilerin amin üretimini büyük ölçüde etkilemektedir. Amin oluşumu için optimal sıcaklık değerleri, bakteri türlerine göre değişir (27). Biyojen amin miktarlarının, depolama süresi ve sıcaklığı ile pozitif korelasyon içinde olduğu bildirilmektedir (35). Ababouch ve ark. (1), üç *Proteus* türü tarafından histamin oluşumunu araştırdıkları çalışmalarında, bu türlerin pH 5.0'te pH 7.0'ye göre ve 25°C'de, 4°C veya 35°C'ye göre daha aktif olduğunu bildirmektedir.

b) Tuz Konsantrasyonunun Etkisi

Biyojen amin oluşumunda, ortamın tuz konsantrasyonu önemli bir faktördür. Tuz konsantrasyonunun %5'ten fazla olmasının histamin oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (6). Ababouch ve ark. (1), üç ayrı *Proteus* türü ile yaptıkları çalışmalarında, %8 NaCl ilavesinin etkili bir şekilde histidin dekarboksilaz aktivitesini azalttığını belirtmektedirler. Diğer taraftan, kuvvetli bir histamin oluşturma aktivitesine sahip olarak tanımlanan *Staphylococcus capitis*'in %10 NaCl bulunan deneysel koşullarda yaklaşık 400 mg/ml histamin üretebildiği rapor edilmiştir (16). *Carnobacterium divergens*'in tiramin üretiminin araştırıldığı bir çalışmada da %10 NaCl'ün tiramin oluşumunu inhibe ettiği bildirilmektedir. Potasyum nitrat varlığının ise tiramin oluşumunu etkilemediği belirtilmektedir (27). Teodorovic ve ark. (41), %3.5 tuz veya %0.02 oranında sodyum nitrit katılan, kontrol grubu olarak ise ilave yapılmamış brotlarda oluşan histamin değerlerini oldukça benzer bulmuşlardır.

c) Starter Kültürlerin Etkisi

Fermente sucuk üretiminde, amin üretmeyen starterlerin kullanımına dikkat etmek gerekmektedir (35). Amin üretmeyen starter kültürlerin kullanılması ile amin pozitif laktik asit bakterilerinin gelişimi büyük ölçüde önlenmektedir. Fermente sucuklarda kullanılan starter

kültürlerin, non-starter laktik asit bakterileri ile rekabet etmesi sonucu hem ürün kalitesi gelişir, hem de biyojen amin seviyeleri düşürülebilir (25). Hernandez-Jover ve ark. (17), fermente sucuk üretiminde starter kültür kullanımının, biyojen amin oluşumunu azalttığını fakat önlemediğini bildirmişlerdir. Starterler, hammaddede mevcut olan bazı kontamine mikroorganizmalar ve dolayısıyla putresin ve kadaverin gibi bazı biyojen aminlerin oluşumunu inhibe eder. Fakat histamin ve tiramin oluşumunu, amin üreten mikroorganizmalar çok düşük konsantrasyonlarda bulunsun bile inhibe etmez (34). Eerola ve ark. (13) tarafından yapılan bir çalışmada, sucuklarda amin-negatif starterlerden olan *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus*'un amin-pozitif kontamine laktik asit bakterilerinin gelişmesini ve biyojen amin oluşturma kabiliyetlerini önlemediği belirtilmiştir.

Peynirlerde, özellikle süt endüstrisinde kullanılan, *Streptococcus lactis* ve *Lactobacillus helveticus* gibi starter kültürler, histamin üreticileri olarak tanımlanmışlardır (37). Joosten ve Nunez (20) tarafından yapılan bir çalışmada ise, bacteriocin üreten starterlerin peynirlerde histamin oluşumunu önlediği bildirilmektedir.

Biyojen Aminler İçin İzin Verilen Limit Değerler

Gıdalarda, histamin dışında diğer biyojen aminler için belirlenmiş yasal limit değerler bulunmamaktadır. Birkaç ülkede, sadece balık ve balık ürünlerinde histamin için yasal değerler mevcuttur. Avrupa Birliği, balıklarda histamin oranının 10-20 mg/100 g'ı aşmamasını önermektedir (35). Draughon ve ark. (11) tarafından FDA (Food and Drug Administration)'da ton balığı için 50 mg/100 g'ın toksik seviye olarak bildirildiği rapor edilmiştir. A.B.D.'nde, yine histamin için son düzenlemelere göre, ton balığı ve bununla ilişkili türlerde izin verilen maksimum doz 50 ppm olarak bildirilmektedir (30). Ülkemizde ise Gıda Kodeksi'ne göre, histamin miktarının balıklarda 200 mg/kg'ı, şaraplarda 10 mg/kg'ı aşmaması gerekmektedir. Fermente sucuklarda, yüksek seviyelerde biyojen amin oluşumu rapor edilmesine rağmen, bu ürün için yasal bir limit önerilmemiştir (7,17).

KAYNAKLAR

- 1-Ababouch L, Afilal ME, Rhafiri S, Busta FF, (1991): Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine (*Sardina Pilchardus*) stored in ice and ambient temperature (25°C). Food Microbiol., 8: 127-136.
- 2-Bauer F, Seus I, Paulsen P, Vali S, (1994): The formation of biogenic amines in meat and meat products. 40th International Congress of Meat Science and Technology. Netherlands.
- 3-Bauer F, Tschabrun R, Sick K, (1989): Histamin in rohwürsten österreichischer Herkunft. Wien. Tierarztl. Mschr., 76: 180-184.
- 4-Ben-Gigrey B, Baptista de Sousa JMV, Villa TG, Barros-Velazquez JB, (1999): Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*). J.Food Protect., 62 (8): 933-939.

5-Beutling D, (1994): Untersuchungen zu Einflußfaktoren für die Tyraminbildung durch *Enterococcus faecalis*. Arch. Lebensmittelhyg., 45: 128-131.

6-Beutling D, (1996): Biogene amine in der Ernährung. Arch. Lebensmittelhyg., 47: 97-101.

7-Bover-Cid S, Hugas M, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC, (2000): Reduction of biogenic amine formation using a negative amino acid decarboxylase starter culture for fermentation of fuet sausages. J. Food Protect., 63(2): 237-243.

8-Brink B, Dammk C, Joosten HMLJ, Huis In't Veid JHJ, (1990): Occurrence and formation of biologically active amines in foods. Int. J. Food Microbiol., 11: 73-84.

9-Buatti S, Boschelle O, Mozzon M, Battistutta F, (1995): Determination of biogenic amines in alcoholic and non-alcoholic beers by HPLC. Food Chem., 52: 199-202.

10-Denli Y, Anlı RE, (1998): Şarap ve birada biyojen aminlerin önemi ve oluşumu. Gıda, 23(5) :323-327

11-Draughon FA, Tavangaran M, Hitchcock JP, (1987): Histamine production in soy extended tuna salads. J. Food Sci., 52 (3): 584-588.

12-Eerola HS, Roig-Sagues AX, Hirvi TK, (1998): Biogenic amines in Finnish dry sausages. J. Food Safety., 18 (2) :127-138.

13-Eerola S, Maijala R, Roig-Sagues AX, Salminen M, Hirvi T, (1996): Biogenic amines in dry sausages as affected by starter culture and contaminant amine-positive lactobacillus. J. Food Sci., 61 (6): 1243-1246.

14-Feier U, Goetsch PH, (1993): Inter-laboratory studies on precision characteristics of analytical methods. Determination of biogenic amines in fish and fishproducts-HPLC method. Arch. Lebensmittelhyg., 44: 134-135.

15-Gingerich TM, Lorca T, Flick GJ, Pierson MD, Mc Nair HM, (1999): Biogenic amine survey and organoleptic changes in fresh, stored and temperature-abused bluefish (*Pomatomus saltatrix*). J. Food Protect., 62 (9): 1033-1037.

16-Hernandez-Herrero MM, Roig-Sagues AX, Rodriguez-Jerez JJ, Mora-Ventura MT, (1999): Halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria isolated during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus*). J. Food Protect.; 62 (5): 509-514.

17-Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues T, Marine-Font A, Carmen Vidal-Carou M, (1997): Effect of starter cultures on biogenic amine formation during fermented sausage production. J. Food Protect., 60 (7): 825-830.

18-Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC, (1997): Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. J. Agric. Food Chem., 45 (6): 2098-2102.

19-Hornero-Mendez D, Garrido-Fernandez A, (1997): Rapid HPLC analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. J. Food Protect., 60 (4): 414-419.

20-Joosten HMLJ, Nunez M, (1996): Prevention of histamine formation in cheese by bacteriocin-producing lactic acid bacteria. App. Environ. Microbiol., 62 (4): 1178-1181.

21-Kalac P, Spicka J, Krizek M, Stediedlova S, Pelikanova T, (1999): Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. Food Chem., 67: 275-280.

22-Koehler PE, Eitenmiller RR, (1978): High pressure liquid chromatographic analysis of tyramine,

phenylethylamine and tryptamine in sausage, cheese and chocolate. J. Food Sci., 43: 1245-1247.

23-Lopez-Sabater EI, Rodriguez-Jerez JJ, Roig-Sagues AX, Mora-Ventura MA, (1994): Bacteriological quality of Tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning: Effect of tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteria and histamine level. J. Food Protect., 57 (4): 318-323.

24-Maijala R, Eerola S, (1993): Contaminant Lactic Acid Bacteria of dry sausages produce histamine and tyramine. Meat Sci., 35: 387-395.

25-Maijala R, (1994): Histamine and tyramine production by a lactobacillus strain subjected to external pH decrease. J. Food Protect., 57 (3): 259-262.

26-Maijala RL, Eerola SH, Aho MA, Hirn JA, (1993): The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. J. Food Protect., 56 (2): 125-129.

27-Masson F, Lebert A, Talon R, Montel MC, (1997): Effects of physico-chemical factors influencing tyramine production by *Carnobacterium divergens*. J. App. Microbiol., 83: 36-42.

28-Nakamura M, Wada Y, Sawaya H, Kawabata T, (1979): Polyamine content in fresh and processed pork. J. Food Sci., 44 (2): 515-517.

29-Omura Y, Price RJ, Olcott HS, (1978): Histamine-forming bacteria isolated from spoiled skipjack Tuna and Jack Mackerel. J. Food Sci. 43:1779-1781.

30-Ordóñez AI, Ibanez FC, Torre P, Barcina Y, (1997): Formation of biogenic amines in Idiazabal Ewe's-Milk cheese: Effect of ripening, pasteurization and starter. J. Food Protect., 60 (11): 1371-1375.

31-Paulsen P, Bauer F, Vali S, (1997): Biogenic amines in fermented sausage. I. Methods for the determination of biogenic amines. Fleischwirtsch., 77 (5): 450-452.

32-Rawles DD, Flick GJ, (1996): Biogenic Amines in fish and shellfish. Adv. Food Nut. Res., 39: 329-365.

33-Roig-Sagues AX, Hernandez-Herrero M, Rodriguez-Jerez JJ, Lopez-Sabater EI, Mora-Ventura MT, (1997): Histidine decarboxylase activity of *Enterobacter cloacae* 515/19 during the production of ripened sausages and its influence on the formation of cadaverine. J. Food Protect., 60 (4): 430-432.

34-Roig-Sagues AX, Eerola S, (1997): Biogenic amines in meat inoculated with L. sake starter strains and an amine-positive lactic acid bacterium. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 205: 227-231.

35-Santos S, (1996): Biogenic amines: their importance in foods. Int. J. Food Microbiol., 29: 213-231.

36-Shalaby AR, (1995): Multidetector, semiquantitative method for determining biogenic amines in foods. Food Chem., 52: 367-372.

37-Shalaby AR, (1996): Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int., 29 (7): 675-690.

38-Shalaby AR, (1993): Survey on biogenic amines in Egyptian foods : sausage. J. Sci. Food Agric., 62 (3): 291-293.

39-Smith JS, Kennedy PB, Kasmer CL, Moore MM, (1993): Biogenic amine formation in fresh vacuum packaged beef during storage at 1°C for 120 days. J. Food Protect., 56: 497-500.

40-Smith TA, (1981): Amines in food. Food Chem., 6: 169-200.

41-Teodorovic V, Buncic S, Smiljanic D, (1994): A study of factors influencing histamine production in meat. Fleischwirtsch., 74 (2): 170-172.

42-Tschabrun R, Sick K, Bauer F, Kranner P, (1990): Bildung von Histamine in Schnitffesten Rohwürsten. Fleischwirtsch., 70 (4): 448-452.

43-Vale S, Gloria MBA, (1998): Biogenic amines in Brazilian cheeses. Food Chem. 63 (3): 343-348.

44-Vandekerckhove P, (1977): Amines in dry fermented sausages. J.Food Sci., 42: 283-285.

45-Veciana-Nogues MT, Albala-Hurtado S, Marine-Font A, Vidal-Corau MC, (1996): Changes in biogenic amines during the manufacture and storage of semi-preserved anchovies. J.Food Protect., 59 (11): 1218-1222