

GIDALARDAKİ BİYOJEN AMİNLER VE ÖNEMİ

BIOGEN AMINES IN FOOD

Neslihan ALPER¹Ayhan TEMİZ¹

GİRİŞ

Biyojen aminler, aminoasitlerin dekarboksilasyonu ya da aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan temel azotlu bileşiklerdir (1,2). Bunlar alifatik, aromatik veya heterosiklik yapıda düşük molekül ağırlığına sahip organik bazlı bileşikler olup, hayvan, bitki ve mikroorganizmaların normal metabolik aktiviteleri sonucunda oluşmaktadır (2,3-7).

Biyojen aminler temelde gıdalardaki aminoasitlerin, belirli bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleriyle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır (6-8). Biyojen amin oluşumu ortamın pH'sını yükseltmekte bu da mikroorganizmayı asidik ortam etkisinden korumaktadır. Bir çok araştırmayla, farklı bakteri suşlarının biyojen amin ya da amin dekarboksilasyon enzimi ürettiği ortaya konmuştur (1,9). Diğer taraftan barsak florası bakterileri de amino asitleri dekarboksile edip biyojen aminleri oluşturabilmektedir (5).

Bakteriler dışında mayalar da biyojen amin üretebilmektedir. Deniz ürünlerinden izole edilen *Brettanomyces claussenii*, *Cryptococcus laurentii* ve *Trichosporon beigeli* gibi mayaların, test edilen histidin, lizin, ornitin, fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi amino asitleri dekarboksile etme yeteneğinde oldukları belirlenmiştir (10).

Biyojen aminler büyük ölçüde proteince zengin gıdalar ve fermente gıdalarda oluşmaktadır. Biyojen aminlerin oluşumu ise; serbest amino asitlerin varlığı, dekarboksilaz yüksek enzim aktivitesi gösteren mikroorganizmaların ortamda bulunması ve bunların sayısı ile mikroorganiz-

maların gelişimi ve dekarboksilazların oluşumu için pH ve sıcaklık gibi uygun çevre koşullarının var olmasına bağlıdır (1,5).

BİYOJEN AMİN ÇEŞİTLERİ

Gıdalardaki varlığı açısından öneme sahip olan biyojen aminlere; histamin, tiramin, triptamin, serotonin, putresin, kadaverin, oktopamin, dopamin, agmatin, spermin, spermidin, diaminobutan ve feniletilamin örnek gösterilebilir.

Histaminin bir yönden gıdalardaki yıkım olaylarının indikatörü olarak diğer yandan da gıda zehirlenmelerinden sorumlu bir madde olarak önemi vardır. Bu biyojen amin, gıdalardaki histidin dekarboksilaz enzimine sahip mikroorganizmaların serbest histidini histamine çevirmesi sonucunda oluşmaktadır (6,11).

Histidin dekarboksilaz enzimine sahip bakteri türlerinin sayısı oldukça azdır ve bunların pek çoğu *Enterobacteriaceae* familyası ile *Clostridium* ve *Lactobacillus* cinslerine aittir. Histidin dekarboksilaz enzimine sahip olduğu bilinen bakteri cinsleri *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio* ve *Photobacterium*'dur (6,12,13). Balıklarda bazı Gram pozitif halofilik ve halotolerant mikroorganizmaların kuvvetli bir histamin oluşturma aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Ancak enterik bakteriler ve özellikle de *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Hafnia alvei*'nin balıklarda önemli düzeylerde histamin oluşturan mikroorganizmalar

¹Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara

Geliş tarihi : 09.05.2001 Kabul ediliş tarihi : 23.10.2001

Yazışma adresi : Neslihan ALPER, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara

olduğu belirtilmektedir (11,13-15).

Tiramin kan basıncını artırdığı bilinen bir biyojen aminlerdir (5,9). Fermente edilmiş veya olgunlaştırılmış gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri alan insanlarda peynir, dumanlanmış veya salamura et ve balık, şarap, bira, turşu ve maya ekstraktlarının tüketilmesine bağlı ciddi tiramin zehirlenmesi ve hatta ölümler görüldüğü bildirilmektedir (16). *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* gıdalarda zehirlenmelere neden olabilecek miktarlarda tiramin üretebilmektedir (17).

Fareler üzerinde yapılan denemelerde; balık ve fasulye gibi sıklıkla tüketilen gıdaların nitritle muamelesinde mide kanserinin belirtisi kabul edilen mutajenik aktivite görülmüştür. Buna ek olarak, spermidin gibi primer aminlerle nitrit arasında benzeri yöndeki etkileşimler sonucunda da mutajenik özellik gösteren reaktif ara ürünler oluştuğu bildirilmektedir (18).

Putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi biyojen aminlerin nükleik asitlerin regülasyonu ve protein sentezi ve bir olasılıkla da membranların stabilizasyonunda önemli olduğuna değerlendirilmektedir. Tiramin, histamin ve feniletilamin gibi bazı aminler, vasoaktif özelliklere sahiptir ve bunlar histamin zehirlenmesi ve migrene neden olmaktadır (1,7).

Putresinin temel kaynakları meyve, peynir ve yeşil olmayan sebzelerdir. Etlerin spermin yönünden en zengin kaynak olduğu ortaya konmuştur (19). Serotonin ise muz gibi gıdalarda bulunan ve teratojenik etkiye sahip olduğu bilinen bir biyojen aminlerdir (18).

BİYOJEN AMİNLERİN GIDALARDA BULUNMASI

Biyojen aminler, büyük ölçüde sucuk gibi et ürünleri ve balık ürünleri olmak üzere peynir, bira, şarap ve turşu gibi fermente gıdalar, maya ekstraktları ve fasulyeler gibi pekçok üründe bulunmaktadır (2,7,9,20-22).

Balık

Balıklarda özellikle histamin oluşumuna rastlanmaktadır. Histamine, ısıya dirençli oluşu nedeniyle taze balık yanında balık konservelerinde

de rastlanabilmektedir. Konserve balıklarda toksik etki oluşturacak miktarlarda histamin bulunması, hammadde olarak hijyenik kalitesi düşük balık kullanılması veya taze balığın uygun olmayan koşullarda bekletilmesi ve/veya yanlış işlem görmesi nedenleriyle olmaktadır. Konserve balıklarda histamin miktarlarının, işlem aşamalarından, sterilizasyon öncesi depolamadan ve hijyenik koşullardan etkilendiği saptanmıştır (23). Bir çalışmada dondurulmuş Tuna balıklarının histamin miktarının düşük olduğu görülmüştür. En yüksek histamin miktarı ise kasma aşamasındaki bir örnekte 9.30mg/kg düzeyinde bulunmuştur. Buna göre histamin varlığı balığın bakteriyolojik bozulmasına işaret eden kimyasal bir indeks olarak kabul edilmektedir (24). Yapılan başka bir çalışmaya göre ise, 'albacore' olarak anılan bir Tuna balığı türünde histamin oluşumu için optimum sıcaklığın 25°C olduğu ve bu sıcaklıkta histamin oluşumunun, bütün haldeki balıklarda temizlenmiş olanlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sıcaklıkta yedi gün süreyle depolanan bütün haldeki balıklarda 60.4mg/100g gibi çok yüksek düzeyde histamine rastlanırken, depolamadan önce dondurulan balıklarda 7.14mg/100 g gibi çok düşük miktarda histamin varlığı saptanmıştır. Buz içinde 18 gün depolanan örneklerde ise histamin oluşumu gözlenmemiştir (25).

Konserveye işlenecek Tuna balıklarında en sık rastlanılan ve aktif histamin oluşturan bakterinin *M.morganii* olduğu bildirilmektedir. Güçlü histamin üreten diğer bakteriler ise *Klebsiella oxytoca*, *K.pneumoniae*, *E.cloacae* ve *Enterobacter aerogenes*'in bazı suşlarıdır. Bu bakterilerin pek çoğunun, balıkları yakalama sürecinde gerçekleşen kontaminasyondan ve/veya konserveleme ünitesinde hijyenik olmayan işlem aşamalarından kaynaklanabileceği belirtilmektedir (24).

Tuzlanmış balıklarda kötü kaliteli hammadde, yetersiz işleme ve depolamaya bağlı olarak yüksek miktarlarda histamin oluştuğu ve bunun da histamin zehirlenmesine neden olduğu bildirilmektedir (14). İtalya'da 1990-1993 yıllarında incelemeye alınan örneklerden yüksek histamin içeriğine sahip olanların çok büyük bir kısmının

hamsi ürünleri olduğuna değinilmektedir (26).

Halofilik özellikteki luminous (parlak ışık saçan) bakteri türleri de histamin üretmektedir. Psikrofilik özellik gösteren *Photobacterium phosphorum*un düşük sıcaklıklarda scombroid balıklarda (uskumru vb.) histamin üretiminden birinci derecede sorumlu olduğu düşünülmektedir (11). Marii ve ark. (27) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, histamin oluşumunun 35-40°C'de, pH 5.5-6.5 arasındaki değerlerde ve %2-4 tuz konsantrasyonlarında maksimum olduğu, pH 8'de ise hiç histamin oluşmadığı belirlenmiştir. Ortamda tuz olmadığı durumlarda histamin oluşumunun maksimum olduğu ve tuz konsantrasyonu arttıkça azaldığı gözlenmiştir. *P.phosphorum*'un optimum olarak 25°C'de geliştiği, 35°C'nin üzerinde ise gelişmenin durduğu belirlenmiştir. Bu bakterinin optimum gelişme pH'sı ise 5.5-8.0 olarak belirlenmiştir.

Taze ve konserve Tuna balıkları üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada da, incelenen 10 adet biyojen amininden, ürünlerin sterilizasyonu sonrasında yalnızca spermin ve spermidin miktarının önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir (28).

Et ve Et Ürünleri

Et ve et ürünlerinin önemli miktarlarda biyojen amin içerebildiği belirtilmektedir. Taze etlerde yaygın olarak büyük miktarlarda spermin ve spermidine rastlanmaktadır. Buna karşılık et bozulmalarından sorumlu maddeler olarak tiramin, kadaverin, putressin ve histamin gibi biyojen aminlerin de sıklıkla adı geçmektedir. Bu biyojen aminlerin bazı pişirilmiş et ürünlerinde yüksek miktarlarda olduğu saptanmış ve bu durum hijyenik kalitesi düşük et kullanımının bir sonucu olarak değerlendirilmiştir (8,29).

E.coli ve *K.oxytoca* gibi amin üreten koliform bakteriler ve *M.morganii* ile *Edwardsiella* türlerinin yanısıra *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus carnis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus divergens* ve *Lactobacillus hilgardii* gibi laktik asit bakterileri, et ve et ürünlerinden biyojen amin üretiminden sorumlu bakteriler olarak izole edilmektedir. Maijala ve ark. (11)

fermente sucuklar üzerinde gerçekleştirdikleri bir araştırmada; izole edilen *E.faecalis* suşlarının tümünün tiramin üretme yeteneğinde olduğunu, bazı koliform bakteriler ile bu grupla ilgili diğer bazı bakteri izolatlarının (*Serratia liquefaciens*, *K.oxytoca*, *Enterobacter agglomerans* ve *H.alvei*) ise tiramin, putressin ve kadaverin ürettiğini belirtmişlerdir (1). Sözü edilen bu araştırmada laktik asit bakteri izolatlarının hiçbirisinin histamin ve tiramin üretmediği bildirilmektedir. Sucuklardaki pH düşüşlerinin bakteri gelişimini ve biyojen amin üretimini azalttığı belirlenmiştir. Bütün bunlara karşılık, fermente sucuklardaki histamin oluşumunun büyük çoğunlukla olgunlaşmanın ilk 2-4 haftalarında gerçekleştiği ve oluşumun büyük ölçüde laktik asit bakteri sayısı ile ilişkili olduğuna değinilmiştir.

Fermente sucukların olgunlaşma sürecindeki en önemli laktik asit bakterilerinden olan *Lactobacillus sake* ve *Lactobacillus curvatus*, kontrolsüz fermentasyon uygulanan sucuklardan yaygın olarak izole edilebilmektedir. Bu bakterilerden ayrıca fermente sucuk üretiminde starter kültür olarak da yararlanılmaktadır. Ancak fermente sucuklardan izole edilen bazı *L.curvatus* suşlarının histamin ve tiramin oluşturduğu belirlenmiştir (30).

Kıyma ve hamburgerlerin biyojen amin içeriklerini belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada, tiramin, putressin, kadaverin ve histaminin dominant aminler olduğu, ancak bu biyojen aminlerin toksik düzeyin çok altında bulunduğu tespit edilmiştir (31). Vakum ambalajlı sığır etlerinde normal buzdolabı sıcaklığında uzun bir depolamadan sonra, saptanabilir düzeylerde tiramin, putressin ve kadaverin bulunması önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (29). Vakum ambalajlanmış etlerde tiramin oluşumundan *Carnobacterium divergens*, putressin ve kadaverin oluşumundan ise *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri veya *Pseudomonas* suşlarının sorumlu olduğu bulunmuştur. Bu biyojen aminlerin fermentasyon süresince uzaklaştırılmadığı ya da parçalanmadığı durumlarda son üründe de bulunacağına değinilmektedir (30). Diğer taraftan soğukta muhafaza edilen ve tiramin varlığı belirlenen

vakum ambalajlanmış etlerden *Lactobacillus* türleri de izole edilmiştir (29).

Peynir

Peynir, balıktan sonra histamin zehirlenmesinden yaygın olarak sorumlu tutulan ikinci gıdadır (11). Peynirde bakterilerin fermentatif işlevleri sonucu amino asitlerden tiramin, histamin, serotonin, noradrenalin ve triptamin gibi aminler fazla miktarda oluşabilmektedir (32,33). Değişik peynirlerde bulunabilecek biyojen aminlere Tablo 1'de bazı örnekler verilmiştir (11,21,22).

Tablo 1: Değişik peynirlerdeki biyojen aminler (11,21,22)

PEYNİR	BİYOJEN AMİNLER
Beyaz peynir (21)	kadaverin, putressin, tiramin
Tulum peyniri (22)	feniletilamin, putressin
Camembert (11)	kadaverin, putressin, tiramin
Cheddar (11)	kadaverin, 2-feniletilamin, putressin, tiramin
Gouda (11)	kadaverin, putressin, triptamin, tiramin
Gruyere (11)	putressin
Mozzarella (11)	kadaverin
Roquefort (11)	kadaverin, putressin, tiramin
İsviçre (11)	kadaverin, putressin, tiramin

Bazı *L.buchneri* suşlarının İsviçre peynirlerinde çok az miktarda olması durumunda bile olgunlaşma döneminde önemli miktarlarda histamin oluşturduğu belirtilmektedir. İsviçre peyniri tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan bazı histamin zehirlenme olaylarından bu bakteri sorumlu tutulmuştur. *L.buchneri*'nin peynirde histamin oluşturmamasını; olgunlaşma sıcaklığı, pH ve tuz konsantrasyonu gibi bazı faktörlerin etkilediği belirtilmektedir. Özellikle olgunlaşma sıcaklığının yüksek olması ve yüksek pH histamin oluşumunu teşvik etmektedir. Pek çok peynirde yüksek tuz nem miktarının, histamin oluşumunu önemli ölçüde engelleyebileceği belirtilmektedir (11,34).

L.buchneri dışındaki bazı laktik asit bakterilerinin de histamin üretme yeteneğinde olduğu

belirlenmiştir. İsviçre peynirlerinden izole edilen *Enterococcus faecium*, *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *L.fermentum*, *L.helveticus*, iki adet *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* suşunun ve propiyonik asit bakterilerinin histamin ürettiği bildirilmektedir. *L.lactis* subsp. *lactis* ile *L.helveticus*'un starter kültür olarak kullanıldığına değinilerek, bunların süt endüstrisinde histamin üreticisi olarak önemine dikkat çekilmektedir (11).

Tiramin, MAO inhibitörü alan hastalarda baş ağrısı ve hipertansiyon krizlerini de içeren bazı olumsuzluklardan sorumlu tutulan peynirdeki diğer önemli biyojen amindir. Bir araştırmada incelemeye alınan 85 adet cheddar peynirinin 81 adedinde 70 mg / 100 g'a kadar varan düzeylerde tiramin varlığı belirlenmiştir (11).

Fermente İçecekler

Biyogen amin varlığına şarap ve bira gibi fermente içeceklerde de rastlanmaktadır. Fermente alkollü içeceklerdeki; özellikle histamin ve tiramin gibi biyojen aminlerin baş ağrısı ve yüzde kızarmalara neden oldukları ileri sürülmektedir (7,11). Kırmızı şaraplar bu durumdan, beyaz şaraplara göre daha fazla sorumlu tutulmaktadır. Bir araştırmada Avrupa ve Amerika kaynaklı kırmızı ve beyaz şaraplarda histamin düzeyinin 0-30 mg/L arasında değiştiği, kırmızı ve burgundy şaraplarındaki histamin oranının daha yüksek olduğu belirtilmektedir (11).

Şarapta bulunan tiramin ve histamin gibi ögeller sulu çözeltilerde barsakta parçalanabildiği halde, ortamda alkol bulunması halinde toksik etki yapabilmektedir (33). Alkol ve MAO inhibitörlerinin birlikte etkisi daha fazla olmaktadır (11).

Biradaki biyojen aminlerin migrenli hastalarda baş ağrısını artırıcı bir rolü olduğu bildirilmektedir. Ancak bu etki kişisel faktörlere göre değişebilmektedir. Biranın genellikle şaraba göre daha fazla miktarda tüketildiği dikkate alınarak biyojen amin toksisitesi açısından daha önemli olduğuna işaret edilmektedir (7). Yapılan bir araştırmada incelenen biraların tümünde agmatin ve putressin bulunduğu gözlenmiştir. Bira hammaddesi olan malt ve şerbetçiotunda agmatin, spermin ve spermidin gibi aminlerin doğal olarak bulunduğu ve bunların

biranın doğal içeriği olarak kabul edilebileceğine değinilmektedir. Putresin ve poliaminler de hammadde orjinli olmaları nedeniyle, biranın doğal maddeleri olarak nitelendirilmektedir. Ancak putresin daha çok balık ve et gibi bazı gıdaların bozulmasından sorumlu tutulan bir madde olarak değerlendirilmektedir. Histamin, tiramin ve kadvanın birada nispeten yüksek miktarlarda bulunması, bunların bira üretim sürecinde mikrobiyal kontaminasyonun indikatörü olarak değerlendirilmesine neden olmuştur. Bu aminlerin biradaki varlığı, laktik asit bakterileri gibi kontamine mikroorganizmaların varlığı ile ilişkilendirilmektedir (7). Diğer taraftan alkolsüz biralarda da önemli sayılabilecek miktarda biyojen amin varlığı saptanmamıştır (35).

Miso, soya sosu, toshi gibi fermente gıdaların da değişik aminler içerdiği belirlenmiştir (11).

Meyve ve Sebzeler

Muz, ceviz, domates, karpuz ve ananas suyunun önemli miktarda serotonin (5-hidroksi triptamin) içerdiği belirlenmiştir. Muzlarda serotonin miktarı 23-78 mg/g püre muz kadardır ve bunun %30 kadarı barsaktaki monoamin oksidaz

enzimleri tarafından parçalanmakta, %70'i ise resorbe olmaktadır. Batı Afrika yerlileri tarafından çok üretilen ve bir çeşit muz olan plantainde büyük miktarlarda serotonin bulunduğu bilinmektedir. Afrika yerlileri arasında sık görülen endomyokardiyofibrosis hastalığının vücuda devamlı şekilde alınan serotoninden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan baklada (*Vicia faba*) bulunan DOPA vücutta dopamin, noradrenalin ve adrenaline parçalanmaktadır. Lahana turşusu suyunda ise histamin miktarının yüksek olduğu ve litrede 40 mg'a ulaşabildiği belirtilmektedir (33).

Yapraklı sebzelerdeki biyojen amin miktarı ile ilgili bilgiler henüz yeterli düzeyde değildir (4). Tablo 2'de bazı sebze ve ürünlerinde belirlenen biyojen aminler ve miktarlarına örnekler verilmiştir (36).

Ambalajlanarak satışa sunulan salatalarda yüksek sayılarda *Enterobacteriaceae* varlığı (107 cfu/g) belirlenmiştir. Söz konusu ürünlerdeki biyojen amin içeriğinin bir kısmının amino asit dekarboksilaz enzimi aktivitesine sahip olan bu bakterilerden kaynaklandığı düşünülmektedir (4).

Tablo 2: Bazı sebze ve ürünlerinde biyojen amin miktarları (36)

Sebze	Biyojen amin miktarları (mg/kg)					
	diamino butan	spermidin	diamino pentan	histamin	serotonin	tiramin
Karnıbahar	4.9	31.2	-	-	-	-
Brokoli	9.0	33.2	-	-	-	-
Havuç	2.8	4.5	-	-	-	-
Kereviz	6.1	26.7	-	-	-	-
Patates (yağda kızar.)	6.5	33.0	-	-	53.0	-
Brüksel lahanası	3.0	15.0	-	-	-	-
Mantar	-	59.0	-	-	-	-
Pirinç (doğal)	1.4	2.0	-	-	-	-
Soya fasulyesi	17.0	128	-	-	-	-
Lahana turşusu	222.0	6.4	24.0	56.0	-	89.0
Mantar (konserve)	-	47.0	4.0	-	-	-
Kuşkonmaz (taze)	3.3	9.3	-	-	-	-
Kuşkonmaz (konserve)	5.7	11.3	-	-	-	-
Bezelye (konserve)	7.6	23.0	-	-	-	-
Donmuş bezelye	67.0	77.0	-	-	-	-

Bir araştırmada Çin lahanası, hindiba ve iceberg marulunda toplam olarak 14-20 µg/g taze ağırlık oranında değişen putressin, histamin, kadaverin, spermidin, agmatin, spermin ve tiramin varlığı saptanmıştır. Bu aminler arasında en yoğun olarak spermidine rastlanılmıştır (4).

Taze sebzelerin yapılarında bulunan biyojen aminler haşlama işlemi sırasında haşlama suyuna geçmektedir. Konservelenmiş gıdalarda dolgu sıvısının uzaklaştırılması ile amin miktarlarında azalmalar gözlenmiştir. Haşlama suyuna geçen spermidin miktarı üzerinde, uygulanan işlemin etkisi olduğuna da değinilmektedir. Bu miktar, geleneksel yöntemlerde daha fazla iken, mikrodalgaya uygulandığında çok daha az olmaktadır (36).

Lahana turşularında yapılan bir çalışmaya göre, Çek ve Avusturya üretimi lahana turşuları (sauerkraut) ile, ev yapımı ve konserve turşular arasında en düşük konsantrasyonların ev yapımı turşularda olduğu gözlenmiştir. Örneklerde tiramin, putressin ve kadaverin miktarları ortalama olaraşına alındığında, 10-80mg arasındaki tiramin miktarının vücutta şişmeye, 100mg üstündeki tiraminin ise insanlarda başağrısı ve migrene neden olduğu bildirilmektedir (3,37). MAO inhibitörü kullanan hastalar için ise, tiramin alımı 4 saat süresince 6mg düzeyametrelere ile amin konsantrasyonları arasında önemli bir korelasyon bulunmamakla birlikte, yüksek tiramin içeriği önemli bulunmuştur (37).

BİYOJEN AMİNLERİN TOKSİSİTESİ

Biyojen aminler kuvvetli farmakolojik etkiye sahip maddelerdir. Tiramin ve b-feniletılamin gibi biyojen aminler belirli hastalıklara sahip kişilerde hipertansiyon krizleri ile diyete bağlı olarak ortaya çıkan migren olayının başlatıcıları olarak kabul edilmektedir. Tiramin özellikle peynirlerde bol miktarlarda birikebilmektedir (11). Tek başına alındığında, 10 - 80 mg arasındaki tiramin miktarının vücutta şişmeye, 100mg üstündeki tiraminin ise insanlarda başağrısı ve migrene neden olduğu bildirilmektedir (3,37). MAO inhibitörü kullanan hastalar için ise, tiramin alımı 4 saat süresince 6mg düzeyini aşmamalıdır (37). Buna karşılık histamin birçok gıda zehirlenmesin-

den sorumlu tutulan etken bir maddedir (11).

Histaminin toksik etkileri özellikle *Scomberidae* (ton, uskumru, sardalye, Tuna, bonito, palamut, İspanyol uskumrusu) ve *Scomberesocidae* (zurna balığı) familyalarına ait balıkların tüketimine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (6,16). Bu balıklar kas dokularında yüksek düzeyde serbest histidin amino asidi içerirler. Histamin zehirlenmesi sıklıkla bu balıkların tüketimine bağlı olarak ortaya çıktığından önceleri "scombroid" yada "scombrototoxic" balık zehirlenmesi olarak isimlendirilmiştir. Bununla birlikte scombroid dışındaki bu balıklar ile peynir ve diğer bazı gıdaların da bu tip zehirlenmeye sebep olması, zehirlenmelerin "histamin zehirlenmesi" şeklinde genelleştirilmesine neden olmuştur (11-13,15,38).

Histamin zehirlenmesi genellikle yüksek düzeylerde histamin içeren gıdaların tüketimiyle ortaya çıkan gıda kaynaklı bir intoksikasyondur. Zehirlenme belirtilerinin tüketimi takip eden birkaç dakika ile birkaç saat içinde görüldüğü belirtilmektedir (3, 6, 16). Histamin zehirlenmesinde, kritik olan miktarın 1000 ppm dolayında olduğuna değinilmektedir (3). Balıktaki histamin miktarının 50mg/100g'dan fazla düzeyinde olması durumunda histamin zehirlenmesiyle karşılaşılabilceği bildirilmektedir (14).

Histamin zehirlenmesindeki klasik semptomlar daha çok allerjik reaksiyonlara benzemektedir (11,16). Tipik zehirlenme belirtileri; bulantı, kusma, ishal, karın ağrıları, kızarma, çarpıntı, ürperti ve kabarma hissi, susama, tansiyon düşmesi ve şiddetli baş ağrısı olarak sıralanabilir (3,6,11,16). İngiltere'de 1976-1986 yılları arasında histamin zehirlenmesi şüphesi görülen insanlarda en yaygın olarak belirlenen belirtiler ise düşünme kaybı, ishal, kızarma, terleme ve başağrısı olmuştur (11).

Bütün bunlara karşılık, histamin ağızdan tek başına verildiğinde toksik değildir ve histamin zehirlenmesinden sorumlu değildir. Çünkü histamin normalde, barsaklarda MAO, diamin oksidaz (DAO) ve N-metiltransferaz (HMT) enzimleri tarafından metabolize edilerek detoksifikasyona uğratılmaktadır. Bu enzimlerin metabolize olmamış histaminin dolaşım sistemine absorbsi-

yonunu engellediği şeklinde bir fikir de öne sürülmektedir (11). Ancak bu barsak enzimlerinin aktiviteleri ortamdaki bazı inhibitörlerin varlığında engellenebilmekte ve buna bağlı olarak da histaminin detoksifikasyon mekanizması inhibisyona uğramaktadır. Barsak ortamında özellikle putressin ve kadaverin gibi putrefaktif aminlerin bulunması histamini detoksifiye eden enzimlerin inhibisyonuna neden olmakta ve bu da histamin toksisitesini artırmaktadır. Diğer bazı biyojen aminlerin de, önemli ölçüde olmasa da histaminin toksisitesini artırdığı bildirilmektedir. Örneğin bir pressor amin olan tiramin MAO enzimini, triptamin DAO enzimini, feniletıl amin ise DAO ve HMT enzimlerini inhibe edebilmektedir (2,7,11-13).

Bazı ilaçlar da histamin detoksifikasyon enzimleri üzerinde inhibitör etki yapmaktadır. Bunlara belirli bazı antihistaminikler ile sıtma ve tüberküloz gibi hastalıkların tedavisinde yararlanılan ilaçlar örnek gösterilmektedir. MAO inhibitörü ilaçlar alan hastalarda histamini bol miktarda içeren gıdaların tüketimini takiben ciddi zehirlenme olayları görüldüğü bilinen bir gerçektir. Tüberküloz tedavisinde kullanılan isoniazid histamin zehirlenmesinden en sık sorumlu tutulan bir ilaçtır. İsoniazid alımı ve peynir tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan histamin zehirlenmeleri ve hipertansiyon krizlerinin çok iyi bir şekilde takip edildiği bildirilmektedir (11).

Bozulmuş balıklarda ya da çok uzun süre bekletilmiş peynirlerde bulunan histaminin, çözelti halindeki histaminden daha fazla toksik olduğu belirtilmektedir. Bu durumun, böylesi ürünlerdeki enzim inhibitörlerinin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna göre de MAO, DAO ve HMT inhibitörleri, histaminin metabolize (detoksifiye) olmadan direkt olarak barsaktan emilmesine neden olmaktadır (11).

Yine son araştırmalara göre, histamin toksisitesinin, *E.coli*-endotoksininin ortamda bulunması durumunda arttığı saptanmıştır. Çoğu *Salmonella* grubuna ait bakterilerin, histamin ve kadaverin oluşturmaları nedeni ile, *Salmonella* gıda zehirlenmesinde sözü edilen her iki aminin büyük önemi olduğuna değinilmektedir (3).

Diğer taraftan, putressin, kadaverin, spermin

ve spermidin gibi poliaminler, nitrit varlığında karsinojenik nitrozaminleri de oluşturabilmektedir. Nitrozamin oluşumu, gıdalarda biyojen amin birikimini önleyen bir faktör olarak değerlendirilmektedir (2,7). Peynir, şarap ve balık gibi gıdaların kısa bir süre içinde birlikte tüketilmesi, biyojen amin intoksikasyonuna neden olabilmektedir. Buna karşılık bunların tek başlarına tüketiminin herhangi bir sorun yaratmayacağı bildirilmektedir (7).

Bütün bunlara karşılık, bazı mikroorganizmalar oksidaz enzimleriyle biyojen aminleri degrade edebilmektedir. Bir araştırmada 169 adet fermentatif mikroorganizma histamin ve tiramin oksidaz enzimi yönünden incelemeye alınmıştır. 64 adet laktik asit bakterisinden 27 tanesi histamin ve bir tanesi de tiramini degrade etmiştir. *Brevibacterium linens* ve korineform bakterilerin histamin ve tiramini degrade etmede yüksek bir güce sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar 23 adet tiramin ve histamini degrade edici suşun hiçbirisinin tiramin, lizin, ornitin, histidin ve fenilalanini dekarboksile edemediğini göstermiştir. Bu sonuçlar aminlerin degradasyonu ile biyojen amin oluşturma arasında bir ilişki olmadığına işaret etmektedir (38).

BİYOJEN AMİNLERİN TOKSİSİTESİ İLE İLGİLİ LİMİTLER

Biyojen aminlerin toksisitesi ile ilgili kesin limitler vermek çok zordur. Tüketilen gıdanın çeşidi, miktarı ve amin içeriği gibi faktörler ile inhibitörlerin varlığı biyojen aminlerin toksisitesi ile ilgili limitlerin belirlenmesini güçleştirmektedir. Ancak buna karşılık, gıdalarda bulunabilecek histamin miktarıyla ilgili sınır değerleri 10-100 mg/100g gıda olarak belirlenmiştir. Bu limitler şaraplar için 2-10mg/L olarak önerilmektedir. Toksikasyonun başladığı eşik değerleri tiramin için 100-800 mg/kg ve -feniletılamin için 30 mg/kg gıda olarak bildirilmektedir. Biralarda tiramin düzeyinin 10mg/L'den fazla olmasının MAO inhibitörü ilaçlar alan hastalar için güvenli olmadığı belirtilmektedir (7).

Amerika Birleşik Devletleri, histamin toksisitesi konusunda sınırlar belirleyen bir kaç ülkeden

biridir. Ancak sınırlar, yalnızca Tuna balığı için düzenlenmiştir ve diğer histamin içeriği yüksek balık ve gıdaları kapsamamaktadır. İnsan sağlığı açısından zararlı olabilecek limit 50 mg histamin/100g Tuna olarak saptanmıştır. Düşük etki seviyesi ise 10 mg/100g olarak verilmiştir. Histamin miktarı 20 mg/100g Tuna olduğunda, balıkta bozulma belirtileri başlamaktadır (11). Konserve tuna balıklarında düşük kaliteli hammadde kullanımına işaret eden maksimum histamin miktarının 50 ppm olarak önerildiğine değinilmektedir (24).

Bu sınırlar yıllar süren araştırmaların sonuçlarına göre, ancak enzim inhibitörleri dikkate alınmadan belirlenmiştir. Histamin zehirlenmesinin başlangıç toksik dozunun enzim inhibitörleri ile ilişkisini belirlemek için daha pek çok araştırmaya gerek vardır. Peynir, şarap, fermente gıdalar ve diğer balık ürünleri için de sınırlar getirilmesi bu yöndeki araştırmalardan elde edilecek verilere bağlıdır (11).

Avrupa Topluluğu da balıklar için düzenlemeler getirmiş ve Scombridae ve Clupeidae familyasına ait taze balıklar ve enzimatik olarak olgunlaştırılmış balık ürünlerindeki maksimum izin verilebilir histamin düzeyi için üç sınıf planı hazırlamıştır. Bu plan taze balıklar için n=9, c=2, m=100 ppm, M=200 ppm ve olgunlaştırılmış ürün-

ler için n=9, c=2, m=200 ppm, M=400 ppm şeklindedir (n=her gruptan analiz edilen örnek sayısı, m ve M= histamin tolerans miktarı, c= m'den büyük, fakat M'den küçük histamin miktarı içermesine izin verilen örnek sayısıdır) (24).

BİYOJEN AMİNLERİN BELİRLENMESİ

Biyojen aminlerin belirlenmesinde genellikle ince tabaka (TLC), yüksek basınç tabaka (Over-pressure LC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve gaz kromatografisi (GC) gibi kromatografik yöntemlerden yararlanılmaktadır.

Birçok araştırmada biyojen aminlerin analizlerinde; AOACnin fluorometrik belirleme yöntemi (2, 11, 40), amino asit analizi (4), enzimatik test (15), TLC (41), ADAM-EVE yaklaşımı (42), katı faz ekstraksiyonu (43) gibi yöntemler kullanılmıştır. Gıdalardaki biyojen aminlerin saptanmasında en kolay yol amino asit analizine dayanan kromatografik yöntem uygulamasıdır (4). Kanda ve biyolojik dokularda histamini saptamak için bir çok enzimatik yöntem geliştirilmiştir. İsviçre peynirinde histamin miktarını saptamak için, ticari bir histamin radio immuno assay (RIA) kiti kullanılmıştır. Histamin saptanmasında diğer ümit verici bir yöntem ise ELISA'dır (11).

KAYNAKLAR

1. Maijala RL, Eerola SH, Aho MA, Hirn JA. The Effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J Food Protect* 1993; 56 (2): 125-9.
2. Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Ion-pair high performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 2710-5.
3. Erginkaya Z, Var I. Et ve et ürünlerinde biyojenik aminler. *Gıda* 1989; 14 (3): 171-4.
4. Sarkadi LS, Holzapfel WH. Determination of biogenic amines in leafy vegetables by amino acid analyser. *Z Lebensmit Unters Forsch* 1994; 198: 230-3.
5. Varlık C. Soğukta depolanan sardalyalarda histamin düzeyinin belirlenmesi. *Gıda* 1994; 2: 119-24.
6. Gökoglu N, Varlık C. Sardalya konservelelerinin histamin biyojen amini yönünden incelenmesi. *Gıda* 1995; 5: 273-9.
7. Izquierdo-Pulido M, Hernandez-Jover T, Marine-Font A, Vidal-Carou MC. Biogenic amines in European beers. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 3159-63.

8. Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 3097-101.
9. Majjala R. Histamine and tyramine production by a *Lactobacillus* strain subjected to external pH decrease. *J Food Protect* 1994; 57 (3): 259-62.
10. Soler AA, Chaparro M. Biogenic amine production by yeast isolated from marine products. IFT Annual Meeting 1995; 35.
11. Stratton JE, Hutkins RW, Taylor SL. Biogenic amines in cheese and other fermented foods : A Review. *J Food Protect* 1991; 54 (6): 460-70.
12. Rodriguez-Jerez JJ, Lopez-Sabater EI, Roig-Sagues AX, Mora-Ventura MT. Histamine, cadaverine and putrescine forming bacteria from ripened spanish semipreserved anchovies. *J Food Sci* 1994; 59 (5): 998-1001.
13. Rodriguez-Jerez JJ, Mora-Ventura MT, Lopez-Sabater EI, Hernandez-Herrero MM. Histidine, lysine and ornithine decarboxylase bacteria in Spanish salted semi-preserved anchovies. *J Food Protect* 1994; 57 (9): 784-7.
14. Rodriguez-Jerez JJ, Lopez-Sabater EI, Hernandez-Herrero MM, Mora-Ventura MT. Histamine, putrescine and cadaverine formation in Spanish salted semipreserved anchovies as affected by time/temperature. *J Food Sci* 1994;59 (5): 993-7.
15. Rodriguez-Jerez JJ, Grassi MA, Civera T. A Modification of lerke enzymic test for histamine quantification. *J Food Protect* 1994; 57 (11): 1019-21.
16. Jones J.M. Food safety. 2nd Print. Minnesota USA: Eagon press St. Paul, 1992.
17. Beutling D. Factors Influencing tyramine formation by *Enterococcus faecalis*. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 1994; 45 (6): 128-31.
18. Doull J, Klaassen CD, Amdur MO. Casarett and Doull's toxicology. The basic science of poisons. 2nd ed. New York, Macmillan Publishing Co. Inc., 1980.
19. Bardocz S, Duguid TJ, Brown DS et al. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *British Journal of Nutrition* 1995; 73 (6): 819-28.
20. Ayhan K, Kolsarıcı N, Özkan GA. The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soudjoucks. *Meat Science* 1999; 53 (3): 183-8.
21. Durlu-Özkaya F, Alichanidis E, Litopoulou-Tzanetaki E, Tunail N. Determination of biogenic amine content of Beyaz cheese and biogenic amine production ability of some lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft* 1999; 54 (12): 680-2.
22. Durlu-Özkaya F, Ayhan K, Özkan G. Biogenic amine determination in Tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC). *Milchwissenschaft* 2000; 55 (1): 27-8.
23. Laurent G, Bennisor M, Fall F, Lima H. Histamine content in fresh and canned Tuna. *Medecine et Nutrition* 1995; 31 (1): 23-33.
24. Lopez-Sabater EI, Rodriguez-Jerez JJ, Roig-Sagues AX, Mora-Ventura MT. Bacteriological quality of tuna fish (*Thunnus thynnus*) destined for canning: effect of tuna handling on presence of histidine decarboxylase bacteri and histamine level. *J Food Protect* 1994; 57 (4): 318-23.
25. Kim SH, An H, Price RJ. Histamine formation and bacterial spoilage of albacore harvested off the U.S. northwest coast. *J Food Sci* 1999; 64 (2): 340-5.
26. Serpe L, Demasi D, Salzillo A, Scatola L. Histamine content in fish products during 1990-1993 period. *Indusrie Alimentari* 1995; 34 (334): 108-14.
27. Marii H, Izumi Y, Kasama K, Ishimoto R. Factors influencing histamin formation by psychrotrophic luminous bacteria *Photobacterium phosphoreum*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1994; 60 (6): 773-7.
28. Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC. Biogenic amines in fresh and canned Tuna. Effects of canning on biogenic amine contents. *J Agric Food Chem* 1997; 45 (11): 4324-8.
29. Smith JS, Kenney PB, Kastner CL, Moore MM. Biogenic amine formation in fresh vacuum-packaged beef during storage at 10C for 120 days. *J Food Protect* 1993; 56 (6): 497-500.

30. Straub BW, Tichaczek PS, Kicherer M, Hammes WP. Formation of tyramine by *Lactobacillus curvatus* LTH 972. Z. Lebensmit. Unters. Forsch. 1994; 199: 9-12.
31. Durlu-Özkaya F, Ayhan K, Vural N. Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products. Meat Sci 2001; 58:163-6.
32. Temiz A. Gıdalardaki doğal toksik bileşikler. Gıda 1984; 271-7.
33. Temiz A, Acar J. Bitkisel gıdalardaki doğal toksik bileşikler. Gıda 1984; 29-39.
34. Stratton JE, Hutkins RW, Sumner SS, Taylor SL. Histamine and histamine-producing bacteria in retail Swiss and low-salt cheeses. J Food Protect 1992; 55 (6): 435-9.
35. Buiatti S, Boschelle O, Mazzon M, Battistutta F. Determination of biogenic amines in alcoholic and non alcoholic beers by HPLC. Food Chem 1995; 52 (2): 199-202.
36. Ziegler W, Hahn M, Wallnöfer PR. Verhalten biogener amine bei der zubereitung ausgewählter pflanzlicher lebensmittel. Deuts Lebensm-Rund 1994; 90 (4): 108-12.
37. Kalac P, Spicka J, Krizek M, Steidlova S, Pelikanova T. Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. Food Chem 1999; 67: 275-80.
38. Taylor SL. Food allergies. Food Technology 1985; 2: 98-105.
39. Leuschner RG, Heidel M, Hammes W P. Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms. FSTA 1998; 30 (7): Cd823.
40. Bateman Jr RC, Eldrige DB, Wade S, McCoy-Messer J, Jester ELE, Mowdy DE. Copper chelation assay for histamine in Tuna. J Food Protect 1994; 59 (3): 517-8.
41. Shalaby AR. Multidetecion, semiquantitative method for determining biogenic amines in foods. Food Chem 1995; 52 (4): 367-72.
42. Maier-Rosenkranz J, Maisch A, Kupka A, Földi P. Superior precolumn derivatization of biological amines with fluorenyl derivatives using the ADAM-EVE approach. LCGC International 1994; 7 (9): 509-12.
43. Busto O, Mestres M, Guasch J, Borrull F. Determination of biogenic amines in wine after clean-up by solid-phase extraction. Chromatographia 1995; 40 (7/8): 404-10.