

LITERATURA

Armero, E., J. A. Barbosa, F. Toldrá, M. Baselga, M. Pla (1999a): Effects of the terminal sire and sex on pork muscle cathepsin (B, B+L and H), cysteine proteinase inhibitors and lipolytic enzyme activities. *Meat Science* 51, 185-189.

Armero, E., M. Baselga, M. C. Aristoy, F. Toldrá (1999b): Effects of sire type and sex on pork muscle exopeptidase activity, natural dipeptides and free amino acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1280-1284.

Armero, E., Monica Flores, F. Toldrá, J. A. Barbosa, J. Olivet, M. Pla, M. Baselga (1999c): Effects of pig sire type and sex on carcass traits, meat quality and sensory quality of dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1147-1154.

Chizzolini, R., Novelli, E., Campanini, G., Dazzi, G., Madarena, G., Zanardi, E., Pacchioli, M.T., Rossi, A. (1996): „Lean colour of green and maturated Parma hams: comparative evaluation and technological relevance of sensory and objective data“. *Meat Science*, 44, 3, 159-172.

Gou, P., L. Guerrero, J. Arnau (1995): Sex and crossbreed effects on the characteristics of dry-cured ham. *Meat Science* 40, 21-31.

Guerrero, L., P. Gou, P. Alonso, J. Arnau (1996): Study of the physicochemical and sensorial characteristics of dry-cured hams in three pig genetic types. *Journal of the Science of Food and*

Agriculture 70, 526-530.

Martin, L., Córdoba, J. J., Ventanas, J., Antequera, T. (1999): „Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham“. *Meat Science*, 51, 129-134.

Oluški, V. (1973): Prerada mesa. Institut za tehnologiju mesa. Beograd.

Rahelić, S., Joksimović, J., Bučar, F. (1980): Tehnologija prerade mesa. Tehnološki fakultet u Novom Sadu. Novi Sad.

Sárraga, C., M. Gil, J.A. Garcia-Regueiro (1993): Comparison of calpain and cathepsin (B,L and D) activities during dry-cured ham processing from heavy and light large whitw pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62, 71-75.

Toldrá, F. (1998): Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science* 49, 1, 101-110.

Vuković, I., Vasilav, D., Saičić, Snežana., Tubić, M., Kričković, D. (2005): Važnije osobine sremeske šunke proizvedene optimiziranjem tradicionalnog postupka proizvodnje. *Tehnologija mesa*, vol.46, 3-4, 110-114.

Živković, J., Hadžiosmanović, M. (1996): Suhomesnati proizvodi. Veterinarski priručnik, peto izdanje. Medicinska naklada. Zagreb.

* Pravilnik o proizvodima od mesa (NN 01/07)

Prispjelo / Received: 27.2.2008.

Prihvaćeno / Accepted: 15.5.2008. ■

UTVRĐIVANJE PRISUSTVA HISTAMINA U UZORCIMA RIBE

Smajlović¹, A., A. Baković¹, I. Mujezinović¹, M. Muminović¹, M. Smajlović², O. Kapetanović³, S. Hadžijusufović³

SAŽETAK

Histamin je biogeni amin koji u namirnicama bogatim proteinima nastaje razlaganjem aminokiseline histidina. Ovo razlaganje je uzrokovano rastom određenih vrsta bakterija.

Komercijalni uzorci ribe iz uvoza analizirani su na prisutnost i količinu histamina ELISA testom (RIDASCREEN® Histamin). Dobiveni rezultati bi trebali predstavljati osnovu za uvođenje stalne kontrole prisutnosti histamina u namir-

nicama koje su bogate proteinima (riba, sir, mlijeko, meso) i vinu, te tako osigurati prevenciju otrovanja ljudi, a što mora biti zakonski regulirano.

Ključne riječi: histamin, riba, ELISA

UVOD

Histamin je biološki aktivni amin koji ima širok spektar fizioloških i patoloških djelovanja u organizmu. Ova djelovanja ispoljava preko svojih specifičnih receptora, nakon

¹ Mr. sc. Ahmed Smajlović dr. vet. med., viši asistent; Asima Baković dr. vet. med., stručni suradnik; dr. sc. Indira Mujezinović, docent; dr. sc. Mehmed Muminović, redovni profesor, Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo

² Dr. sc. Muhamed Smajlović, docent, Zavod za higijenu i tehnologiju živežnih namirnica animalnog porijekla, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Zmaja od Bosne 90, 71000 Sarajevo

³ Osman Kapetanović dr. med.; Senada Hadžijusufović dr. med., Sanitarna inspekcija, Ministarstvo zdravstva Kantona Sarajevo, Bulevar Meše Selimovića 12, 71000 Sarajevo

lokalnog oslobađanja u nekim tkivima i organima (Adams, 2001.; Hardman i Limbird, 2001.). Zajedno s još nekim supstancijama kao što su serotonin, endogeni peptidi, leukotrieni, prostaglandini i citokinini, spada i u autakoide, odnosno tkivne ili lokalne hormone, koji djeluju na mjestu oslobađanja ili neposredno oko njega (Hardman i Limbird, 2001.). Kod sisavaca, histamin je važan medijator neposredne alergijske preosjetljivosti, ima ulogu u upalnim reakcijama, utiče na lučenje klorovodične kiseline u želucu (Adams, 2001.; Hardman i Limbird, 2001.), ima ulogu neurotransmitora u hipotalamusu sisavaca (Rang i sur., 2007.), te je važan faktor nastanka arterioskleroze i koronarnih bolesti (Liao i sur., 1997.) itd.

Egzogeni histamin je proizvod razlaganja aminokiseline histidina, koje je uzrokovano rastom određenih bakterijskih vrsta u hrani bogatoj proteinima, kao što je: riba, naročito plava (svježa i u konzervi), sir, mlijeko, meso, te različite vrste vina (bijelo, crveno i pjenušavo) i pivo. Količina nastalog histamina ovisi o vrsti bakterije, temperaturi i dužini vremena izlaganja utjecaju bakterija, a može dostići čak 1000 mg/kg (ppm).

Riba dobre kvaliteta ne bi trebala sadržavati više od 10 ppm histamina (Uputa za RIDASCREEN® Histamin ELISA test).

Usljed konzumiranja namirnica koje sadrže veće količine histamina kod ljudi se javlja mučnina, povraćanje, glavobolja itd. Isti simptomi se mogu javiti i nakon konzumiranja crvenog vina, naročito kod onih osoba kod kojih urođeno postoji smanjena sposobnost razgradnje histamina (Hardman i Limbird, 2001.)

Prema tome, opravdano se otrovanja histaminom najčešće dovode u vezu s konzerviranom ribom koja sadrži visoke koncentracije ovog amina.

Cilj našeg istraživanja je bio ustanoviti eventualnu zastupljenost i količinu histamina u većem broju komercijalnih uzoraka ribe različitog porijekla, koja je namijenjena za prehranu ljudi. Povod istraživanju je bila pojava otrovanja ljudi na području grada Mostara. Naime, u lipnju 2007. godine nekoliko ljudi se otrovalo konzerviranom ribom, a njihovi životi su spašeni zahvaljujući brzom intervenciji medicinske službe. Postojala je opravdana sumnja da je uzrok otrovanja histamin. Međutim, nije postojala oprema za kvalitativno i kvantitativno utvrđivanje koncentracije histamina, niti su na raspolaganju bili ostaci obroka koje su otrovani konzumirali, pa se u ovom slučaju uzrok otrovanja nije mogao sa sigurnošću utvrditi.

Kao "screening" metoda za kvantitativno dokazivanje histamina u gore navedenim vrstama hrane najčešće se koristi ELISA. Ova metoda je, prema dosadašnjim literaturnim podacima pouzdana, pristupačna, brza i jeftina.

Analička potvrдна metoda za analizu histamina u ribi u zemljama Europske Unije je HPLC (Anon., 2005).

MATERIJAL I METODE

Uzorke ribe dostavila nam je Sanitarna inspekcija koja djeluje pri Ministarstvu zdravstva Kantona Sarajevo. Uzorci su prikupljeni slučajnim odabirom na različitim prodajnim mjestima u Bosni i Hercegovini, a potjecali su iz uvoza. Analizu smo proveli u Toksikološkom laboratoriju Katedre za farmakologiju i toksikologiju Veterinarskog fakulteta Sarajevo.

Ukupno je dostavljeno 35 uzoraka. Od toga 12 su bili uzorci smrznute ribe (oslić cijeli - 2, girice - 3, skuša cijela - 2 uzorka, te po jedan uzorak: oslić filet, skuša filet, papalina, šanpjer filet i kotlet morskog psa). Dvadeset tri uzorka sačinjavala je riba u konzervi (tunjevina u ulju - 13, tunjevina - 2, sardina u ulju - 3 uzorka, te po jedan uzorak: oslić u ulju, skuša u ulju, tunjevina sa žutom perajom, ruska salata s tunjevinom i salata s tunjevinom u umaku od jarebice). Sve uzorke smo, nakon pripreme, analizirali na prisutnost i količinu histamina korištenjem komercijalnog kita za kompetitivnu enzimsku imunoanalizu RIDASCREEN® Histamin (Art. No.:R1604), koji proizvodi R-Biopharm Group, Njemačka. Granica detekcije ovog testa za sir, svježu i ribu u konzervi iznosi 2,5 ppm.

Test kit sadrži sve reagense koji su potrebni za analizu, kao i detaljnu uputu za izvođenje analize.

Jedan test kit je dovoljan za 48 uzoraka, uključujući standarde.

Za kvantifikaciju rezultata potreban je spektrofotometar za mikrotitracijsku ploču.

Vrijeme potrebno za izvođenje analize:

- priprema uzorka (za 10 uzoraka) oko 15 minuta
- izvođenje testa (bez obzira na broj uzoraka) oko 90 minuta.

Nakon pripreme uzorka, histamin je kvantitativno, aklacionim reagensom, preveden u N-akilhistamin. U kompetitivnom ELISA testu slobodni akilirani histamin i vezani histamin se natječu za mjesta vezivanja na antitijelima.

Nakon ispiranja dodaju se sekundarna antitijela obilježena peroksidazom (enzim konjugat). Ova antitijela se vežu za komplekse antitijelo-histamin. Nakon toga se sva nevezana antitijela za enzim konjugat uklanjaju ispiranjem. Supstrat (urea peroksid) i kromogen (tetrametilbenzidin) se dodaju u udubljenja na mikrotitracijskoj ploči i inkubiraju. Tijekom inkubacije vezani enzim konjugat prevodi bezbojni kromogen u plavi produkt, a dodavanjem stop otopine dolazi do promjene boje iz plave u žutu.

Nakon toga se provodi fotometrijsko mjerenje na čitaču ELISA ploča na valnoj dužini od 450 nm. Apsorpcija je obrnuto proporcionalna koncentraciji histamina u uzorku.

REZULTATI I DISKUSIJA

Svi uzorci koje smo analizirali sadržavali su manje od 100 ppm histamina.

Prema Regulativi (EC) No 2073/2005 (Anon., 2005) u zemljama Europske Unije granične vrijednosti histamina u ribi iznose 100 mg/kg (m) i 200 mg/kg (M).

Iako, prema gore navedenoj Regulativi Europske Unije, u ispitivanim uzorcima nismo otkrili nedozvoljene količine histamina, što znači da su oni bili potpuno ispravni za ljudsku upotrebu, moramo napomenuti da male oscilacije temperaturnih vrijednosti prilikom transporta i skladištenja ribe mogu dovesti do ubrzanog razmnožavanja bakterija koje uzrokuju stvaranje štetnih produkata u mesu, odnosno dovode do kvarenja mesa. Histamin je jedan od tih produkata.

Brzo hlađenje ribe odmah nakon izlovljavanja je najvažniji element u strategiji prevencije kvara ribe, a samim tim i stvaranja biogenih amina u njoj. Ovo se posebno odnosi na ribu koja je izložena višim temperaturama vode ili zraka, kao i na velike tune koje zadržavaju toplotu u tkivima i poslije smrti (Anon., 2001.).

Preporučuje se:

- Općenito, ribu staviti na led, u rashlađenu morsku vodu ili salamuru temperature 4,4°C ili niže unutar 12 sati nakon smrti ili u rashlađenu morsku vodu ili salamuru temperature 10 °C ili niže unutar 9 sati nakon smrti.
- Ribu, koja je bila izložena zraku ili vodi čija je temperatura bila viša od 28,3 °C, staviti na led, u rashlađenu morsku vodu ili salamuru temperature 4,4 °C ili niže unutar 6 sati nakon smrti (FDA, 2001.).

Na ovaj način će se spriječiti brzi nastanak enzima histidin dekarboksilaze, jer u protivnom, kontrola rizika više nije moguća (Anon., 2001.).

ZAKLJUČAK

Zbog mogućnosti stvaranja histamina u namirnicama bogatima proteinima i vinu, a naročito zbog posljedica koje kod ljudi može izazvati konzumiranje namirnica s povećanim sadržajem histamina, te zbog jednostavnosti izvođenja "screening" metode, mišljenja smo da je potrebno uvesti stalnu kontrolu prisutnosti histamina, što mora biti zakonski regulirano, a čija svrha bi bila zaštita ljudi, potrošača navedenih namirnica.

Tsola, E., E. H. Drosinos, P. Zoiopoulos (2008): Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. Utjecaj modernizacije klaonice peradi i sustava sigurnosti hrane na mikrobiološku kakvoću i sigurnost proizvoda. Food Control, 19, 423-431.

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj modernizacije klaonice peradi i sustava sigurnosti hrane na mikrobiološku

RIASSUNTO

L'IDENTIFICAZIONE DELLA PRESENZA DELL'ISTAMINA NEI CAMPIONI DEI PESCI

L'istamina è l'amina biogenea, la presenza della quale risulta dal decomposizione dell'aminoacido istidin nei cibi ricchi con i proteine. La decomposizione è causata con la crescita degli alcuni batteri.

I campioni commerciali dei pesci importati sono stati analizzati per la presenza e la quantità dell'istamina usando il test ELISA (RIDASCREEN, Histamin). I risultati ottenuti dovrebbero rappresentare il base per l'introduzione della controllo permanente della presenza dell'istamina nei cibi ricchi con i proteine (i pesci, i formaggi, il latte, la carne) e nei vini. In questo modo, dovrebbero assicurare la prevenzione dell'avenamento dei uomini, e dovrebbero stati regolati con la legge.

Le parole chiavi: *l'istamina, i pesci, ELISA*

LITERATURA

Adams R.H.: Veterinary pharmacology and therapeutics. 8th edition. The Iowa State University Press. Ames, 2001.

Anonimno: COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs.

Anonimno: Scombrotoxin (histamine) formation. Ch. 7. In *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*. 3rd ed., p. 83-102. Food and Drug Administration (FDA), Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, 2001.

Hardman J.G., Limbird L.E.: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Tenth Edition. The McGraw-Hill Companies. New York, 2001.

Liao W., Rudling M., Angelin B.: Novel Effects of Histamine on Lipoprotein Metabolism: Suppression of Hepatic Low Density Lipoprotein Receptor Expression and Reduction of Plasma High Density Lipoprotein Cholesterol in the Rat. *Endocrinology*. 138, 5, 1863-1870, 1997.

Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M.; Moore P.K.: Rang and Dale's Pharmacology. Sixth edition. Churchill Livingstone, 2007.

**Uputstvo za RIDASCREEN® Histamin ELISA test, R-Biopharm Group, Njemačka.

Prispjelo / Received: 14.4. 2008.

Prihvaćeno / Accepted: 8.5.2008. ■

kakvoću i sigurnost proizvoda. U tom smislu se pokušalo utvrditi da li automatizacija u pojedinim fazama proizvodnog procesa utječe na vrstu opasnosti i broj kritičnih kontrolnih točaka, kao i na mikrobiološku kakvoću trupova i gotovih proizvoda. Usporedba HACCP planova upućivala je na to da automatizacija u različitim fazama procesa ne utječe na vrstu opasnosti i broj kritičnih kontrolnih točaka. Automatizacija je, prema rezultatima mikrobioloških analiza, smanjila kontaminaciju; ukupni broj bakterija,