

Dr hab. inż. Barbara CZERNIEJEWSKA-SURMA

Mgr inż. Orina SURMA

Dr hab. inż. Jerzy BALEJKO, Prof. ZUT

Dr inż. Dominika PLUST

Dr inż. Edyta BALEJKO

Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ZAWARTOŚĆ HISTAMINY W TKANCE MIĘŚNIOWEJ RYB PODCZAS PRODUKCJI, DOJRZEWANIA I PRZECHOWYWANIA MARYNAT[®]

Celem artykułu jest przedstawienie wyników badań dotyczących zawartości histaminy w tkance mięśniowej śledzi bałtyckich podczas produkcji, dojrzewania i przechowywania marynat wyprodukowanych z ryb pochodzących z różnych okresów połowu. Stwierdzono wpływ czasu dojrzewania i przechowywania marynat ze śledzi bałtyckich na zawartość histaminy. Ponadto na szybkość tworzenia się histaminy w marynatach rybnych miał wpływ sezon połowu ryb użytych do ich produkcji. W badanych marynatach nie stwierdzono histaminy w ilościach przekraczających dopuszczalne granice.

WSTĘP

Aminy biogenne są prostymi zasadami organicznymi o niskiej masie cząsteczkowej, które powstają w organizmach żywych w wyniku dekarboksylacji aminokwasów lub aminacji i transaminacji ketonów i aldehydów przy udziale organizmów bakteryjnych [16].

Aminy biogenne występujące w żywności w niewielkich ilościach nie mają szkodliwego wpływu na zdrowie; są wręcz niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Spożywanie produktów spożywczych zawierających duże ilości tych związków może jednak wywołać efekty zatrucia pokarmowego [6, 17]. Ich negatywny wpływ na zdrowie człowieka sprawia, że produkty spożywcze powinny wykazywać minimalną zawartość amin biogennych, która powinna być monitorowana.

Jedną z ważniejszych amin biogennych jest histamina. W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie tą aminą, zarówno ze względów zdrowotnych, jak i technologicznych [4, 7].

Histamina jest obecna w znacznych ilościach szczególnie w rybach i produktach rybnych. Ryby zawierają w zależności od gatunku znaczące ilości wolnej histydyny, która w odpowiednich warunkach może przekształcić się w histaminę [1, 15]. Dlatego też ważne jest przestrzeganie zasad GMP, GHP i HACCP na każdym etapie wytwarzania produktu [5, 14].

Zgodnie z Rozporządzeniem Unii Europejskiej nr 1441/2007/EEC, średnie stężenie histaminy w 9 próbach z partii ryb surowych i konserw rybnych nie może przekraczać 100 mg·kg⁻¹; dwie próby mogą zawierać 100-200 mg·kg⁻¹; żadna z prób nie może zawierać więcej niż 200 mg·kg⁻¹ [15].

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Material

Surowcem do badań był śledź bałtycki (*Clupea harengus membrans* (L.)) odłowiony w Zatoce Pomorskiej w marcu, kwietniu

i czerwcu. Ryby były w różnym stadium dojrzałości gonad, wg skali Maiera – odpowiednio: V, VI-VII i stadium, sortymentu S, w stanie *rigor mortis*. Ryby dostarczono do PHP MAR-Fish w Szczecinie w stanie zalodowanym, zgodnie z BN-79-020-02 [2], gdzie wyprodukowano z nich marynaty. Każdorazowo dostarczano po 2 skrzynie, zawierające ok 25 kg ryb każda. Ryby zostały oprawione do postaci filetów i opłukane pod bieżącą wodą, a następnie pozostawione na tacach na około 15 minut w celu odcieknięcia. Filety pozbawiono skóry, a potem układano je w słojach w stosunku ryb do zalewy 1:1. Następnie zalewano zalewą składającą się z 10% octu, soli, cukru i wody w stosunku 10:1:0,15:1. Napełnione słoje zamykano wieczkami szklanymi i przechowywano w temperaturze 8 ± 2°C. Badano niepatroszone śledzie bałtyckie, filety ze śledzi bez skóry oraz produkty po 0,5; 1,5; 6,5 oraz 14,5 dobach dojrzewania.

Każdorazowo do badań pobierano ok. 2 kg śledzi, filetów i marynaty z 5 słoików. Próby do badań rozdrabniano w maszynce do mielenia, o średnicy oczek 3 mm. Farsz mieszano i pobierano do analiz po 200 g próbek.

Metody badań

W próbach oznaczano:

- zawartość histaminy metodą fluorymetryczną, wg PN-90-A-86786, Histaminę przez wyizolowanie z ekstraktu metanolowego na kolumnie wypełnionej wymiennicem jonowym, kondensację z aldehydem ortoftalowym i pomiar fluorescencji, przy długości fali wzbudzenia 350 nm i emisji 444 nm, na spektrofotometrze fluorescencyjnym, firmy Hitachi F-2000 [9].
- wartość pH metodą potencjometryczną używając pehametru, typ N-51170E, Telko-Polska.

Ponadto przeprowadzono analizę sensoryczną wg PN-ISO 4121:1998 [11], stosując następującą skalę ocen:

- 5 punktów – bardzo dobra,
- 4 punkty – dobra,

- 3 punkty – dostateczna,
- 2 punkty – zaledwie do przyjęcia,
- 1 punkt – nie do przyjęcia.

Analizę przeprowadził 6-7 osobowy zespół; u każdego z oceniających sprawdzono wrażliwość zmysłu smaku i zapachu wg PN-ISO 3972:1998 [10] i PN-ISO 5496:1997 [12].

Przeprowadzono analizę statystyczną wyników badań, która miała zweryfikować hipotezę, że czynniki biologiczne (sezon połowu) i zabiegi technologiczne mają wpływ na nagromadzenie się histaminy w marynatach wyprodukowanych ze śledzi bałtyckich. W tym celu obliczono istotność różnic pomiędzy poszczególnymi wariantami przeprowadzonych badań w oparciu o test Dun-cana przy poziomie istotności $p=0,05$. Ponadto przeprowadzono analizę korelacji Pe-arsona.

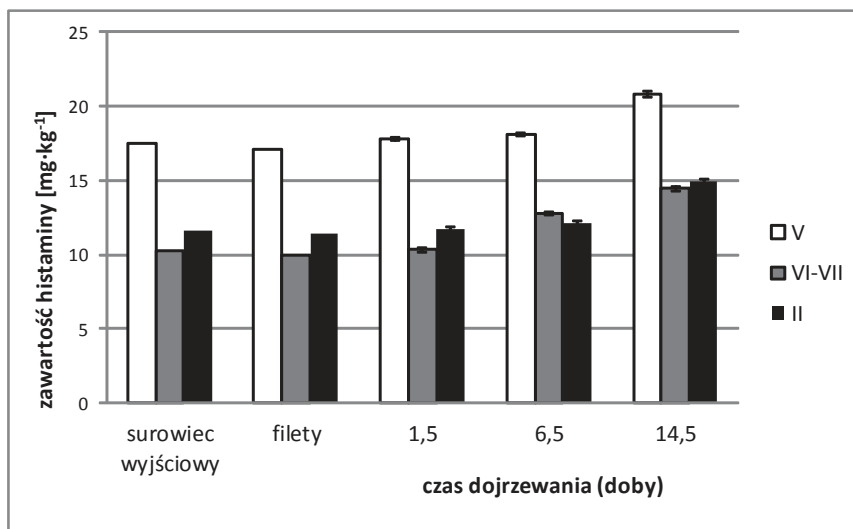
Do obliczeń wykorzystano program Statgraf 6,0 i MS Excel 97, który posłużył także do sporządzania wykresu.

WYNIKI I DISKUSJA

Wyniki badań dotyczące wpływu zabiegów technologicznych na kształtowanie się poziomu zawartości histaminy w marynatach rybnych ze śledzi bałtyckich przedstawiono na rysunku 1. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy próbą wyjściową, jaką stanowił niepatroszony śledź bałtycki, a filetami. Można zauważyć, że obróbka technologiczna nie wpłynęła na zawartość histaminy (rys. 1).

Stwierdzono wpływ czasu dojrzewania marynat rybnych na ilość histaminy. Przechowywanie filetów w kąpieli marynującej przez 1,5 doby spowodowało niewielki przyrost badanej aminy. Po 6,5 dobach dojrzewania, największy przyrost zawartości histaminy stwierdzono w marynatach wyprodukowanych z ryb odłowionych w kwietniu. Zawierały one prawie 5-krotnie więcej histaminy niż marynaty wyprodukowane z ryb odłowionych w marcu i czerwcu (rys.1).

Po 14,5 dobach przechowywania marynat rybnych zawartość histaminy wzrosła od około 30 do ok. 40% w porównaniu z jej zawartością w surowcu użytym do ich wyprodukowania. Różnice w zawartości histaminy związane były z sezonem połowu ryb użytych do produkcji marynat. Potwierdza to wielkość współczynnika kierunkowej prostej, który wyniósł dla marynat wyprodukowanych z ryb złowionych w marcu i czerwcu, odpowiednio 0,24 i 0,26; natomiast dla ryb z kwietnia -0,30. Badania przeprowadzone przez Yoguchi i współpracowników. (1990, 1990 a) wykazały, że zawartość histaminy w rybach jest związana z sezonowością pojawiania się drobnoustrojów odpowiedzialnych za rozkład histydy [19, 20].

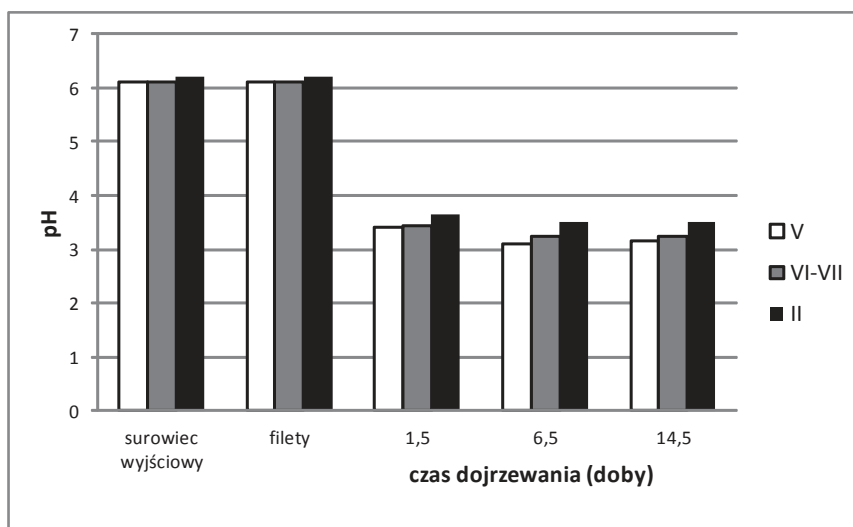


Rys. 1. Zawartość histaminy w tkance mięśniowej ryb podczas produkcji, dojrzewania i przechowywania marynat ze śledzi bałtyckich pochodzących z różnych okresów połowu (badane próby o takim samym stadium rozwoju gonad, oznaczone literami: a, b, c oraz badane próby z poszczególnych etapów procesu produkcyjnego oznaczone literami: A, B, C nie różnią się statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$, $n=3$).

Źródło: Badania własne

Uzyskane rezultaty badań nie potwierdzają wyników uzyskanych przez Ganowiaka i in. (1990), którzy stwierdzili 7-krotny wzrost zawartości histaminy w półprodukcie, jak i w wyrobach gotowych, w stosunku do surowca użytego do ich wyprodukowania [3]. Różnice wynikają prawdopodobnie z odmiennych warunków marynowania.

Wada i Koizumi (1986) twierdzą, że poziom histaminy podczas dojrzewania marynat wzrasta dzięki wpływowi czasu i temperatury na aktywność dekarboksylaz we wczesnych etapach dojrzewania produktu [18].



Rys. 2. Zmiany pH tkanki mięśniowej surowca, półproduktów i marynat rybnych.

Źródło: Badania własne

Zmiany pH tkanki mięśniowej były zróżnicowane pomiędzy poszczególnymi partiami ryb, pochodzących z różnych okresów połowu.

W początkowym okresie dojrzewania marynat rybnych największy spadek pH (o 3,15 jednostki) zaobserwowano w półproduktach z ryb z połowów czerwcowych (rys. 2). Towarzyszył temu najmniejszy przyrost ilości histaminy (rys. 1). Natomiast po 6,5 dobach dojrzewania marynat największy spadek pH tkanki mięśniowej ryb stwierdzono w marynatach pochodzących z ryb z połowów marcowych (prawie 2-krotny), a najmniejszy – z połowów czerwcowych. Po 14,5 dobach przechowywania marynat rybnych wielkość pH tkanki mięśniowej ryb była taka jak po 6,5 dobach (rys. 2). Wartości pH badanych marynat rybnych były niższe od uzyskanych przez Pawlikowskiego i Szulecką (2011), którzy w badanych marynatach wykazali pH na poziomie 4,1 – 4,2 [8].

Współczynniki korelacji między czasem dojrzewania marynat a wielkością pH dla marynat wyprodukowanych z ryb złowionych w marcu wynosiły: $r=-0,69$, przy $\alpha_{\max}=0,04$; w kwietniu: $r=-0,79$, przy $\alpha_{\max}=0,01$; w czerwcu: $r=0,79$, przy $\alpha_{\max}=0,01$.

Analiza sensoryczna (tab. 1) wykazała, że w miarę upływu czasu dojrzewania marynat ze śledzi bałtyckich następowała poprawa smakowitości, tekstury oraz pożądalności produktu.

W początkowym okresie dojrzewania filetów rybnych półprodukt charakteryzował się cechami typowymi dla ryby surowej. Po 6,5 dobach dojrzewania marynaty uzyskały najwyższą ocenę pod względem smakowitości oraz pożądalności, niezależnie od okresu połowu ryb. Po 14,5 dobach przechowywania w temperaturze chłodniczej marynaty rybne oceniono na 4,8-4,9 pkt. Wzrost zawartości histaminy nie miał wpływu na jakość sensoryczną marynat rybnych.

WNIOSKI

1. Stwierdzono wpływ czasu dojrzewania i przechowywania marynat ze śledzi bałtyckich na zawartość histaminy. Zawartość histaminy wzrastała w czasie dojrzewania i przechowywania marynat osiągając po 14,5 doby poziom wyższy o 30-40% od zawartości histaminy w surowcu.
2. Na szybkość tworzenia się histaminy w marynatach rybnych miał wpływ sezon połowu ryb użytych do ich produkcji. Marynaty wyprodukowane z ryb odłowionych w kwietniu zawierały prawie 5-krotnie więcej histaminy niż marynaty wyprodukowane z ryb odłowionych w marcu i czerwcu.
3. Marynaty rybne nie zawierały histaminy w ilościach przekraczających dopuszczalne granice.

Tabela 1. Punktowa analiza sensoryczna podczas produkcji marynat ze śledzi bałtyckich pochodzących z różnych okresów połowu

Wyróżnik jakościowy	Okres połowu								
	Marzec			Kwiecień			Czerwiec		
	Czas marynowania [doby]								
	1,5	6,5	14,5	1,5	6,5	14,5	1,5	6,5	14,5
Barwa [\bar{x}]	2,0	5,0	5,0	2,1	5,0	5,0	2,0	4,8	5,0
Smakowitość [\bar{x}]	2,5	5,0	5,0	2,0	5,0	5,0	2,0	5,0	5,0
Zapach [\bar{x}]	2,0	4,7	5,0	2,0	4,8	4,8	2,0	5,0	5,0
Tekstura [\bar{x}]	2,2	4,8	4,9	2,0	4,8	4,9	2,1	4,9	4,9
Pożądalność [\bar{x}] produktu	2,2	5,0	5,0	2,2	5,0	5,0	2,0	5,0	5,0

Źródło: Badania własne

LITERATURA

- [1] AL BULUSHI I., POOLE S., DEETH H.C., DYKES G.A. 2009. *Biogenic amines in fish: Roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation-a review*. Crit. Rev. Food Sci. 49, 369-377.
- [2] BN-79-8020-02. *Ryby i przetwory rybne. Pakowanie i przechowywanie*.
- [3] GANOWIAK Z., GAJEWSKA R., LIPKA E. 1990. *Wpływ zabiegów technologicznych na zawartość histaminy w przetworach rybnych*. Roczniki PZH 41, 180-186.
- [4] GÓRSKI P. 2007. *Histamina – mediator najdłużej znany, do dziś nie poznany*. Alergia, 4, 33-35.
- [5] JANUS A., KIJOWSKI J. 2005. *Przegląd systemów zarządzania bezpieczeństwem zdrowotnym żywności*. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 2, 82-86.
- [6] KAROVIČOVÁ J., KOHAJDOVA Z. 2005. *Biogenic amines food*. Chem. Pap. 59(1), 70-79.
- [7] MACAN J., TURK R., VUKUŠIĆ J., KIPČIĆ D., MILKOVIĆ-KRAUS S. 2006. *Long-term follow-up of histamine levels in stored Fish meal sample*. Animal Sci. Technol. 127, 169-174.
- [8] PAWLIKOWSKI B., SZULECKA O. 2012. *Zmiany wybranych wskaźników fizyko-chemicznych w rybnych marynatach zimnych o przedłużonym okresie przydatności do spożycia*. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, 1, 14-18.
- [9] PN-90-A-86786. *Surowce i przetwory z ryb i innych zwierząt wodnych. Oznaczanie zawartości histaminy metodą fluorymetryczną*.
- [10] PN-ISO 3972:1998. *Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej*.

- [11] **PN-ISO 4121:1998.** *Analiza sensoryczna. Metodologia Ocena produktów jakościowych przy użyciu metod skalowania.*
- [12] **PN-ISO 5496:1997.** *Analiza sensoryczna. Metodologia. Wprowadzanie i szkolenie oceniających w wykrywaniu i rozpoznawaniu zapachów.*
- [13] **Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1441/2007 z dnia 5.12.2007 r.** zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. U. WE 322/12 z dnia 7.12.2007 r.
- [14] **Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 178/2002 z dnia 28.01.2002 r.** ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustalające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. Dz. U. WE 31/1 z dnia 1.02.2002 r.
- [15] **SHALABY 1996.** *Survey on biogenic amines in food safety and human health.* Food Res. Int. 29 (7), 675-690.
- [16] **STADNIK J., DOLATOWSKI Z. 2010.** *Biogenic amines in meat and fermented meat products.* Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 9 (3), 251-263.
- [17] **TAYLOR S. L. 1985.** *Food allergies.* J. Food Technol. 39 (2), 98-105.
- [18] **WADA, S., KOIZUMI C. 1986.** *Changes in histamine contents during the processing of rice-bran pickles of sardine [Sardinops melanostictus].* Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 52 (6), 1035-1038.
- [19] **YOGUCHI R., OKUZUMI M., FUJI T. 1990a.** *Seasonal variation in number of halophilic histamine-forming bacteria on marine fish.* Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 56, 1473-1479.
- [20] **YOGUCHI R., OKUZUMI M., FUJI T. 1990b.** *Seasonal variation in number of mesophilic and halophilic histamine-forming bacteria inshore of Tokyo Bay and Sagami Bay.* Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 56, 1467-1472.

HISTAMINE CONTENT IN FISH MUSCLE DURING PRODUCTION, MATURATION AND STORAGE OF FISH MARINADES

SUMMARY

The aim of this paper is to present the result of study on the histamine content in Baltic herring during the production, maturation and storage fish marinades produced from fish from different periods of fishing. The results proved the influence of technological processing and storage time on histamine content in marinated Baltic herring. The rate of histamine formation in fish marinades affected also fishing season. To summarize it has to be stated that histamine content in none of the analyzed salted and minced fish meat exceeded acceptable levels.