

Badania nad występowaniem histaminy w konserwach rybnych

MARZENA PAWUL-GRUBA, MIROSŁAW MICHALSKI, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Państwowy Instytut Weterynaryjny
– Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 02.12.2014

Zaakceptowano 09.12.2014

Pawul-Gruba M., Michalski M., Osek J.

Studies on occurrence of histamine in canned fish

Summary

Histamine is a product of the bacterial decarboxylation of the amino acid histidine, which occurs in fish tissues. The aim of the study was to determine the content of histamine in different canned fish (n = 80). The high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) method was used. Histamine was detected in 17 out of 80 (21.3%) of the canned fish samples. The highest concentration of this biogenic amine was found in “herring in oil” (182.1 mg/kg). In the remaining canned fish the histamine level was between <LOQ to 39.3 mg/kg. The tested canned fish fulfilled the food safety criteria of Commission Regulation (EC) No 2073/2005.

Keywords: histamine, canned fish, HPLC-DAD

W 2013 r. średnie spożycie ryb, przetworów rybnych i owoców morza w Polsce wyniosło 12,6 kg na jednego mieszkańca (12). Zwiększająca się konsumpcja ryb w Polsce jest korzystna ze względu na ich walory odżywcze, ale równocześnie zwiększa ryzyko zatrucia histaminą. Ryby i przetwory rybne zawierają znaczne ilości aminokwasu histydyny, który przy udziale enzymów pochodzenia bakteryjnego ulega dekarboksylacji do histaminy. Gatunki bakterii wytwarzające enzym dekarboksylazę histydynową, który powoduje powstawanie histaminy, to przede wszystkim: *Morganella morganii*, *Photobacterium damsela*, *Photobacterium phosphoreum*, *Raoultella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* oraz *Vibrio* spp. (4, 6, 9).

W organizmie człowieka histamina pełni wiele ważnych funkcji, jednak po przyjęciu większych ilości wraz z żywnością może powodować toksyczne zatrucie. Dotyczy to przede wszystkim spożycia ryb o ciemnym mięsie, z rodzin makrełowatych (*Scombridae*), śledziowatych (*Clupeidae*), sardelowatych (*Engraulidae*), koryfenowatych (*Coryfenidae*) i tasergalowatych (*Pomatomidae*), które w tkance mięśniowej zawierają duże ilości histydyny (8, 16). Efektem zatrucia histaminą (Scombrototoxic Fish Poisoning) mogą być: wysypka na twarzy, szyi i górnej części klatki piersiowej, ból głowy, ostry i piekący smak w ustach, wymioty, biegunka, spadek ciśnienia krwi oraz zaburzenia oddychania i krążenia (7, 11, 15).

Histamina jest aminą biogenną wykazującą dużą termostabilność. Nie ulega rozkładowi podczas obróbki cieplnej (gotowanie, smażenie, pieczenie, sterylizacja w czasie produkcji konserw) oraz w trakcie przechowywania ryb i produktów rybnych w niskich temperaturach. Histamina pełni też rolę wskaźnika świeżości i przydatności do spożycia ryb (9).

Według danych Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), ryby i przetwory rybne w 2012 r. były przyczyną 70 zatrucia żywnościowych o charakterze epidemicznym, z czego 34 przypadki (48,6%) były wywołane przez histaminę (5). Może to wskazywać, że ta amina biogenna stanowi realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów spożywających ten rodzaj żywności. Biorąc to pod uwagę, Komisja Europejska rozporządzeniem nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych (14) wprowadziła limity co do zawartości histaminy w produktach rybołówstwa, u wszystkich gatunków ryb o podwyższonym poziomie histydyny.

Celem obecnych badań było określenie zawartości histaminy w różnego rodzaju konserwach rybnych oraz ewentualna ocena stopnia zagrożenia zdrowia konsumentów związana z ich spożyciem.

Materiał i metody

Do badań użyto 80 konserw rybnych pochodzących z handlu, nabywanych w okresie od marca 2013 do października 2014 r. Zawierały one ryby z następujących

gatunków: makrela (*Scomber scombrus*), śledź (*Clupea harengus*), szprot (*Sprattus sprattus*), sardynka (*Sardina pilchardus*), tuńczyk (*Thunnus thynnus*), flądra (*Platichthys flesus*) oraz łosoś (*Salmo salar*) (tab. 1). Po dostarczeniu do laboratorium konserwy do chwili rozpoczęcia badań przechowywane były w temperaturze 2-8°C.

Zawartość histaminy oznaczano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (HPLC-DAD) wg procedury opisanej poprzednio (13). W metodzie tej histaminę wyekstrahowano z badanych próbek kwasem trójchlorooctowym (TCA) oraz oczyszczono, używając jonowymiennych kolumnienek SPE (Phenomenex). Następnie próbki poddano chromatograficznemu rozdzielaniu w odwróconym układzie faz na kolumnie typu C18 (Agela Technologies), przy długości fali $\lambda = 215$ nm (1, 3, 10, 13). Granica oznaczalności metody wyznaczona w procesie walidacji, wyniosła 3,3 mg/kg, natomiast jej zakres 3,6-420 mg/kg.

Wyniki i omówienie

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono obecność histaminy w 17 spośród 80 (21,3%) próbek, a jej zawartość mieściła się w zakresie od 3,6 do 182,1 mg/kg. Największą ilość histaminy (182,1 mg/kg) stwierdzono w konserwie typu „śledź w oleju”. W pozostałych 16 próbkach dodatnich stężenie histaminy mieściło się w zakresie od 3,6 do 39,3 mg/kg. W innych zbadanych konserwach rybnych (63 próbki; 78,8%) nie stwierdzono histaminy powyżej granicy oznaczalności metody (3,3 mg/kg) (tab. 1). Można przypuszczać, że wysoka zawartość histaminy (182,1 mg/kg) w konserwie wyprodukowanej ze śledzi wytworzyła się jeszcze w surowcu przeznaczonym do jej produkcji,

np. na skutek nieprzestrzegania podstawowych zasad higieny podczas poszczególnych etapów procesu lub użyciu do produkcji ryb o niewłaściwej jakości mikrobiologicznej, zawierających termostabilną histaminę.

Podobne badania metodą chromatografii cieczowej zostały przeprowadzone w Grecji, gdzie poziom histaminy w konserwach rybnych mieścił się w zakresie 20-50 mg/kg (22). Produkty te były wytworzone ze śledzi, sardynek i tuńczyków. W Omanie przebadano 290 konserw rybnych, z czego 78,9% zawierało histaminę w zakresie 1-22,9 mg/kg. Najwyższe stężenia stwierdzono w produktach wytworzonych z bonito (22,9 mg/kg) oraz z sardynek (12,3 mg/kg) (23). Z kolei w Brazylii badania prowadzono na siedmiu różnych rodzajach konserw (łącznie 54 próbki) z tuńczyka, a histaminę wykryto w 46,3% próbek, w zakresie 0,45-83,73 mg/kg. Najwyższe stężenie stwierdzono w konserwie typu „tuńczyk w sosie pomidorowym” (17).

Informacje o zatruciach histaminą zgłaszane są do europejskiego systemu wczesnego ostrzegania o niebezpiecznej żywności i paszach (RASFF). W latach 2010-2013 odnotowano, odpowiednio, 8, 3, 9 i 10 ognisk zatruc pokarmowych, gdzie łącznie hospitalizowano 156 osób. Najczęstszą przyczyną zgłaszanych intoksykacji było spożycie tuńczyka. Stężenia histaminy w rybach i produktach rybnych znacznie przekroczyły dopuszczalne limity określone w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 (14), osiągając od 1,9 g/kg (filet z tuńczyka) do 5,3 g/kg (stek z tuńczyka) w 2012 r. (18-21).

Ze względu na toksyczne właściwości histaminy ważne jest, by żywność zawierała jej jak najmniejsze stężenia, nie przekraczające limitów ustalonych prawnie w kryteriach mikrobiologicznych (14). Istotne w zapobieganiu namnażaniu się bakterii powodujących powstawanie histaminy jest utrzymywanie właściwego poziomu higieny produkcji oraz przestrzeganie czasu i niskiej temperatury w czasie transportu, rozładunku i magazynowania surowych ryb (około 0°C). Dotyczy to również etapów przetwarzania i dystrybucji, zarówno ryb, jak i produktów rybnych. W celu zapewnienia prawidłowej jakości ryb wskazane jest monitorowanie poziomu histaminy (1).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że konserwy rybne dostępne na naszym rynku spełniają kryteria bezpieczeństwa zawarte w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005 (14).

Tab. 1. Obecność histaminy w badanych konserwach rybnych

Rodzaj konserwy	Liczba konserw badanych/ zawierających histaminę	Zawartość histaminy (mg/kg)	
Śledź w oleju	9/1	182,1	
Filet z makreli w oleju	6/1	3,6-39,3	
Filet z makreli w sosie pomidorowym	8/1		
Szprot w oleju	6/2		
Szprot w sosie pomidorowym	7/1		
Sardynki w sosie pomidorowym	6/1		
Łosoś w oleju	3/1		
Przysmak z łososia w sosie pomidorowym	4/3		
Tuńczyk w kawałkach w sosie własnym	5/2		
Tuńczyk w kawałkach w oleju	5/3		
Tuńczyk sałatkowy z warzywami w sosie pomidorowym	1/1		
Śledź w sosie pomidorowym	4/0		< LOQ*
Śledź w sosie musztardowym	1/0		
Sardynki w oleju	6/0		
Sardynki w sosie paprykowym	1/0		
Łosoś w sosie własnym	3/0		
Łosoś w sosie greckim	2/0		
Flądra w sosie pomidorowym	3/0		

Objaśnienia: *LOQ – granica oznaczalności (3,3 mg/kg)

Piśmiennictwo

1. *Bodmer S., Imark C., Kneubühl M.*: Biogenic amines in food: Histamine and food processing. *Inflamm. Res.* 1999, 48, 296-300.
2. *Boekel M. A. J. S. Van, Arentsen-Stasse A. P.*: Determination of aromatic biogenic amines and their precursors in cheese by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 1987, 389, 267-272.
3. *Duflos G., Dervin C., Malle P., Bouquelet S.*: Relevance of matrix effect in determination of biogenic amines in plaice (*Pleuronectes platessa*) and whiting (*Merlangus merlangus*). *J. AOAC Int.* 1999, 82, 1097-1101.
4. *Economou V., Brett M., Papadopoulou C., Frillingos S., Nichols T.*: Changes in histamine and microbiological analyses in fresh and frozen tuna muscle during temperature abuse. *Food Additives Contam.* 2007, 24, 820-832.
5. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA J.* 2014, 12, 3547.
6. FAO/WHO Report: Joint FAO/WHO expert meeting on the public health risk of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products. 2012.
7. Fish and Fishery Products. Hazards and Controls Guidance. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, Fourth Edition, April 2011, 113-114.
8. *Hungerford J.*: Scombroid poisoning: A review. *Toxicon* 2010, 56, 231-243.
9. *Karovicova J., Kohajdova Z.*: Biogenic amines in food. *Chem. Pap.* 2005, 59, 70-79.
10. *Malle P., Valle M.*: Assay of biogenic amines involved in fish decomposition. *J. AOAC Int.* 1996, 79, 43-49.
11. *McLaughlin J., Little C. L., Grant K. A., Mithani V.*: Scombrototoxic fish poisoning. *J. Public Hlth.* 2005, 28, 61-62.
12. Morski Instytut Rybacki – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Ekonomiki Rybackiej: Morska gospodarka rybna w 2013 r. Gdynia 2014, s. 10-11.
13. *Pawul-Gruba M., Michalski M., Osek J.*: Determination of histamine in fresh and smoked fish commercially available in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 301-304.
14. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych, z późniejszymi zmianami. *Dz. U. L.* 338 z dnia 22.12.2005.
15. *Santos M.*: Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1996, 29, 213-231.
16. *Shalaby A. R.*: Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* 1996, 27, 765-690.
17. *Silva T. M., Sabaini P. S., Evangelista W. P., Gloria M. B. A.*: Occurrence of histamine in Brazilian fresh and canned tuna. *Food Contr.* 2011, 22, 323-327.
18. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2010. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg 2011.
19. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2011. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg 2012.
20. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2012. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg 2013.
21. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2013. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg 2014.
22. *Vosikis V., Papageoropoulou A., Economou V., Frillingos S., Papadopoulou C.*: Survey of the histamine content in fish samples randomly selected from the Greek retail market. *Food Additives Contam.* 2008, 1, 122-129.
23. *Yesudhason P., Al-Zidjali M., Al-Zidjali A., Al-Busaidi M., Al-Waili A., Al-Mazrooei N., Al-Habsi S.*: Histamine levels in commercially important fresh and processed fish of Oman with reference to international standards. *Food Chem.* 2013, 140, 777-783.

Adres autora: prof. dr hab. Jacek Osek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: josek@piwet.pulawy.pl