

Balık ve Balık Ürünlerinde Oluşan Biyojenik Aminler

*Fatih Özoğul, Esmeray Küley, Yeşim Özoğul

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Bölümü, Balcalı, Adana, Türkiye
E mail: fozogul@cu.ege.edu.tr

Abstract: Biogenic amines formation in fish and fish products. Fish and fish products having an important protein source can be a hazardous food to human health, if they are not kept under proper conditions from harvest stage to consuming point. Biogenic amines such as mainly histamine, putresine, cadaverine and agmatine are produced by bacterial decarboxylation of amino acids. Among the biogenic amines, histamine is potentially hazardous and cause histamine poisoning. Other biogenic amines like putresine and cadaverine are reported to increase histamine toxicity. The formation of biogenic amines depend on amount of free amino acid, presence of microorganisms decarboxylating amino acids, substrate required to growth of organisms and contents of enzyme in microorganisms. Estimating the concentration of biogenic amines in fish and fish products are important due to their impacts on human health and food quality.

Key Words: Biogenic amines, seafood, histamine, fish quality.

Özet: Protein bakımından önemli bir besin kaynağı olan balık ve balık ürünleri, hasat aşamasından tüketim noktasına kadar uygun koşullarda tutulmadığı takdirde insan sağlığı için tehlikeli bir besin haline gelmektedir. Başta histamin olmak üzere putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, β-feniletilamin, spermin, spermidin ve agmatin gibi biyojenik aminler, amino asitlerin bakteriyel dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Biyojenik aminler arasında histamin, potansiyel olarak tehlikeli olmakta ve histamin zehirlenmesine yol açmaktadır. Putresin ve kadaverin gibi diğer biyojenik aminlerin histamin toksisitesini arttırdığı rapor edilmiştir. Biyojenik amin üretimi, serbest aminoasit miktarına, aminoasitleri dekarboksile eden mikroorganizmaların varlığına ve miktarına, organizmaların gelişimi için gerekli olan substrata ve organizmaların enzim içeriğine bağlıdır. Balık ve balık ürünlerindeki biyojenik amin konsantrasyonu, insan sağlığı ve ürün kalitesini etkilediğinden dolayı bu değerlerin tespiti büyük bir önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyojenik aminler, su ürünleri, histamin, balık kalitesi.

Giriş

Balıkların yapısında bulunan aminoasitlerin enzimatik dekarboksilasyonu ile bir çok amin bileşikleri oluşmaktadır. Dekarboksilaz enzimi için gerekli olan substrat serbest aminoasitlerdir. Bu nedenle balığın bozulması veya ayrışması süresince, bakteriyel üretim, aminoasit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalmakta ve biyojenik amin üretilmektedir (Eitenmiller ve De Souza, 1984).

Aminler, amonyaktaki 1., 2. veya 3. hidrojen atomun alkil veya aril grupların yerini almasıyla oluşan temel nitrojenli bileşiklerdir. Biyolojik aminlerin kimyasal yapısı alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin, feniletilamin) ve heterocyclic (histamin, triptamin) olarak değişiklik gösterir (Silla-Santos, 1996). Basit alifatik mono aminler en yaygın bulunan aminlerdir. Diamin grubuna giren putresin, poliamin grubuna giren spermidin ve spermin hayvan ve bitkilerde sürekli bulunmasına karşın, putresin ve spermidin çoğu bakteride az miktarda bulunur (Smith, 1980). Bütün organizmalarda, iki veya bir aminopropil grubun ayrılması ile putresinden daha sonra sırasıyla spermidin ve spermin oluşur. Aminoasit dekarboksilasyonu, gıdaların en yaygın sentez modu olup, aromatik aminler bir gıda toksikliği gösterebilir. Bu aminler amino asitlerin dekarboksilasyonu ile canlı organizmaların (bakteriler) faaliyeti sonucu üretildiği zaman,

biyojenik olarak adlandırılırlar (Shalaby, 1996). Biyojenik aminler düşük molekül ağırlıklı organik bazlardır ve mikrobiyal, bitki ve hayvan metabolizması tarafından sentezlenmektedirler (Brink ve diğ., 1990). Balık ve balık ürünlerindeki biyojenik amin formasyonu direk olarak balıktaki serbest aminoasit içeriği ile bağlantılı olmaktadır. Bakteriyel biyojenik amin dekarboksilaz ve uygun çevresel koşulların varlığında biyojenik amin formasyonu bakteri gelişimine ve dekarboksilaz enzimlerin üretimine izin vermektedir (Özoğul, 2001). Aminoasit dekarboksilaz, bazı *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Micrococcus* ve *Pseudomonas* türlerinde bulunur (Shalaby, 1996). Biyojenik aminler insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan toksik maddeler olmaktadır. Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (Brink ve diğ., 1990; Silla-Santos, 1996). Histamin, tiramin, agmatin, putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi biyojenik aminlerin tespiti sadece toksik etkilerinden dolayı önemli olmamakta, aynı zamanda gıdaların tazelik veya bozulma derecesinin bir indikatörü olarak da kullanılmaktadır (Halasz ve diğ., 1994).

Biyojenik Aminlerin Oluşum Mekanizması

Protein içeren, mikrobiyal veya biyokimyasal aktiviteye imkan

sağlayıcı durumlara maruz kalan gıdalarda genellikle biyojenik amin üretilebilmektedir. Amin miktarı gıdanın doğasına ve mevcut mikroorganizmaya bağlı olarak büyük bir değişkenlik gösterir. Aminoasitler, bakteriyel faaliyetler veya proteolitik aktivitenin bir sonucu olarak proteinden ayrılarak serbest forma geçebilir (Brink ve diğ., 1990). Biyojenik aminler genellikle serbest aminoasitlerin mikrobiyal enzimlerle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Aminoasit dekarboksilasyon alfa-karboksil grubun uzaklaşmasıyla meydana gelir (Shalaby, 1996). Balık kasında en sık bulunan aminler histamin, kadaverin ve putresindir (Rawles ve diğ., 1996). Histidin, lizin ve ornitin amino asitleri bakteriyel faaliyetlerle sırasıyla histamin, kadaverin ve putresine dönüşebilmektedir. Tiramin, triptamin ve β -feniletilamin gibi biyojenik aminlerde yine bakteriyel dekarboksilasyon yoluyla sırasıyla tiyrosin, triptofan ve fenilalanin aminoasitlerinden oluşmaktadır. Arjinin aminoasidi agmatine kolayca dönüşebilmekte veya bakteriyel aktivitenin bir sonucu olarak ornitine indirgenebilmektedir. Ornitin ise dekarboksilasyon yoluyla putresine dönüşmektedir.

Balık ve Balık Ürünlerindeki Biyojenik Aminler

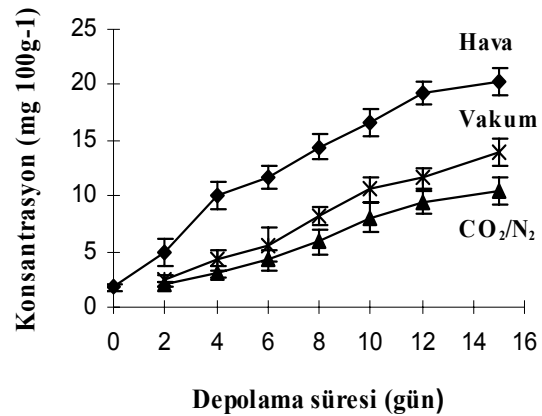
Histamin

Depolama sırasında balık kasındaki serbest aminoasitleri dekarboksile eden bazı bakteriler bulunmaktadır. Bu bakteriler, serbest aminoasitleri dekarboksilaz enzimleri sayesinde dekarboksile etmektedir. *Scombridae* (uskumru ve ton gibi) ve *Scomberesocidae* familyalarına ait scombroid balıklar, histamin balık zehirlenmesiyle ilişkili en yaygın türler olmaktadır. Fakat bu zehirlenmeye, kaslarında yüksek düzeyde serbest aminoasit bulunduran scombroid olmayan balık türleri de (ringa, sardalya, hamsi) neden olabilmektedir (Özoğul, 2001).

Ijoma ve diğ. (1992), histidin seviyesinin 1g kg^{-1} 'dan (ringada) 15g kg^{-1} 'a (ton balığında) kadar değişiklik gösterdiğini rapor etmiştir. Bununla birlikte, yeni yakalanan taze ton balığı genellikle $0.1\text{ mg}/100\text{g}$ 'dan daha düşük ve önemsiz miktarlarda histamin içermektedir (Frank ve diğ., 1981). Yoshida ve Nakamura (1982), taze uskumruda histamin bulunmadığını rapor etmiştir. Okuzumi ve diğ. (1990), 30°C 'de depolanan kıyılmış uskumru etinde yüksek düzeyde histamin ($210\text{-}1336\text{ mg }100\text{g}^{-1}$) tespit etmişlerdir.

Düşük sıcaklıkta depolanan balıklarda biyojenik amin oluşumunun azaldığı bilinmektedir. Wendakoon ve diğ. (1990), uskumrunun buzda depolanması süresince hiçbir amin üretiminin olmadığını, 20°C 'lik depolamada ise histamin, putresin, kadaverin ve tiraminin büyük miktarlarda üretildiğini kaydetmişlerdir. 4°C 'de normal hava koşullarında, vakum pakette ve modifiye atmosfer paketlerde ($\%60\text{CO}_2$ ve $\%40\text{N}_2$) üç farklı şekilde 15 gün depolanan sardalya örneklerinde histamin sırasıyla, $20\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$, $13\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$ ve $10\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$ değerlerine (Şekil 1) ulaşmıştır (Özoğul ve diğ., 2004). Ritchie ve Mackie (1980), 3 farklı sıcaklıkta (1°C buzda, 10°C ve 25°C 'de) depolanan uskumru ve ringadaki diamin ve poliamin üretimini araştırmıştır. 7 gün depolama sonunda,

ringadaki histamin konsantrasyonunun uskumrudaki histamin konsantrasyonundan daha fazla olduğunu bulmuşlardır. 25°C de depolanan ringadaki histamin seviyesi 72 saat sonra $100\text{ mg }100\text{g}^{-1}$ 'i aşmıştır. Fakat bozulmuş uskumrudaki histamin konsantrasyonu $100\text{ mg }100\text{g}^{-1}$ 'dan daha düşük olmuştur. Bu değerlerin zehirlenmeye yol açmada yeterli olduğu kabul edilir. Buzda ve buzsuz ortamda iç organları çıkarılmış bir şekilde soğuk derecede tutulan ringa üzerine yapılan başka bir çalışmada (Özoğul ve diğ., 2002b) histamin içeriği depolama süresince artış göstererek 16 günlük depolama sonunda sırasıyla $27.14\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$ ve $39.64\text{ mg }100\text{ g}^{-1}$ 'a ulaşmıştır (Tablo 1). -18 ve -25°C 'de 3 ay dondurularak depolanan beyaz ton balığında (albacore) histamin içeriği sırasıyla 1.17 ppm'e (başlangıç seviyenin $\%25.4$ 'ü) ve 1.62 ppm'e (başlangıç seviyenin $\%34.5$ 'i) düşmüştür (Ben-Gigirey ve diğ., 1998). Mackie ve diğ. (1997), buzda ve 10°C 'lik serin koşullarda depolanan ringa ve uskumrudaki biyojenik amin formasyonunu araştırmışlardır. Depolama sonunda (13 gün) uskumru ve ringadaki histamin miktarının EEC (European Economic Community) histamin seviyesi olan $10\text{mg }100\text{g}^{-1}$ dan daha düşük olduğunu bulmuşlardır. İç organları çıkartılmış balıklarda histamin oranının düşük olduğu tespit edilmiştir. Histamin seviyesi işlenmemiş taze ton balığında ortalama $0.32\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ olurken, konserve ton balığında bu değer en yüksek $40.5\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Veciana-Nogues ve diğ., 1997a).



Şekil 1. 4°C 'de normal hava koşulları, vakum paket ve modifiye atmosferde depolanan sardalyada histamin içeriği (Özoğul ve diğ., 2004).

Histamin Zehirlenmesi

Histamin biyolojik olarak aktif bir amin olup, insan vücudu içerisinde birçok tepkimelere yol açabilmektedir. Histamin kalp-damar sistemi ve çeşitli salgı bezlerindeki hücre membran reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermektedir (Joosten, 1988). Histamin böbrek üstü bezlerindeki etkisinin bir sonucu olarak kalbi harekete geçirip, uterus, bağırsak ve solunum bölgelerindeki düz kasları, duyu ve motor sistemini harekete geçirmekte, gastrik asit salgısını kontrol altına almaktadır (Joosten, 1988). Bu nedenle histamin zehirlenmesi genellikle geniş bir semptom çeşitliliğiyle ortaya çıkmaktadır.

Deriyi etkileyen karakteristik semptomlar kızarıklık, ödem ve iltihap olmaktadır. En yaygın semptomlar; mide bağırsak bölgesi semptomları (ishal, mide bulantısı, kusma), deri semptomları (kızarıklık, ödem), haemodinamik (gerginlik) ve sinirsel semptomlar (kaşıntı, kızarıklık, çınlama, baş ağrısı) olmaktadır. Histamin balık zehirlenmesi sonucu oluşan semptomlar toksik miktarların emiliminden birkaç dakika veya birkaç saat sonra görülmektedir. Tipik olarak hastalık birkaç saat sürmekle birlikte bu süre birkaç güne kadar uzayabilmektedir (Özoğul, 2001). Gıdalardaki histamin her zaman tehlikeli olmamaktadır. Küçük miktardaki histamin amin oksidaz veya konjugasyon faaliyeti ile kolayca tolere edilebilmektedir. Sindirilen histamini ve bağırsak bakterileri tarafından oluşturulan histamini metabolize etmek için bağırsak bölgelerinde oldukça etkili bir detoksifikasyon sistemi mevcut olmaktadır. Detoksifikasyon sisteminde diamin oksidaz, monoamin oksidaz, *N*-metil transferaz gibi enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler histamini toksik olmayan ürünlere dönüştürmektedir. Detoksifikasyon sistemi normal diyetle alınan histamini kontrol etmek için yeterli olmaktadır. Fakat allerjenik bireyler için monoamin oksidaz inhibitörleri uygulanırsa veya çok yüksek histamin seviyeleri tüketilirse bu detoksifikasyon sistemi bozulmakta ve zehirlenme ortaya çıkmaktadır (Shalaby, 1996; Hornero-Mendez ve Garrido, 1997). Bozulmuş veya fermente olmuş ürünlerin sindiriminde bu sistem başarısız olmaktadır (Brink ve diğ., 1990).

Histamin İçin İzin Verilebilir Limitler

Gıda ve gıda ürünlerinde histamin ve diğer biyojenik aminlerin varlığıyla ilişkili kalite kriterleri teknolojik ve toksikolojik bakış açısı bakımından önemli olmaktadır. Aminlerin toksikolojik seviyesini belirlemek, bireysel karakteristiklerden ve diğer aminlerin varlığından dolayı çok zordur. Amin-oksidad inhibe edici ilaçlar, alkol ve mide-bağırsak hastalıkları gibi diğer risk faktörleri histamin ve diğer aminlerin eşik noktasını belirlemede önemlidir (Shalaby, 1996). İngiltere'de 1976'dan 1986'a kadar scombrotoksik balık zehirlenmesiyle ilgili 250 şüpheli vakanın olduğu bir araştırmaya dayanarak Bartholomew ve diğ. (1987) histamin için bir limit doz belirlemişlerdir. Her 100 g balık için bu limit sınırlar, <5mg'dan düşük ise balığın tüketimi güvenli, 5-20 mg arasında ise balık muhtemelen toksik, 20-100 mg arasında ise balık büyük olasılıkla toksik, 100mg'dan daha fazla ise balık toksik ve tüketimi tehlikeli olarak belirlenmiştir. Avrupa Birliği (EU) 100 g balık etindeki histamin yasal limitini 10 mg belirtirken, son olarak FDA (Food Drug Administration) bu limiti 5 mg olarak belirlemiştir (FDA, 1996).

Kadaverin ve Putresin

Kadaverin ve putresin gibi biyojenik aminler gıdalarda ve özellikle balık ve balık ürünlerinde çok önemli olmaktadır. Balıkta bakteriyel bozulma başlar başlamaz putresin ve kadaverin üretimi sürekli olarak artar. Bu nedenle bu aminler balık kalitesi için potansiyel bir indikatör olarak düşünülmektedir (Fernandez-Salguero ve Mackie, 1987). Kadaverin ve putresin, sırasıyla lizin ve ornitin aminoasitlerinin bakteriyel faaliyetleri sonucu oluşmaktadır. Bu aminlerin

histamin toksisitesini arttırdığı bilinir. Fernandez-Salguero ve Mackie (1987) mide ve bağırsağı çıkarılan 12 gün buzda depolanan ringadaki putresin ve kadaverin konsantrasyonunu sırasıyla 1.49mg/100g ve 14.77mg/100g-1 bulmuşlardır. Sims ve diğ. (1992), konserve ton balığındaki putresin ve kadaverin seviyesi ile duyuşsal özellik arasında bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Putresin -18 ve -25°C'de dondurularak depolanan beyaz ton balığında 9 aylık depolama sonucu en yüksek artış gösteren biyojenik amin olmuştur. Bu seviye -18°C'de 59.04 ppm'e, -25°C'de ise 68.26 ppm'e ulaşmıştır. Kadaverin konsantrasyonu, bu her iki depolama koşulları altında 3 ppm'in altında olmuştur (Ben-Gigirey ve diğ., 1998). 2±2°C'de kutularda buzsuz depolanan ringanın putresin ve kadaverin seviyesi depolama periyodu süresince artmıştır (Tablo 1). 16 günlük depolamada kaslardaki putresin ve kadaverin seviyesi sırasıyla 7.42 mg ve 32.93 mg/100g⁻¹ olmuştur (Özoğul ve diğ., 2002b).

Tablo 1. Buzda ve buzsuz kutularda soğuk derecede (2±2) depolanan iç organları çıkarılmış ringada biyojenik amin içeriği (mg/100 g⁻¹ kas) (Özoğul ve diğ., 2002b).

Depolama süresi (gün)	Buzlu ortam				Buzsuz ortam			
	Hist	Put	Kad	Agm	Hist	Put	Kad	Agm
0	0.00	0.00	0.85	0.00	0.14	0.00	0.93	0.006
2	0.35	0.003	1.68	0.18	1.24	0.35	3.94	0.27
4	1.58	0.16	2.73	0.82	3.94	0.84	6.35	0.59
6	3.63	0.76	3.94	1.04	8.09	1.52	9.69	1.92
8	8.95	1.58	5.96	2.28	14.48	3.15	13.28	3.93
10	12.15	2.04	9.65	2.89	21.18	4.62	17.83	5.86
12	19.47	2.85	13.14	3.25	27.41	5.86	23.64	4.83
14	23.58	3.42	17.85	3.89	34.52	7.03	27.02	5.92
16	27.14	3.97	23.72	4.19	39.64	7.42	32.93	5.21

Hist: Histamin; Put: Putresin; Kad: Kadaverin; Agm: Agmatin

Klausen ve Lund (1986), 2°C ve 10°C'de vakum pakette depolanmış ringanın ve uskumrunun biyojenik amin üretimini araştırmış olup uskumruda yüksek bir kadaverin içeriği bulmuştur. Bu sonuçlar uskumrunun scombrotoksin zehirlenmesine niçin dahil edildiğini ringanın ise niçin dahil edilmediğini iyi bir şekilde açıklayabilmektedir. Bu araştırmacılar aynı zamanda tüketilmez hale gelmeden önce ringadaki putresin seviyesinin düşük olduğunu 10 ppm'i aşmadığını, uskumruda ise bu seviyenin 40 ppm'e ulaştığını bulmuşlardır. Yapılan başka bir çalışmada, 5°C'de depolanan kıyılmış uskumru etinin bozulma evresinde yüksek bir putresin (2.3-54 mg/100g⁻¹) ve kadaverin (11-15 mg/100g⁻¹) değeri tespit edilmiştir. 30°C'de depolanan örneklerde ise daha yüksek bir kadaverin seviyesi (74-612mg/100g⁻¹) gözlenmiştir (Okuzumi ve diğ., 1990). Palegous ve diğ. (2004) soğuk derecede buzda polietilen bir filme sarılmış olarak depolanan levrekte, depolama süresince kadaverinin en fazla üretilen amin olduğunu ve bu aminin 16. günde yaklaşık 10.69 mg/kg⁻¹ seviyesine çıktığını rapor etmişlerdir (Tablo 2).

Kadaverin ve Putresin için İzin Verilen Limitler

Balık ve balık ürünlerinde oluşan kadaverin ve putresin gibi biyojenik aminlerin toksik dozu hakkında fazla bilgi bulunmamasına rağmen, bir öğünde alınan >40 mg biyojenik aminin potansiyel olarak toksik olduğu düşünülmüştür

(Shalaby, 1996). Kalite kontrol amacı için konserve ton balığındaki putreaktif amin seviyesi 0.4 ile 0.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Sims ve diğ., 1992). Spanjer ve Van Roode (1991), balık ve balık ürünlerinde histamin, putresin ve kadaverin toplamının 300mg kg^{-1} ile sınırlandırılması gerektiğini önermiştir.

Tablo 2. Buzda depolanan iç organları çıkarılmış levrekte biyojenik amin konsantrasyonu (mg kg^{-1}) (Paleogus ve diğ., 2004)

Gün	Putresin	Kadaverin	Tiramin	Triptamin	Sipermin	Spermidin
1	0.99	-	-	-	17.29	19.68
3	3.03	-	-	-	16.23	19.06
5	3.15	-	-	-	13.35	14.56
7	3.23	-	-	-	7.43	0.32
9	4.25	0.42	0.15	0.86	2.00	0.15
11	6.54	0.55	0.31	1.04	0.52	-
13	10.69	0.93	2.12	1.30	-	-
16	12.64	1.19	5.20	1.80	-	-

- Belirlenemeyen değerler

Tiramin

Tiramin, tirozin amino asidinin bakteriyel faaliyeti sonucu oluşmaktadır. Balık bozulması süresince oluşan tiramin seviyesi hakkında çok az veri bulunmaktadır. Fakat yüksek içerikli tiramin bazı toksikolojik problemlere yol açtığı için oldukça önemli olmaktadır. Veciana-Nogues ve diğ. (1997b), farklı sıcaklık derecelerinde depolanan ton balığı örneklerinin tiramin seviyesinde büyük bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Tiramin içeriği 0°C'de 12 gün depolanan örneklerde yaklaşık 5.7 $\mu\text{g g}^{-1}$, 8°C'de 5 gün depolanan örneklerde 9.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ ve 20°C'de 1.5 gün depolanan örneklerde ise 8.4 $\mu\text{g g}^{-1}$ olmuştur. Yapılan başka bir çalışmada, tiramin seviyesi taze ton balığında en yüksek 10.65 $\mu\text{g g}^{-1}$, konserve ton balığında ise en yüksek 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Veciana-Nogues ve diğ., 1997a).

Tiramin Toksikitesi

Tiramin, triptamin ve β -feniletilamin, vasoaktif (damar sisteminde etkili) amin grubunda yer almaktadır. Gıdalarda tiramin toksikolojik etkisinden dolayı önemli olmaktadır. Çünkü tiramin kendi başına az toksik olup, alerjik etkilere neden olan monoamin oksidaz inhibitör (MAOI) ilaçları ile reaksiyona girmektedir (Marine-Font, 1978). Tiramin kan basıncını ve kan şekerini arttırmakta ve göz bebeğini büyütmektedir (Joosten, 1988). Monoamin oksidaz enzimi oksidatif olarak kandan alınan aminleri deamine etmekte ve insanlarda kana ulaşmadan önce amin miktarının düşmesinde rol oynamaktadır. Zihni depresyon tedavisi için kullanılan MAOI ilaçları bu detoksifikasyon sistemini elemine etmektedir ve hastalarda yüksek alerjik krize yol açan yüksek konsantrasyonlu tiramin kanda birikebilmektedir (Lejonik ve diğ., 1979). Birçok peynirde tiramin yüksek oranlarda bulunduğu için "peynir reaksiyonu" olarak bilinen yüksek tiramin konsantrasyonu kan basıncında bir artışa neden olabilmektedir. Peynir reaksiyonu şiddetli bir baş ağrısına yol açabilmekte ve beyin kanaması veya kalp problemlerine neden olabilmektedir (Smith, 1980). Nuessle ve diğ. (1965), turşu ringaların da benzer alerjik durumlara yol açabildiğini

rapor etmiştir (Shalaby, 1996).

Tiramin için izin verilen limitler

Tiraminin toksik dozu hakkında fazla bir bilgi mevcut olmamasına rağmen tiramin için eşik değer 100-800 mg 100g⁻¹ olarak rapor edilmiştir (Brink ve diğ., 1990).

Spermin ve Spermidin

Spermidin ve spermin gıdalarda doğal olarak oluşan biyojenik aminler olup bunların formasyonu bakteriyel bozulmayla ilişkili olmamaktadır (Veciana-Nogues ve diğ., 1997b). Spermidin ve spermin balıkta önemsiz bir bileşiktir ve depolama süresince az miktarda oluşur (Ritchie ve Mackie, 1980). Taze ve konserve ton balığında yapılan bir çalışmada spermidin içeriğinin sperminden daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada aynı zamanda ortalama spermidin ve spermin seviyelerinin konserve ton balığı örneklerine (en yüksek değer sırasıyla 9.95 $\mu\text{g g}^{-1}$ ve 35.2 $\mu\text{g g}^{-1}$) nazaran taze balıkta (en yüksek değer sırasıyla 11.7 $\mu\text{g g}^{-1}$ ve 37.0 $\mu\text{g g}^{-1}$) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Veciana-Nogues ve diğ., 1997a).

Mackie ve diğ. (1997), spermin ve spermidin konsantrasyonunun taze kasta 1mg 100g⁻¹'den daha düşük olduğunu, fakat bu değerlerin balık türlerine, kaslardaki serbest aminoasit miktarına ve bakterilerin bulunma durumuna bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir. Salguero ve Mackie (1987), bağırsakları çıkarılmış, tüm halde 8 gün buzda depolanan ringada spermin ve spermidin gözlemlemişlerdir (0.5mg 100g⁻¹'den daha düşük). Vakum pakette depolama periyodu boyunca spermidin ringada 2-4 ppm, uskumruda ise 4-5 ppm gibi sabit seviyelerde bulunmuştur. Brink ve diğ. (1990), balıkların spermidin ve sperminden daha fazla putresine sahip olduğunu belirtmiştir. Ben-Gigirey ve diğ. (1998) dondurulmuş beyaz ton balığı üzerine yaptıkları bir çalışmada, spermin içeriğinin depolama süresince arttığını, 9 aylık depolama sonucunda bu konsantrasyonun -18°C'de 9.5 ppm'e, -25°C'de ise 10.27 ppm'e ulaştığını tespit etmişlerdir. Spermidin içeriği ise 9 aylık depolama sonunda 93.71 ppm (-18°C'de) ve 81.89 ppm (-25°C'de) olarak belirlenmiştir. Ringanın tüm depolama koşulları altında (2±2°C'de buzda, buzsuz ortamda ve modifiye atmosfer pakette), kaslarındaki spermidin ve spermin içeriğinin 1 mg 100g⁻¹'den düşük olduğu gözlenmiştir (Özoğul ve diğ., 2002a).

Agmatin

Agmatin balık ve balık ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Smith, 1980). 0, 3, 5 ve 15°C'de depolanan murekkep balığı kaslarındaki agmatin, depolamanın ilk evrelerinde düşük seviyelerde gözlenmiştir. Fakat agmatin konsantrasyonu depolama süresiyle ilişkili olarak artmıştır. Bu değer bozulma evresinin başlangıcında 30mg100g⁻¹'a, bozulma evresinin ilerlemesiyle 40 mg 100g⁻¹'a ulaşmıştır (Yamanaka ve diğ., 1987). Taze uskumru örneklerinde agmatin konsantrasyonu konserve edilmiş örneklere kıyasla daha yüksek olmuştur. Agmatin üretimi balığın ilk bozulma aşamasında artmış fakat sonrasında azalmıştır. Bu nedenle

agmatinin düşük seviyesi taze ve aynı zamanda çok bozulmuş balıkla ilişkili olmaktadır (Veciana-Nogues ve diğ., 1997a).

Biyojenik Amin Üretiminden Sorumlu Bakteriler

Aminoasit dekarboksilaz bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* gibi türlerin yanı sıra *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptir (Brink ve diğ., 1990). Scombroid zehirlenmesine dahil edilen balıklarda histamin şekillendiren bakteriler; *Morganella morganii* (Arnold ve Brown, 1978), *Klebsiella pneumoniae* (Taylor ve diğ., 1979), *Hafnia alvei* (Havelka, 1967)'dir. Aynı zamanda *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio alginolyticus*'inde histamin ürettiği bulunmuştur (Arnold ve diğ., 1980; Frank ve diğ., 1985). Middlebrooks ve diğ. (1988), bozulmuş balıktan dekarboksilaz aktiviteli *Acinobacter lwoffii*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Aeromonas hydrophyla* gibi 3 bakteri türü izole etmesinin yanı sıra, Lopez-Sabater ve diğ. (1994), *Plesiomonas shigelloides* gibi yeni bir histamin üreticisi tespit etmiştir. Yatsunami ve Echigo (1993), fermente balıkta histamin üreten bakteri olarak *Staphylococcus*, *Vibrio*, ve *Pseudomonas*'ı teşhis etmişlerdir. Bakteriler çeşitli aminoasit dekarboksilaz içerdikleri için, gıdalardan diğer bir çok aminler teşhis edilebilmektedir (Lovenberg, 1973). Histamini üretmede yetenekli olan bakteri türleri ile diğer aminleri üretmede yetenekli olan bakteri türleri genellikle benzer olmaktadır (Rodriguez-Jerez ve diğ., 1994). Tuza toleranslı bakteri sayısının yaklaşık 10'dan 10⁴ g⁻¹'e kadar değişiklik gösterdiği %12 NaCl içeren sardalya ürünlerinin 30°C'de depolanması süresince histamin, putresin ve kadaverin ürettiği saptanmıştır (Yatsunami ve Echigo, 1993). Aynı zamanda *Photobacterium*'un da histamin, agmatin ve kadaverin üretimine neden olduğu bilinmektedir (Okuzumi ve diğ., 1990; Rawles ve diğ., 1996). Tuzlanmış yarı konserve edilmiş hamsiden izole edilen ve en yüksek histamin aktivitesi gösteren mikroorganizmalar 37°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra 2123, 11 ve 110 ppm üretmekte yetenekli olan sırasıyla *Morganella morganii*, *Bacillus* spp.'in 2 üyesi ve *Staphylococcus xylosum*'un 1 üyesi olmuştur (Rodriguez-Jerez ve diğ., 1994).

Biyojenik Amin Dekarboksilaz Aktivitesine Etki Eden Faktörler

Aminler, gıdaların enzimatik aktivitesi veya bakterilerin dekarboksilaz aktivitesi ile üretildiğinden dolayı, gıdalardaki amin içeriğini kontrol etmek için dekarboksilaz aktiviteyi engellemek ve bakteriyel gelişimi önlemek çok önemli olmaktadır (Silla-Santos, 1996). Gıdalarda biyojenik amin birikiminin yanı sıra biyojenik amin dekarboksilaz aktivitesini etkileyebilen bazı faktörler vardır. Uygun substrat, sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonu biyojenik amin dekarboksilaz

aktivitesini etkilemektedir. Mikrobiyal flora mevsimsel olarak çeşitlilik gösterdiği için amin seviyesi balığın avlandığı andaki bakteri sayısına ve balığın mide içeriğine bağlı olarak farklılık gösterir (Shalaby, 1996). Oksijen miktarı aynı zamanda amin biyosentezinde önemli bir etkiye sahiptir. *Enterobacter cloacae* anaerobik ortamda aerobik ortamına göre hemen hemen yarı seviyelerde putresin üretilir, *Klebsiella pneumoniae* önemli derecede az kadaverin sentezlemiştir (Halasz, 1994). Bazı bakterilerin dekarboksilasyonu için pridoksal fosfata gereksinim duyulur. Balığın depolanması süresince oluşan histamin konserveleme işlemi boyunca kısmen kaybolmaktadır (Shalaby, 1990). Fermantatif tip mikroorganizmalar, kaynatma, yağda kızartma ve depolama sıcaklığı gibi şartlar biyojenik aminleri etkilemektedir. Gıda katkı maddesi olarak kullanılan potasyum sorbat üründeki biyojenik amin üretimini sınırlamaktadır. Aminoasit dekarboksilaz aktivitesi optimum pH'ın 4 ve 5.5 arasında olduğu asidik ortamda çok güçlüdür (Teodorovic ve diğ., 1994). Santos ve diğ. (1986), uskumruda düşük bir pH'ta yüksek bir tiramin seviyesi bulunmuştur. Depolama sıcaklığı da gıdalardaki biyojenik amin içeriğini etkileyebilmektedir. Klausen ve Lund (1986), amin içeriğinin sıcaklığa bağlı olduğunu, uskumru ve ringadaki 10 °C'deki biyojenik amin içeriğinin 2°C'ye göre 2-20 kat daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Wendakoon ve diğ. (1990), uskumrunun buzda depolanması sırasında hiçbir amin üretiminin olmadığını rapor etmiştir. Bununla birlikte, 20°C'de histamin, putresin, kadaverin ve tiramin büyük miktarlarda üretilmiştir. Ancak, Santos ve diğ. (1986), depolama sıcaklığının hamside maksimum tiramin içeriğini etkilemediğini bulunmuştur. 5°C'de depolanan uskumru etinde histamin üretimi tuz konsantrasyonu ne olursa olsun tuzlama ile inhibe edilmiş ve hemen hemen hiç üretilmemiştir (Silla-Santos, 1996). %3.50 (w/v) tuz veya %0.02 sodyum nitrit varlığında tespit edilen histamin seviyeleri, katkısız kontrol besi yerlerinde tespit edilen seviyelerle çok benzer olmuştur (Teodorovic ve diğ., 1994). %12 NaCl içeren sardalya ürünlerinin yüksek sıcaklıkta (30°C) depolanması süresince; histamin, putresin ve kadaverin hızlı bir şekilde üretilmiştir (Yatsunami ve Echigo, 1993). 30°C'de uskumru etine eklenen karanfil yağı ve sodyum klorid, *Enterobacter aerogenes*'in gelişimini ve amin üretimini inaktive etmiştir (Wendakoon ve Sakaguchi, 1992).

Biyojenik Amin Üretimini Kontrol Altına Alınması

Düşük başlangıç kontaminasyona, çığ materyallerdeki ve üretim yerlerindeki hijyene önem verildiği takdirde ürünler yüksek histamin seviyesinden korunmuş olurlar. Gıdalardaki enzimatik aktiviteyi, dekarboksilaz aktiviteyi ve bakteriyel çoğalmayı önlemek amin üretiminin kontrolü için önemli olmaktadır. Bazı aminleri içeren histamin ısıda kararlı olmakta ve bazı dekarboksilazlar pastörizasyonda bile aktif kalmaktadır. Bu da daha önce şekillenen amin seviyelerinin işlem sırasında azalmayacağını ve hatta depolama sırasında artacağını göstermektedir (Özoğul, 2001).

Kontaminasyonla ilişkili tehlikeler, işleme sırasında

oluşan kontaminasyonlar veya ortaya çıkan biyolojik tehlikeler HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) kontrol programlarının yanı sıra GMP (Good Manufacturing practice) ve GHP (Good Hijyen Practice) tarafından kontrol edilmektedir. HACCP kavramı ürün kalitesi ve güvenliği için önemli programları sunmaktadır. Bu kavram biyojenik amin ürünlerinin yanı sıra balık ve balık ürünlerindeki histamin formasyonunu kontrol etmek için de kullanılabilir (Özoğul, 2001).

Düşük Sıcaklıkta Depolama

Histamin üretimini etkileyen en önemli faktör sıcaklıktır. 10-20°C arasında önemli derecede histamin birikimi olmaktadır. Balık hasat edilip en kısa sürede soğutulduktan sonra uygun bir şekilde işlendiği taktirde histamin üretimi büyük ölçüde azalmaktadır. Histamin birikimini önlemek için kullanılan en basit metot hasat edildikten sonra balığın çabucak soğutulması ve tüketim noktasına kadar düşük sıcaklıklarda depolanmasıdır. Farklı sıcaklık derecelerinde depolanan balık ve balık ürünlerindeki histamin üretimi konusunda birçok araştırmalar yapılmaktadır. Edmunds ve Eitenmiller (1975), 4°C'de düşük bir histamin seviyesinin üretildiğini ve psikrofilik mikroorganizmaların serbest histidini kolayca dekarboksile etmediğini bildirmiştir. Histamin üretimi 5°C'de büyük ölçüde sınırlanmıştır. Düşük depolama sıcaklığı balık ve balık ürünlerinde bakteriyel büyümeyi ve enzimatik aktiviteyi kontrol etmede kullanılmaktadır. Wei ve diğ. (1990), ton balığı örneklerinde histamin üretiminin kontrolü için düşük depolama sıcaklığının vakum paketlerden daha önemli olduğunu rapor etmiştir. Çünkü vakum paketlenmiş örnekler 2°C ve 10°C gibi iki sıcaklık derecesinde genellikle daha yüksek bir histamin seviyesine sahip olmuştur. Ton balığı infüzyon suyunda histamin üretimi 19°C ve 30°C'deki üretime kıyasla 7°C'de daha düşük olmuştur. Arnold ve diğ. (1980), *H. alvei*'nin 19°C'de aerobik, mikroaerofilik veya anaerobik şartlar altında üç gün sonra histamin üretebildiğini rapor etmiştir. Bununla birlikte, özellikle düşük bir psikrofilik *Photobacterium* spp kontaminasyonundan sonra, hafif tuzlanmış ringa filetoalarının vakum pakette soğuk derecede tutulması ile yüksek seviyede histamin üretildiği gözlenmiştir. Behling ve Taylor (1982), 7°C'de 72 saat inkübe edilen ton balığı infüzyon solüsyonunda *K. pneumoniae* 'in önemli miktarlarda histamin ürettiğini rapor etmişlerdir. *M. morgani* ile düşük sıcaklıkta (0-5°C) ve yüksek sıcaklıkta (10-25°C) histamin üretimi Klausen ve Huss (1987) tarafından rapor edilmiştir.

Hijyen Uygulamaları

Avlanan balığın taşınmasından tüketim noktasına kadar yapılan hijyenik uygulamalar, iyi kaliteyi ve uzun raf ömrünü sağlamada önemli olmaktadır. Balık etindeki bakteriyel kontaminasyon bozulmada ana sebeptir. Balıklar gıda zehirlenmesine ve hatta tüketiciler arasında ölüme bile yol açabilen patojenik bakterilerle kontamine olabilmektedir. Bu yüzden bakteri üremesini geciktirmek veya minimize etmek için balıklar temiz yerde ve soğuk derecelerde tutulmalıdır. Yüksek seviyede histidin içeren pelajik balıkların tüketimiyle

ilişkili gıda zehirlenmesini önlemek için iyi hijyen uygulaması ve balığın uygun şartlarda tutulması gerekli olmaktadır.

Sonuç

Balık ve balık ürünlerinde biyojenik amin üretimi direk olarak balıktaki serbest aminoasit içeriği ile bağlantılı olmaktadır. Balığın bozulması veya ayrışması süresince, bakteriyel üretim, aminoasit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalmakta ve biyojenik amin üretilmektedir. Bakteriyel biyojenik amin dekarboksilaz ve uygun çevresel koşulların varlığında biyojenik amin oluşumu bakteri gelişimine ve dekarboksilaz enzimlerin üretimine izin vermektedir. Balık ve balık ürünlerinde bakteriyel faaliyetler ile üretilen başta histamin olmak üzere putresin, kadaverin tiramin, triptamin, β-feniletamin ve agmatin gibi biyojenik aminlerin yüksek dozları tüketiciler için büyük bir risk oluşturduğu için balık ürünlerinde depolama süresince ortaya çıkan bakteriyel aktiviteyi engellemek büyük bir önem arz etmektedir. Bu nedenle bakteriyel aktiviteyi önlemek için balık ve balık ürünlerini mümkün olduğunca düşük dereceli sıcaklıklarda ve hijyenik koşullarda depolamak gereklidir.

Kaynakça

- Arnold, S. H., R. J. Price, W. D. Brown, 1980. Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, Bul. Japanese Soc. Sci. Fish., 46 (8): 991-995.
- Arnold, S. H., W. Brown, 1978. Histamine toxicity from fish products. Vol. 24, p. 113-154. In *Advances In Food Research*, eds. C. O. Chishester, E. M. Mrak and G. F. Stewart, Academic Press. New York.
- Bartholomew, B. A., P. R. Berry, J. C. Rodhouse, R. J. Gilbert, C. K. Murray, 1987. Scombrotoxic fish poisoning in Britain: features of over 250 suspected incidents from 1976 to 1986. *Epidem. Infect.*, 99 (3): 775-782.
- Behling, A. R., S. L. Taylor, 1982. Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. *J. Food Sci.*, 47: 1311-1314, 1317.
- Ben-Gigirey, B., J. M. Vieites Babtista De Sousa, T. G. Villa, J. Barros-Velazquez, 1998. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J. Food Prot.*, 61(5): 608-615.
- Brink, B. J., C. Damink, H. M. L. J. Joosten, J. H. J. Huis in't Veld, 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 11: 73-84.
- Edmunds, W. J., R. R. Eitenmiller, 1975. Effects of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species. *J. Food Sci.*, 40: 516-519.
- FDA, 1996. Decomposition and histamine in raw, frozen tuna and mahi-mahi, canned tuna and related species. *Compliance Policy Guides*, 7108(240): 540-525.
- Fernandez-Salguero, J., I. M. Mackie, 1987. Technical note: Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of spanish canned fish. *Int. J. Food Sci. Technol.* 22: 409-412.
- Frank, H. A., J. D. Baranowski, M. Chongsiriwatana, P. A. Brust, R. J. Premaratne, 1985. Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi mahi after incubation at 0 and 32 °C. *Int. J. Food Microbiol.* 2: 331-340.
- Halasz, A., A. Barath, L. S. Sarkadi, W. Holzapfel, 1994. Biogenic amines and their production by mikroorganism in food. *Trend. Food Sci. and Technol.*, 5: 42-49.
- Havelka, B., 1967. Role of the Hafnia bacteria in the rise of histamine in tuna fish meat. *Cesk. Hygiene.* 12: 343-352.
- Hornero-Mendez, D., A. Garrido-Fernandez, 1997. Rapid high-performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented

- vegetable brines. *J Food Prot.*, 60(4): 414-419.
- Ijomah, P., M. N. Clifford, R. Walker, J. Wright, R. Hardly, C. K. Murray, 1992. Further volunteer studies on scombrototoxicosis. Vol. 17, p. 194-199. In *pelagic fish: The source and its Exploitaiton*, eds. J.R. Burt, R. Hardly and K.J. Whittle, Fishing News Books Oxford.
- Joosten, H. M. L. J, 1988. The biogenic amine contents of dutch cheese and their toxicological significance. *Neth. Milk Dairy*, 41: 25-42.
- Klausen, N. K., E. Lund, 1986. Formation of biogenic amines in herring and mackerel. *Zeitsch. Leb. Unter. Forsch.* 182: 459-463.
- Klausen, N. K., H. H. Huss, 1987. Growth and histamine production by *Morganella morganii* under various temperaturwe conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, 5 (2): 147-156.
- Lejonc, J. L., D. Gusmini, P. Brochard, 1979. Isoniazid and reaction to cheese. *Ann. Int. Med.* 91: 793.
- Lopez-Sabater, E. I., J. L. Rodriguez-Jerez, M. Hernandez-Herrero, M. T. Mora-Ventura, 1994. Evulation of histamine decarboxylase activity of bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) by an enzymic method. *Letter App. Microbiol.*, 19: 70-75.
- Lovenberg, W., 1973. Some vaso- and psychroactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. *Nation. Academy Sci.*, Washington, DC.
- Mackie, I. M., L. Pirie, A. H. Ritchie, H. Yamanaka, 1997. The formation of non-volatile amines in relation to concentration of free basic amino acid during postmortem storage of the muscle of scallop (*Pecten maximus*), herring (*Clupea harengus*) and mackerel (*Scomber scombrus*) *Food Chem.*, 60(3): 291-295.
- Malle, P., M. Vale, S. Bouquelet, 1996. Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. *J. Food Sci.*, 60: 1187-1190.
- Marine-Font, A., 1978. Alimentos y medicamentos: Interacciones (3a parte). *Circ. Farm.* 258: 43-45.
- Middlebrooks, B. L., P. M. Toom, W. L. Donglas, R. E. Harrison, S. McDowell, 1988. Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*). *J. Food Sci.*, 53 (4): 1024-1029.
- Nuessle, W. F., F. E. Norman, H. E. Miller, 1965. Pickled herring and transcypromine reaction. *J. American Med. Assoc.*, 192: 142-143.
- Okuzumi, M., I. Fukumoto, T. Fujii, 1990. Changes in bacterial flora and polyamines contents during the storage of horse mackerel meat. *Bullet. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 56 (8): 1307-1312.
- Özoğul, F., 2001 The effect packaging systems on quality and safety of herring. PhD dissertation. Lincoln, U.K: Univ. of Lincoln.
- Özoğul, F., K. D. A. Taylor, P. Quantick, Y. Özoğul, 2002a. Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 37 (5): 515-528
- Özoğul, F., K. D. A. Taylor, P. Quantick, Y. Özoğul, 2002b. Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. *J. Food Sci.*, 67:2497-2501.
- Özoğul, F., A. Polat, Y. Özoğul, 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.*, 85: 49-57.
- Paleologos, E. K., I. N. Savvaidis, M. G. Kontominas, 2004. Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiol.*, 21:549-557.
- Rawles, D. D., G. J. Flick, 1996. Biogenic amines in fish and shellfish. *Adv. Food Nutrit. Res.* 39: 329-365.
- Ritchie A. H., I.M. Mackie, 1980. The formation of diamines and polyamines during the storage of mackerel (*Scomber scombrus*). p. 489-494. In: Connell JJ, editor *Advances in fish science and technology*. Farnham, UK: Fishing News (Books) Ltd.
- Rodriguez-Jerez, J. J., M. T. Mora-Ventura, E. I. Lopez-Sabater, M. Hernandez-Herrero, 1994. Histidine, lysine and ornithine decarboxylase bacteria in spanish salted semi-preserved anchovies. *J. Food Prod.*, 57(5): 784-787, 791.
- Santos, C., A. Marine, J. C. Rivas, 1986. Changes tyramine during storage and spoilage of anchovies. *J. Food Sci.*, 51: 512-513, 515.
- Shalaby, A. R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.*, 29 (7): 675-690.
- Silla-Santos, S. M. H., 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 29: 213-231.
- Sims, G. G., G. Farn, R. K. York, 1992. Quality indices for canned skipjack tuna: Correlation of sensory attributes with chemical indices. *J. Food Sci.* 57(5): 1112-1115.
- Smith, T. A., 1980. Amines in food. *Food Chem.*, 6: 169-200.
- Spanjer, M. C., B. A. S. W, 1991. Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese, and sauerkraut. *De Ware (n)-Chem.* 21: 139-167.
- Taylor, S. L., 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects: *Rev. Toxicol.*, 17 (2): 91-128.
- Taylor, S. L., L. S. Guthertz, M. Leatherwood, E. R. Lieber, 1979. Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid fish poisoning. *App. Envir. Microbiol.*, 37 (2): 274-278.
- Teodorovic, V., S. Buncic, D. Smiljanic, 1994. A study of factors influencing histamine production in meat. *Fleischwirtschaft*, 74 (2), 181-183.
- Veciana-Nogues, M. T., A. Marine-Font, M. C. Vidal-Carou, 1997a. Biogenic amines in fresh and canned tuna. Effects of canning on biogenic amine contents. *J. Agric. Food Chem.* 45:4324-4328.
- Veciana-Nogues, M. T., A. Marine-Font, M. C. Vidal-Carou, 1997b. Biogenic amines as hygenic quality indicators of tunas. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptik changes. *J. Agric. Food Chem.* 45:2036-2041.
- Waldum H. L., A. K. Sandvik, E. Brenna, B. Schulze Sognen, 1991. Radioimmunoassay of histamine. *Scand J Gastroenterol*, 26 (180): 32-39
- Wei, C. I., C. M. Chen, J. A. Koburger, W. S. Otwell, M. R. Marshall, 1990. Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged tuna. *J. Food Sci.*, 47: 1386-1387.
- Wendakoon, C. N., M. Murata, M. Sakaguchi, 1990. Comparison of non-volatile amine formation between the dark and white muscle of mackerel during storage. *Nippon Suis. Gakk.* 56(5): 809-818.
- Wendakoon, C. N., M. Sakaguchi, 1992. Effect of spices on growth of and biogenic amine formation by bacteria in fish muscle. p. 305-313. In *Quality Assurance in the Fish Industry*.
- Yamanaka, H., K. Shimakura, K. Shiomi, T. Kikuchi, H. Lida, K. Nakamura, 1987. Concentrations of polyamines in fresh water fishes. *Nip. Suisan Gak.*, 53: 2041-2044.
- Yatsunami, K., T. Echigo, 1993. Studies on halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria. III. Changes in the number of halotolerant histamine-forming bacteria and contents of non-volatile amines in sardine meat with addition of NaCl. *Bul. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 59(1): 123-127.
- Yoshida, A., A. Nakamura, 1982. Quantitation of histamine in fish and fish products by high performance liquid chromatography. *J. Food Hyg. Soc. Jap.*, 23 (4): 339-343.