

## Gıdalarda Biyojen Aminler

Aynur Gül Karahan<sup>1</sup>

### Özet

Amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucunda oluşan biyojen aminler (BA), gıdaların bozulması ve gıda güvenliği ile yakından ilişkilidir. Bu aminler, hammaddeye özgü dekarboksilaz aktivitesi sonucunda üretilebildikleri gibi, dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların uygun koşullar altında gerçekleştirdikleri enzim aktivitesi ile de oluşturulmaktadır. BA'ler, olgunlaştırma veya fermantasyon işlemleri ile üretilen çeşitli gıdalarda ve içeceklerde bulunmaktadır. BA içeren gıdalar arasında balık ve balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir çeşitleri, fermente sebzeler ve soya fasulyesi ürünleri, bira ve şarap yer almaktadır.

### Giriş

BA'ler, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalarda metabolik işlemler sonucunda miktarları artan, alifatik, alisiklik ve heterosiklik yapılu küçük molekül kütleli organik bazlardır. Bir amino asitten alfa karboksilik grubun ayrılması ile BA oluşumu başlar. Bunların çoğunun adlandırılmasında köken aldığı amino asidin adından yararlanılmaktadır. Histamin, tiramin, triptamin, 2-feniletilamin, monoaminlerdir ve sırasıyla histidin, tirozin, triptofan ve fenilalaninden meydana gelirler. Putresin ve kadeverin, diamindirler; ornitin ve lizinden oluşurlar. Putresin, poliaminler olan spermin ve spermidinin öncül bileşiğidir. Bazı BA'ler (serotonin, histamin ve tiramin), insan ve hayvanlardaki pek çok fizyolojik işlemde rol oynamaktadır. Bitkilerde putresin, spermin ve spermidin hücre bölünmesi, çiçek açma ve meyve gelişimi gibi fizyolojik işlemlerde görev almaktadır. Gıdalardaki BA'ler ise gıdaların bozulması ve gıda güvenliği ile yakından ilişkilidir. Bu aminler, hammaddeye özgü dekarboksilaz aktivitesi sonucunda üretilebildikleri gibi, dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların uygun koşullar altında gerçekleştirdikleri enzim aktivitesi ile de üretilmektedir. Gıdaların mikrobiyel bozulması sırasında dekarboksilaz aktivitesi arttığından BA'lerin varlığı gıda bozulmasının göstergesi olması açısından da önem taşımaktadır (1, 2, 3). Kadaverin, putresin, tiramin ve histamin, gıdalarda bozulma indikatörü olarak kullanılan BA'lerdir (4). Gıdalarda BA derişimleri hijyenik koşullardan

---

<sup>1</sup> Prof. Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 32260 Isparta. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: [aynur@sdu.edu.tr](mailto:aynur@sdu.edu.tr)

etkilenmekte, gıda işleme ve muhafaza sırasında değişime uğrayabilmektedir. Bu nedenle gıdalardaki BA'lerin belirlenmesi ile gıda kalitesi hakkında bilgi edinilmesi mümkün olmaktadır. Gıda kalitesi açısından önemli BA'ler, diaminlerden putresin ve kadaverin, poliaminlerden spermin ve spermidin, aromatik aminlerden tiramin ve heterosiklik aminlerden triptamin, histamin ve 2-feniletilamindir (5, 6). Putresin, kadaverin, spermin ve spermidin, histamin toksisitesini güçlendirmektedir (3, 7, 8). Nitrit varlığında karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve embriofatik olduğu bilinen N-nitrozaminleri oluşturmaları da dikkat çekicidir (9).

BA'ler, özellikle olgunlaştırma veya fermantasyon işlemleri ile üretilen çeşitli gıdalarda ve içeceklerde bulunmaktadır. BA içeren gıdalar arasında balık ve balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir çeşitleri, fermente sebzeler ve soya fasulyesi ürünleri, bira ve şarap yer almaktadır. BA'ler, gıdalarda düşük derişimlerde, ancak fermente gıdalarda daha yüksek derişimlerde bulunmaktadır. Fermantasyonda etkin mikroorganizmalar, gıdanın doğal yapısında bulunandan daha fazla BA üretmektedirler. Başlıca *Pseudomonas*, enterokok ve diğer bazı laktik asit bakterileri gibi birkaç mikroorganizma grubunun BA oluşturma yeteneği tanımlanmıştır (3). BA oluşumu, pH'nın artmasına neden olmaktadır. Asitliğin mikroorganizma canlılığını etkileyecek şekilde artmasına karşı BA oluşturulmasının, gelişme ve canlılığın devamı açısından gerekli olduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar farklı tipte peynirlerde asitlik artışının BA oluşumunu etkilediğini göstermektedir. Bu tip sonuçlar, bakterilerin BA'leri asidik ortama karşı koruyucu mekanizma olarak oluşturdukları teorisini desteklemektedir (10, 11). Bu mekanizmayı aydınlatmak üzere şaraplarda yapılan çalışmalar sonucunda ise, belirli bir suşun BA üretiminin şeker, malik asit gibi substratların tükenmesine bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle BA (histamin) üretiminin, substrat yetersizliğinde hücrelerde enerji üretimini sağlayan ek bir mekanizma olabileceği ileri sürülmüştür (12).

Hammaddede doğal olarak bulunan mikrobiyel floranın, ürünün olgunlaşması sırasında BA oluşumu üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu belirlendiğinden, iyi kaliteli hammadde seçimi amin üreten bakteri sayısını en aza indirecektir.

Fermente gıdalardaki biyojen amin konsantrasyonlarındaki değişimlerin basit şekilde açıklanabilmesi mümkün olmamaktadır. Bakteriler tarafından BA üretimi ve yapısının oksidasyonla bozulması pek çok faktörden etkilenmektedir. Çeşitli fermente gıdalarda yapılan çalışmalarda farklı bakterilerin amino asit dekarboksilaz aktivitelerinin optimum sıcaklık ve pH sınırlarında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bakteriyel gelişimi etkileyen diğer faktörler, oksijen, NaCl ve glukoz konsantrasyonlarıdır. Bu nedenle farklı doğal mikroflora ve kendiliğinden meydana gelen fermantasyon, BA düzeylerinde ve bileşiminde farklılıklara sebep olmaktadır (13).

## **Peynir**

Peynir, BA üretimi için ideal bir ortam oluşturmaktadır (7, 14, 15). Bunların miktar ve tipini belirleyen ana faktörler, peynirin proteolizine bağlı olarak BA üretimine uygun amino asitlerin ve amino asitleri dekarboksile edebilen bakterilerin varlığıdır (16). pH, tuz konsantrasyonu, kullanılabilir su miktarı, sıcaklık, olgunlaşma ve depolama süresi, bakteri yoğunluğu, kofaktörlerin ve amin metabolizmasının varlığı gibi faktörler de BA üretimi üzerinde etkilidir (1, 7, 14, 17-20). Edwards ve Sandine' e (7) göre peynirin pH'sı amin

üretimine uygundur. Peynir çeşit ve olgunluğuna bağlı olarak pH, 5.0-6.5 arasında değişir. Peynirlerde amino asit dekarboksilaz aktivitesi için ihtiyaç duyulan piridoksal fosfat bol miktarda bulunmaktadır. Bu bulguların yanı sıra mono ve diamin oksidaz aktivitesi ile gerçekleşen BA katabolizmasına bazı peynirlerde rastlanmamıştır (5).

Pek çok bakteriyel tür, peynirlerde BA oluşumu üzerinde etkili olabilmektedir. Sütte ve peynirde bulunan mikroorganizmalardan *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* ve *Micrococcaceae*, amino asit dekarboksile etme yeteneğine sahiptir (21). Laktik asit bakterileri, amino asit dekarboksilasyonu açısından daha düşük aktiviteye sahiptir. Ancak peynirin uzun süreli muhafazasında sayılarının artışı durumunda katkıları göz ardı edilmemelidir. *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* türlerinin BA oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (3, 5, 7, 22). Peynirlerde BA oluşumundan starter olmayan laktik asit bakterileri sorumlu tutulmakla birlikte (23, 24), bazı starter kültürlerin de bu ürünlerde yüksek düzeyde BA oluşturabildiği belirlenmiştir (24-28).

Çeşitli peynir tiplerinde yapılan çalışmalar sonucunda başlıca BA'lerin histamin, tiramin, putresin ve kadaverin olduğu görülmüştür (29-34). Fermente süt ürünleri arasında gıda zehirlenmesi vakaları başlıca peynirlerdeki histamin ve tiramin varlığından kaynaklanmaktadır (29, 35, 36). Peynirlerde az miktarda triptamin de belirlenmiştir (37).

Enterobakteriler, peynirlerde yüksek sayılarda bulduklarında yüksek derişimde kadaverin ve putresin üretmekte; diğer BA'lerle ilgili aktivite göstermemektedirler. Kadaverin konsantrasyonu ile *Enterobacteriaceae* sayısı arasındaki korelasyon nedeni ile bu BA, hijyenik peynir yapımı kalite indikatörü olarak kullanılabilir. Ancak diğer mikroorganizma grupları ile histamin ve tiramin gibi diğer aminler arasında korelasyon belirlenmemiştir (38). Peynirlerde laktobasil ve enterokokların dekarboksilasyon özellikleri, çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Bu mikroorganizmaların sayıca  $10^7$  kob/g' a ulaşması ve peynirlerin en azından 6 ay olgunlaştırılması durumunda yüksek konsantrasyonda histamin ve tiramin ürettikleri belirlenmiştir (39). *Lactobacillus buchneri* histidin dekarboksilasyonundan, *L. brevis*'in birçok suşu ise tirozin dekarboksilasyonundan sorumlu görünmektedir (36). İsveç tipi peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılan *L. helveticus* ve *L. lactis*'in suşları da az miktarda histamin üretmektedir.

## Et Ürünleri

Fermente et ürünlerinde BA oluşumu peynir çeşitlerine göre farklılık göstermektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda işlenmemiş başlangıç örneklerinde bulunan temel aminler spermin, spermidin ve diaminopropan olarak belirlenmiştir. Majjala ve ark. (40) kuru sosislerin olgunlaşması sırasında spermin ve spermidin içeriğinde bir artış belirlemiştir; ancak bu artış su kaybına bağlanmıştır. Genellikle sosis fermantasyonu sırasında poliamin oluşumu gözlenmemektedir (4, 41, 42). Fermente sosislerde spermin ve spermidinin parçalanma ürünü olan diaminopropan varlığı ile ilgili bilgi ise sınırlıdır. Et ve et ürünlerinde bulunan poliaminlerin mikroorganizmaların enzimatik dekarboksilasyonu ile ilgili olmadığını gösteren bulgular mevcuttur. Bu nedenle poliaminlerin fizyolojik mikrobileşenler olarak hammaddede bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Olgunlaşma sırasında tiramin, kadaverin ve putresin oluşmaktadır. Olgunlaşma periyodu boyunca BA düzeylerinde kademeli bir artış meydana gelmektedir. İlave bir sağlık riski ise BA'lerin nitroso bileşiklerinin öncül maddesi olmasıdır. Diaminlerden putresin ve kadaverin nitritle reaksiyona girerek nitrosoprolidin ve nitrosopiperidin gibi heterosiklik karsinojenik nitrosaminleri oluşturur.

Et ürünlerinin üretimi ve depolanması sırasında BA üretimini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Et ürünlerinin üretiminde doğal mikrobiyel flora, BA üretiminde önemli rol oynadığından hammaddenin kalitesi en önemli özelliklerden biridir. Fermantasyon sırasında mikrobiyel gruplar çeşitli ürünler oluşturmaktadır. Bu nedenle BA içeriğindeki çeşitlilik mikrofloradaki çeşitlilikten kaynaklanır. *Proteus morganii*, *P. vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Achromobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Escherichia* ve *Vibrio* grubu bakteriler, amino asitleri aminlere dekarboksile etmektedir (42). Hijyenik kalitedeki hammaddenin kullanımına ilave olarak uygun starter kültürlerin kullanılması, BA oluşumunu engellemek açısından etkili olabilmektedir. Fermente et ürünleri, son ürün kalitesini geliştirmek ve stabilize etmek amacıyla çoğunlukla starter kültür ilavesi ile üretilmektedir.

Starterler, genellikle mikrokok, koagulaz negatif stafilokok, pediyokok ve laktobasilleri içermektedir. Laktik asit bakterileri, starter kültürlerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Bu kültürler, laktik asit üretimi yoluyla pH da düşüş sağlamakta ve koruyucu etki yapmaktadır. Ancak laktik asit bakterileri BA de oluşturabilmektedir. Fermente et ürünleri üretiminde starter kültür olarak kullanılan bakteriler arasında Micrococcaceae familyasının üyelerinden olan *Staphylococcus carnosus* ve *Staph. xylosus* da yer almaktadır. *Staph. carnosus* ve *Staph. xylosus*'un *in vitro* tiramin üretimlerine rağmen güvenilir starter kültürler olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (43). Ancak Straub ve ark. (21) *Staph. carnosus*'un BA oluşturmasının üründe risk yaratabileceğini, buna karşılık *Staph. xylosus* açısından risk bulunmadığını ileri sürmüştür. *Staph. carnosus*'un tiramin ve  $\beta$ -feniletilamin oluşturması, sosiste kontaminant olarak bulunan laktik asit bakterileri tarafından engellenememektedir (44).

Laktik asit bakterilerinin et ürünlerinde amin üretiminden sorumlu olduğu belirtilmekle birlikte, sosis fermantasyonu sırasında BA oluşumu, starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanılmasıyla engellenebilmektedir (45). Benzer bulgular, geleneksel ürünlerimizden sucuklarda yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. *L. sake*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staph. carnosus* ve *Staph. xylosus*'u içeren starter kültürlerin sucuk olgunlaşması sırasında BA oluşumuna etkilerinin incelendiği çalışmada RP-HPLC ile 8 farklı BA'in tayini yapılmıştır. 4<sup>0</sup>C'de depolanan kontrol örneklerinde putresin ve tiramin belirlenirken starter kültürle üretilen sucuklarda putresin oluşumu önlenmiş, ancak starter kültür tiramin oluşumu üzerinde etkili olmamıştır (46).

## Balık

Balık ve balık ürünlerinde iki BA, histamin ve tiramin indikatör olarak kullanılmaktadır (46). Histamin zehirlenmeleri, A.B.D'nde deniz ürünlerinin tüketilmesi ile meydana gelen en önemli üç hastalık arasında yer almaktadır (47). Histamin zehirlenmelerinde etkili olan balıklar Scombridae, Scomberesocidae, Pomatomidae, Coryhaemidae, Corangidae, Clupeidae ve Engraulidae familyalarındandır. Istiopheridae familyasından çeşitli kılıçbalığı

türleri de (black marlin ve striped marlin) Japonya ve A.B.D.'nde scombroid zehirlenmelerine yol açmıştır. Tayvan'da scombroid zehirlenmeleri tuna balığı, uskumru ve kılıçbalığı türlerinden (black marlin ve sailfish) kaynaklanmaktadır (48).

Scombroid balıklar, kaslarında yüksek düzeyde serbest histidin içermektedir. Histidin, bakteriyel gelişime uygun koşullarda histidin dekarboksilazın sentezlenmesi ile histamine dönüştürülmektedir. Yapılan ilk çalışmalarda *Enterobacteriaceae*'nin yanı sıra *Clostridium*, *Bacillus* ve *Lactobacillus* cinslerinden bazı bakterilerin histidini dekarboksile ettiği belirlenmiştir. *M. morgani*, *Enterobacter aerogenes*, *K. pneumoniae*, *K. planticola*, N-grup bakteriler, *Photobacterium phosphoreum* ve *P. histaminum* güçlü histidin dekarboksilaz aktivitesi göstermiştir. Histamin oluşturan diğer bakteriler arasında *Pseudomonas*, *Alteromonas putrefaciens*, *Vibrio alginolyticus*, *Staph. xylosus*, *Acinetobacter lowffi*, *Aeromonas hydrophila*, C-grup bakteriler, *Cedecea lapagei*, *C. neteri*, *Pleisomonas higelloides*, *Providencia* ve *Serratia*'nın farklı türleri de yer almaktadır.

Ancak histamin, zehirlenmeden sorumlu tek BA değildir. Bozulmuş balıklarda bulunan putresin ve kadaverin gibi diğer BA'ler bağırsaklarda histamini metabolize eden enzimleri inhibe ederek, histamin zehirlenmesini güçlendirmektedir. Balıklarda kadaverin, lizini dekarboksile eden bakterilerin faaliyeti sonucunda oluşmaktadır. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonodaceae*, *Vibrionaceae* familyalarından bazı bakteri türleri, ornitin dekarboksilaz ve/veya lizin dekarboksilaz enzimine sahiptir. İstavritten izole edilen *Photobacterium* da Möller besiyerinde lizin dekarboksilaz üretmiştir. Salamura ançuezden izole edilen 200 bakteri suşundan 55'inin kadaverin üretebildiği belirlenmiştir. Toplam mikrobiyel sayıdaki artışla BA düzeylerinin artışı arasında da bir korelasyon bulunmaktadır.

Taze ve konserve balıklarda putresin, kadaverin, histamin ve tiraminin konsantrasyonları nispeten düşük bulunmuştur. Oldukça az sayıda örnekte az miktarlarda histamin belirlenmiştir. Ancak tuzlanarak muhafaza edilen balıklar yüksek konsantrasyonlarda BA içermektedir. Özellikle uskumru ve sardalyada histamin düzeyleri toksik dozlara ulaşmaktadır (49).

Balıklarda BA içeriği üzerine depolama koşullarının da önemli etkisi bulunmaktadır. Deniz balıklarının normal mikrobiyel florasını oluşturan psikrofilik halofiller 2.5°C gibi düşük sıcaklıklarda dahi yüksek düzeyde histamin oluşturabilmektedir. Düşük depolama sıcaklıklarının histamin gibi toksik aminlerin oluşumunu inhibe ettiğini belirtmesine rağmen, balıkların şoklanarak -18 ve -25°C'de depolanması dahi beklenen sonucu vermeyebilmektedir. Dondurularak depolanan Beyaz Tuna balığının 9 aylık depolama periyodundan sonra kadaverin ve histamin düzeylerinde (<5 ppm) önemli bir artış gözlenmezken, putresin düzeyleri artarak 60 ppm'e ulaşmıştır (50). Mietz ve Karmas (51) konserve tuna balığında putresin, kadaverin ve histamin düzeylerinde artış, spermin ve spermidinde azalış belirlemiştir.

## Şarap

Şaraplarda BA'ler şıradan, alkol fermantasyonu sırasında mayalardan, malolaktik fermantasyonu gerçekleştiren bakterilerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca şarapta bulaşma yoluyla bulunan *Klebsiella* ve *Proteus* gibi enterik bakteriler de BA oluşumuna yol

açabilmektedir. Hijyenik koşullarda üretilen şaraplarda ise BA düzeyleri çok düşüktür ya da BA bulunmaz (52).

Üzümdeki BA çeşitleri ve konsantrasyonları, *Botrytis cinerea*'dan etkilenmektedir. Macaristan Tokaj bölgesinde üretilen üzümde uygun koşullar altında bu küf gelişmekte ve farklı üzüm varyetelerinden aszu üzümünü oluşturmaktadır. Bu doğal işlem sırasında üzümün su içeriği düşerken, şeker, amino asit, BA içerikleri artmakta ve lezzet gelişmektedir (53).

Alkol fermantasyonundan sonra meydana gelen malolaktik fermantasyon, kırmızı şaraplarda ve bazı beyaz şaraplarda gereklidir. Bunun temel sonucu, malik asit dekarboksilasyonu yoluyla malik asidin giderilmesi ve ikincil mikrobiyel metabolizma ile duyusal kalitenin geliştirilmesidir. Ancak şaraplarda meydana gelen malolaktik fermantasyonla BA düzeyinin artışı bağlantılı bulunmuştur. Şarapta birkaç amino asit dekarboksile edilebilmektedir. Bunun sonucunda histamin, tiramin, putresin, kadaverin ve feniletilamin oluşmaktadır. Özellikle histamin, tiramin ve putresin şaraplarda en sık karşılaşılan BA'lerdir. Amin düzeyi, mikroflora ve alkol fermantasyonundan sonra şarabın amino asit bileşimi ile yakından ilişkilidir. Üzüm çeşidi ve asmanın beslenmesi şarabın bileşimi üzerinde etkili faktörlerdir. Maya metabolizması da bileşimi etkilemektedir. Ayrıca şaraplar, maya tortusu ile muhafaza edilirse laktik asit bakterileri, hidrolize ve dekarboksile etmek için daha fazla peptid ve serbest amino asit bulmaktadır. Bu durum, tortu ile uzun süre temasta kalan şaraplarda daha yüksek BA düzeylerine yol açmaktadır.

Histamin, şaraplarda en çok belirlenen BA olup, şarap üretiminin sanitasyon açısından uygun koşullarda yapılmadığının göstergesidir. Avrupa, Amerika ve Güney Afrika şaraplarında yapılan ilk çalışmalarda BA'lere kırmızı şaraplarda beyaz şaraplardan daha fazla miktarlarda rastlanmıştır (54). Yapılan çalışmalar sonucunda *Pediococcus* suşlarının histamin üretiminden sorumlu olduğu bulunmuştur. Malolaktik fermantasyonun gelişiminde rol oynayan *Oenococcus oeni*'nin BA üretimi olmadığı belirtilmekle birlikte, bu bakterinin bazı suşlarının histidini dekarboksile ettiği de belirlenmiştir (55). Şaraplarda tiramin üreten bakteriler arasında ise *L. brevis* ve *L. hilgardii*'nin suşları yer almaktadır. Tiramin üreten suşların feniletilamin de ürettiği belirlenmiştir. Şaraplardaki laktik asit bakterileri, üzümde ve şarap mahzenindeki ekipmanlardan köken almaktadır. Kontaminantlara karşı kültürlerin kullanılması sonucunda BA'ler parçalanarak zararsız ürünlere dönüştürülmektedir (56).

## **Bira**

Biralarda bulunan BA'lerin çeşitleri ve düzeyleri, hammadde, yapım tekniği ve mikrobiyel bulaşmalardan etkilenmektedir. Tiramin, putresin, spermin, spermidin ve agmatin arpada belirlenen BA'lerdir (57). Arpa çeşidinin BA içeriği üzerinde önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir (58). Bira hammaddelerinden şerbetçiotunda ise histamin, serotonin, triptamin ve kadaverin bulunmamaktadır. Ancak şerbetçiotunda tiramin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin ve poliaminler agmatin, spermin ve spermidin belirlenmiştir. Şerbetçiotundaki  $\beta$ -feniletilamin miktarı malta göre yaklaşık 10 kat daha fazladır. Şerbetçiotundaki poliaminlerin yüksekliği, bu maddelerin bitki metabolitleri olmaları veya şerbetçiotunun hatalı olarak işlenmesi ve depolanması sonucunda oluşmaları ile açıklanmaktadır (59). Ancak malt yapım koşulları, biranın BA içeriği üzerinde arpa çeşidi ve şerbetçiotundan

daha fazla etkili olmaktadır. Malt yapımı sırasında BA oluşumunun etkenleri, çimlenme sırasında arpadaki metabolik değişimler ve mikrobiyel bulaşmalardır.

Maltta yüksek düzeyde putresin, agmatin, spermin ve spermidin, düşük düzeylerde histamin, 2-feniletülamın, triptamin ve kadaverin bulunmaktadır. Biradaki histamin içeriği arpa ya da malttan köken almadığından, bira işleme sırasında hijyenik koşulların göstergesi olarak kabul edilebilir. Biradaki histamin düzeyi ile arpanın bakteri yükü ve kullanılan maya arasında korelasyon bulunmaktadır. Özellikle mayşeleme sırasında histamin konsantrasyonu artmaktadır. Mayşeleme ve mayşenin kaynatılması sırasında BA'ler oluşabildiği gibi bazı BA'lerin miktarında azalma meydana gelebilmektedir. Tiramin ve agmatin, mayşeleme sırasında oluşan BA'lerdir. Spermin ve spermidin başka bileşiklere dönüştüğünden mayşedeki miktarları azalmaktadır. Mayşedeki putresin, spermin ve spermidin arpadan köken almaktadır. Fermantasyonda mayşede bulunan histamin,  $\beta$ -feniletülamın, kadaverin, putresin ve agmatin düzeylerinde değişim meydana gelmemekle birlikte, tiramin ve triptamin oluşmuştur. Pirinç gibi katkı maddeleri ise mayşe ve biradaki BA düzeylerini azaltmak açısından yararlı bulunmaktadır. Bira mayası fermantasyon sırasında BA üretmediğinden (60) biralardaki BA'lerin hammadde ve/veya bira yapımı sırasında meydana gelen bulaşmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

İncelenen 195 adet Avrupa birasında agmatin ve putresin bulunmuştur. Agmatin baskın BA ( $10,5 \pm 5,8$  mg/L) olarak belirlenirken, putresin düzeylerinde ( $4,8 \pm 2,3$  mg/L) hafif değişiklikler meydana gelmiştir. Spermin, spermidin, triptamin ve  $\beta$ -feniletülamın  $<2$  mg/L düzeyindedir. Bazı biralarda histamin nispeten yüksek konsantrasyonlarda belirlenmekle birlikte, genellikle 0,5-1,1 mg/L düzeyindedir. Tiramin ve kadaverin tüm biralarda bulunmakla birlikte miktarlarında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kriek ve doğal fermantasyonla üretilen biralarda tiramin ve histamin düzeyleri oldukça yüksektir. Doğal fermantasyon biralarda pH ile tiramin, histamin ve kadaverin arasındaki ilişki önemli bulunmuştur (61).

Brezilya biralalarının BA'ler açısından incelenmesi sonucunda da benzer bulgular elde edilmiştir. İncelenen 91 bira örneğinde putresin, agmatin ve tiramin baskın BA'ler olarak belirlenirken, bunları histamin, tiramin, spermin ve  $\beta$ -feniletülamın izlemiştir. Ortalama amin düzeyi 19,3 mg/L'dir. Biralaların toplam BA içeriğine en fazla katkıda bulunan agmatini (%40-56), putresin (%13-42) ve tiramin (7-28) izlemiştir. Hammaddeden kaynaklanan BA (putresin, agmatin) düzeylerine kıyasla bira yapımı sırasında oluşan BA (triptamin,  $\beta$ -feniletülamın, tiramin) düzeylerinde daha fazla dalgalanma belirlenmiştir. Farklı bira tiplerinde putresin, histamin, spermidin,  $\beta$ -feniletülamın ve spermin düzeyleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Stout'ta diğer biralara göre tiramin ve triptamin düzeyleri daha yüksektir (57).

Alt fermantasyonla üretilen farklı tipteki Çek biralalarının incelendiği çalışmada ise 1,08 mg/L histamin, 1,46 mg/L triptamin, 5,19 mg/L tiramin, 7,06 mg/L putresin ve 12,3 mg/L kadaverin belirlenmiştir. Bira çeşitleri ve BA konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. BA oluşumunun, ilk fermantasyon sırasında gerçekleştiği belirlenmiştir (62).

Izquierdo-Pulido ve ark. (59) İsveç, Danimarka ve Fransa'da üretilen biralarda 4,7, 15 ve 20 mg/L gibi yüksek konsantrasyonlarda histamin belirlemiştir. Farklı kökenli biralarda 11 mg/L düzeyinde tiramin de bulunmuştur. İncelenen biralarda, putresin ve kadaverin

düzeyleri genellikle düşüktür. Agmatin, putresin ve tiramin 0,55-67,60 mg/L düzeyindedir. Histamin, triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, kadaverin, spermin ve spermidin 2 mg/L'den daha düşük düzeylerde olduğu bildirilirken, bazı Avrupa biralalarında nispeten yüksek konsantrasyonlarda histamin ve kadaverin belirlenmiştir.

## **Fermente Sebzeler**

Fermente sebzeler, BA'lerin izole edildiği diğer bir gıda grubudur. Fermente et ve süt ürünlerinin üretiminde doğal fermantasyonlar yerini starter kültür kullanımına bırakmıştır. Ancak turşu ve sauerkraut gibi fermente sebze ürünlerinin üretiminde doğal fermantasyonlardan yaygın olarak faydalanılmaktadır.

Lahana fermantasyonu sırasında pH düşüş hızı ve sauerkrautun BA içeriği, uygulanan starter kültürden etkilenmektedir. Fermantasyon sıcaklığı ve tuz konsantrasyonu da işlem üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Starter kültür seçiminde histamin ve toplam BA düzeyleri dikkate alınmalıdır.

Sauerkrauttaki başlıca BA'ler histamin, tiramin, putresin ve kadaverindir.  $\beta$ -feniletilamin çok az miktarda bulunmaktadır. Ticari sauerkrauttan alınan örnekler, önemli ölçüde BA (540 mg/kg) içermektedir (63).

Taylor ve ark. (64) satışa sunulan sauerkraut örneklerinde ortalama histamin düzeyini 51 mg/kg olarak belirlemiştir. Sauerkraut fermantasyonunun başlangıç safhalarında önemli miktarda putresin (150 mg/kg) oluşmakta, buna paralel olarak arjinin konsantrasyonu düşmektedir. Histamin ve tiramin, fermantasyonun son aşamasında oluşmaktadır. Histamin düzeyi düşük olan sauerkraut üretimi, fermantasyon süresi kısaltılarak gerçekleştirilebilmektedir.

Çek, Avusturyalı üreticilerin ürettiği, ev yapımı olan ve kavanozda salamura ile sterilize edilen 4 çeşit sauerkrauttan alınan 121 örnekte BA düzeyleri belirlenmiştir. Tiramin ortalama olarak 174 mg/kg, putresin 146 mg/kg, kadaverin 50 mg/kg düzeyinde bulunmuştur. Ancak örnekler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Evde yapılmış sauerkrautta BA düzeyleri en düşüktür. Histamin düzeyleri örneklerin % 44'ünde 2 mg/kg'ın altında, örneklerin % 19'unda ise 10 mg/kg'ın üzerindedir. Triptamin, spermidin ve özellikle spermin düzeyleri azdır. Sauerkraut kalite parametreleri ve BA içerikleri arasında önemli bir korelasyon belirlenmemiştir (65).

Farklı tuz konsantrasyonlarında ve sitrik asit katılarak üretilen lahana turşularında fermantasyonun 5, 12 ve 19. günlerinde BA'ler incelenmiştir. Lahanada sadece 71,5 mg/kg düzeyinde putresin belirlenmiş olmasına karşılık, % 6, 8, 10 tuz içeren salamurada sitrik asit katkılı örneklerde toplam BA içeriği (putresin, kadaverin, triptamin, spermin, spermidin, histamin, tiramin ve agmatin) sırasıyla 14,03, 16,68, 19,60 mg/kg, sitrik asit katılmayanlarda 39,97, 29,50, 43,92 mg/kg olarak belirlenmiştir. Sitrik asit katkısı, BA içeriklerinin azalmasını sağlamıştır. Elde edilen diğer bir bulgu ise laktik asit bakterilerinin sayısındaki artış ile BA oluşumu arasında ilişki olduğu, laktik asit bakterisi sayısındaki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Enterobacteriaceae ve halofilik bakteri sayıları ile BA oluşumu arasında benzer bir ilişki ortaya konamamıştır. Ancak 19. gün örneklerinde BA değerlerinde düşüş meydana gelmiştir (66).

## Sonuç

BA'ler, özellikle olgunlaştırma ve fermantasyon işlemleri ile üretilen çeşitli gıdalarda ve içeceklerde bulunmaktadır. BA oluşumu çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Doğal mikrofloradaki çeşitlilik ve kontrolsüz koşullarda gerçekleşen fermantasyon BA düzeylerinde ve bileşiminde farklılıklara sebep olmaktadır. Hammaddede doğal olarak bulunan mikrofloranın yanı sıra kontaminantlar ve hatta ürün kalitesini geliştirmek amacıyla kullanılan starter kültürler BA'leri oluşturabilmektedir. Bu nedenle, BA içermeyen sağlıklı ürünlerin üretimi için kaliteli hammadde seçimi, işlem hattında etkili sanitasyonun sağlanması ve BA üretmeyen suşların starter kültür olarak kullanılması alınması gereken tedbirlerdendir.

## Kaynaklar

1. Rice, S. L., Eitenmiller, R. R., Koehler, P. E. 1976. Biologically active amines in food: a review. J. Milk Food Technol., 39: 353-358.
2. Izoquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M. C., Marine-Font, A. 1993. Determination of biogenic amines in beers and their raw material by ion-pair liquid chromatography with postcolumn derivatization. J. AOAC Int., 76(5): 1027-1032.
3. Halasz, A., Barath, A., Simon Sarkadi, L., Holzapfel, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci. Technol., 51: 42-49.
4. Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M. C. 1999. Effect of proteolytic starter cultures of *Staphylococcus* spp. on biogenic amine formation during the ripening of dry fermented sausages. Int. J. Food Microbiol., 46:95-104.
5. Voigt, M. N., Eitenmiller, R. R. 1977. Production of tyrosine and histidine decarboxylase by dairy-related bacteria. J. Food Prot., 40(4): 241-245.
6. Bodmer, S., Imark, C., Kneubühl, M. 1999. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. Inflamm. Res., 48: 296-300.
7. Edwards, R. A., Sandine, W. E. 1981. Public health significance of amines in cheese. J. Dairy Sci., 64: 2431-2438.
8. Joosten, H.M. L. J. 1988. The biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. Neth.Milk Dairy J., 42: 25-42.
9. Oliveria, C. P., Gloria, M. B. A., Barbour, J. F., Scanlan, R. A. 1995. Nitrate, nitrit and volatile nitrosamines in whey-containing food products. J. Agric. Food Chem., 43: 967-969.
10. Eitenmiller, R. R., Koehler, P. E., Reagan, P. E. 1981. Tyramine in fermented sausages: factors effecting formation of tyrosine and tyrosine decarboxylase. J. Food Sci., 43: 689-693.
11. Maijala, R. 1994. Histamine and tyramine production by a *Lactobacillus* strain subjected to external pH decrease. J. Food Prot., 57: 259-262.
12. Lonvaud-Funel, A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Lett., 199: 9-13.
13. Kalač, P., Špička, J., Křížek, M., Steidlová, Š., Pelikánová, T. 2000. Changes in biogenic amine concentrations during sauerkraut storage. Food Chem., 69:309-314.
14. Chang, S. F., Ayres, J. W., Sandine, W. E. 1985. Analysis of cheese for histamine, tyramine, tyryptamine, histidine, tyrosine and tryptophan. J. Dairy Sci., 68: 2840-2846.
15. Joosten, H. M. L. J. 1987. Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3. Factors influencing the amounts formed. Neth.Milk Dairy J., 41:329-345.

16. Van Boekel, M. A. J. S., Arentsen-Stasse, A. P. 1987. Determination of aromatic biogenic amines and their precursors in cheese by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 389: 267-272.
17. Stratton, J. E., Hutkins, R. W., Sumner, S. S., Taylor, S. L. 1992. Histamine and histamine-producing bacteria in retail Swiss and low salt cheeses. *J. Food Prot.*, 55: 435-439.
18. Darwish, S. M. 1993. Development of biogenic amines in Hungarian hard cheese during ripening. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 21: 313-319.
19. Abd Alla, E. A. M., El-Shafei, I., Ibrahim, G. A., Sharaf, O. M. 1996. Changes in microflora and biogenic amines of some market processed cheese during storage. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 24: 217-226.
20. Karahan, A. G., Öner, Z., Filiz, N. 2001. Farklı depolama süreçlerinde Beyaz peynirde meydana gelen biyogen amin değişimleri. 2. Ulusal Kromatografi Kongresi. 6-8 Haziran 2001, sayfa 316-326. *Kromatografik Yöntemler, Kırıkkale*. 326 Sayfa.
21. Straub, B. W., Kicherer, M., Schilcher, S. M., Hammes, W. P. 1995. The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Z. Lebensmittel. Unters. Forsch.*, 201: 79-82.
22. Stratton, J. E., Hutkins, R. W., Taylor, S. L. 1991. Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review , *J. Food Prot.*, 54(6): 460-470.
23. Joosten, H. M. L. J., Northolt, M. D. 1987. Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 2. Decarboxylative properties of non-starter bacteria. *Neth. Milk Dairy J.*, 41: 259- 280.
24. Durlu-Ozkaya, F., Alichanidis, E., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tunail, N. 1999. Determination of biogenic amine content of Beyaz cheese and biogenic amine production ability of some lactic acid bacteria, *Milchwissenschaft*, 54, 12, 680-682.
25. Voigt, M. N., Eitenmiller, R. R. 1978. Role of histidine and tyrosine decarboxylases and mono and diamine oxidases in amine build-up in cheese. *J. Food Prot.*, 41: 182-186.
26. Joosten, H. M. L. J., Stadhouders, J. 1987. Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 1: Decarboxylative properties of starter bacteria. *Neth.Milk Dairy J.*, 41:247-258.
27. Chander, H., Batish, V. H., Babu, S., Singh, R. S. 1989. Factors affecting amine production by a selected strain of *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Sci.*, 54: 940-942.
28. Fernandez-Garcia, E., Tomillo, J., Nunez, M. 1999. Effect of added proteinases and level of starter culture on the formation of biogenic amines in raw milk Manchego cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 52. 189- 196.
29. Joosten, H. M. L. J., Van Boekel, M. A. J. S. 1988. Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 4. A study of the kinetics of histamine formation in an infected Gouda cheese.. *Neth. Milk Dairy J.*, 42: 3-24.
30. Diaz-Cinco, M. E., Frajlo, O., Grajeda, P., Lazano-Taylor, J., Gonzales De Mejia, E. 1992. Microbial and chemical analysis of Chihuahua cheese and relationships to histamine and tyramine. *J. Food Sci.*, 57(2): 335-356.
31. Tawfik, N.F., Shalaby, A.R., Effat, B.A. 1992. Biogenic amines contents of Ras cheese and incidence of their bacterial procedures. *Egypt. J. Dairy Sci.*, 20, 219- 225.
32. Vale, S., Gloria, B. A. 1998. Biogenic amines in Brazilian cheeses. *Food Chem.*, 63(3): 343-348.
33. Kebary, K. M. K., El-Sonbaty, A. H., Badawi, R. M. 1999. Effects of heating milk and accelarating ripening of low fat Ras cheese on biogenic amines and free amino acid development. *Food Chem.*, 64: 67-75.

34. Valsamaki, K., Michaelidou, A., Polychronidaou, A. 2000. Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem.*, 71: 259-266.
35. Taylor, S. L., Keefe, T. J., Windham, E. S., Howell, J. F. 1982. Outbreak of histamine poisoning associated with consumption of Swiss cheese. *J. Food Prot.*, 45: 455-457.
36. Sumner, S. S., Speckhard, M. W., Somers, E. B., Taylor, S. L. 1985. Isolation of histamine producing *Lactobacillus buchneri* from Swiss cheese implicated in a food poisoning outbreak. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50: 1094-1096.
37. Voigt, M. N., Eitenmiller, R. R., Koehler, P. E. 1974. Tyramine, histamine and tryptamine content of cheese. *J. Milk Food Technol.*, 37: 377-381.
38. Marino, M., Maifreni, M., Moret, S., Rondinini, G., 2000. The capacity of Enterobacteriaceae species to produce biogenic amines in cheese. *Lett. Appl. Microbiol.*, 31: 169-173.
39. Joosten, H. M. L. J., Northolt, M. D. 1989. Detection, growth, and amine producing capacity of lactobacilli in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 2356-2359.
40. Maijala, R., Eerola, S., Lievonen, S., Hill, P., Hirvi, T. 1995. Formation of biogenic amines during ripening of dry sausages as affected by starter culture and thawing time of raw materials. *J. Food Sci.*, 60(6): 1187-1190.
41. Hernández-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogués, M. T., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M. C. 1997. Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 2098-2102.
42. Durlu-Ozkaya, F., Ayhan, K., Vural, N. 2001. Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products. *Meat Sci.*, 58: 163-166.
43. Masson, F., Talon, R., Montel, M. C. 1996. Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 32: 199-207.
44. Maijala, R., Nunm, E., Fisher, A. 1995a. Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages. *Meat Sci.*, 39: 9-22.
45. Bover-Cid, S., Izoquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M. C. 2001. Effect of interaction between a low tyramine producing *Lactobacillus* and proteolytic staphylococci on biogenic amine production during ripening and storage of dry sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 65: 113-123.
46. Ayhan, K., Kolsarıcı, N., Alsancak-Ozkan, G. 1999. The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soudjouks. *Meat Sci.*, 53: 183-188.
47. Ben-Gigirey, B., De Sousa, J. M. V. B., Villa, T. G., Barros-Velazquez, J. 1999. Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore (*Thunnus alalunga*). *J. Food Prot.*, 62(8): 933-939.
48. Hwang, D.F., Chang, S. H., Shiau, C. Y., Cheng, C. C. 1995. Biogenic amines in the flesh of sailfish (*Istiophorus platypterus*) responsible for scombroid poisoning. *J. Food Sci.*, 60(5): 926-928.
49. Shakila, R. J., Vasundhara, T. S., Kumudavally, K. V. 2001. A comparison of the TLC-densitometry and HPLC method for the determination of biogenic amines in fish and fishery products. *Food Chem.*, 75: 255-259.
50. Ben-Gigirey, B., De Sousa, J. M. V. B., Villa, T. G., Barros-Velazquez, J. 1998. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J. Food Prot.*, 61(5): 608-615.
51. Mietz, J. L., Karmas, E. 1977. Chemical quality of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography. *J. Food Sci.*, 42: 155-158.
52. Vidal-Carou, M. C., Espunyes, A. A., Ulla-Ulla, M. C., Marine-Font, A. 1990. Histamine and tyramine in Spanish wines: their formation during the winemaking process. *Am. J. Enol. Vitic.*, 41(2): 160-167.

53. Hajos, G., Sass-Kiss, A., Szerdahelyi, E., Bardocz, S. 2000. Changes in biogenic amine content of Tokaj grapes, wines and aszu-wines. *Food Chem. Toxicol.*, 65(7): 1142-1144.
54. Denli, Y., Anlı, E. 1998. Şarap ve birada biyogen aminlerin önemi. *Gıda*, 23(5): 323-327.
55. Lonvaud-Funel, A., Joyeux, A. 1994. Histamine producing production by wine lactic acid bacteria: isolation of a histamine producing strain of *Leuconostoc oenos*. *J. Appl. Bacteriol.*, 77(4): 401-407.
56. Leucher, R., Heidel, M., Hammes, W. P. 1998. Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 39: 1-10.
57. Gloria, M. B. A, Izoquierdo-Pulido, M. 1999. Levels and significance of biogenic amines in Brazilian beers. *J. Food Comp. Analysis.*, 12: 129-136.
58. Halasz, A., Barath, A., Holzapfel, W. H. 1999. The biogenic amine content of beer; the effect of barley, malting and brewing on maine concentration. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, 5-6: 418-423.
59. Izoquierdo-Pulido, M., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M. C. 1994. Biogenic amine formation during malting and brewing. *J. Food Sci.*, 59: 1104-1107.
60. Izoquierdo-Pulido, M., Font-Fabregas, J., Vidal-Carou, M. C. 1995. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum* on histamine and tyramine formation during beer fermentation. *Food Chem.*, 54: 51-54.
61. Izoquierdo-Pulido, M., Hernandez-Jover, T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, C. 1996. Biogenic amines in European beers. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 3159-3163.
62. Kalač, P., Hlavata, V., Krizek, M. 1996. Concentrations of five biogenic amines in Czech beers and factors affecting their formation. *Food Chem.*, 58(3): 290-214.
63. Halasz, A., Barath, A., Holzapfel, W. 1999a. The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 208: 434-438.
64. Taylor, S. L., Guthertz, L. S., Leatherwood, M., Tilmann, F., Lieber, E. R. 1978. Histamine production be foodborne bacterial species. *J. Food Safety*, 1: 173-187.
65. Kalač, P., Špička, J., Křížek, M., Steidlová, Š., Pelikánová, T. 1999. Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. *Food Chem.*, 67: 275-280.
66. Yücel, U., Üren, A., Turantaş, F. 2001. Lahana turşularında biyogen aminler: sitrik asit ve tuz konsantrasyonlarının etkisi. XII. Biyoteknoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, 17-21 Eylül 2001, Ayvalık/Balıkesir.