

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KARADENİZ BÖLGESİNDE ÜRETİLEN TUZLANMIŞ BAZI BALIKLARIN
BAKTERİYEL ve KİMYASAL YÖNDEN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Feza ÜZEN

TEMMUZ 2008
TRABZON

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KARADENİZ BÖLGESİNDE ÜRETİLEN TUZLANMIŞ BAZI BALIKLARIN
BAKTERİYEL VE KİMYASAL YÖNDEN İNCELENMESİ

Feza ÜZEN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“ Yüksek Lisans (Balıkçılık Teknolojisi Yüksek Mühendisi)”
Unvanı Verilebilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06.06.2008
Tezin Savunma Tarihi : 14.07.2008

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Sevim KÖSE
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hikmet KARAÇAM
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Sabriye ÇANAKÇI

Enstitü Müdür V. : Doç. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2008

ÖNSÖZ

Ticari ve ev yapımı çeşitli geleneksel yöntemlerle Orta ve Doğu Karadeniz’de Yaygın olarak üretilip tüketilen bazı balık ürünlerini, gıda güvenliği açısından inceleyen bir çalışmadır.

Bu çalışma AB 6. Çerçeve Programı ‘‘Traditional United Europe Food –Truefood’’ adlı ve 016264 numaralı proje tarafından desteklenmiştir.

Tez danışmanlığımı üstlenen, yüksek lisans çalışmam süresince her türlü yüksek katkı ve desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Sevim KÖSE’ye en içten sevgilerimi sunarım.

Ayrıca deney ve bilgi toplama aşamasında, birçok yardımlarını gördüğüm, Arş. Gör. Serkan KORAL ve Arş. Gör. Bekir TUFAN’a, Deniz Bilimleri Balıkçılık Teknolojisi mensubu ve Samsun Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü personeli arkadaşlarıma ve her zaman yanımda bulunan, sevgi ve desteğini hiç eksik etmeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

Feza ÜZEN

Trabzon 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Balıkların Tuzlama Yöntemiyle İşlenmesi	2
1.2.1. Kuru Tuzlama	3
1.2.2. Salamura Yöntemiyle Tuzlama	4
1.2.3. Lakerda	5
1.2.4. Baharat Soslu hamsi	6
1.3. Tuzlanmış Su Ürünlerinde Kalite Sorunları ve Alınması Gereken Önlemler	7
1.4. Su Ürünlerinde Gıda Güvenliği Sorunları ve Alınması Gereken Önlemler	10
1.4.1. Su Ürünlerinde Yaygın Olarak Rastlanan Patojen Bakteriler ve Bunların Neden Olduğu Zehirlenmeler	13
1.4.2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14
1.4.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	16
1.4.4. Doğal Olarak İnsan ve Hayvan Kökenli Olan Bakteriler	17
1.4.4.1. <i>Salmonella</i>	18
1.4.4.2. <i>Shigella</i>	19
1.4.4.3. Patojenik <i>Escherichia coli</i>	20
1.4.4.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
1.4.5. Tuzlanmış Su Ürünlerinin Gıda Güvenliği Açısından Kontrolü	21
1.5. Bu Konuda Yapılmış Önceki Çalışmalar	25
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	27
2.1. Materyal.....	27

2.1.1.	Örnekler	27
2.2.	Metot.....	28
2.2.1.	Laboratuar Koşullarında Tuzlanmış Hamsi İşlenmesi	28
2.2.2.	Mikrobiyolojik Analizler	29
2.2.2.1.	Total Mezofilik Bakteri Sayımı	30
2.2.2.2.	Total Halofilik Bakteri Sayımı	30
2.2.2.3.	Total Koliform ve Fekal Koliform Sayımı	30
2.2.2.3.1.	<i>E.coli</i> ve Koliform Belirlenmesi.....	31
2.2.2.4.	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Sayımı	31
2.2.2.5.	<i>Salmonella/Shigella</i> Belirlenmesi.....	32
2.2.2.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> 'in Tespiti.....	33
2.2.2.7.	<i>Staphylococcus aureus</i> Belirlenmesi ve Sayımı	33
2.2.2.8.	<i>Clostridium perfringes</i> Belirlenmesi	34
2.2.3.	Serolojik Testler	34
2.2.4.	Biyokimyasal Testler	34
2.2.4.1.	Oksidaz Testi	35
2.2.4.2.	Hareket Testi.....	35
2.2.4.3.	Gaz Oluşturma Testleri.....	36
2.2.4.4.	Üreaz Testi.....	36
2.2.4.5.	Hidrojen Sülfür Oluşumu	36
2.2.4.6.	Indol Testi (Tryptofandan Indol Oluşumu)	37
2.2.4.7.	Katalaz Testi	37
2.2.4.8.	Voges Prouskauer (VP) Testi	37
2.2.4.9.	Metil Red Testi	38
2.2.4.10.	Simone's Sitrat Testi	38
2.2.4.11.	Hemoliz Testi	38
2.2.4.12.	Koagulaz Testi.....	39
2.2.4.13.	Identifikasyon Kitleriyle Yapılan Testler	39
2.2.5.	Mikroskopik Tanımlama	40
2.2.6.	Kimyasal Testler.....	40
2.2.6.1.	Su Aktivitesi	40
2.2.6.2.	pH Ölçümü	40
2.2.6.3.	Tuz Miktarı	40

2.2.6.4.	Su ve Kuru Madde Tayini	40
2.2.7.	Duyusal Testler	41
3.	BULGULAR	43
3.1.	Duyusal Analiz Sonuçları	43
3.2.	Bakteri Çoğalmasını Sınırlayıcı Bazı Parametrelerin Analiz Sonuçları	45
3.3.	Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	54
3.4.	Laboratuar Koşullarında İşlenmiş, Tuzlanmış Hamsilerin Depolama Esnasında Zamana Bağlı Olarak Bazı Kimyasal Parametrelerin Değişimi	67
4.	TARTIŞMA	73
5.	SONUÇ	80
6.	ÖNERİLER	82
7.	KAYNAKLAR	84
8.	EKLER	90
ÖZGEÇMİŞ		

ÖZET

Bu çalışmada Karadeniz’de ev ve perakende satış yapan balıkçılar (kobi) tarafından ve laboratuvar koşullarında üretilen toplam 51 adet tuzlanmış balık örneği mikrobiyolojik ve kimyasal yönden incelenmiştir. Ayrıca laboratuvar koşullarında farklı tuz konsantrasyonlarında işlenen salamura ve kuru tuzlanmış hamsi örneklerinin, oda ve buzdolabı koşullarında 12 hafta boyunca mikrobiyal faaliyeti sınırlayıcı bazı faktörler açısından zamana bağlı değişimi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan örnekler, farklı türler, farklı depolama süreleri, oda ve buzdolabı koşullarında depolanmış olmaları, ev yapımı ya da piyasadaki temin edilmesi, ve kuru tuzlama, salamura, baharat soslu ve lakerda gibi farklı işleme teknikleri gibi varyasyonlara göre seçilmiştir.

Çalışma sonucunda özellikle bir aylık ürünlerde Koliform, fekal koliform sayıları diğer örneklere göre fazla gözlenmiştir, *Vibrio parahymolyticus* ve *Salmonella* çoğunlukla pozitif çıkmıştır. Halofilik bakteri 1 aylık ürünlerde tespit edilememesine rağmen diğer örneklerde gözlenmiştir. Toplam 4 örnekte *Salmonella* (bir adet *Salmonella choleraesuis* spp. arizona %86.5) Api ve serolojik testlerle doğrulanmıştır. Bir örnekte ise *Vibrio vulnificus* izole edilmiştir. Diğer izole edilen bakteriler arasında genellikle 26 örnekle başta *Enterobacter cloacae*, ve 10 örnekle *Morganella morganii* gelmiştir. Bunların dışında 1-6 örnek arasında değişen sayılarda *Lactobacillus* spp., diğer *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp ve *C. freundii*, *P. mirabilis*, *Bacillus circulans*, *Paenibacillus macerans*, *Pantoea* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Leuconostoc* spp.ve *Chryseobacterium indologenes* tespit edilmiştir.

Analizi yapılan tuzlanmış ürünlerin % tuz miktarı ve su aktivitesi (a_w) bakımından pek çok üründe güvenli görünmesine rağmen kontamine oldukları görülmüştür. Ürünlerde *Salmonella*, *V. vulnificus* ve *E. coli* tespit edilmesi barsak kökenli patojenlerle bulaşlı olduklarını göstermiştir. Duyusal açıdan piyasadaki ya da evlerden temin edilen örneklerin çoğu orta ve kötü kalitede görülmüştür. Bu durum, piyasadaki ürünlerin işlenmesinde, depolanması ve ham madde teminlerinde hatalar yapıldığına işaret etmiştir. Laboratuvar koşullarında işlenen hamsi ürünlerinde ise kuru tuzlama yönteminin bakteriyel faaliyeti sınırlayıcı faktörler açısından en güvenli yöntem olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tuzlama, Lakerda, Soslu Hamsi, Patojen, Histamin, Üreten Bakteri

SUMMARY

Microbiological and Chemical Examination of Some Salted Fish Products Produced in the Black Sea Region

In this study, 51 different types of salted fish samples obtained from Middle and North East of Black Sea Region were investigated for their microbial hazards. Moreover, dry salted and brined anchovy samples were processed under controlled laboratory conditions and stored at both cold and ambient temperatures for 12 weeks in order to investigate their limiting parameters for microbial activity depending on time. Analyzed samples were chosen from different variations such as different species, different storage time and conditions, either home made or small retailer producer (SME), and different processing types (dry salted, brined, lakerda and brined fish with herbs).

Coliform and fecal coliform counts were observed higher at one month's samples compare to other samples. Mostly, *Vibrio parahymolyticus* and *Salmonella* were also positive for such samples. Although total halophilic bacteria was not observed in samples stored for 1 month, it was observed in other samples. In total, 4 samples were found to be positive for *Salmonella* (one was *Salmonella choleraesuis* spp. arizona %86.5) and confirmed by Api and serological tests. One sample was positive for *Vibrio vulnificus*. The other isolated bacteria were mainly *Enterobacter cloacae* for 26 samples and *Morganella morganii* as 10 samples. The others were found from the sample numbers 1-6 as *Lactobacillus* spp., other *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp and *C. freundii*, *P. mirabilis*, *Bacillus circulans*, *Paenibacillus macerans*, *Pantoea* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Leuconostoc* spp. and *Chryseobacterium indologenes*.

The results of salt % and water activity (a_w) showed that although most of the analysed salted samples seems to be safe for such pathogens, these samples were not found hygienic and suspected contamination during handling and processing. Isolation of *Salmonella* spp., *V. vulnificus* and *E. coli* implies that these samples may contain pathogenic bacteria of animal and human source. Sensory analysis of such products were found to be in poor quality for most of the samples and might have been processed under inadequate conditions.

Key Words: Salting, Lakerda, Anchovy With Sauce, Pathogen, Histamine Forming Bacteria

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Fabrika yapımı somon lakerda	5
Şekil 2. Fabrika yapımı torik lakerda (takoz) ve palamut lakerda	6
Şekil 3. Perakende balıkçı üretimi baharat soslu hamsi ve palamut lakerda	7
Şekil 4. Kuru tuzlanmış ve salamura örneklerde duyusal görünüm	44
Şekil 5. Kuru tuzlanmış palamut örneklerde görünüm	45
Şekil 6. BPLS agarda <i>Salmonella</i> şüpheli koloniler	62
Şekil 7. EMB agarda <i>E. coli</i> şüpheli kolonilerin oluşturduğu metalik röfle görüntüsü.....	62
Şekil 8. Hareket testi	63
Şekil 9. TCBS agarda <i>Vibrio</i> şüpheli koloniler	63
Şekil 10. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı pH değişimi.....	68
Şekil 11. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı pH değişimi	69
Şekil 12. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı su aktivitesi değişimi	70
Şekil 13. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı su aktivitesi değişimi	70
Şekil 14. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı % tuz miktarı değişimi.....	71
Şekil 15. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı % tuz miktarı değişimi.....	72

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	Amerika’da 1990-1998 yılları arasında Hawaii, Alaska ve Florida eyaletlerinde balıklardan kaynaklanan zehirlenmelerin toplam zehirlenme ajanlarına göre dağılımı	11
Tablo 2.	Amerika’da FDA tarafından 2001 Temmuz ve 2002 Haziran ayları arasında ithal edilen ürünlerin geri çevrilme miktar ve nedenleri	12
Tablo 3.	1995-1999 yılları arasında Türkiye’de balıklardan kaynaklanan zehirlenme vakaları ve toplam gıda zehirlenmesi ile toplam zehirlenme vakaları arasındaki yeri	13
Tablo 4.	Su ürünlerinde rastlanabilen patojenik bakteriler ve karşılaşılabilen hastalıklar	13
Tablo 5.	FDA’ nın Patojenlerin üremesini sınırlayıcı şartları gösteren rehberi	14
Tablo 6.	İnsan ve hayvan kökenli bazı patojenlerin üremelerini sınırlayıcı faktörler	18
Tablo 7.	Deneyde kullanılan örneklerin temin yeri, cinsi, üretim yöntemi ve yeri ...	28
Tablo 8.	Duyusal panel için kullanılan puanlama kriterleri	41
Tablo 9.	Salamura örneklerin duysal olarak incelenmesi	47
Tablo 10.	Kuru tuzlanmış örneklerin duysal olarak incelenmesi	50
Tablo 11.	Diğer örneklerin duysal olarak incelenmesi	53
Tablo 12.	Salamura örneklerinde toplam halofil bakteri sonuçlarının kimyasal parametrelerinin sonuçlarıyla karşılaştırılması	55
Tablo 13.	Kuru tuzlanmış örneklerde toplam halofil bakteri sonuçlarının kimyasal parametrelerinin sonuçlarıyla karşılaştırılması	58
Tablo 14.	Diğer örneklerde toplam halofil bakteri sonuçlarının kimyasal parametrelerinin sonuçlarıyla karşılaştırılması.....	60
Tablo 15.	Bir ay bekletildikten sonra incelenen salamura örneklerde mikrobiyolojik analiz sonuçları	61
Tablo 16.	İzole edilen bakteriler	64
Tablo 17.	İzole edilen şüpheli (tam olarak tanımlanamayan) bakteri türleri	65
Tablo 18.	Diğer örneklerde tespit edilen koliform bakteri sayısı	66
Tablo 19.	Bakteri analizi esnasında küf oluşumuna rastlanan örnekler ve ilgili besi yerleri	67

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

B	: Buzdolabı sıcaklığında bekletilmiş
BiSA	: Bismut Sülfid Agar
BGB	: Brilliant Green Broth MRD
BGBB	: Brilliant Green Bile Broth
BPLS	: Brilliant- Gren Phenol-red Lactose Sucrose Agar
BS	: Baharatlı-Soslu
CAMP Testi	: <i>Listeria</i> 'nın biyokimyasal analizinde kullanılan bir parametre
cfu	: colony forming unit
E	: Ev yapımı balık örneği
EDTA .	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EMB	: Eosin Metilen Blue Agar
3EMB	: %3 oranında NaCl katılarak hazırlanmış EMB Agar
HACCP	: Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktaları Belirleme Planı
HiCrMk	: Hicrome Mc Conkey
HCl	: Hidroklorikasit
ISO	: International Standardart Organization
İHP	: İyi Hijyen Programı
İÜP	: İyi Üretim Programı
L	: Lakerda
McK	: Mac Conkey Agar
MIO	: Motility Indol Ornithine Agar
ml-mL	: mililitre
MR	: Metil-Red
MRD	: Maximum Recovery Diluent
MR-VP	: Metil-Red - Voges Proskauer
NA	: Nutrient Agar
NaCl	: Sodyum klorür
O	: Oda sıcaklığında bekletilmiş
PCA	: Plate Count Agar
RVSB	: Rappaport and Vassiliadis S Broth
S	: Soslu
SCB	: Selenite Cystine Broth
SEB	: Selenite Enrichment Broth
SFB	: Selenite-F Broth
SLH	: Sirkeli Limonlu Haşlanmış
SPS	: Perfingens Selektive Agar acc. to ANGELLOTTI for microbiology
SS	: <i>Salmonella-Shigella</i> Agar
T	: Ticari-Balıkçı tarafından üretilip satılan balık örneği
TCBS	: Tiosulphate Citrate Bile Sugar Agar
TSIA	: Triple Sugar Iron Agar
TSYE	: Tryptic Soy Yeast Agar
VRB (Florocult)	: Violet Red Bile Florocult Agar
VRBL	: Violet Red Bile Lactose Agar

VP : Voges Prouskauer
y. : Yıl
%WPS : Gıdanın su fazındaki tuz derişimi
1A-1ay : 1 ay boyunca hem oda sıcaklığında hem de buzdolabı sıcaklığında ayrı ayrı depolanan salamura ve kuru tuzlama örnekleri ifade eder.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünyada geleneksel yöntemlerle işlenilen su ürünlerinin tüketimi ve pazarlanmasının çok eski yıllardan beri yaygın olduğu bilinmektedir. Tuzlama, marinasyon, kurutma ve tütsüleme (dumanlama/füme) gibi yöntemlerle önceleri yöresel olarak üretilip tüketilen ürünler artık farklı ülkelerde beğeni kazanarak uluslar arası dış ticaret pazarlarında önemli bir yere sahip olmuşlardır. Bu şekilde işleme yöntemlerinin iki temel amacı vardır. Birincisi ürünlerin raf ömrünü uzatmak, diğeri ise ürünlere özel bir lezzet ve aroma katmaktır. Geleneksel yöntemlerle işlenmiş su ürünlerinin geçmişten günümüze alışlagelmiş bir damak tadı bulunmaktadır (European Commission, 2000; Varlık vd., 2004). Bu tür ürünlerin tercih edilmelerinin bir nedeni de işlenme yönteminin pratik ve bazı yöntemlere göre daha ucuz bir saklama avantajı sağlamalarından dolayıdır. Geleneksel yöntemlerle işlenmiş ürünler, denize kıyısı olan çoğu ülkede hem evlerde üretilip tüketilmekte hem de küçük işletmelerce piyasaya sürülmektedir.

FAO kayıtlarına göre geleneksel yöntemlerle işlenmiş toplam su ürünleri miktarı 2003 yılında 9 832 000 ton olarak bildirilmiştir (FAO, 2006; URL-1, 2008). Ülkemizde ise 617.332 kg civarında ihraç edilmiştir ve henüz istenen düzeyde değildir (DİE, 2003) Geleneksel yöntemlerle işlenmiş su ürünlerinin özellikle küçük işletmelerde ve evlerde aile tüketimine yönelik üretilmesinden dolayı toplam üretim ve tüketimi konusunda doğru bir bilgiye ulaşmak zordur. Ülkemizde bu tür ürünlerin spesifik ürün bazında üretim ve tüketimi ile ilgili istatistiki bilgi mevcut değildir.

Geleneksel yöntemlerle üretilen balık ürünleri, özellikle hammadde temini ile depolama ve olgunlaştırma periyodu aşamasında uygun şartlar sağlanmadığı durumda bakteriyel ve enzimatik faaliyetlerden ötürü insan sağlığını tehdit edici biyojenik aminler, nitrosaminler ve özellikle halofilik olan bazı patojen bakteriler açısından risk taşımaktadır. İnsan sağlığı için taşıdığı risklerden ve bu riskleri oluşturan tehlikeler için yaptırımcı (sınırlayıcı) yasal kriterlerden dolayı bu ürünlerin üretimi ve iç ve dış pazara sunulması gün geçtikçe kısıtlanmaktadır. Ülkemizde bu tür ürünlerin yaygın olarak küçük işletmelerde (perakende balık satış yerlerinde) ve evlerde bilinçsizce uygun olmayan

koşullarda üretildiği gözlenmiştir. Ancak söz konusu ürünlerin gıda güvenliği açısından incelenmesi hususunda fazla çalışma mevcut değildir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı Karadeniz Bölgesinde üretim ve tüketimi yaygın olan tuzlanmış balıkların bakteriyel tehlikeler bakımından incelenmesi amaçlanmıştır.

1.2. Balıkların Tuzlama Yöntemiyle İşlenmesi

Tuzlama su ürünlerinin tuzla (Sodyum klorür) muamele edilmesi işlemidir. Balık etine tuz girerken su çıkar ve balıktaki tuz oranı azalır. Balık etine tuz girişi bir ozmoz olayı olup çok yoğun ortamdan az yoğun ortama doğru madde akışından ibarettir (difüzyon). Kuru tuzla tuzlanan balıklarda eti terk eden su balık çevresindeki tuzu çözer ve derişik bir tuz çözeltisi oluşur. Bu yoğun ortamda balık eti içine tuz girer ve su çıkışı devam eder. Tuz çözeltisi ile tuzlamada, tuz çözeltisinin derişimine bağlı olarak balık içine tuz girerken su çıkar. Tuz girişi ve çıkışı teorik olarak balık içindeki tuz derişimi dışındaki tuz derişimine eşit olana dek devam eder. Ancak pratikte bu gerçekleşmez. İçerideki ve dışarıdaki derişimler eşitlenerek denge kurulur. Tuz girişi sırasındaki balık eti içindeki su dışarı çıktığında balıkta su oranı düşer (plazmoliz). Bu düşme balığa giren tuz miktarına, bir başka anlatımla tuzlama yöntemine bağlıdır (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Varlık vd., 2004).

Tuzlama, gıdalara uygulanan ilk koruma yöntemlerinden biridir. Bugün hala dünyanın bazı bölgelerinde uygulanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde tuzlama, öncelikle ürüne kendine özgü bir lezzet kazandırdığından dolayı yapılmaktadır. Avrupa’ da bu teknoloji eskisine kıyasla daha az uygulanmakta ise de dünya tuzlanmış balık üretim potansiyelinde artış görülmektedir. Gerek mutfak tuzu ve gerekse saf sodyum klorürün (NaCl) yeterli yoğunluktaki solüsyonları balıkları bakteriyel kokuşmadan ya tamamıyla korur ya da kokuşmanın seyrini son derece yavaşlatır. Tuzun bu özelliği, ürünü tuz küründe iyi şartlarda ve oda sıcaklığında uzun süre muhafaza etmekte kullanılır. Tuz kürü uygulamadaki amaç, balık etindeki suyun büyük bir kısmını tuz absorpsiyonu yolu ile dışarı almaktır. Suyun alınmasıyla, bakteriyel gelişme ve enzimlerin aktivitesi belirli bir sınıra çekildiğinden dolayı bozulma yavaşlar. Balıkta normal çürükçül (saprofit) mikroflora %6–8 tuz konsantrasyonunda veya daha yüksek konsantrasyonlarda uzun süre üremesine devam edemez. Tuzlamada önemli olan, tuzlanmış ürünün depolama ömrünü uzatmak için sıcaklığın ayarlanması, ürünün düşük sıcaklıkta muhafaza edilmesidir.

Halofil bakteriler, yüksek tuz konsantrasyonlarında bile üreme ve gelişme gösterebilirler. Bu bakteriler, yüksek sıcaklıkta hızla çoğalarak balık etinde bozulmalara, kokuşmaya sebep olmaktadır. Ancak, 0°C ile 4°C arasında muhafaza edilen tuz kürlü balıklarda uzun zaman sonra bile bakteriyel bozulma oluşmaz (Connel 1980; Göğüş ve Kolasarıcı, 1992).

Balıklarda su kaybı ile tuz emilimi, balığın yağlılık durumuna, et kalınlığına, tazeliğine, sahip olduğu sıcaklığa, kürde kullanılan tuzun saflık derecesi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişir. Tuzlama işlemi temel olarak iki şekilde yapılmaktadır. Tuz ya doğrudan kullanılmakta (kuru tuzlama) ya da su içerisinde çözülerek salamura hazırlanmaktadır (yaş tuzlama). Uygulanacak olan yöntem balık türüne bağlı olarak seçilebilmektedir, (Varlık vd., 2004).

Çok farklı şekillerde tuzlama yöntemleri mevcuttur. Bunlardan en yaygın olanları aşağıdaki gibidir (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Varlık vd., 2004).

- Kuru tuzlama
- Tuz çözeltisi ile tuzlama (Salamura veya yaş tuzlama)
- İki kademeli tuzlama
- Bastırarak tuzlama
- Çabuk tuzlama (Vakum ve enjektörlerle)

Ayrıca yöresel olarak lakerda, baharatlı ürünler gibi yeni farklı çeşitleri de günümüzde artmaktadır. Bu tip tuzlama yöntemlerinden bazıları aşağıda verilmiştir.

1.2.1. Kuru Tuzlama

Kuru tuzlama, balığın üzerine kuru tuz serpilerek ozmoz aktivitesi ile tuzun ete geçmesi ve suyun dışarı atılması sonucu yoğun tuz çözeltisinde muhafaza yöntemidir (Ockerman, 1992).

Balıklar temizlendikten sonra çok temiz deniz suyu ya da %2–5 tuz içeren suyla yıkanmaktadır. İç organlar temizlenerek tuzlama yapılabilirdiği gibi, özellikle küçük balıklar ayıklanmadan da tuzlanabilmektedirler. İçinde tuzlama yapılacak olan kaplar bir yöne doğru eğimli olup, tuzlama sonucu çıkan suyun akması amacıyla alt tarafında delik olmalıdır. Balıklar tuzla iyice ovularak tuzun balığa yapışması sağlandıktan sonra kabın içerisine bir kat tuz bir kat balık gelecek şekilde dizilmektedir. Hamsi gibi küçük balıklar

tuzlandığında bu dizilme işlemi sonucunda altta kalan balıklar ezileceğinden çok fazla kat halinde dizme yapılmamalıdır. Bu işlem fiçılar ya da kaplar içinde yapılabildiği gibi düz bir alan üzerine dizilip ara sıra alt-üst edilmek suretiyle de gerçekleştirilebilmektedir. Bu şekilde tuzlama ile yoğun ya da hafif kürlenme yapılabilmektedir. Yoğun kürlenmede 100 kg balık eti için 30 kg tuz kullanılmaktayken, hafif kürlenmede ise yaklaşık olarak her 100 kg balık eti için 9–10 kg tuz gerekmektedir. Kuru tuzlamanın, tuz balık yüzeyine eşit olarak yayılmadığından ve balık yüzeyi hava ile temas halinde bulunduğundan yağların okside olması, tuzun çıkan vücut suyu ile atılması ve alt katmanlardaki balıkların ezilmesi gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır (Varlık vd., 2004).

1.2.2. Salamura Yöntemiyle Tuzlama

Salamura ile tuzlama, balığın yoğun tuz çözeltisine konularak muhafaza edilmesi yöntemidir. Bu sistemde tuzlama daha çok sardalye, uskumru gibi yağlı balıklar için tercih edilmektedir. Balıklar tank içerisine yerleştirildikten sonra tuzlu salamura üzerine dökülebildiği gibi, salamura içine de atılabilmektedir. Bu yöntemde tuzun ete geçişi daha yavaş ve miktarı daha az olduğundan daha lezzetli ürün elde edilmektedir. Ancak tuzun ete geçişi yavaş olduğundan olası bozulmayı engellemek amacıyla bu işlem özellikle hafif salamura kullanıldığında soğukta yapılmalıdır. Tuz miktarı %16' ya kadar olan salamuraya hafif, %25'e kadar olanlara ise kuvvetli salamura denilmektedir. Tuzlanan balıkların üzerine ağırlık konularak balıkların çözelti üzerine çıkması havayla temas etmesi önlenir. Böylece oksidasyon engellenmektedir. Bu ağırlık aynı zamanda basınç oluşturarak balıktaki suyun daha hızlı bir şekilde uzaklaşmasına ve ete tuzun daha çabuk girmesine yardımcı olmaktadır (Göğüş ve Kolsarıcı, 1992).

Bu iki temel yöntemin yanı sıra; bastırarak tuzlama, enjektörle ve vakumla tuzlama işlemleri de kullanılmaktadır. Enjektörle ve vakumla tuzlama yöntemleri, özellikle tuzlama işleminin daha hızlı bir şekilde yapılması için tercih edilmektedir (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999).

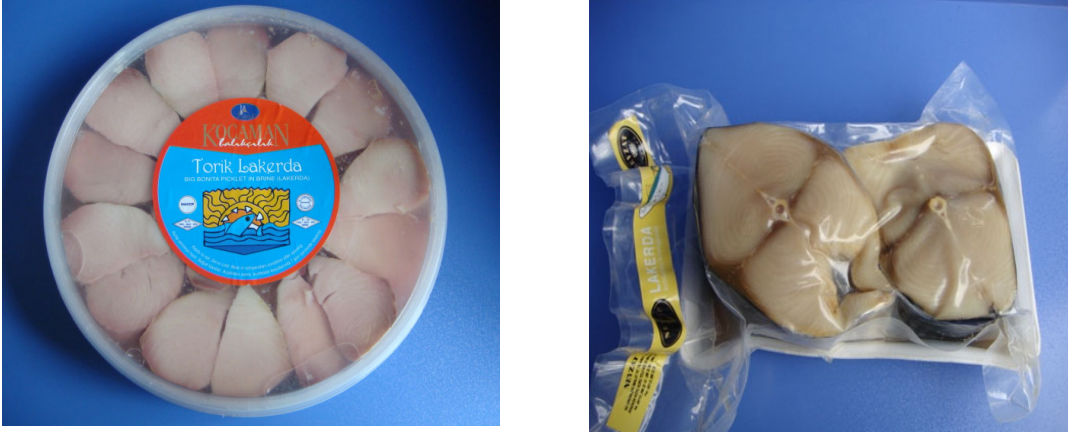
1.2.3. Lakerda

Lakerda tuzlama yöntemlerinden bir diğeridir. Ülkemizde özellikle meze olarak tüketilir ve daha çok palamut ve torik gibi balıklardan hazırlanır. Ancak günümüzde somon balık filetolarından da işleme fabrikalarında üretilir (URL-1, 2008; Varlık vd., 2004).

Torik veya palamut lakerda hazırlanırken, balıklar takoz olarak tarif edilen yöntemle kesilir. Takoz olarak kesme işlemi için balıklar göğüs yüzgecinin arkasından kesilerek baş atılmakta, kuyruk bölgesi ise en ince yerinden kesilerek atılmaktadır. Kalan parça dilimlenerek takozlar elde edilmektedir. Kesilen dilimlerde eğer omurga kısımları mevcutsa, omurga boyunca uzanan sinir şeridi (spinal kord) ince ve sert bir aparatla temizlenir. Bu parçaların buzlu su içerisinde bekletilerek fazla kanı alınmakta ve böylece etin beyazlaşması sağlanmaktadır. Aksi halde ürünün koyu renkli ve istenmeyen bir görünümde olacağı bildirilmiştir. Daha sonra tuzlama işlemi için bir kaba alınarak kabın içine tuz atıldıktan sonra kabın ağzı kapalı olacak şekilde soğuk ortamda 4-5 gün bekletilir. Kabın içinde oluşan su ara sıra boşaltılır. Takozlar bu kuru tuzlama işleminden sonra yıkanarak tuz salamurasında, soğuk ortamda 14-15 gün olgunlaşmaya alınmaktadır. Takozların hava ile temaslarını engelleyecek şekilde salamurada tutulmaları önemlidir. Olgunlaşmış torik veya palamut lakerdaların da renk uçuk pembe, kendine has koku ve çok hafif sertlikte bir doku bulunmalıdır (Köse, 2008; Varlık vd., 2004).



Şekil 1. Fabrika yapımı somon lakerda (Alfarm, URL-2, 2008)



Şekil 2. Fabrika yapımı torik lakerda (takoz) ve palamut lakerda (Köse, 2008)

1.2.4. Baharat Soslu Hamsi

Bu tür ürünler genellikle çok yaygın değildir. Hem küçük balıkçılar tarafından hem de büyük işleme fabrikalarında üretilir. İçerdiği tuz, baharat ve diğer katkıları (defne yaprağı gibi) bakımından üreticiden üreticiye göre değişir. Ürün işleme fabrikaları tarafından ‘Akdeniz soslu hamsi’ olarak adlandırılmıştır. İşleme fabrikalarında üretilen bu tür ürünlerin tuz oranı genelde perakende balıkçılar tarafından üretilen ürünlere göre daha az tuzlu olup buzdolabı koşullarında saklanır. Bu tip ürünlerin Trabzon’da sadece bir balıkçı tarafından üretildiği tespit edilmiştir. Diğer illerde bu tür ürünün üretimi ile ilgili bir bulgu mevcut değildir. Trabzon balıkçısı (Fish Shop), ürünün Yahudilerin geleneksel tuzlanmış balık ürünlerinden biri olduğu ve bu yöntemde balık denizden çıktığında yıkama yapmadan ayıklandığı, daha sonra yine yıkamadan salamura sosuna yatırıldığını bildirilmiştir. Kavanozlara konulan ürüne ayrıca baharatlar ve defneyaprağı gibi katkıları katılır. Bu ürünün üretici tarafından belli bir süre buzdolabından saklandığı gözlemlenirse de normal açık havada ya da oda koşullarında da saklandığı bilinmektedir. Ürünün doğal bakteriyel florası ve bazı enzimleri içermesi nedeniyle yarı fermente bir balık ürünü olduğu düşünülmektedir. Kokusu baharat ve hafif fermente ürün kokusu vermektedir (Köse, 2008). Şekil 3’de Trabzon balıkçısından temin edilen soslu hamsinin balıkçı rafında satılan görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3. Balıkçıdan temin edilen baharat soslu hamsi ve palamut lakerda (Köse 2008).

1.3. Tuzlanmış Su Ürünlerinde Kalite Sorunları ve Alınması Gereken Önlemler

Su ürünlerinin mikrobiyolojik kontaminasyona uğramaları iki yolla gerçekleşmektedir. Bunlardan birincil kontaminasyon daha çok bu canlıların yaşadıkları deniz, göl ve akarsu gibi ortamlardan kaynaklanırken, ikincil kontaminasyon ise avlama, işleme, nakliye ve pazarlama sırasında insanlardan kaynaklanmaktadır. Su ürünlerinde, özellikle az hareket eden türlerdeki birincil kontaminasyon aynı zaman da bunların yaşadıkları su ortamının bakteriyolojik özelliklerini de yansıtmaktadır. Su ortamındaki canlılarda mikrobiyal gelişme besin öğeleri, su aktivitesi, pH, sıcaklık, tuzluluk ve çözünmüş oksijen vb birçok faktörün etkisi altındadır (İnal, 1992; Varlık vd., 1993; Genç, 2006).

Su ürünleri avlandıkları çevrenin mikrobiyal popülasyonuna ve mikroorganizma yüküne bağlı olarak belirli düzeylerde mikroorganizma içerirler. Balığın bakteriyel florası mevsim ve çevre gibi pek çok faktörden etkilenir. Aynı mevsimde aynı yerde yakalanan farklı balık türleri benzer bakteriyel flora sahiptirler. Bazen farklı çevrelerden yakalanan aynı tür balıklar geniş ölçüde değişebilen flora sahip olabilmektedirler. Balıkların mikroflorası, içinde yaşadıkları suyun mikroorganizma popülasyonu ile yakından ilişkili olduğundan, yakalandığı suyun mikroflorasını yansıtmaktadır (Karaçam vd., 1997 ; Gökoğlu, 2002; Genç, 2006).

Balıkların raf ömrü dondurma, tuzlama, kurutma, gibi çeşitli yöntemlerle uzatılabilir de oldukça yüksek oranda bozulabilir proteinli gıdalardır. Bu ürünler avlanması ve işlenmesi esnasında hızlı kontamine olmaları yanında çevresel normal bakteriyal florayı da içerirler. Canlı balık ve kabuklular dış deri yüzeylerinde gram negatif psikrofilik predominant olarak santimetrekarede yaklaşık 10^2 - 10^3 bakteri taşırlar. Predominant bakteriler arasında *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Acromobacter*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* genusları bulunmaktadır. Aynı zamanda *Micrococcus*, *Bacillus* ve *Clostridium* genusları değişken ve düşük sayılarda mikroorganizma bulunur. Bu bakterilerin artması sonucu balıkta bozulma oluşur (Genç, 2006).

Tuzlama yöntemiyle balık eti içindeki su oranının azalması bakteri faaliyetlerini olumsuz yönde etkiler ve kokuşmayı geciktirir. Tuz aynı zamanda bir dezenfektan maddedir. Yapısında bulunan Cl^- iyonunun sterilizasyon etkisi bakterilerin çoğalmalarını engeller. Tuz bakteri içine girerek hücrenin yapısını bozar ve bakterinin ölümüne neden olur. Bakterilerin aktifliğini etkileyen tuz oranı balık eti ağırlığının %10'u kadardır. Ancak tuza toleranslı bakteriler de vardır. Bu tür bakteriler %15-20 oranında tuz bulunduran balık etinde dahi etkisini gösterir. Tuz çözeltilerinde oksijenin çözünürlüğü saf suya oranla daha azdır. Bu da aerobik bakterilerin yaşamını olumsuz yönde etkiler. Tuzun derişiminin fazla olması halinde protein yapısında olan enzimler denatüre olur. Enzimler denatüre olduğundan otoliz hızı yavaşlar ve kokuşma gecikir. Ancak tuz oksidaz enziminin etkisini artırdığında tuzlanmış ürünlerdeki yağların oksitlenmesi hızlanır (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Gökoğlu, 2002; Varlık vd., 2004).

Sıcaklığın tuz geçişini artırdığı bildirilmiştir. Ancak ham maddenin kalitesine tuzlama işleminin başında etki edeceğinden $10^{\circ}C$ 'nin altında olması tavsiye edilir. Ürünün özelliği de ürüne tuz geçiş hızına etki eder. Ürünler taze iken tuz geçişi kolay olur, ayrıca yağlı oluşu, pullu oluşu, kalın deri ve büyüklüğü de etkilidir. Bu faktörlerin yanında tuz kalitesi de önem taşır. Yabancı maddeler etkili olup, tuzun içerisinde Potasyum klorür (KCl) ve Potasyum bromür (KBr) olması istenir (elastikiyet ve hızı artırır), buna karşın Magnezyum klorür ve sülfat olumsuz etkiler (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Gökoğlu, 2002).

Genelde bakteriler %10'luk tuz çözeltilisinde çoğalamazlar ve etkinlikleri azalır. Ancak bazı bakteriler (Tuzu seven bakteriler=Halofilik bakteriler) tuzlu ortamda da gelişip çoğalabilirler. Çok tuzlu ve çok tuzsuz ortam da gelişemezler. Bunlar için en uygun tuz

oranı %12-15'dir (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Varlık vd., 2004).

Besin kaybı ve derişik tuz çözeltisinde etin temel proteinleri miyojen ve miyosinin yapısı bozularak denatüre olur ve çözünmeyen fibrine dönüşür. Otoliz ve kokuşma, histamin oluşumu, yağların oksidasyonu ve et rengi oksitlenmeye göre koyulaşır ve tad acılaşır. Özellikle kuru tuzlanmış ürünlerde küflenme görülebilir. Ürün üzerinde beyaz, kırmızı, mor ve siyah noktalar oluşur. Küflenme ürün kokusunu ağırlaştırır ve kaliteyi düşürür. Tuz oranı düşükse daha hızlıdır. Önlem için potasyum sorbat ve sorbik asit kullanılır (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Gökoğlu, 2002; Varlık vd., 2004).

Tuzlamayla özellikle tuzlanmış somon, alabalık ve mezigit balıklarının etleri zamanla kırmızılaşır veya pembeleşir. Sıcak havalarda bu durum genelde kuru tuzlanmış ürünlerde ortaya çıkar ve ürünün etrafını kırmızimsı bir sıvı kaplar. Halofilik bakterilerden *Serratia salinaria*'da bu duruma neden olur. Bu tür genelde tuzun temin edildiği tuz göllerinde bulunur ve balığa tuzla bulaşır. Zorunlu aerobik bakteri olması nedeniyle sadece hava ile temas ettiği zamanlar oluşabilir ve optimum gelişme ortamı 36-38°C olup 10°C'nin altında gelişemezler. Kırmızılaşmaya neden olan başka bir tip bakterinin de *Micrococcus reseau* olduğu bildirilmiştir. Ürünlerde meydana gelen bu tip bir oluşumun ürün kalitesini düşürmediği bildirilmiştir. Ancak ürünlerde farklı bir kırmızılaşma problemi tuz içerisinde bulunan sodyum nitrattır. Bakteriler tarafından indirgenerek azot monoksit açığa çıkar ve bu da etteki hemoglobinle birleşerek nitrozo hemoglobin bileşiği oluşturur. Yine bu olay da kaliteyi etkilemediği gibi istenen bir durum olup bu madde bazı tuzlanmış ürünlere eklenir (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Gökoğlu, 2002; Varlık vd., 2004; Zaitsev vd., 2004).

Tuzlanmış ürünlerde pas oluşumu en yaygın bozulma belirtisidir. Paslı ürünler istenmeyen tat ve kokuya sahip olup ürün yüzeyini paslı görünüm kaplamıştır. Bu dış belirtiler üründeki yağların havanın oksijenini alarak bozulduğunu gösterir. Normalde balık etinde doğal antioksidantlar mevcut olmasına karşın, canlı ölümden sonra bunlar inaktive olur. Tuz ise ek olarak oksidasyonu hızlandıran katalizör olarak görev yapar. Yağların oksidasyonunun ilk aşamasında peroksitler oluşur. Ancak bu durum organoleptik olarak ölçülemez çünkü ürünün tadı, kokusu ve görüntüsü değişmez. Daha sonra peroksitler zincir reaksiyonuyla oksidasyon ürünlerine dönüşür. Bunlar aldehitler, ketonlar, ve hidroksi asitler olup yağ acılaşmasından sorumludurlar. İlk olarak pas ürünün yüzeyinde

görünür. Bu aşamada, ürünün aroması (flavour) değişmez ve oksitlenen yağlar üründen yıkanarak uzaklaştırılabilir. Özellikle yıkama suyuna biraz hidrokarbonlu soda eklenince bu iş kolay olur. Ancak gecikme durumunda pas deriden et kısmına geçebilir ve yayılabilir. Bu durumda eti yenilemeyecek duruma getirebilir Pas oluşumunu engellemenin en etkili yolu ürünün hava ile temasını engellemektir. Balık depolama ve olgunlaştırma esnasında salamura suyu ile tamamıyla kaplanmalıdır. Kuru tuzlanmış ürünler ise uygun şekilde paketlenip kap içersine basılmalıdır. Isı ile kaplanmış hava temasını engelleyici kaplarda paketleme yöntemiyle de iyi sonuçlar alınmıştır. Eğer yapışkan sıvı oluştuğunda ürün yıkanırsa balık tüketilebilir özelliğini koruyabilir. *Serratia salinaria* toksin üretmez. Ancak bu bakteriyle bulaşan ürünler iyi koruma altına alınmazsa ileri düzeyde tekrar aynı görüntüyü oluşturur. Sonra ürünü yumuşatır ve kötü amonyak kokusu vererek ürünün kalitesini düşürür (Zaitsev vd., 2004).

Önlem için bu balıkları soğuk muhafaza edip hava ile temas süresini azaltmak gerekir. Bir başka sorun ise sabunlaşmadır. Burada yine balığın hava ile teması etkilidir. Ancak bu durum daha çok az tuzlu ürünlerde görülür. Kötü kokulu sümüksü yapışkan sıvı oluşumu mevcuttur (Zaitsev vd., 2004).

1.4. Su Ürünlerinde Gıda Güvenliği Sorunları ve Alınması Gereken Önlemler

Halk sağlığı açısından üzerinde durulması gereken iki önemli bakteri grubu vardır. Bu gruplara ait bakterilerin aquatik çevrede doğal olarak bulunanlar ve evsel, endüstriyel atıklar ile çevresel kontaminasyonlara sebep olanlar olduğu belirtilmiştir. Aquatik ortamlarda doğal ortam florasında bulunarak sağlık açısından risk taşıyan bakterilerin *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum*, *Vibrio parahymoliticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus* ve *Listeria monocytogenes*'dir. Doğal ortamda bulunmayarak ortama başka kaynaklardan bulaşan ve sağlık tehlikesi arz edebilecek türler genellikle *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinden *Esherichia coli* ve *Shigella spp.*'dir (Genç, 2006).

Gıdalardan geçen hastalıkların gerçek sıklığı bilinmemektedir. Bunun çeşitli sebepleri vardır. Çoğu ülkenin sağlık otoritelerince gıda kaynaklı hastalıkların rapor edilmesine dair raporlama yasaları yoktur. Rapor tutma sistemi olan birkaç ülkede ise raporlama ile ilgili ciddi sıkıntılar yani eksiklikler mevcuttur. Rapor altına alınan durumların ise gerçek rakamların sadece %1 gibi çok az bir kısmını karşıladığı bildirilmiştir. Bu nedenle sunulan istatistikler sadece zehirlenme eğilimleri ve tipleri ile ilgili bilgileri işaret edebilmektedir.

ABD, Atlanta’da gıda kaynaklı hastalıklarla ilgili olarak Hastalık Kontrol Merkezi (Disease Control Center) bulunmaktadır. 1993-1997 yılları arasında 86 000 kişiyi içeren 2751 olay rapor edilmiştir. Salgınların sadece 1/3’ünün gıda kaynaklı olduğu tespit edilmiştir. Tablo 1’de Amerika’nın bazı eyaletlerine ait su ürünlerinden kaynaklanan zehirlenme vakalarını zehirlenme tiplerine göre verilmiştir (Huss vd., 2003).

Tablo 1. Amerika’da 1990-1998 yılları arasında Hawaii, Alaska ve Florida eyaletlerinde balıklardan kaynaklanan zehirlenmelerin toplam zehirlenme ajanlarına göre dağılımı (Huss vd., 2003).

Zehirlenme ajanı	Olay	Vaka
Histamin	131	759
Ciguatera	98	394
Botulizm	141	43
<i>Salmonella</i>	11	305
Haff disease 2	2	6
<i>S. aureus</i>	1	2
<i>E. coli</i> O157	1	3
<i>V. cholerae</i>	1	26
<i>C. perfringens</i>	1	25
Norwalk	1	37
Tetrodotoxin	1	3
Kimyasal	1	58
Toplam	263	1 661

Tablo 1’den de görüleceği üzere en fazla zehirlenme nedeni histaminden kaynaklanmıştır. Yumuşakçalardan kaynaklanan zehirlenme olayları balıklara nazaran daha düşük olmasına rağmen vaka sayısı iki katı kadar olduğu bildirilmiştir (Huss vd., 2003).

İngiltere’de ise 1992-1999 yılları arasında toplam doğrulanmış zehirlenme olayı 148 olup bu miktarın 69’u balıktan, 54’ü yumuşakçalar, 17’si *Crustacea* ve 8’i diğer su ürünleri şeklinde gerçekleştiği bildirilmiştir. Balıklardan kaynaklanan zehirlenme olaylarının çoğunu Amerika’daki olaylarda olduğu gibi histamin zehirlenmesinden

kaynaklanmıştır. Bu durumu *Salmonella* takip etmiştir. Zehirlenme olay/vakaları insan sağlığını yakından ilgilendirmesinin yanında ülkeleri ve dolayısıyla insanları ekonomik açıdan da etkilemektedir. Günümüzde ithalat ve ihracatta ürünlerin gıda güvenliği açısından kontrolleri sıkılaştırılmıştır. Bu nedenle ürünlerin geri çevrilmesi ve dolayısıyla ekonomik kaybı yüksektir. Tablo 2’de Amerika’da 2001-2002 yılları arasında ithalat esnasında ürün kontrollerinde reddedilen ürünlerin miktarı ve reddedilme nedenleri verilmiştir. Bu nedenlerin arasında *Salmonella*, *Listeria* ve Histamin içerikleri başta gelmektedir (Huss vd., 2003).

Tablo 2. Amerika’da FDA tarafından 2001 Temmuz ve 2002 Haziran ayları arasında ithal edilen ürünlerin geri çevrilme miktar ve nedenleri (Huss vd., 2003).

Yıl	Aylar	Toplam reddetme sayısı		Reddetme nedenleri ve reddetme sayısı					
		Toplam	Su ürünü	Kirli	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria</i>	Histamin	Zehir	Diğer
2001	Tem.	1497	122	74	20	5	2	4	21
	Ağus.	954	146	79	40	3	3	4	25
	Eyl.	906	59	27	14	7	0	2	11
	Ekim.	1082	136	59	50	2	3	4	26
	Kas.	1079	121	51	39	4	0	1	26
	Aral.	826	83	57	18	2	2	5	7
2002	Ocak	1452	177	84	71	2	6	1	42
	Şub.	1569	184	84	35	12	4	0	64
	Mart.	1630	213	90	38	8	4	4	73
	Nisa.	1381	126	60	20	0	0	5	43
	May	1621	174	72	41	1	1	5	64
	Haz.	1525	143	80	41	3	2	2	34

Ülkemizde zehirlenme vakaları 1988 yılından itibaren Zehir Araştırma Merkezi tarafından kayıt altına alınmıştır. Ancak zehirlenmelerin tiplenmesi 1995 yılından sonra başlamıştır. Buna göre Tablo 3’te toplam zehirlenme ve su ürünleri zehirlenme vakaları görülmektedir.

Tablo 3. 1995-1999 yılları arasında Türkiye’de rastlanan balıklardan kaynaklanan zehirlenme vakaları ve toplam gıda zehirlenmesi ile toplam zehirlenme vakaları arasındaki yeri (Köse, 2005).

Yıllar	Toplam zehirlenme vakaları	Gıda zehirlenmesi	Balık zehirlenmesi	Histamin zehirlenmesi
1995	10 011	108	27	2
1996	11 005	142	39	4
1997	11 265	111	30	2
1998	9 112	61	17	1
1999	9 475	104	32	3

1.4.1. Su Ürünlerinde Yaygın Olarak Rastlanan Patogen Bakteriler ve Bunların Neden Olduğu Zehirlenmeler

Su ürünlerinden kaynaklanan zehirlenmelere çok çeşitli bakteriler neden olmaktadır. Bu bakteriler genel olarak üç farklı ortamdan bulaşır. Tablo 4’te bu bakterilerin doğal ortamı ve neden olduğu hastalık tipleri belirtilmiştir. Bu bakteriler arasında *Vibrio spp.*, *L. monocytogenes*, *C.botulinum*, *Bacillus cereus*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Campylobacter spp.* gelmektedir. Tablo 5’te ise bazı patojen bakterilerin ürünlerde yaşama ve çoğalmasını etkileyen faktörleri gösterilmiştir (Huss vd., 2003).

Tablo 4. Su ürünlerinde rastlanabilen patojenik bakteriler ve karşılaşılabilen hastalıklar (Huss vd., 2003).

Patojenin doğal ortamı	Hastalık yapma durumu ve düzeyi		Intoksikasyon
	Yüksek MID	Düşük MID	
Aquatik ortam	<i>Vibrio spp.</i> (<i>Aeromonas</i>) (<i>Plesiomonas</i>)		<i>C. botulinum</i> Tip E (non-proteolitik)
Genel ortam	<i>L. monocytogenes</i>		<i>C. botulinum</i> Type A, B (proteolitik), <i>C. perfringens</i> <i>B. cereus</i>
Hayvan ve insan kökenli	<i>Salmonella</i> <i>E. coli</i> (EPEC, ETEC) ¹	<i>S. typhi</i> , <i>Shigella</i> , <i>E. coli</i> (EHEC) ¹ , <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Korunma yolları	Çoğalmayı engellemek	Hijyen İHP ² /İÜP ³	Çoğalmayı engellemek

¹EPEC: Enteropatojenik *E. coli*; ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*; EHEC: Enterohemorajik *E. coli*. ²İHP: iyi hijyen planı; ³İÜP: İyi üretim planı. MID: Minimum enfeksiyon dozu.

Table 5. FDA'nın patojenlerin üremesini sınırlayıcı şartları gösteren rehberi (FDA, 2008).

	Min. a _w Tuz kullanarak	min pH	max pH	% WPS *	Min Sıcaklık °C	Max. Sıcaklık °C	Oksijen gereksinimi
<i>Bacillus cereus</i>	0.92	4.3	9.3	10	4	55	Aerobik
<i>Campylobacter jejuni</i>	0.987	4.9	9.5	1.5	30	45	Mikro- aerofilik
<i>C. botulinum, tip A,</i> proteolitik B & F	0.935	4.6	9	10	10	48	Anaerob
<i>C. botulinum, tip E,</i> nonproteolitik B & F	0.97	5	9	5	3.3	45	Anaerob
<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> Pathojenik	0.93	5	9	7	10	52	Anaerob
<i>E. coli</i>	0.95	4	9	6.5	6.5	49.4	Fakültatif aerob
<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	0.92	4.4	9.4	10	-0.4	45	Fakültatif aerob
<i>Salmonella spp.</i>	0.94	3.7	9.5	8	5.2	46.2	Fakültatif aerob
<i>Shigella spp.</i>	0.96	4.8	9.3	5.2	6.1	47.1	Fakültatif aerob
<i>S. aureus</i> – üreme	0.83	4	10	20	7	50	Fakültatif aerob
<i>S. aureus</i> – toksin üretimi	0.85	4	9.8	10	10	48	
<i>V. cholerae</i>	0.97	5	10	6	10	43	Fakültatif aerob
<i>V. parahaemolyticus</i>	0.94	4.8	11	10	5	45.3	Fakültatif aerob
<i>Vibrio vulnificus</i>	0.96	5	10	5	8	43	Fakültatif aerob
<i>Yersinia</i> <i>enterocolitica</i>	0.945	4.2	10	7	-1.3	42	Fakültatif aerob

*WPS: Water Phase Salt (Gıdaların su fazındaki tuz derişimi)

1.4.2. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrionacea familyasına ait gram negatif, sporsuz, çubuk veya eğrilmiş çubuk şeklinde, hareketli halofilik bir organizmadır. Bu nedenle üremesi için belli bir tuz konsantrasyonuna ihtiyaç duyarlar. Ancak yüksek tuz konsantrasyonlarında üreyemezler. Distile suda inaktive olurlar. Üremesi için gerekli NaCl konsantrasyonu suşa bağlı olup %1'in hemen altında veya üzerindedir. En iyi üreme %3 tuz konsantrasyonunda gözlenir. Mezofilik bir bakteri olup laboratuvar besiyerinde optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Üremenin görüldüğü sıcaklık aralığı 5-43°C'dir. Minimum sıcaklık derecesinde pH ve tuz

konsantrasyonunun önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Optimum pH 7.5-8.5 arasındadır. Üreme pH aralığı 5-11'dir (Kaysner, 2000; Hara-Kudo, 2001; Huss vd., 2003).

V. parahaemolyticus halofilik bir organizma olması nedeniyle deniz sularından ve deniz hayvanlarından (balık ve deniz kabukluları) sıklıkla izole edilir. Özellikle ılık kıyı sularında, körfezlerde, nehir ağızlarına yakın deniz sularında rastlanır. Deniz sularından izolasyon sıklığı ve organizma sayısı, deniz suyu sıcaklığına, dolayısıyla mevsime göre farklılık gösterir. Yaz aylarında daha sıklıkla izole edildiği ve konsantrasyonunun yüksek olduğu bilinmektedir (Huss vd., 2003).

Deniz ürünleri *V. parahaemolyticus* gıda zehirlenmelerinde en önemli kaynağı oluşturur. Deniz ürünlerinde rastlanma sıklığı ve yeni avlanan ürünlerde konsantrasyonu düşük ($\leq 10^2$ /g) olmakla birlikte yaz aylarında bu sayının 10^3 - 10^4 düzeylerine ulaştığı ve satış aşamasında arttığı bilinmektedir. Zira organizma oda sıcaklığında (18-22°C) hızla çoğalır. İnkübasyon süresi 2-48 saat arasında değişir, ortalama 12-48 saattir. Bu süre efektif doza, gıdanın yapısına ve mide asitliğine göre değişir. *V. parahaemolyticus* gıda zehirlenmesinde birkaç gün (2-3 gün) içinde iyileşme görülür (Hara-Kudo, 2001).

V. parahaemolyticus'un ılık kıyı sularında yaygın bir şekilde bulunuşu, bu sulara avlanan deniz ürünlerinin özellikle sıcak aylarda bu organizma ile kontaminasyonunu kaçınılmaz kılmaktadır. Ayrıca organizmanın üreme hızının yüksek oluşu (çiğ istavritte 37°C de 13 dakika, 30°C'de ise 15-18 dakika) uygun şartlarda avlanıp işlenmeyen, dağıtımı sağlanamayan ve depolanamayan çiğ balıklarda başlangıçta düşük olan sayının hızla yükselmesinin nedenlerindedir (Huss vd., 2003).

Düşük sıcaklıkta depolama bu bakteri sayısında düşüş sağlar ancak düşüş sayısı gıda matriksi (gıdanın yapısı), tuzluluk ve diğer faktörlere de bağlıdır. Isıya çok hassastır ve pişirmeyele yok edilir. D değeri 50-60°C'de 0.3-0.8 dakikadır (Kaysner, 2000, Huss vd., 2003; FDA, 2008).

Koruma-Kontrol: Ilık aylarda özellikle istiridye ve midyede risklidir. 5°C'ye soğutmak gelişimini önlediği bildirilmiştir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında (>%10) asitlendirme ve yarı-korumalı ürünlerde büyümesini önlediği belirtilmiştir. İyi hijyen planı (İHP) ile çapraz kontaminasyonun önlenmesi de koruma ve kontrolde önemlidir (Huss vd., 2003).

1.4.3. *Listeria monocytogenes*

Gram (+) çubuk şeklinde, 37°C'de insan vücut sıcaklığında gelişebilen hareketli bakteridir. Aynı zamanda psikrotolerant ve halotoleranttır. Bilinen 7 *Listeria* türü vardır ve yalnızca *L. monocytogenes*'in insanda patojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. *L. monocytogenes* 13 serotipe ayrılır [somatik (O) ve flegallar (H) antijene göre]. Ancak insandan izole edilen en çok sayıdaki izolat 3 serotipe aittir (Huss vd., 2003).

Listeriyozis, en iyi bilinen formda bir invaziv hastalıktır ve gıda maddesiyle geçer. Sık görülmez. En fazla görülen grupları; bağışıklık sistemi zayıflamış kişiler, yaşlılar, HIV enfeksiyonlular, transplant hastalar, hamile bayanlardır (hamile bayanlarda bebeği dışlamamak için bağışıklık sistemi zayıflıyor). Ölüm oranı risk gruplarında yüksek olup %20-40 arasında rapor edilmiştir. Hamile bayanlarda düşüklerle sonuçlanır. İnkübasyon periyodu çok değişken olup 1-91 gün arasında değişir. Bu da hastalık kaynağının tespitini oldukça zorlamaktadır. Batı ülkelerinde görülme sıklığı 100 000 kişi de ~0.5 olay şeklindedir. Hamile bayanlarda orta şiddette grip benzeri şikayetle gelirken fetüste ciddi etki gösterir.

L. Monocytogenes'in aynı zamanda sağlıklı ve tutsülü alabalık yiyen insanlarda non-invaziv fibrile gastroenteritis'in de etkeni görüldüğü rapor edilmiştir. Bu türün yoğunluk derecesi bilinmemektedir. Listeriyozis tipik olarak işlenmiş, endüstriyel, raf ömrü düşük sıcaklıklarda uzatılmış hazır gıdalardan kaynaklanır. Bunlar yumuşak peynirler, salatalar ve hazır balık ürünleri (soğuk tutsülü balık) vs'dir. Çeşitli risk tahminlerinde düşük sayıda hücreler enfeksiyon riski taşıyabilir bile vakaların büyük çoğunluğu (>99) yüksek oranda bakteri taşıyan gıdalarda görülür (FDA,2001a). Buna rağmen, bazı ülkelerde (ABD dahil) '0' tolerans istenir. Örn. 25 gr. gıdada hiç bulunmamak koşulu mevcuttur (Huss vd., 2003).

Epidemiyolojik bulgular listeriyozisin tutsülü midye, graved alabalık (bir tür fermantasyon çeşidi) ve tutsülü alabalıkla ilgili olduğu söylenir. Organizma genel çevrede, çürüyen bitkilerin bulunduğu yerlerde bulunur. Aynı zamanda insan bağırsak sisteminde %2-6 sağlıklı taşıyıcı insan vardır. Tipik olarak akuatik ve deniz kaynaklı değildir. Yani açık deniz suları ve yeni yakalanmış balıklardan izole edilmez. Daha çok işlenmiş balıktan kolayca izole edildiği bildirilmiştir. %3-40 arasında tüketime hazır deniz ürünlerinde *L. monocytogenes* (+) rapor edilmiştir (Huss vd., 2003).

Özellikle işleme ortamında bulaşma söz konusudur. Kullanılan aletler ve tuzlu su deposu kaynak olabilir. Isıl işlem gören ürünlerde de özellikle son işleme aşamasında

kontaminasyon söz konusudur. *L. monocytogenes* ısıya ve fiziksel şartlara toleranslı olduğu buzdolabında muhafaza edilen gıdalarda gelişebilir. Tüketime hazır deniz ürünlerinde kontrol altına alınması zordur. Çeşitli çalışmalarda salamura karides ve soğuk tütümlü balıklarda hızlıca geliştiği görülmüştür. Tuz konsantrasyonu büyüme potansiyeli değerlendirmede kritiktir. Bakteri %3-4'lük tuz çözeltisinde hızla büyürken %7-8'de yavaşlar. %2.5'lük asetik asit kullanılan yarı işlenmiş deniz ürünlerinde tuz konsantrasyonu çok önemli değildir.

Önleme ve kontrol: Ortamın bu organizmadan korunması için zemin ve drenaj sisteminde sitrik asit kullanımı uygundur. Nitrat, laktat, dilaktat ve bakteriyosinler gelişmeyi geciktirir veya önler. Isıl işlem de birincil işlem olarak uygulanır. Bu bakteriye, somon balıklarında morina balığına göre yüksek oranda rastlanmıştır. D₆₀ değeri 4.5 dakika somon ve 1.8 dakika morina için gereklidir. Somonlardaki yüksek lipid içeriğinin ürünü koruduğu kabul edilmektedir. Listeriyozis, Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktaları Belirleme Planı (HACCP) ve İHP uygulamaları ile kontrol altına alınabilir. Bazı hazır yemek şeklindeki deniz ürünlerinde işleme esnasında kritik kontrol noktalarının tanımlanması oldukça zordur. Kontaminasyonun İHP ile önlenmesi mümkündür. *L. monocytogenes* bazı temizleme maddeleri ve dezenfeksiyonlara karşı hassastır. Klor, iyot, asit aniyonik ve kuanternary amonyum tipi sanitasyon maddeleri etkilidir. Birçok risk tahminleri *L. monocytogenes*'in düşük düzeylerde hergün alındığında herhangi bir ters etkiye sebep olmadığını gösterir. Limit olarak 100 cfu/g gıda güvenlik objektifi önerilir. Mikrobiyal kriter 20 örnek; m= 100 cfu/g, c= 0 (tüketime hazır gıdalar için önerilir. Burada organizma gelişimi için potansiyel vardır (Huss vd., 2003).

1.4.4. Doğal Olarak İnsan ve Hayvan Kökenli Olan Bakteriler

Stafilokokal enterotoksin gastroenteritis, pişmiş- kabuklu istiridyede rapor edilmiş ve diğer hazır yenen ürünlerde Salmonellozis veya Shigellozis'e sebep olduğu bildirilmiştir. Çoğu enfekte hayvandan kaynaklanmıştır. Salgınların sadece 1/3'ünün gıda kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Huss vd., 2003). Tablo 6, bu organizmaların gıda ile ilgili korunma parametrelerini ve toleranslarını belirtmektedir. Bu tür bakterilerin çoğalmasını sınırlayıcı faktörler Tablo 5 ve 6' da belirtilmiştir.

Tablo. 6. İnsan ve hayvan kökenli bazı patojenlerin üremelerini sınırlayıcı faktörler (Huss vd., 2003).

Pathogenic bakteri	Sıcaklık °C		pH	aw	NaCl (%)
	optimum	optimum	minimum	minimum	maksimum
<i>Salmonella</i>	35-43	35-43	3.8	0.94	6
<i>Shigella</i>	35-40	35-40	4.9	0.96	5
<i>E. coli</i>	35-40	35-40	4.4	0.95	8
<i>Y. enterocolitica</i>	25-37	25-37	4.2	0.96	7
<i>Campylobacter</i>	42	42	4.9	0.99	1.5

1.4.4.1. *Salmonella*

Salmonella, *Enterobacteriaceae* familyasındandır. Salmonellozis bakteriyel enterik bir hastalıktır. Hem insanda hem de hayvanlarda görülür. ABD, Hastalık Kontrol merkezi tarafından 2 tür tanımlanmıştır. *S. enterica* ve *S. bongori*. İkincinin 6 alt tür ve birkaç serotip içerdiği bildirilmiştir. Enterika en geniş grup olup yaklaşık 1500 serotipe sahiptir. Örneğin. *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, ve *S. typhi* (Huss vd., 2003).

Salmonellozis klinik olarak kendini enterik ateş sendromu-tifoid veya paratifoid serotipleri ile- veya gastroenteritidis- non tifoid – şeklinde gösterir. Non-tifoid salmonellozis; patojene maruz kaldıktan 8-72 saat sonra insanlarda bulantı, kusma, karın krampları, ishal ve ateş belirtileri görülür. Sistemik yayılan kardiyak ve dolaşım problemleri oluşabilir. Tavuk, domuz ve sığır eti ürünleri salmonellozisin önemli kaynaklarıdır. Ayrıca yumurta özellikle *Salmonella* olaylarına neden olur. Son zamanlarda hazır sebze ürünlerinde de salmonellozise rastlanmıştır. Deniz ürünlerinde sık görülmez ancak vakalar artmaya başlamıştır. Enfekte doz 10^6 hücre gibi yüksektir, ancak 10-100 gibi düşük enfekte dozlar da rapor edilmiştir (Huss vd., 2003).

Su ürünlerinde rastlanması: Global dağılım gösteren *Salmonella* tipik olarak mezofildir. Kaynakları kuşlar dahil hayvan ve insan barsak sistemidir. Aynı zamanda insan ve hayvan kanalizasyon sistemiyle kirlenmiş sularda da bulunur. Özellikle nehir ağzlarında ve diğer kirli sularda yaşayan kabuklular *Salmonella*'yı vücutlarında biriktirirler. Bu nedenle çiğ istiridye de salmonellozis olaylarına sebep olan kaynaklardandır Açık deniz suları *Salmonella*'dan arıdır ancak nehir ağzları, kontamine kıyısız sular patojen için yeterli kaynaklardır. Kötü hijen koşulları organizma geçişine neden olabilir (Huss vd., 2003).

Balık örneklerinin %10-15'ü oranında Hindistan ve Meksika'da *Salmonella* pozitif çıkmıştır. *Salmonella*'nın bazı serotipleri balık çiftliklerinde yaygın hale geldiğine dair kanıtlar vardır. Güney doğu Asya ve Asya'da tavuk gübresinin de balık çiftliklerinde havuzlarda fertilizer (gübre) olarak kullanıldığı yerlerde *Salmonella* kontaminasyonu olmaktadır. Pişmiş ürünlere de çiğ canlı veya diğer ürünlerden bulaşması söz konusudur. Mezofilik olup, 5-45°C'de yaşayan ve optimum 37°C'de çoğalan bakterilerdir. Vejetatif hücreler ısıya hassastır ve pastörizasyonla öldürülebilirler. D değeri 60 °C'de 1-3 dakikadır. Düşük su aktivitesinde iyi gelişmezler ancak kuru ürünlerde örneğin balık yeminde yaşadıkları tespit edilmiştir. pH 4.5'in altında gelişemedikleri bildirilmiştir (Huss vd., 2003).

1.4.4.2. *Shigella*

İnsan patojenidir. 4 tür *Shigella* bilinmektedir. *Shigella* diğer bir *Enterobacteriaceae* genusu ve *Escherichia* ile benzerdir. *Shigella dysenteriae*, basilli dizanterinin en ciddi haline neden olurken *S. sonnei* hastalığı orta şiddette geliştirir. Enfekte dozu 10-100 hücre gibi çok düşüktür. 7 saat ve 7 gün arası inkübasyon süresi vardır. Belirtileri, karın ağrısı, kusma, ateş ve sulu ishaldir. Çocuklarda özellikle gelişmekte olan ülkelerde *Shigella* ishali her yıl yüz binlerce ölüme neden olduğu bildirilmiştir. Enfeksiyon geçişi en çok dışkı-el yolu ile insandan insana olur. Shigellosis olayları mevsimsel özelliktedir ve sıcak yaz aylarında meydana gelir (Ünlütürk ve Turantaş 1999; Huss vd., 2003).

Salmonella'dan farklı olarak *Shigella* belirli bir gıda ile ilgili değildir. Kötü hijyen şartlarına gıdanın muamelesi ve insanlar bu bakterinin kaynağını oluşturur. İstiridye ve deniz tarağı gibi su ürünleri shigellosis olaylarına neden olmuştur. Doğal olarak suda bulunmazlar ancak suda 6 aya kadar yaşayabilirler. İstiridye ve deniz tarağında çok uzun süre dayanabildikleri bildirilmiştir. Olaylar tipik olarak önceden pişmiş veya çiğ gıdalarda hazırlama esansında kötü hijyen şartları ile enfekte personelle bulaşır. Bu bakteriler de mezofilik olup, 5-7°C'nin altında yaşamayan, tuzlama ve ısıtmaya hassas mikroorganizmalardır. Çift kabuklu yumuşakçalarda uzun süre yaşayabilirler (Huss vd., 2003).

1.4.4.3. Patojenik *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesidir. İnsan ve hayvan bağırsak sisteminde en çok rastlanan mikroorganizmalardır. Çoğu suşları bağırsak fizyolojisinin sağlanmasında önemli rol oynama olasılığı olan, zararsız kommensal koloniler halinde bulunur. Ancak bazı suşlar patojendir ve ishale neden olur. Farklı serotipleri vardır. Patojen *E. coli* spesifik gruplara ayrılır; Enteropatojenik *E.coli* (EPEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC), Difüz-adering *E. coli* (DAEC), Enteroagregatif *E.coli* (EAggEC), Enterohemorajik *E coli* (EHEC), Verotoksik *E. coli* (VTEC) (Huss vd., 2003).

EPEC: Sulu ishal-bulantı ve ateş yapar. Özellikle çocuk ve bebeklerde hastalık yapar. EIEC: *Shigella*'ya benzer ishal yapar. ETEC: *V. cholera*'nın ishaline benzer ishal yapar; gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda ve yolculuk eden yetişkinlerde kolera toksini üretir. DAEC ve EAggEC: çeşitli tipte ishal yapar. *E. coli* O157:H7 en yaygın EHEC serotipidir. Enfekte dozu çok düşük olup 2-2000 hücreli dozların rastlanan zehirlenme olaylarında görülmüştür (Huss vd., 2003).

Ana kaynağı fekal bulaşılı sular ve bulaşılı ellerdir. EHEC az pişmiş sığır eti ve çiğ sütte bulunduğu durumlarda zehirlenme olayları meydana gelir. Su ve akuatik ortamın tipik suşu olmamasına rağmen *E. coli* iyi yıkanmamış ellerle çapraz kontaminasyon veya kirli su ile organizma transferine neden olur. Bu durum özellikle çift kabuklu yumuşakçalarda rastlanır. Tüm *E. coli* suşları mezofilik organizmalar olup optimum çoğalma 37°C'de olur. Soğuk ortamlarda çoğalamazlar ve hafif bir ısıl işlemle hızlı bir şekilde yok edilirler. Bu bakterilerin izolasyonu için genellikle 44°C kullanılır, ancak EHEC türleri bu dereceye hassastır. *E. coli* serotipleri genelde tuzlu ve asitli ortamlara hassastırlar. Ancak EHEC sero tiplerinin asitli koşulları tolere edebildiği bildirilmiştir (Huss vd., 2003).

Barsak kökenli bakterilerin kontrolü: Özellikle tüketime hazır gıdalarda iyi hijyen uygulamaları, kullanılan suların iyi klorlanması ve kanalizasyon atıklarının sanitasyon prensiplerine uyularak yapılması kontrol için iyi yöntemlerdir. *Shigella* ve *E. coli*'nin düşük dozlarda zehirlenmelere yol açmasından dolayı bu mikroorganizmaların gıdada çoğalmalarını engellemek gereklidir. Özellikle soğuk depo ve tuzlama etkilidir. *Salmonella*'ya gıdada rastlanılmaması gereklidir. Bu nedenle iyi tespit yolları bulunmalı ve ürünler test edilmelidir. Kirli sulardan avlanan ürünlerin tüketilmemesi tavsiye edilmektedir. Özellikle çift kabuklu yumuşakçaların hasat bölgelerinin bakteriyel bulaşma yönünden iyi izlenmeye alınması gereklidir (Huss vd., 2003).

1.4.4.4. *Staphylococcus aureus*

Çok farklı türleri olan *Staphylococcus* cinsinin *S. aureus* türü özellikle gıda zehirlenmeleriyle ilişkilidir. Gram pozitif, kok ve ana yerleşim yeri sıcakkanlı hayvan ve insanların deri, mukuslu zar bezlerinde rastlanır. Özellikle enfekte olan yara ve çiziklerde bu türe rastlanır. Bu bakterinin çevrede canlı kalma yeteneği iyidir ve insan veya hayvanlardan kontamine olan pek çok kaynaktan izole edilirler. Bu bakteriden kaynaklanan hastalık, bakterinin toksininden kaynaklanan intoksikasyon şeklindedir. Toksini alan kişilerde mide bulantısı, kusma, karın krampları ve bazen ishal rastlanır. Enterotoksin gıdada oluşur ve bu nedenle bakterinin gıdada çoğalması önem taşır. Hastalık için inkübasyon süresi çok kısadır, hastalık gıda tüketiminden sonra 2-4 saat içinde başlar. Zehirlenme 24-48 saat sürer fakat çok hoş olmayan rahatsızlık dönemi yaşanır (Huss vd., 2003).

Toksin üretimi için bakteri sayısının 10^6 cfu/gram'ın üzerinde olması gerekir. *S. aureus* mezofilik bir organizmadır. Bu nedenle depolama sıcaklığındaki yanlış uygulamalar bu bakteriden zehirlenmelere neden olur. Ancak Staphylococci zayıf bir yarışçı olması nedeniyle diğer mikroorganizmaların varlığında iyi çoğalamazlar. Bu nedenle çiğ ürünlerden izole edilmesine rağmen burada toksik düzeye erişme düzeyine kadar üreyemezler. Bu bakteri yüksek tuz konsantrasyonlarına toleranslıdır. %10-15 tuz konsantrasyonunda toksin üretebilirler. Çoğalmaları ve toksin üretmeleri pişirilmiş kabuklu su ürünleri (*Crustacea*) riskli gıdalar arasındadır çünkü kabuktan ayırma esnasında ellerden bulaşma rastlanabilir (Huss vd., 2003).

Koruma ve kontrol gıdaları uygun soğutma yöntemiyle sağlanabilir. Ayrıca pişirilmiş ürünlerin çapraz kontaminasyonu ve insanlardan kontaminasyonundan kaçınılması gerekir. Bu arada iyi hijyen planı ile bu durum sağlanabilir. Toksin mide asidiyle bozulmaz ve ısıya çok dayanıklı olduklarından kaynatma ile toksin yok edilemez. Ancak toksin normal konserve işleme görmüş ürünlerde normalde rastlanmaz ancak sonradan bulaşma veya yetersiz işlemden kaynaklanabilir (Huss vd., 2003).

1.4.5. Tuzlanmış Su Ürünlerinin Gıda Güvenliği Açısından Kontrolü

Huss vd (2003) tuzlanmış su ürünlerini gıda güvenliğini kontrol altına alma açısından üç farklı gruba ayırmıştır. Buna göre 1. grup tuzlanmış ürünleri 'düşük muhafazalı ürünler'

şeklinde sınıflandırıp; bu tür ürünler su fazlı tuz (Water phase salt WPS) <% 6 ve düşük asit içeriğine sahip (pH >5.0) olan ürünleri kapsar. 2. gruptakiler ise ‘yarı – muhafaza edilmiş ürünler’ olup WPS % > 6 ya da pH < 5.0 olan ürünleri içine alır. 3. grup ise ‘kurutulmuş, dumanla-kurutulmuş, yoğun-tuzlanmış ürünler’ olup, bu ürünler yüksek tuz içerikli WPS > %10 ve /veya çok düşük su aktivitesine sahiptirler ($a_w \sim 0.85$).

Düşük muhafazalı balık ürünlerde koruyucular (sorbit, benzoat, NO_2 , duman) uygulanabilir ya da uygulanmayabilir. Bu ürünler ya çiğ ya da önceden pişirilmiş ürünlerden üretilirler, ancak işlenmiş ürün tüketimden önce herhangi bir pişirme aşaması geçirmez. Bu tür ürünler, tuzlanmış, marinat, soğuk tütsü ve gravad balık ürünlerini de içermektedir (Huss vd., 2003). Ülkemizdeki ürünlerden fabrikasyon olarak hazırlanmış soslu hamsi ve lakerda ürünlerinin düşük tuz içeriği nedeniyle bu gruba girdiği düşünülmektedir (Köse vd., 2007). Bu tür ürünlerin çok kısa raf ömrüne sahip olduğu bilinmekte ve tipik olarak yaklaşık $5^\circ C$ 'de depolanması önerilir. Düşük muhafazalı ürünlerde su ortamı ve genel ortamlardan çeşitli patojen bakteriler bulaşabilir. Bunlar arasında *C. botulinum*, patojenik *Vibrio sp.* ve *L. monocytogenes* bulunmaktadır. Bu bakterilerin düşük seviyede bulaşması beklendiği için fazla tehlike arz etmese de bu patojenlerin hem ham maddede hem de işlenmiş üründe çoğalmasına ve toksin üretmesine izin verildiği zaman tehlike yüksek olmaktadır. Ayrıca işleme esnasında bulaşma yoluyla geçen özellikle insan ve hayvan kökenli bakteriler risk oluşturabilir. Bu durum ise ön koşul programları (iyi hijyen ve iyi üretim programları= İHP, İÜP) ile önlenebilir (Huss vd., 2003; FDA, 2008).

Biyojenik aminlerin özellikle histaminin varlığı ise Scombroid ve serbest histidin amino asidi içeriğini fazla oranda bulunduran balık türlerinde risk taşır. Bu aminleri üreten dekarboksilaz aktivitesine sahip pek çok bakteri türü bildirilmiştir. Biyojenik amin üretimi hem ham madde aşamasında hem de işleme ve depolama aşamasında oluşabilir (Köse, 1993; Shalaby, 1996; Lehane ve Olley, 2000). Bu tür ürünlerde *C. botulinum* üremesi işlenmiş balıktaki WPS %3.5 ve $\sim 5^\circ C$ 'de depolamakla önlenebilir. Ancak *L. monocytogenes* üremesinin kontrolü için bu tür ürünlerde etkili bir koruma yöntemi bilinmemektedir. Buna rağmen alternatif olarak ürünün raf ömrünü düşürerek bu patojenin üremesi sınırlandırılabilir. Düşük sıcaklıkta depolama ($<5^\circ C$) tümü olmasa da pek çok histamin üreten bakterinin üremesini durdurabilir (Köse, 1993; Shalaby, 1996; Lehane ve Olley, 2000; Huss vd., 2003).

2. grup ürünlerde yine koruyucular (sorbit, benzoat, nitrat) tercihe bağlı olarak eklenebilir veya eklenmezler. Bu ürünlerin soğukta ($<10^{\circ}\text{C}$) saklanması gerekmektedir ve 6 ay ya da daha fazla süre raf ömrüne sahiptirler. Genelde, ne işleme sürecinde ne de tüketime hazırlanırken pişirme işlemi uygulanmaz. Geleneksel üretim ham materyalin son işleme sürecine gelmeden önce uzun süre (birkaç ay) olgunlaşmayı içerir. Buradaki üründen kasıt tuzlanmış, marine edilmiş, fermente balık ve havyardır. Bu tip işlenmiş ürünlerin bakteriyel toksinlerin (örn. botulizm), parazitler, biyotoksinler ve histaminin varlığına bağlı olarak hastalıkların etkeni olduğunu gösteren epidemiyolojik veriler mevcuttur (Huss vd., 2003; FDA, 2008).

Bu tür ürünlerde akuatik ve çevreden (genel ortamdan) kaynaklanan patojenik mikroorganizmaların normalde az sayıda bulunmasından dolayı bu tür bakterilerin fazla risk oluşturmadığı düşünülmektedir. Ancak doğal olarak ortamda bulunmayan, kontamine patojenlerin (bakteri ve virüslerin) risk taşıdığı bilindiği için olası zararları bir ön programla engellenmelidir. Eğer uygun koşullarda işlenir ve $\sim 10^{\circ}\text{C}$ ısıda (veya altındaki) saklanırsa olası patojen bakterinin ve toksinin gelişimi engellenir. Bununla birlikte iyi muhafaza edilmemiş ham materyalde (balıklarda) mikrobiyal gelişim ve toksin üretiminin olabileceği bilinmektedir. Botulinum toksini dahil olmak üzere bakteriyel toksinler, yüksek tuz ve düşük pH' da çok stabil olduğu bildirilmiştir (Huss ve Rye Petersen, 1980). Başlangıçta işlenmemiş üründe bulunan herhangi bir toksin işlenmiş ürüne taşınabileceğinden dolayı bu tür tehlikelerin kontrolü için hasattan başlayarak tüketime kadar tam bir kontrol sistemi gerekir (Huss vd., 2003).

Aynı şekilde mikrobiyal aktiviteler sonucu oluşan biyojenik amin üretimi hem işlenmemiş materyalde hem de işlenmiş üründe bulunabilir. Kontrol de yetersizlik varsa scombroid ve histidin içeren diğer balıklarda risk yüksektir. Bu nedenle kontrol yine ham materyalden başlayarak ele alınmalıdır. Bu tür ürünlerde patojen kontrolü için kritik limitler ham materyalin kontrolünde sıcaklık $<5^{\circ}\text{C}$ 'de, işlenmiş ürünlerin $<10^{\circ}\text{C}$ 'de tutulması, tuzlama aşamasında ise kritik limit %WPS'nin 6, asit veya koruyucular katılarak eklenerek koruma saklandığı durumlarda pH'ın ise 5 olması önerilir (Huss vd., 2003).

'Kurutulmuş, dumanla-kurutulmuş, yoğun-tuzlanmış ürünleri' içine alan üçüncü grup ürünlerin yüksek sıcaklıklarda genellikle stabil olarak kaldıkları ve bu nedenle dağıtımları ve depolanmaları oda ısısında yapıldığı bildirilmiştir. Eğer uygun koşullarda üretilirlerse bu ürünler oda ısısında bile patojen içermezler. Ancak tuza en toleranslı patojenik organizma *S. aureus* 'tur (a_w 0.83'de gelişebilen ve a_w 0.85'de toksin üreten) ve kurutulmuş

ürünlerde sorumlu patojen olarak kabul edilir. Bu nedenle bu ürünlerin işlenmesinde kritik nokta balığın en kalın kısmında a_w 0.85'in altına veya WPS %10 'a ulaşana kadar olan süre olarak bildirilmiştir. Bu nedenle büyük balıkların (>15 cm büyüklüğünde) işlenmeden önce barsakları çıkarılmalıdır. Aynı şekilde *C. botulinum* da ham madde aşamasında risk taşıyabilir. Enteropatojenik bakteri ve virüslü tuzlanmış veya kurutulmuş balığın kontaminasyonu ön işleme programına tabi tutularak olası zarar engellenebilir (Huss vd., 2003).

Ülkemizde yukarıda bahsi geçen ürün grupları arasında lakerda ve baharat soslu ürünler farklı firmalar tarafından farklı şekillerde işlendiği için tuz içeriği, pH ve su aktivitesinde farklılıklar gösterdiğinden dolayı hem 1. grup ürün tipine hem de ikinci gruba girmektedir. Bu tür ürünler fabrikasyon olarak büyük su ürünleri işletmelerinde hem de perakende satıcı olan küçük balıkçılarda, ayrıca evlerde de üretildiği tespit edilmiştir. 2. grup ürünlere ayrıca ülkemizde yeni ortaya çıkartılmış marinat ve tütsü ürünler girmektedir. Ülkemizdeki 3. grup ürünleri daha çok evlerde veya küçük balıkçılar (perakende satıcılar) tarafından kuru tuzlanmış ya da yoğun tuz kürü uygulanmış ürünler temsil eder. Ayrıca, çiroz hamsi, soğuk tütsü ve hatta bazı lakerda ürünleri gibi diğer ürünlerin de bu grupta yer aldığı gözlenmiştir (Köse vd., 2007).

Mevsimsel avı olan özellikle hamsi ve ayrıca palamut, uskumru ve tirsi gibi bazı balık türlerinin Karadeniz bölgesinde yaygın olarak avlanması nedeniyle bu ürünlerin muhafazasında kuru tuzlama, salamura ve lakerda yöntemiyle işleme çok yaygındır. Bu bölgede su ürünleri işleme fabrikalarının azlığından dolayı bu tür ürünlerin fabrikasyon üretimiyle piyasaya sürülmesi azdır. Bu nedenle, bu ürünler ya evlerde kişisel üretim ya da perakende satış yapan küçük balıkçılar tarafından yaygın olarak üretilmektedir. Ancak bu bölgede kontrolsüz yapılan üretimlerde ham maddenin ve işlenmiş ürünlerin uygun koşullarda saklanmayışı ve hijyenik ortamlarda muamele edilmemesi nedeniyle, patojen bakteriler ve biyojenik amin üreten bakteriler açısından tehlikeli oldukları düşünülmektedir. Bu nedenle bu çalışma konusunda, bazı patojen bakterilerin Karadeniz'de küçük balıkçı satış yerlerinde ve evlerde üretilen tuzlanmış ürünlerdeki varlığı ve ayrıca bu bakterilerin biyojenik amin üretimi için risk oluşturan diğer bakterilerin üremesini sınırlayıcı faktörler açısından incelenmesi amaçlanmıştır.

1.5. Bu Konuda Yapılmış Önceki Çalışmalar

Karaçam vd., (2002) laboratuvar koşullarında salamura yöntemiyle farklı tuz konsantrasyonlarıyla 5 ay depolayarak ürünlerdeki duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler açısından incelemişlerdir. Bu çalışmada oda koşullarında depolanan hamsi örneklerinde bu değerler açısından kötü kalitede olduğu; en iyi kaliteyi ise buzdolabı koşullarında depolanan ve %22 ve %26 tuz salamurada tuzlanmış ürünlerin gösterdiği gözlenmiştir.

Srikar vd., (1993) aldıkları uskumru ve levrek balıklarını, her biri 8 kg olan 2 gruba ayırmış, %25'lik tuz ile kuru tuzladıktan sonra bir grup balığı oda sıcaklığında (26 °C), diğerini ise 2.5°C'de depolamışlardır. Daha sonra 15 günde bir aldıkları numunelerin duyuşal, kimyasal ve bakteriyolojik analizlerini yapmışlardır. Bu çalışmada, halofil bakteri sayısının başlangıç değeri 2 log (cfu/g) iken, oda sıcaklığında depolanan uskumrulara 21. ve 35. günlerde sırasıyla 3.7 ve 4.4 log (cfu/g) düzeyinde belirlenmiştir. Levrek balığının çevre sıcaklığında muhafaza edilenlerinde 21. ve 50. günlerde 3. ve 4.5 log (cfu/g) olarak tespit etmişlerdir, 2.5 °C'de 60.ve 120. günler için ise sırasıyla 3.8 ve 4.2 log (cfu/g) olarak saptamışlardır.

Salama vd., (1993) yılan balığını %7.5 ve %15 tuz konsantrasyonlu salamuralarla tuzladıktan sonra tütsülenmiş örnekler üzerinde çeşitli analizler yapmışlardır. Farklı bakterilerin sayımının yapıldığı bu çalışmada, total bakteri sayısının % 7.5 tuz konsantrasyonunda 6 haftalık depolama süresince yaklaşık 6.5 log (cfu/g), %15'likte ise 5.5 log (cfu/g) düzeyinde kaldığı saptanmıştır.

Diğer bir çalışmada, çeşitli balıklar kuru tuzlamaya tabi tutulmuş ve bakteriyolojik analizlerde, total bakteri sayısı numunelerinin % 4.19'unda 10^5-10^6 /gr, geri kalanlarda ise 10^2-10^5 /gr arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca halofil bakterilerin tespitine çalışılmış ve örneklerin %62.01'inin üzerinde (deri ve dokuda) kırmızı renk oluşumu görülmüş, bunun halofil bakterilerden kaynaklandığına hüküm verilmiştir Del Vale vd. (1973), yaptıkları kuru tuzlama çalışmasında kefile 40, köpek balığına 25, uskumruya ise 45gr tuz/100gr et ilave etmişlerdir. Tuzlamaya alınmadan önceki köpek balıklarındaki total bakteri sayısını 6 log (cfu/g), tuzlandıktan sonra 2. ayda 7, 3. ayda 6 log (cfu/g), uskumru için ise 5.2, 6, 5.4 log (cfu/g) olarak saptanmıştır. Halofil bakteri sayısının da belirlendiği bu çalışmada, köpek balığında 1. aydaki halofil bakteri sayısı 6.1 log (cfu/g) düzeyine

düşmüştür. Bu değerle kefallerde 5.5, 5.6, 5.3 log (cfu/g), uskumruda ise 4.2, 5 log (cfu/g) ve 3. ayda ise halofil bakteri ürememiştir.

Ihsida vd., (1976) aldıkları uskumru balıklarını %5 ve %15 konsantrasyonda tuzladıktan sonra 0⁰C ve 10⁰C'de depolamışlardır. Bakteriyolojik çalışmaların da yapıldığı araştırmada, total bakteri sayısı 0⁰C'de depolanan, % 5 konsantrasyonda bulunan örneklerde başlangıçta 3 log (cfu/g) iken, depolama süresince küçük iniş-çıkışlar görüldükten sonra 75. günde yaklaşık yine 3 log (cfu/g) değeri tespit edilmiştir. %15' de ise 3 log (cfu/g) olan başlangıç değeri 80 günlük depolama periyodunda önemli bir değişim göstermemiştir. 10⁰C'de % 15 tuz konsantrasyonunda muhafaza edilen örneklerde 3 log (cfu/g) olan başlangıç değeri depolama süresince küçük varyanslar göstererek 40. günde 4 log (cfu/g) düzeyine ulaşmıştır. Halofil bakteri sayısı ise %5 tuz konsantrasyonunda, 0⁰C'deki balıklarda 1. ayda 2 log (cfu/g) olarak tespit edilmiş, depolama boyunca küçük varyasyonlardan sonra 75. günde yine başlangıçtaki değer saptanmıştır. %5 konsantrasyonda ve 10⁰C'de depolanan örneklerde, %15'te ve 0⁰C'de saklanan örneklerde yaklaşık yine aynı değerler bulunmuştur. %15 konsantrasyonda ve 10⁰C'de muhafaza edilen uskumrulardaki halofil bakteri sayısı 1. ayda 2 log (cfu/g) iken, depolama süresince biraz artarak 80. günde 3 log (cfu/g) olarak tespit edilmiştir.

Başka bir araştırmada, doymun salamurada (%25) tuzlanan hamsilerden 19 haftalık depolama süresince alınan örneklerle çeşitli kimyasal ve bakteriyolojik analizler yapılmıştır. Bu çalışmada sayılan mezofil bakterilerin başlangıç değeri 3 log (cfu/g), psikrofillerin ise 4.6 log (cfu/g) olduğu tespit edilmiştir. İlk günlerden itibaren iki bakteri grubu da hızlı bir düşüşe geçerek 2. haftadaki değerleri sırasıyla 1.9 ve 2.4 log (cfu/g) olarak belirlenmiş, son olarak 19. haftada mezofil ve psikrofil bakteri sayısının 2.5 log (cfu/g) olduğu ildirilmiştir (Ihsida vd., 1976).

Yamaka vd., (1985) yaptıkları çalışmalarda uskumru balığını %1, 2, 3, ve 4 konsantrasyonunda tuzlayarak 5⁰C ve 20⁰C'de depoladıktan sonra, 14 günlük muhafaza süresince balıkların histamin miktarındaki ve bakteri sayısındaki değişimleri incelemişlerdir. Total bakteri sayısının başlangıç değeri 3.9x10⁴/gr iken, %1 konsantrasyonda en yüksek total bakteri sayısına 20⁰C'de saklanan balıklarda 6. günde 1.1x10⁹/g, 5⁰C'de depolananlarda 14. günde 1.9x10⁸/g rastlanmıştır. %2'lik konsantrasyonda 20⁰C'de 6. günde 3.4x10⁹/g, 5⁰C'de 14. günde 9x10⁷/g düzeyinde bakteri tespit edilmişken, %3'lükte 20⁰C'de 6. günde (3.4x10⁷/g) seviyesinde total bakteri sayısı saptanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Örnekler

Çalışmada kullanılan örnekler iki ana gruba ayrılmıştır. Birinci grup örnekler işlenmiş şekilde piyasadan ve evlerden temin edilmiş, az bir kısmı da başka bir çalışma için laboratuvar koşullarında bilinen tuz konsantrasyonlarında işlenmiş salamura örneklerinden temin edilmiştir. Bu grup örnekler, bakteri analizleriyle birlikte, duyuşal ve kimyasal parametreleri birlikte incelenmiştir. Tablo 7 birinci grup deneylerinde kullanılan örneklerin temin yeri ve örneklere ait diğler bilgileri içermektedir. Bu grupta analize alınan türler, torik veya palamut (*Sarda sarda*), hamsi (*Engraulis encrasicolus*), tirsi (*Alosa fallax nilotica*), uskumru (*Scomber scombrus*), ve levrektir (*Dicentrarchus labrax*). Örnekler Karadeniz bölgesinden perakende balık satış yerleri ve doğrudan tüketicinin kendi yapım yeri olan evlerden temin edilmiştir.

Örnekler ya orijinal kabında veya önceden steril edilmiş kavanozlara steril pens veya çatallarla ana kabından aseptik koşullara uyularak aktarılmak suretiyle alınmıştır. Alınan örnekler, kendi depo şartlarına uygun olarak laboratuvara getirilmiştir.

İkinci grup örnekler ise Rize limanından temin edilen hamsilerin laboratuvar koşullarında bilinen tuz konsantrasyonlarında işlenmiş örnekleri temsil eder. Bu grup örnekler ise sadece bakteriyel faaliyeti sınırlayıcı kimyasal faktörler bakımından incelenmiştir. İlgili örnekler işlendikten sonra buzdolabı ve oda koşullarında saklanmışlardır. Bu örneklerin işleme şekli yöntem kısmında açıklanmıştır.

Tablo.7. Deneyde kullanılan örneklerin temin yeri, cinsi, üretim yöntemi ve yeri

İşleme Cinsi	Balık türü	Üretim Yeri	Depolama Koşulları	Örnek yeri
Kuru tuzlama	Hamsi	Balıkçı Ö (1,26,27,29)	Oda, Buzdolabı	Samsun, Ordu, Trabzon
		Ev Ö (12,40,44)	Oda, Buzdolabı	
	Palamut	Balıkçı Ö (3,11,14,23,30,42)	Oda, Buzdolabı	Samsun, Ordu, Trabzon
		Ev Ö (4,24,43)	Oda, Buzdolabı	
	Tirsi	Balıkçı Ö (21)	Oda	Trabzon
	Levrek	Balıkçı Ö (15)	Oda, Buzdolabı	Trabzon
Salamura	Hamsi	Balıkçı Ö (2,7,8,17,18,22,25,28)	Oda, Buzdolabı	Samsun, Ordu,Trabzon
		Ev Ö (6,31,32,33, 41)	Oda	
		LaboratuvarÖ34(%15NaCl), Ö35(%20 NaCl),Ö36(%25 NaCl), Ö37(%30 NaCl)	Oda, Buzdolabı	
	Palamut	Ev Ö (38)	Oda	Trabzon
	Uskumru	Balıkçı Ö (20)	Oda, Buzdolabı	Trabzon
	Tirsi	Balıkçı Ö (39)	Oda, Buzdolabı	Trabzon
Lakerda	Palamut	Balıkçı Ö (9,19,23)	Oda, Buzdolabı	Trabzon
Soslu	Hamsi	Balıkçı Ö (5,10,16)	Oda, Buzdolabı	Trabzon
Haşlanmış, sirkeli (Marinat benzeri)	Uskumru	Balıkçı Ö (13)	Oda	Trabzon

Ö: örnek. Parantez içindeki rakamlar örnek numaralarını göstermektedir.

2.2. Metot

2.2.1. Laboratuvar Koşullarında Tuzlanmış Hamsi İşlenmesi

Laboratuvar koşullarında işlenen hamsiler Ocak 2008 sonuna doğru Rize limanından doğrudan av teknesinden temin edilmiştir. Satın alınan hamsiler öncelikle iki ana gruba

ayrılmışlardır. Bu gruplardan birisi salamura yöntemiyle, diğeri ise kuru tuzlama yöntemiyle tuzlanmıştır.

Balık tuzlanırken geleneksel olarak ön tuzlama yapılır. Ön tuzlama işleminde önce balık temizlenir ve kesilir kesilmez yaklaşık olarak % 10'luk salamura içine atılır ve 2-3 saat kanın tamamen boşalması sağlanır. Daha sonra yıkanarak tuzlama işlemine devam edilir. 10-14 gün arasında oluşan hafif kanlı sıvı ya tamamen boşaltılır ya da bir kısmı boşaltılarak yerine yeni salamura eklenir. Ancak piyasada yaygın olarak tuzlanıp satılan balıkların işlenmesi esnasında yapılan gözlemlerde genellikle ön tuzlama yapılmadığı için bu işlem laboratuvar koşullarında uygulanmamıştır.

Salamuralar oranlarına göre %10, 15, 20, 25 ve 30 oranlarında 2 litre salamurada hazırlanmıştır. Daha sonra bu salamuralar 3 litrelik cam kavanozlara 2:1 oranında koyulmuştur (2 kısım salamura 1 kısım balık, yaklaşık 1600 gr balık için 2 L salamura kullanılmıştır). Balıklar kavanozlara düzgünce dizilmiştir. 3-4 sırada bir hafifçe bastırılarak arada çok hava boşluğu oluşması önlenmiş olup üzerine ağırlık koyulmuştur. Daha sonra salamura ilave edilip kavanoz sallanarak kalan havanın çıkması sağlanmıştır. 2 hafta sonra salamura kavanozlarındaki kanlı sıvı tamamen boşaltılarak yerine aynı oranda hazırlanmış yeni salamura sıvısı ilave edilmiştir.

Kuru tuzlama yönteminde ise oran 3:1 (3 kısım balık 1 kısım tuz 1800 gr balık için 600 gr tuz eklenmiştir) kullanılmıştır. Kavanozun altına 1 kat tuz serildikten sonra 1 kat balık 1 kat tuz olacak şekilde dizilmeye devam edilmiştir. 3-4 sırada bir hafifçe bastırılmıştır. En üst kat tuz ile örtülmüştür. Kuru tuzlamada yine 2 hafta sonra sadece kanlı sıvı boşaltılmıştır.

Daha sonra her bir grup örnekleri işlenmiş durumda iki alt gruba ayrılmıştır. Birinci grup buzdolabı koşullarında muhafazayı, diğeri ise oda koşullarında muhafazayı temsil etmiştir.

2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

Ticari olarak ya da tüketicinin kendi evinde çeşitli geleneksel tuzlama-işleme yöntemlerini kullanarak yaptığı, sattığı veya tükettiği çeşitli türlerdeki balıklardan alınan toplam 51 balık örneğiyle çalışılmıştır. Örneklerin 44 tanesi işlendikten 7-12 ay, 7 tanesi ise buzdolabında 1 ay bekletildikten sonra duyuusal ve mikrobiyolojik incelemeye alınmıştır. Bir ay sonra incelemeye alınan örneklerde duyuusal analiz ve kimyasal analizler yapılmamış, yalnızca

mikrobiyolojik yönden incelemeye alınmıştır. Bu örnekler diğer 44 örnekten farklı olarak ayrıca total mezofilik bakteri sayımı uygulanmıştır.

Mikrobiyolojik çalışmada örneklerin tümü 2-3 paralelli olarak çalışılmıştır. Mikrobiyolojik analizlerde *Salmonella tyhimirum* (ATTC 14028) Ref. 9016000, *S. aureus* (CL9017010) Ref. 4007010, *E. Coli 0157:H7-VT(V)* (NCTC 12900) Ref. 9011967, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) Ref. 4603970, *Enterobacter facealis* (ATCC 29212) Ref. 4607030 kullanılmıştır.

2.2.2.1. Total Mezofilik Bakteri Sayımı

Yalnızca 1 aylık örneklerinde uygulanmıştır. Fekal koliform sayısının belirlenmesinde olduğu gibi homojenat ve dilüsyonlar hazırlanarak Plate Count Agar (PCA) besiyerine 0.1 ml yüzey ekimleri yapılarak 37°C da bekletildikten sonra üreyen bakteriler sayılmıştır (Kutlu, 1996).

2.2.2.2. Total Halofilik Bakterilerin Sayımı

25g örnek aseptik şartlarda tartılarak, 225ml %0.85'lik serum fizyolojikte blendırdan geçirilerek homojenize edilmiştir ve seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra %0.85 serum fizyolojikte seyreltmeler yapılmış ve her bir dilüsyondan %3, %8, %10 ve %15 NaCl içeren Plate Count Agara 0.1ml Tri-galaxi yöntemiyle yüzeye sürme ekimi yapılmıştır. Bir aylık örneklerin seyreltme aşaması %1'lik peptonlu suda yapılmış olup %8 NaCl'li PCA 0.1 ml yüzey ve 1ml dökme ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra üreyen bakterilerin hepsi sayılarak logaritmaları alınmış ve: koloni oluşturan birim (colony forming unit : cfu) ile ifade edilmiştir (Anonim, 2005; Kutlu, 1996).

2.2.2.3. Koliform ve Fekal Koliform Sayımı

İşlenmiş balık örneğinden alınan 25g, 225ml Maximum Recovery Diluent (MRD) içerisinde blendırla homojenize edildikten sonra 37°Cde 24 saat inkübe edilmiş, MRD'de hazırlanan dilüsyonlardan Violet Red Bile Lactose (VRBL) Agar, Violet Red Bile Fluorocult

VRB (Fluorocult) Agar, MacConkey Agar ve Eosin Methylene Blue Agara (EMB) dökme ve yüzey ekimleri olmak üzere ekilmiştir. Bir aylık örnekler ise alkali peptonlu suda (pH=8.6) aynı miktarlarla homojenize edilmiş ve seri dilüsyonları yapılmıştır. Bu dilüsyonlardan VRB Agara dökme; EMB Agara yüzey ekimleri yapılmıştır. Daha sonra 37°C'de 24-48 saat inkübe edilerek tipik koloniler sayılmıştır. Tipik veya koliform şüpheli bakteriler izole edilerek identifikasyona alınmıştır.

Ayrıca Total koliform ve *E. coli* tespiti için ISO Genel Amaçlı zenginleştirici (%0.1 pepton-%0.85 NaCl) içerisinde aynı miktarlarda örnek homojenize edilerek tek ve çift kuvvet laktoz broth'a ekilmiştir. 24 saat 37°C'da inkübe edildikten sonra bulanıklık ve gaz görülenlerden EMB'ye öze ile yüzey ekim yapılmış, yine aynı ısıda 24-48 saat inkübe edilmiştir (Anonim, 2005; Halkman, 2005).

2.2.2.3.1. *E. coli* ve Koliform Belirlenmesi

25gr örnek 225 ml Brillant Green Broth (BGB)'ta blendırda homojenize edilmiş, homojenattan 100 ml steril erlene alınmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra EMB ve VRB agarlara 0.1ml yüzey ekimi yapılarak aynı şartlarda inkübe edilmiştir (Anonim, 2005; Halkman, 2005).

2.2.2.4. *Vibrio parahaemolyticus* Sayımı

Aseptik şartlarda alınan ve laboratuara getirilen balık örneklerinden yine aseptik şartlarda 25g örnek tartılarak 225 ml alkali peptonlu su (pH 8.6) içerisinde homojenize edildikten sonra alkali peptonlu suda seyreltmeler yapılmıştır. Bu dilüsyonlardan yüzey ekim yöntemiyle Thiosulphate Citrate Bile Sugar Agara (TCBS) ekim yapılmıştır. Daha sonra 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. TCBS agarda yeşil, dairesel ve yaklaşık 2 mm çapında koloni oluşturan *Vibrio parahaemolyticus* kolonilerine benzer koloniler sayılmıştır.

V. parahaemolyticus belirlenmesi için ise alkali peptonlu suda homojenize edilen örnekten sayım yöntemi için dilüsyonlara gerekli miktarda aseptik koşullarda ekstraktan solüsyon alındıktan sonra geri kalan miktar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra TCBS agara öze ile sürme ekimleri yapılmıştır. Daha sonra 37°Cde 18-24 saat inkübasyona

bırakılmıştır. TCBS agarda yeşil, dairesel ve yaklaşık 2 mm çapında koloni oluşturan *Vibrio parahaemolyticus* kolonilerine benzer koloniler NaCl (30,0 g/l) ilave edilmiş Triple Sugar Iron Agar (TSIA) besiyerine (yatık) standart şekilde daldırma ve yüzeye sürme ekimleri yapılmıştır. Sonra bu ekim yapılan petripler 35-37°C’de 24 saat inkübe edilerek yüzeyi kırmızı (laktoz ve sakkaroz negatif), dibi sarı (glikoz pozitif, H₂S negatif), gaz yarıkları olmayan koloniler (glikozdan gaz oluşturma negatif) NaCl (25,0g/l) ilave edilmiş Tryptone Water besiyerine inokülasyon edilmiştir. 35-37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra indol pozitifler identifikasyon için diğer biyokimyasal ve serolojik testlere alınmıştır (2.2.3. ve 2.2.4 bölümlerinde verilmiştir) (Halkman, 2005).

Bir aylık örnekler ise %0.85 NaCl de homojenize edildikten sonra %0.1 peptonlu su ile seri dilisyonları yapılarak TCBS agara ekilmiş, 37°C da 24-48 saat inkübe edilerek üreyen tipik koloniler sayılıp kaydedilerek identifikasyona alınmak üzere saklanmışlardır. İzolatların saklanması amacıyla Nutrient Broth’a %20 oranında gliserin katılarak hazırlanmış saklama besiyeri kullanılmış ve (-40,-70)°C’larda identifikasyon için bekletilmişlerdir. Bu işlem diğer izolatlar için de uygulanmıştır.

Bu örnekler ayrıca *V. parahaemolyticus* belirlenmesi testine de alınmışlardır. Alkali peptonlu suda homojenize edildikten sonra (20gr pepton+30 gr NaCl) diğer örneklere benzer şekilde identifikasyonları yapılmıştır (Hara-Kudo vd., 2001; Halkman, 2005).

2.2.2.5. Salmonella-Shigella Belirlenmesi

Toplam 44 adet çeşitli yöntemlerle tuzlanmış örnekten *Salmonella* türlerinin tespiti için aseptik koşullarda alınan 25 g balık örneği, selektif olmayan ön zenginleştirme için 225 ml Tamponlanmış Peptonlu Su içinde blendırda homojenize edilerek 37°C’de 16-20 saat inkübe edilmiştir. Selektif zenginleştirme için Rappaport and Vassiliadis S Broth (RVSB), Selenite Cystine Broth (SCB), Brilliant Green Bile Broth (BGBB)’lara ekilmiş ve SCB’a ekilenler 37°C’da 24 saat, RVS Broth ve BGB Broth 42-43°C’da 24 saat inkübasyona alınmıştır.

İnkübasyondan sonra selektif katı besiyerleri olarak Xylose Lysine Deoxychocolate (XLD) Agar, Bismut Sülfid (BİS) Agar, Brillant –Green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS), Eosin Methylene Blue (EMB) Agar, *Salmonella Shigella* (SS) Agar, Monsur ve Alkış besiyerlerine tri-galaxi (ters tüp) yöntemiyle yüzeye sürme ekimi yapılmıştır. 37°C’da 24 saat

inkübasyondan sonra tipik koloniler Triple Sugar Iron (TSI) Agar, Urea Broth ve biyokimyasal testlerle serolojik testlere alınmıştır (Köse, 1993; Halkman, 2005; Anonymous, 2005).

1 aylık örnekler ise %1 peptonlu suda homojenize edilerek 37°C'de 18 saat bekletilerek aynı peptonlu suyla seyreltme yapıldıktan sonra aynı dilüsyon derecelerindeki Selenit-F Broth (SFB) ve *Salmonella* enrichment broth (SEB)'a da seri ekimleri yapılarak 37°C'da 24 saat inkübasyondan sonra seçici besiyerine yüzey ekimleri yapılmıştır. SFB'lerden SS ve Monsur, BiSA, SEB'den ise sadece BiSA'a yüzey ekimi yapılarak aynı ısı ve sıcaklıkta inkübasyona alınarak üreyenlerden *Salmonella/Shigella* şüpheli koloniler izole edilmiştir. Bu şüpheli koloniler diğer örneklerdeki gibi gerekli serolojik ve biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur.

2.2.2.6. *Listeria monocytogenes*'in Tespiti

25 g balık örneği aseptik koşullarda tartılarak 225 ml *Listeria* Enrichment Broth'ta blendırda homojenizasyondan sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu ön zenginleştirme işleminden sonra PALCAM selektif katı besiyerine 5 adet yüzey ekimi yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra *Listeria* türleri açısından şüpheli, 1.5-2 mm çapında zeytin yeşili-gri renkli, bazen siyah merkezli ancak her zaman siyah zonlu koloniler izole edilmiştir. Ek 4'te hazırlanılışı verilen Tryptic Soy Yeast Extract (TSYE) Agar besiyerine sürülen kolonilere biyokimyasal testler, CAMP testi ve APi uygulanarak tanımlanmıştır. Bir aylık örneklerde ise *L. monocytogenes* çalışılmamıştır (Anonim, 2005; Halkman, 2005).

2.2.2.7. *Staphylococcus aureus* Belirlenmesi ve Sayımı

Mikrobiyolojik analiz kurallarına uyularak laboratuara getirilen balık örneklerinden aseptik koşullarda tartılarak 25 g alınmış ve 225ml Maximum Recovery Diluent (MRD) içerisinde blendırda homojenize edilerek, 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra seyreltmeler yine MRD 'yle yapılmıştır. 3 paralel olmak üzere; 45-50°C'de tutulan Baird Parker Agara (BBA) 1ml dökme ekimi yapılmıştır. Ekim yapılmış petrilere 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra buzdolabına alınıp 7-10 gün bekletilerek siyah hemolizli koloniler gözlenmiş ve sayılarak identifikasyon testlerine alınmak üzere saklama besiyerlerine

alınmıştır. İdentifikasyon için yeniden BBA'da üretilen izolatlar hem Bactident Coagülaz ve hem de EDTA'lı insan serumu ile ayrı ayrı koagülaz testine alınmışlardır (Halkman, 2005).

Bir aylık numunelerinde *S. aureus* için %8 ve %1 peptonlu suda homojenize edilmiş homojenattan 2 paralel olmak üzere Chapman Besiyerine yüzey ekimi yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Şüpheli olan koloniler diğer örneklerdeki gibi izole edilerek identifikasyon yapılmak üzere saklanmıştır (Anonim, 2005).

2.2.2.8. Clostridium perfringes Belirlenmesi

Tüm örneklerde analiz edilmiştir. %0.85NaCl ve %1 peptonlu suda homojenize edilmiş homojenatlardan 2-3 paralel olmak üzere; tüpte hazırlanmış;Perfringens Selective Agar acc. to ANGELOTTI for microbiology (SPS) (Merck 1.10235) besiyerine; besiyeri ben-mari usulü eritildikten sonra dibe 1ml bırakma yöntemiyle ekimi yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Halkman, (2005)'e göre Perfringens selektif agar besiyerlerinde siyah nokta şeklinde üreyen koloniler sülfid indirgeyen bakteriler açısından pozitif anlamına gelmektedir.

2.2.3. Serolojik Testler

Biyokimyasal ve mikrobiyolojik incelemeler sonrasında *Salmonella spp.*ve *Vibrio spp.* olarak tespit edilen izolatlar serolojik testlere alınarak doğrulama testleri uygulanmıştır (Erkman, 2007).

Serolojik testlerde TC Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı'nın ürettiği olduğu *Salmonella* 0 antiserumları (140-300/310) *Salmonella* H antiserumları (140-370) *Shigella* antiserumları (104-400) ve *Vibrio* antiserumları (140.200/220) kullanılmıştır ve antiserumların referans bilgileri Ek.5'te verilmiştir.

2.2.4. Biyokimyasal Analizler

İndol, Metil Red, Voges-Prouskauer ve Citrat olarak bilinen ve kısaca 'IMVIC' şeklinde adlandırılan bu testlerle hareket,hemoliz,hidrojen sülfür ve gaz oluşumu,oksidaz,katalaz vb gibi testler *Enterobacteriaceae* üyelerinin, Fekal Koliform, *E.coli* *Salmonella*, *Shigella* ve

Vibrio türlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Biyokimyasal analizlerden ilgili bakteri analiz yönteminde bahsedilmiştir. Ayrıca bu testler aşağıda açıklanmıştır. APi testleri firmanın verdiği talimatlara göre yapılmıştır. Biyokimyasal analizler Bilgehan (1995), Anonim (2005), Halkman (2005) ve Koneman'a (2007) göre yapılmıştır.

2.2.4.1. Oksidaz Testi

İzole edilen bakterilerin bazı biyokimyasal özelliklerine göre *Enterobacteriaceae* familyasına ait olup olmadıklarının tespit edilmesi amacıyla VRB Agar, VRB Fluocoult Agarda 37°C'de 24±2 saat süreyle inkübasyon sonrasında kırmızı koloniler oluşturup oluşturmadıklarına bakılmıştır. *Aeromonas* üyelerinin VRB Agar besiyerinde *Enterobacteriaceae* gibi sonuç vermesi nedeniyle izole edilen bakteriler oksidaz testi uygulanmıştır. Oksidaz testi için laboratuarda 1g tetrametil-p-fenilendiamin dihidroklorür (Merck 8.21101) 100 ml damıtık suda çözülerek hazırlanmıştır. Yanıltıcı sonuçlardan kaçınılması amacıyla mavi renk vermeyen filtre kağıdının 18-24 saatlik taze kültürden seçilmiş koloniye değiştirilmesi sonrasında oksidaz solüsyonu damlatılarak mavi/menekşe renk oluşumu ilk 10 saniyede izlenmiştir. Oksidaz testi için negatif şahit olarak *E.coli 0157:H7* kullanılmıştır. Fermentatif veya oksidatif olduklarının, gram özelliklerinin, vb. araştırılarak belirlenmesi amacıyla bazı testler uygulanmıştır. (Halkman, 2005)

2.2.4.2. Hareket Testi

Bakterilerin hareketli olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla uygulanan 3 yöntemden biri olan yarı katı besiyerinde hareket testleri yapılmıştır. Laboratuarda Nutrient broth'a %0.25 oranında agar ilave edilerek oluşturulan yarı katı besiyeri ve Motility Indol Ornithine Agar (MIO) hazır besiyerinde bu amaçla izolatlar incelenmiştir. Hareket testi esas olarak flagella varlığının belirlenmesi değil, hareketin gösterilmesi üzerine kurulmuştur. Çünkü Flagella varlığının her zaman hareketi ortaya koymadığı bildirilmiştir. Flagellaya sahip *Yersinia* ve *Listeria* türleri 25°C 'da hareket pozitif, 37°C'da hareket negatif sonuç verirler (Halkman, 2005). Bu nedenle *Listeria* şüpheli izolatların hareket incelenmesinde 25°C ve

37°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta gözlem yapılmıştır. Pozitif şahit olarak *E.coli 0157:H7* kullanılmıştır.

2.2.4.3. Gaz Oluşturma Testleri

Koliform grubu bakteriler laktozdan gaz oluştururlar. Özellikle *Salmonella* için kullanılan Triple Sugar Iron Agar (TSI) besiyerinde tipik olarak gaz oluşturmaları karakteristiktir. Gaz oluşturma testleri hazır besiyerinin laboratuarda tüplere yatık olarak hazırlanmasından sonra ekimler yapılarak uygulanmıştır. İnkübasyon 37°C’de 24-48 saat olarak yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak *Salmonella typhimurium* kullanılmıştır.

2.2.4.4. Üreaz Testi

Bakterilerin üreyi hidrolize eden üreaz enzimini tespit etme bilgisinden hareketle, özellikle de *Salmonella* ve *Salmonella* serotipleri ile benzerlik gösteren *Proteus* türlerinin ayırt edilmesi amacıyla laboratuarda hazırlanan Üreaz Broth’a ekimler yapılmıştır. İnkübasyon 37°C’de 24-48 yapılmıştır. *Salmonella* üre negatif, *Proteus* üre pozitifdir.

2.2.4.5. Hidrojen Sülfür Oluşumu

Bakterilerin sistin, sistein gibi kükürt içeren aminoasitlerden ya da sülfatlardan H₂S oluşturup oluşturmadıklarını belirten testtir. Bakterilerin oluşturduğu H₂S, besi yeri bileşimindeki demir ile birleşerek siyah renkli demir sülfüre dönüşür. Buna göre besi yeri renginin siyaha dönüşmesi H₂S oluşturulduğunu gösterir (Halkman, 2005).

Pek çok bakterinin tanımlanmasında kullanılan bu test için Kligler Iron Agar, TSI gibi vasatlar kullanılır. TSI Agar özellikle *Salmonella* türlerinin belirlenmesinde kullanılması amacıyla geliştirilmiş olsa da diğer bakterilerin özellikleri araştırılırken H₂S parametresi olarak kullanılır. Çalışmamızda aynı amaçla yalnızca TSI Agar kullanılmıştır. Daha sonra 37°C’de 24-48 inkübasyon yapılmıştır.

2.2.4.6. Indol Testi (Triptofandan Indol Oluşumu)

Sıvı besiyerinde indol testinin uygulanması için yaygın olarak ve uluslararası standartlara göre kullanılan Tryptone Water besiyeri laboratuarda hazırlanmış ve hazırlanılışı Ek 1’de verilmiştir. Yine indol testi için katı MIO Besiyeri de kullanılmıştır.

İndol testi uygulanacak izolatlar 5ml Tryptone Water besiyerine inoküle edildikten sonra 37°C’da 24 saat inkübasyona alınmış, 24 saat süre sonunda kültür üzerine hazırlanışının Ek 1’de verildiği 0.5 ml Kovacs’ indol çözeltisi ilave edilip, tüp elle karıştırıldıktan en geç 2 dakika sonra tüpün üzerindeki vişne çürüğü halka görülmesi indol pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Aynı prensiple indol testi katı olan ve izolatla inoküle edilmiş MIO besiyerinin yüzeyine 0.2 ml Kovac’s damlatılarak ta yapılmıştır.

2.2.4.7. Katalaz Testi

Bakterilerde katalaz enziminin varlığını ya da yokluğunu gösteren bu test, genel besi yerlerinden Nutrient Agar (NA) ve PCA (Merck 1.05463) bulunan petri kutularında ekilerek 18-24 saat inkübasyondan (37°C’) sonra koloni üzerine %3 konsantrasyonlu hidrojen peroksit damlatılmıştır. En geç bir dakika içinde gaz çıkışı olanlar katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.8. Voges-Proskauer (VP) Testi

Ek 2’de belirtilen besi yerine 18 saatlik aktif kültürden öze ile yapılan aşılama sonrasında 37°C ‘da 96 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 48. saatinde bu besi yerinden alınan 1ml kültürde VP testi yapılmış, kalanı Metil-Red (MR) testinde değerlendirilmek üzere inkübasyona devam ettirilmiştir.

48 saatlik MR-VP kültüründen 1 ml steril ve boş test tüplerine aktarılarak üzerine 0.6 ml ∞ naphthol çözeltisi (Ek 2’de belirtilmiştir) ilave edilerek karıştırılmıştır. Bunun üzerine 0.2mL %40 KOH çözeltisinden ilave edilerek karıştırılmış ve 4 saat inkübasyona devam ettikten sonra oluşan vişneçürüğü rengi pozitif kabul edilmiştir. VP testinde pozitif şahit olarak

Enterobacter aerogenes, negatif kontrol olarak *E.coli 0157:H4* kullanılmıştır (Halkman, 2005).

2.2.4.9. Metil Red (MR) Testi

Bazı bakteriler glikozu kullanarak fazla miktarda asit oluştururlar ve ortamın pH sını düşürürler, bazıları ise daha az asit oluştururlar ve pH değerinde büyük bir düşme sağlamazlar. VP testinde inkübasyona (37°C'de) alınan aktif kültürün 48. saatinde bu besi yerinden alınan 1 ml kültür üzerine 1 damla Metil Red indikatörü damlatılmıştır. Rengin kırmızıya dönüşmesi bu testin pozitif olduğunu sarı renk oluşması negatif olduğunu göstermiştir. Metil red testi için pozitif şahit olarak *E.coli 0157:H4* kullanılmıştır

2.2.4.10. Simone's Sitrat Testi

Sitratın tek karbon kaynağı olarak kullanılıp kullanılmadığının belirlenmesi için yapılan testtir. Pozitif reaksiyonda besi yerinde oluşan alkali reaksiyon sonucu bromthymol blue indikatörünün rengi yeşilden maviye dönüşür. Test tüplerinde yatık agar olarak hazırlanmış Simmon's Citrate Agar besiyerine aktif kültürden platin aşı iğnesi kullanarak yüzeye inokülasyon (37°C'de) yapılmıştır. 48 saat sonunda besi yeri renginin koyu maviye dönüşmesi pozitif, orijinal yeşil renkte kalması negatif sonuç olarak kabul edilmiştir. Pozitif şahit olarak *Enterobacter areogenes*, negatif şahit olarak *E.coli 0157:H4* kullanılmıştır.

2.2.4.11. Hemoliz Testi

Kandaki hemoglobinin, bakterilerdeki farklı hemolizin enzimleri ile farklı şekillerde parçalanması sonucu oluşan α, β, γ hemolizlerine göre ayırt edilmesi amacıyla defibrine koyun kanı içeren Kanlı Agarda (Blood Agar) (Salubris) yapılan yüzey ekimleri ve 37°C'de 24-48s. inkübasyon yapıp hemoliz izlenmiştir. *Enterobacteriaceae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria* türleri tespiti için kullanılmıştır.

2.2.4.12. Koagülaz Testi

EDTA ilave edilmiş liyofilize tavşan plazması veya EDTA ilave edilmiş insan kanı *S. aureus* tarafından oluşturulan koagülazın belirlenmesi için kullanılmaktadır. 3ml steril damıtık su ile liyofilize edilmiş tavşan plazması sulandırılarak 0.3 ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılmıştır. İzole edilen *S. aureus* şüpheli bakterilerin Brain-Heart Broth'ta (Merck) $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ taki 18-24 saatlik kültürlerinden 0.1ml alınarak 0.3 ml sulandırılmış liyofilize tüplerin üzerine 0.1ml kültür ilave edilmiş ve 37°C 'da inkübasyona bırakılmıştır. Her saat başı tüpün fazla eğilmemesine özen gösterilerek ve hafifçe eğilerek kontrol edilmiş, tüpün belirgin bir kısmında %75 pıhtı-denizanası görünümü pozitif olarak değerlendirilmiştir.

EDTA'lı insan kanı kullanarak yukarıda da ifade edilen inkübasyon şartlarında ve Brain-Heart Broth'a %15 olacak şekilde Agar eklenmiştir. 121°C 'da 15 dakika steril edildikten sonra $50-55^\circ\text{C}$ 'a soğutulmuştur. Petri kutularına dökülerek hazırlanan Brain-Heart Agar'a izolattan ekilmiştir. $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 'da üretilen 18-24 saatlik taze kültüründen alınan bir koloni, içerisinde 2 ml steril serum fizyolojik bulunan steril 13×100 mm'lik tüplere aşılınmış ve 0.5 ml EDTA'lı insan plazmasından ilave edilmiştir. Yukarıda belirtilen inkübasyon şartlarında inkübe edilmiş ve aynı şekilde değerlendirilmiştir.

2.2.4.13. İdentifikasyon Kitleriyle Yapılan Testler

İzole edilen bakterilerin tanımlanması amacıyla; dehidre substratlar içeren minyatür hale getirilmiş biyokimyasal testler ve veritabanı kullanılarak *Enterobacteriaceae* ve kolay üreyen Gram negatif çomaklar için standart hale getirilmiş tanımlama sistemleri kullanılmıştır. *Enterobacteriaceae* ve kolay üreyen Gram negatif çomakların tespiti için ticari olarak temin edilebilen Api 20 E (ref. 20 100) kiti kullanılmıştır. Koagülaz testi dışında, yukarıda yapılan biyokimyasal testler ve gram boyama uygulanarak Api 20 E' ye alınabilecek izolatların belirlenmesi sağlanmıştır. Api 20 E kitinin kullanma talimatlarına uyularak *Enterobacteriaceae* ve zor üremeyen Gram negatif, çubukların identifikasyonları yapılmıştır. Gram pozitif, çubuk veya kokobasil şeklinde, katalaz negatif bakteriler için Api 50CH (Ref. 50 300) ve Api 50CHL (Ref. 40.011) testleri; *Listeria spp.* şüpheli izolatların identifiye edilmesi için Api Listeria (Ref. 10 300) yine kit talimatları uygulanarak gerçekleştirilmiş ve veri tabanında değerlendirilmiştir (Erkman, 2007).

2.2.5. Mikroskopik Tanımlama

Mikroskopik tanımlama gram boyamadan sonra yapılmıştır. Christian Gram tarafından 1884 yılında geliştirilmiş bulunan diferansiyel boyama tekniği uygulanmıştır (Halkman, 2005).

2.2.6. Kimyasal Analizler

2.2.6.1. Su Aktivitesi

Su aktivitesi Aqualab su aktivitesi (3TE model) cihazında ilgili cihazın talimatlarına uyularak tespit edilmiştir (Yiğit vd.,1985).

2.2.6.2. pH Ölçümü

pH standart pH yöntemi kullanılarak Orion Thermo M-420 model pH metrede ölçülmüştür.

2.2.6.3. Tuz Miktarı

Tuz miktarı Mohr metodu uygulanarak belirlenmiştir. İlk olarak örnekten alınan 3–5 g ete bir miktar distile su ilave edilerek blenderde iyice homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat bir balonda 500 ml'ye tamamlanmıştır. Tuzların erimesi için yarım saat sıcak su banyosunda bekletildikten sonra süzülen homojenattan 50 ml alınarak üzerine 1 ml nötr potasyum kromat indikatörü (K_2CrO_4) ilave edilmiştir. Ardından 0.1 N gümüş nitrat ($AgNO_3$) eriyiği ile tuğla kırmızısı renk oluşuncaya kadar titre edilmiş ve tuz miktarı Ek 3'te verilen formül (E.1)'e göre hesaplanmıştır (Keskin, 1982).

2.2.6.4. Su ve Kuru Madde Tayini

Su ve kuru madde tayininde Norwitz metodu kullanılmıştır. Sabit tartıma getirilen kuru madde kapları yaklaşık 2'şer g örnek koyulmuş ve etüvde tekrar sabit tartıma gelinceye kadar

kurutulmuştur. Suyun buharlaşması sonucu meydana gelen ağırlık farkından Ek 3’te verilen formül (E.2)’ ye göre hesaplanarak su ve kuru madde miktarı tayin edilmiştir (Norwitz, 1970).

2.2.7. Duyusal Testler

Dumanlanmış balıklar yedi kişilik panelist grup tarafından balığın görünüş, doku, koku, tat kriterlerine bakılarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Değerlendirme aşağıda verilen duysal panel puanlama kriterleri tablosuna göre yapılmıştır (Tablo 8). İlgili tablo bilgileri genel olarak bozulma belirtisine göre düzenlenmiştir. Dört farklı işlenmiş ürün tipi olması nedeniyle etin kılçıktan ve deriden ayrılma özelliği gibi bazı kriterler dikkate alınmamıştır.

Tablo 8. Duyusal panel için kullanılan puanlama kriterleri

Puan Kriterleri	Puanlamada kullanılacak tavsiye edilen genel özellikler	Puan
Tat (Lezzet)	Orijinal işlenmiş (tuzlu, lakerda veya soslu balık) balık tadına sahip. Acılaşma belirtisi yok.	5
Doku (tekstür)	Kuru tuzlama örneklerde sıkı bir doku. Diğerlerinde ise doku sertliği ürüne göre değişmekle birlikte biraz gevşek olabilir. Özellikle soslu balıklarda ve haşlanmış sonra sirke ile muamele edilen balık ürünlerinde daha gevşek bir doku.	
Koku	Ürünün orijinal kokusu. Soslu ürünlerde hafif bir fermente kokusu ve baharat kokusu hakim. Sirkeli ürünlerde sirke kokusu hakim. Acılaşma kokusu yok.	
Görünüş	Parlak et rengi (orijinal rengi) koruyor. Matlaşma yok. Kuru tuzlama ürünlerde biraz matlaşma olabilir. Et kısmında pas görünümünde kahverengileşme belirtisi yok, pembelik yok. Hafif sarımsı olabilir.	
Tat (Lezzet)	Orijinal ürün tadında hafif kayıp ancak acılaşma belirtisi yok.	4
Doku (tekstür)	Doku yapısında bazı ürün tiplerinde hafif bir gevşeme var. (kuru tuzlanmış ürünlerde gevşeme yok).	
Koku	Orijinal ürün kokusunda çok az bir kayıp olabilir. Acılaşma belirtisi yok.	
Görünüş	Parlak et renginde (orijinal rengi) hafif matlaşma veya hafif kayıp olabilir. Et renginde hafif pas lekeleri ve sarımsı lekeler olabilir.	
Tat (Lezzet)	Orijinal ürün balık tadında belirgin kayıp ve acılaşma artmış ancak hala yenilecek durumda.	3
Doku (tekstür)	Kuru tuzlanmış ürünler hariç doku yapısında gevşemede artış olmuş. Sulanma belirtisi mevcut.	
Koku	Orijinal kokusunda belirgin kayıp var. Çok hafif bozuk balık eti kokusu belirtisi var.	

Tablo 8'in devamı

Görünüş	Parlak et renginde (orijinal rengi) matlaşma belirgin. Salamura, soslu ve lakerda ürünlerinde et renginde pembelik, sarılık ve yer yer pas rengi mevcut. et üzerinde hafif sulanma mevcut. Et renginde pas ve pembelik belirtileri artmış durumda. Ancak bazı ürünlerde bu durum gözlenmeyebilir.	3
Tat (Lezzet)	Orijinal ürün tadında belirgin kayıp ve acılaşıma çok artmış ve tadı yenmeyecek durumda.	
Doku (tekstür)	Kuru tuzlanmış ürünler hariç doku yapısında gevşemede artış olmuş. Kuru tuzlanmış ürünlerin doku yapısı tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişkendir.	2
Koku	Belirgin bozuk balık eti kokusu var.	
Görünüş	Salamura ve soslu ürünlerde pembelik ve paslı görünüm. Kuru tuzlanmış ürünlerde mat ve paslı görüntü fazla hakim (kahverengi ve bakır rengi, yer yer sarımsı ve bej olabilir). Bazı ürünlerin rengi iyi olabilir.	
Tat (Lezzet)	Tadı yenmeyecek durumda.	
Doku (tekstür)	Salamura ve soslu balık ürünlerinde sulu ve dağılmış. Lakerda ise çok gevşek. Kuru tuzlanmış ürünlerin tuz konsantrasyonuna göre değişen sertlikte gözlenebilir.	1
Koku	Amonyak kokusu. Keskin bir koku.	
Görünüş	Salamura ve soslu ürünlerde sıvılaşmış ve çürümüş et görüntüsü. Kuru tuzlanmış ürünlerde mat ve paslı görüntü fazla hakim (kahverengi ve bakır rengi, yer yer sarımsı ve bej olabilir).	

5: Çok iyi, 4: iyi, 3: orta, 2: kötü, 1: tüketilemez=çok kötü.

3. BULGULAR

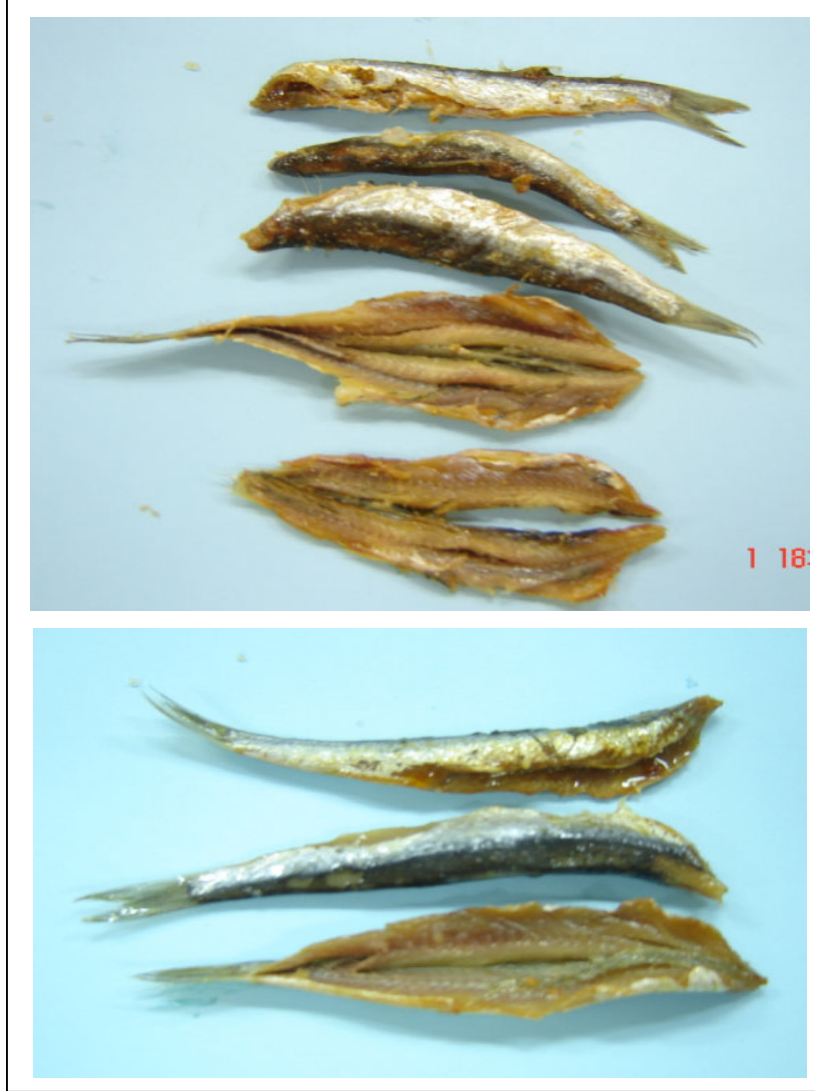
3.1. Duyusal Analiz Sonuçları

Bir aylık örneklerde depolama süresi ve buzdolabı koşullarında saklanmalarından dolayı genel görünümleri iyi olması nedeniyle detaylı duyusal teste tabi tutulmamışlardır. Diğer örneklerin duyusal analiz sonuçları Tablo 9, 10, 11’de verilmiştir. Salamura şeklinde tuzlanmış ürünler toplam 20 adet olup bu ürünlerin 2 tanesi iyi, 9 tanesi orta ve 9 tanesi de kötü veya çok kötü (tüketilemez) kalitede bulunmuşlardır (Tablo 9). Adı geçen ürünler ev, balıkçı (küçük perakende satıcılar) gibi üreticilerden ve laboratuvar koşullarında üretilen ve oda sıcaklığında saklanan ürünlerden alınan örneklerdir. İncelenen ürünlerin bozulma ve kalite bozuklukları arasında: deride ve ette kahverengi veya pas görünümü, omurga bölgesinde ve diğer et kısımlarında pembelik; kokuda bozulma belirtisi veren acılaşıma, metalik koku; tadında ise bozukluk- acılık; dokuda ise fazla yumuşama görülmüştür.

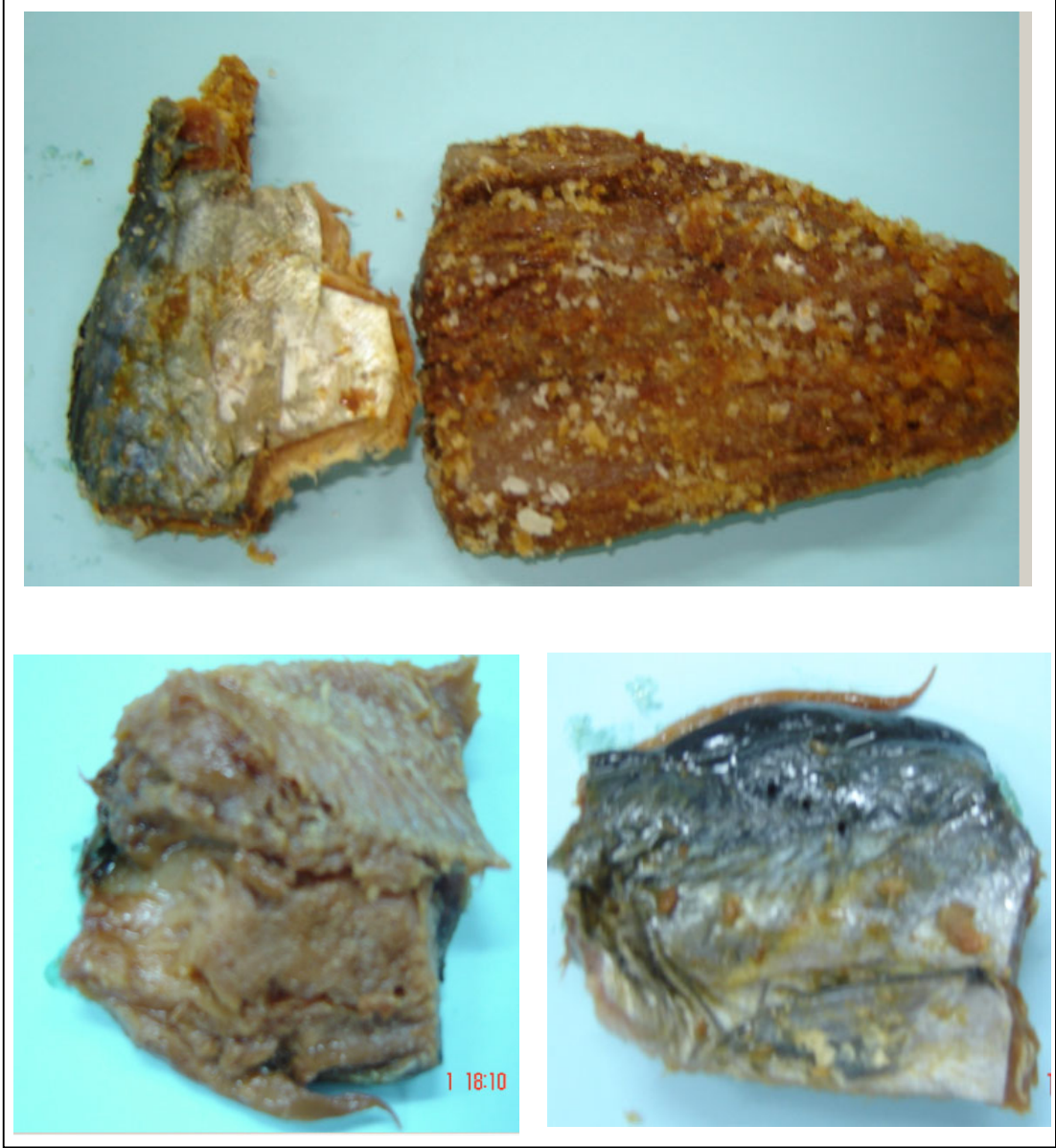
Kuru tuzlanmış toplam 18 ürün analiz edilmiştir (Tablo 10). Bu ürünlerin toplam duyusal kalite değerlendirmesinde sadece bir örnek iyi kalitede bulunup, 1 yıllık oda koşullarında depolanan kuru tuzlanmış palamut balığı örneğidir. Diğer 9 örnek orta kalitede değerlendirilmiş olup bu örneklerin depolama süresi 8 ay-1 yıl arasında olmuştur. Kalan 8 örnek ise kötü kalitede (tüketilemez konumundaki), 7 ila 1 yıllık örnekleridir. Bu örneklerin evde üretilenlerin kalitesi genelde en kötü olarak görülmüştür. Kuru tuzlanmış örneklerin tuz oranı panelistlerce “fazla tuzlu” olarak ifade edilmiştir. Bozulma parametreleri salamura örneklerinde biraz benzese de pas oluşumu ve acı tat bu ürünlerde daha fazla görülmüştür. Et doku yapısında ise sertlik daha hakimdir. Şekil 4’de kuru tuzlanmış ve salamura hamsi örneklerindeki duyusal görüntü verilmiştir. Şekil 5 ise kuru tuzlanmış palamut örneklerini göstermektedir.

Diğer örnekler ise baharat soslu hamsi, haşlanmış ve sonra sirke-limon karışımıyla muamele edilmiş ve lakerda ürünleridir. Bu ürünler genellikle 1 yıldan az bir süre içinde analize alınmışlardır (7-12 ay). Bu ürünlerde toplam 6 üründe hiç iyi kalite ürün tespit edilememiştir. Sadece bir tanesi orta kalitede görülmüştür. Bu örnek ise 8 aylık oda koşullarında depolanmış soslu hamsi örneğidir. Kalite bozulma kriterlerinden yine deride kahverengileşme, pembe eflatun rengi, keskin bozuk alkol veya acılaşıma kokusu, acı ve keskin veya bozuk tat, dokuda fazlaca yumuşama görülmüştür.

Laboratuvar koşullarında tuzlanmış olup oda ve buzdolabı koşullarında depolanan örneklerin haftalık analiz sonuçlarında %20'lik salamura örneklerde 4. hafta ve 8. hafta yumuşama ve hafif bozuk kokusu oluşmuştur. 10. hafta ise 20%, %25 ve %30'luk salamura örneklerde küf oluşumu, ayrıca %20'lik salamura örneklerde gevşeme ve bozuk kokuda artış gözlenmiştir. % 10'lik salamura örnekler 1. hafta sonunda, %15'lik örnekler ise ikinci hafta sonunda bozulmuşlardır. Buzdolabı koşullarındaki örneklerde ise küf oluşumu görülmemiştir. Depolama süreci boyunca 12 hafta analiz edilen örnekler duyuşal özellikleri bakımından bozulma göstermemiştir. Diğer örneklerde analizin bittiği tarihte bozulma ve salamura örneklerde de yumuşama görülmüştür.



şekil 4. Kuru tuzlanmış ve salamura örneklerde duyuşal görünüm



Şekil 5. Kuru tuzlanmış palamut örneklerinde görünüm.

3.2. Bakteri Çoğalmasını Sınırlayıcı Bazı Parametrelerin Analiz Sonuçları

Tablo 12’de salamura örneklerin toplam halofil bakteri sayımı, su aktivitesi, pH, %tuz ve % WPS ile % su miktarları verilmiştir. Bu tür örneklerde su aktivitesi en düşük 0.71, en yüksek 9.63 olarak bulunmuştur. Ancak genel olarak ürünlerin yarısı su aktivitesi 0.81 ve üzerinde bulunmuştur. Diğer yarısında ise 0.71-0.78 arasında gözlenmiştir. pH değerleri ise

genelde 5.5 civarında olup 5.1-7.2 arasında varyasyon göstermiştir. Sadece bir örnekte 7.23 değeri bulunmuş olup- bu örnek uskumru örneği olup kokuşmuş bir üründen alınmıştır. Ürünlerdeki % tuz miktarları % 10-27 arasında değişmiştir. İçerdikleri % su miktarına bağlı olarak %WPS miktarları farklı bir varyasyon göstermiştir. Bakteri üremesini engellemek için genelde %WPS değerleri dikkate alındığı için bu değerler de kuru madde miktarından yola çıkılarak hesaplanıp verilmiştir. Ürünlerdeki su miktarı %40 ila %56 arasında değişmiştir. Buna bağlı olarak % WPS miktarları %14-34 arasında bir varyasyon gösterdiği bulunmuştur. Duyusal iyi kalitede olan ürünlerin %WPS miktarı % 19.41 ve %29.15 bulunmuştur. Çok kötü kalitedeki ürünlerin % WPS miktarı ise %14.67-27.89 arasında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Tablo 9. Salamura örneklerin duyuşsal olarak incelenmesi

Örnek No	Cinsi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama (Toplam kalite)
1 -O-T	Palamut	1 yıl	Samsun	Parlak görünümde, 2. örneğe benziyor.	Hafif acı, pas kokusu	Biraz acı	Orta sertlikte	Orta
2-O-T	Palamut	1 yıl	Ordu	Deri ıslak görünümü, hafif buruşuk, parlak ve zor soyuluyor. Et dış yüzeye yakın kısımlarda 2mm kalınlığında pas rengi; iç kısmı kahve-bej renginde. Koyu et kısmı kahve-mor renginde.	Hafif acı, pas kokusu	Tuzlu ancak keskin değil.	Orta sertlikte, lifli yapıda ve hafif kurumuş.	Orta
3-O-T	Hamsi	1 yıl	Ordu	Deri parlak ve yer yer pas rengi. Et renginde çoğunlukla pembeleşme mevcut; kılıçktan kolay ayrılıyor.	Acımsı kokulu	Biraz acı ve tuzlu ancak lezzeti kabul edilebilir.	Orta sert	Orta
4-O-T	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et rengi genelde kendine has ancak omurga boyunca açık pembe	Acı koku	Acı	Normal sert	Kötü (Tüketilemez)
5-O-T	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et rengi normal, omurga boyunca pembe	Normal	Çok tuzlu	Kılıçık etten kolay ayrılıyor	İyi
6-O-T	Uskumru	1 yıl	Trabzon	Kahverengi sıvılaşmış, tamamen dağılmış et.	Çok keskin kokuşmuş kokusu	Tadılamayacak kadar kötü	Tamamen dağılmış, çözülmüş, sıvılaşmış	Çok kötü (Tüketilemez)

O: Oda koşullarında bekletilmiş, T:Balıkçıdan temin edilen örnekleri ifade etmektedir.

Tablo 9'. un devamı

Örnek No	Cinsi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama
7-O-B (7ay)-T	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Deri orijinal rengini kaybetmiş,ette grimsi renk hakim yer yer pembelik var.	Hafif kokuşma, defne - metalik koku	Biraz tuzlu, metal tadı	Et çok yumuşak; deriden ve kılçıktan çok kolay ayrılıyor.	Orta
♣8-O-B (7 ay)-T	Palamut	11 ay	Trabzon	Deri sert orijinal renginde çok az pas lekesi görünümünde kahverengilik var, parlak	Çok hafif koku	Çok hafif tuzlu,hoş değil	Çok yumuşak, kolay ezilen; kılçıktan kolay ayrılan	Orta
9-O-T	Palamut	1 yıl	Trabzon	Deri ıslak, hafif mat; etin deriye yakın kısımları koyu kahverengi, kemiğe yakın kısımlar eflatun-kahve kuyruk kısımları somon rengi	Metalik biraz keskin koku	Kendine has ancak çok tuzlu	Biraz gevşek, kolay ezilen, kemikten kolay ayrılan	Orta
10-O-B (1 ay)-T	Hamsi	8 ay	Samsun	Deri parlak, hafif buruşuk, pelvikte pas lekeleri; et rengi pelvikte pas rengi, kılçık kısmında pembe-kırmızı	Hafif keskin metalik koku	Kendine has, çok tuzlu	Az yumuşak, kılçıktan kolay ayrılan	Orta
11-O-B (1ay)-T	Hamsi	7 ay	Samsun	Et rengi normale yakın,yer yer pembelik var,	Kabul edilebilir	İyi	Kılçık etten kolay ayrılıyor	İyi
12-O-E	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et sırt bölgesinde açık kahve karnı bölgede turuncu –bakır rengi	Pas kokusu keskin koku	Hafif bozuk, tuzlu	Orta sertlikte	Kötü
13-O-E	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et sırtta bej,karnı bölgesinde bakır rengi	Pas kokusu, keskin	Hafif bozuk, tuzlu	Orta sertlikte	Kötü

♣Lakerdadan dönme. O:Oda koşullarında, B:Buzdolabı koşullarında saklanmış, E: Ev yapımı, T:Ticari örneği ifade eder.

Tablo 9'un devamı

Örnek No	Cinsi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama
14-O-E	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et rengi sırt bölgesinde bej karında pembemsi	Kendine has	Tuzlu ve iyi	Orta sert-elastik, kılçıktan kolay ayrılıyor	Orta
15 ^{♣1} -O-L	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et rengi karın ve omurga bölgesinde pembe yer yer kırmızı	Fermente; laktik asit kokusu,	Ekşi fermente bir tat,	Çok fazla yumuşak, et kılçıktan kolay ayrılıyor.	Çok Kötü
16 ^{♣2} -O-L	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Et rengi karın ve omurga bölgesinde pembe yer yer kırmızı	Fermente; laktik asit kokusu	Ekşi, Çok fazla yumuşak, kılçıktan çok kolay ayrılıyor.	Yumuşak et.	Kötü
17 ^{♣3} -O-L	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Karın ve omurga bölgesinde et rengi pembe ve kahverengi	Fermente; laktik asit kokusu	Ekşi, fermente gibi	Çok fazla yumuşak, kılçıktan çok kolay ayrılıyor	Kötü
♣4-O-L	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Karın ve omurga bölgesinde et rengi pembe ve kahverengi	Fermente; laktik asit kokusu	Ekşi, fermente gibi	Çok fazla yumuşak, kılçıktan çok kolay ayrılıyor	Kötü
19-O-T	Tirsi	1 yıl	Trabzon	Deri orijinal rengini tamamen kaybetmiş, pas rengi hakim; parlak ve ıslak	Keskin metalik koku	Tuzlu, kendine has	Et kemikten zor ayrılıyor, hafif sert ve kuru	Kötü
20-O-T	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Deri parlak. Et rengi genelde açık kahverengi; yer yer pembelik var	Metalik ve hafif bozulmuş gibi	Biraz acı	Et kılçıktan kolay ayrılıyor	Orta

♣1: %15 Laboratuarda tuzlanmış, 2: %20 Laboratuarda tuzlanmış, 3: %25 Laboratuarda tuzlanmış, 4: %30 Laboratuarda tuzlanmış.

Tablo 10. Kuru tuzlama örneklerin duyuusal olarak incelenmesi

Örnek No	Cinsi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama
21-O-B (1ay)-T	Palamut	1 yıl	Samsun	Deri mat. Et dış yüzeye yakın kısımlarda 7 mm kalınlığında koyu pas rengi ve iç kısımlar bej ve hafif pembemsi, etin koyu kısmı koyu kahve rengi	Paslı ve hafif metalik, buruk	Acı ve tuzlu	Et kılçık ve deriden orta güçlükte ayrılıyor. Orta sertlik, sulanma yok. Lifli yapı	Orta
22-O-T	Palamut	1 yıl	Trabzon	Et genelde bej renginde,yer yer kahve ve pembe renk hakim	Kokuşma başlangıcı	Yenilebilir lezzette	Çok yumuşak	Orta
23-O -T	Hamsi		Trabzon	Et rengi sarımsı bej, genelde açık balık rengi, omurga boyu çok hafif pembelik mevcut	Koku acı	Tadı acı	Normal sertlikte	Orta
24-O-T	Palamut	1 yıl	Ordu	Etin dış kısmı kahvemsi, omurga boyunca hafif pembe renkte; kılçıktan kolay ayrılıyor.	Acı	Acı , tuzlu	Sert	Orta
25-O-T	Palamut	1 yıl	Trabzon	Deri mat, deri ve kılçık etten kolay ayrılmıyor. Et normal renginde çok az pembelik var.	Hoş ve normal	Tuzlu ve normal	Çok sert	İyi
26-O-B (1ay)-T	Levrek	8 ay	Trabzon	Deri mat. Et bej, yer yer pembe ve kahverengi	Kokuşmuş	Kokuşmuş	Orta sertlikte	Kötü
27-O-T	Palamut	1 yıl	Trabzon	Et açık pembe,yer yer normal doku renginde;yüzeyin altında 1 mm kalınlığında kahverengi	Hafif bozulma kokusu	Çok tuzlu	Et omurgadan kolay ayrılıyor ancak deriden ayrılmıyor	Orta

O:Oda koşullarında, B:Buzdolabı koşullarında saklanmış T:Ticari örneği ifade eder.

Tablo 10'un devamı

Örnek No	Cinsi	Depo süre yeri	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama (Toplam kalite)
28-O-T	Tırsi	1 yıl	Trabzon	Deri orijinal rengini kaybetmiş, kahverengi; ıslak. Et koyu kahverengi	Keskin metalik koku	Yoğun tuzlu ve metalik	Çok sert, deriden çok zor ayrılıyor.	Kötü
29-O-B (1ay)-T	Hamsi	8 ay	Samsun	Deri kendi renginde, ıslak ve parlak, az pas lekeli; et kılçığa yakın kısımlarda kırmızı, dorsal ve karın açık kahve.	Keskin metalik koku ve amin kokusu	Çok tuzlu, lezzetsiz	Deri kolay etten ayrılıyor, et kılçıktan kolay ayrılıyor ve oldukça sert.	Orta
30-O-T	Hamsi	7 ay	Samsun	Deride yaygın kahverengi lekeler; et rengine kahverengi hakim	Acı pas kokusu, hoş değil	Acı, lezzetsiz, itici	Kılçık etten kolay ayrılıyor	Kötü
31-O-T	Hamsi	7 ay	Samsun	Deri üzerinde kahverengileşme. Et rengi tamamen kahverengi	Buruk koku	Acı tat	Et kılçıktan normal ayrılıyor	Kötü
32-O-T	Palamut	7 ay	Samsun	Deri üzerinde ve ette kahveleşme, ette yer yer pembelik	Bozulma kokusu	Acı ve buruk tat	Doku normal	Kötü
33-O-E	Palamut	1 yıl	Trabzon	Deri, ıslak ve parlak; biraz soluk; karın bölgesinde pas rengi lekeler var; et rengine de aynı renk hakim	Hafif metalik ve kendine has koku	Tuzlu ancak çok keskin değil	Hafif yumuşak, et deriden zor ayrılıyor	Orta
34-O-T	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Parlak, paslı görünümlü deri	Keskin acı	Tuzlu, acı ve bozukça	Et kılçıktan kolay ayrılıyor	Kötü

O:Oda koşullarında, B:Buzdolabı koşullarında saklanmış, E: Ev yapımı, T:Ticari örneği ifade eder.

Tablo 10'un devamı

Örnek No	Cinsi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama
35-O-B (1 ay)-T	Palamut	1 yıl	Samsun	Deri parlak ve hafif ıslak. Et dış yüzeye yakın kısımlarda 3mm kalınlığında pas rengi ve iç kısımlar yer yer pembemsi ve çoğunlukla bej rengi. Etin koyu kısmındaki renk koyu kiremit ve mor-pembe renginde	Metalik,acı ve sülfid kokusu	Acı ve çok tuzlu ancak yenilebilir.	Sert. Deriye yakın kısımlarda hafif ıslaklık ve yumuşaklık var. Isırma gücü orta derecede.	Orta
36-O-T	Palamut	1 yıl	Trabzon	Deri mat; etin tümüne pas rengi hakim,iç yüzeyde pembelik var	Acı,metalik koku	Tuzlu ve acı	Et kemikten zor ayrılıyor	Kötü
37-O-E	Palamut	7 ay	Trabzon	Deri mat, Et çoğunlukla kahverenginde ancak iç kısımlarda bejlik ve pembelik var	Acı ve bozuk	Acı ve bozuk	Et kemikten zor ayrılıyor	Kötü
38-O-E	Hamsi	1 yıl	Trabzon	Deri parlak ve yer yer hafif paslı görünümde; et bej-kahverengi	Hafif acı	Biraz acı ve tuzlu	Et kılçıktan kolay ayrılıyor	Orta

O:Oda koşullarında, B:Buzdolabı koşullarında saklanmış, E: Ev yapımı, T:Ticari örneği ifade eder.

Tablo. 11. Diğer örneklerin duyuusal olarak incelenmesi

Örnek No	Tür	İşleme tipi	Depo süre	Temin yeri	Görünüş	Koku	Tat	Doku	Puanlama (Total kalite)
39-O-T	Hamsi	Baharat soslu	7 ay	Trabzon	Derinin dış yüzeyinde kahverengileşme var. Et pembe-eflatunumsu renkte	Baharat ve sirke kokusu	Yenilemez ancak bazıları için yenilebilir özellikte	Doku çok yumuşak.	Kötü (Tüketilmez)
40-O-T	Hamsi	soslu	1 yıl	Trabzon	Deri üzerinde yer yer pas rengi var. Et renginde pembelik hakim, dış kısımlarda hafif kahverengilik var	Fermente, sirke-baharat kokusu; hoş	Acı ve keskin	Çok yumuşak	Kötü
41-O-T	Uskumru	Sirkeli, limonlu haşlanmış	11 aylık	Trabzon	Et yer yer kahverengi ancak bej renk hakim, etin koyu kısımları kendi renginde	Hoş	Sirkeli ve bozuk tat	Çok yumuşak, dağılma başlamış	Kötü
42-O-T	Hamsi	Soslu	8 aylık	Trabzon	Et rengi dış yüzeye yakın kısımda kahvemsî, çoğunluğu pembe	Fermente, sirke-baharat kokusu	Kabul edilebilir	Yumuşak kabul edilebilir ölçüde	Orta
43-O-T	Palamut	Lakerda	9 ay	Trabzon	Et yapısı bozulmuş	Keskin alkol kokusu	Yenilemez, kokuşmuş	Jelleşmiş	Çok kötü (Tüketilmez)
44-O-T	Palamut	Lakerda	11 ay	Trabzon	Deri ıslak ve parlak, pas lekeleri var. Etin yüzey kısmında koyu kahverengi hakim	Keskin metalik koku	Hafif tuzlu ve çok acı	Orta sertlikte; et deri ve kılıktan zor ayrılıyor	Kötü

♣ Yağlı lakerda (zeytinyağı) O:Oda koşullarında, T:Ticari örneği ifade eder.

Kuru tuzlanmış ürünlerde a_w aktivitesi değerleri genelde 0.7 civarında olup 0.71-0.93 arasında bir varyasyon göstermiştir. Sadece bir örnekte 0.93 bulunmuştur. Ürünlerin %72'sinin su aktivitesi değerleri 0.8'in altında tespit edilmiştir. pH değerleri en düşük 5.0 oda sıcaklığında saklanmış 7 aylık tuzlanmış hamside, en yüksek 6.25 olarak 8 aylık örnekte (bir ayı buzdolabında saklanmış levrek örneği) görülmüştür. %Tuz değerleri 9.65-26.79 arasında tespit edilmiştir. % su miktarı ise salamura örneklerine benzer olarak %41-%57 arasında varyasyon göstermiştir. % WPS miktarları salamura örneklerine göre daha yüksek olup en düşük değer %17.63, en yüksek değer %37.32 olarak belirlenmiştir. Örneklerin % 77.8'nin %WPS değerleri 25'in üzerinde bulunmuştur.

Diğer ürünlerin su aktiviteleri genelde salamura ve kuru tuzlanmış ürünlere göre yüksek gözlenmiş olup en düşük değer 0.77 ile 8 aylık baharat soslu hamside, en yüksek değer 0.997 ile haşlanmış, sirkeli limonlu uskumruda gözlenmiştir. Bu ürünün dokusu da çok yumuşak ve dağılmış bulunmuştur. pH değerleri en düşük yine bu üründe gözlenmiş olup 3.83'dür. Diğer ürünlerin ise pH değerleri 5 civarında tespit edilmiş olup hiçbir örnekte 6 ve üzerinde gözlenmemiştir. % Tuz ve % WPS oranları diğer ürünlere göre düşük olup sırasıyla, % 10.23-15.78 ve % 13.77-25.13 varyasyonunda bulunmuştur. %Su miktarları ise yüksek olup en düşük 47.01, en yüksek 64.13'tür.

3.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Tablo 12'de ise ayrıca salamura ürünlerin toplam halofilik bakteri sayıları görülmektedir. Toplam halofilik bakteri sayılarının tespiti için üç farklı tuz konsantrasyonlu PCA kullanılmıştır. Bunlar % 3, 8, 10 ve 15'dir. Farklı ürünlerde farklı tuz konsantrasyonu içeren agardaki üremeler farklı olmuştur. En fazla üreme %8'lik tuz konsantrasyonunda gözlenmiş olup en yüksek 6.08 log cfu/g ile laboratuvar koşullarında üretilip % 15 salamura kullanılarak üretilip oda koşullarında 1 yıl saklanan üründe bulunmuştur. Yüksek halofilik bakteri sayısı gözlemlenen diğer bir örnek ise % 3 tuz konsantrasyonuyla tespit edilmiştir. Bu örnek ise ev yapımı hamsi olup bir yıl oda koşullarında saklanan üründür. İki orta kalite, biri ise tüketilemez kalitedeki hamsi ve palamut örneklerinde hiçbir tuz konsantrasyonunda üreme gözlenmemiştir. pH değeri yüksek ve bozuk olan 1 yıllık salamura uskumru örneğinde en yüksek halofil bakteri sayısı % 3 tuz konsantrasyonunda 4.66 log cfu/g bulunmuştur. Bu örnekte ayrıca küf ve maya gözlenmiştir. Ancak küf ve maya identifikasyonu yapılmamıştır.

Tablo 12. Salamura örneklerinde toplam halofil bakteri sonuçlarının kimyasal parametrelerin sonuçlarıyla karşılaştırılması

Örnek No	a_w	pH	% Tuz	% Su miktarı	% WPS	Halofil mediumun % tuz konsantrasyonlarına göre Toplam halofilik bakteri (log cfu/g)			
						% 3 tuz	% 8 tuz	% 10 tuz	% 15 tuz
1	0.823±0.001	5.64±0.01	12.02±1.12	52.55±1.23	18.62	0♣	3.73 (0.0)	3.54 (0.0)	3.03 (0.42)
2	0.753±0.001	5.42±0.01	20.34±1.26	45.72±2.72	30.79	1.39 (0.12)	1.47 (0.0)	0	1.30 (0.15)
3	0.746±0.001	5.41±0.01	22.54±2.24	48.83±0.80	31.58	0	1.47 (0.19)	0	0
4	0.748±0.001	5.56±0.02	17.84±1.97	46.84±0.68	27.58	0	0	0	0
5	0.756±0.003	5.41±0.01	12.97±3.29	53.82±0.57	19.41	0	3.47 (0.0)	3.47 (0.0)	0
6	0.942±0.001	7.23±0.01	21.62±2.60	55.91±2.00	27.89	4.66 (0.26) + küf ve maya	4.40 (1.28) + küf ve maya	0	0
7	0.916±0.001	6.73±0.02	17.43±0.98	40.33±1.13	30.18	0	3.74	0	0
8	0.914±0.002	5.88±0.01	13.22±2.06	45.05±0.38	22.69	4.51 (0.59)	3.84 (0.34)	3.47 (0.95)	0
9	0.752±0.001	5.69±0.01	17.37±1.44	49.56±3.49	25.95	0	0	0	0
10	0.764±0.001	5.42±0.01	27.24±2.06	51.46±0.47	34.61	0	0	0	0
11	0.803±0.002	6.34±0.02	19.87±2.11	48.29±0.85	29.15	3.30 (0.02)	0	0	0
12	0.862±0.001	6.22±0.01	18.50±0.91	47.22±2.07	28.15	6.07 (0.0)	5.37 (0.45)	3.96 (0.12)	0
13	0.798±0.001	5.96±0.02	24.27±2.38	48.58±0.08	33.31	2.39 (0.68)	2.63 (0.46)	0	0
14	0.814±0.002	5.43±0.02	18.26±2.38	44.31±1.16	29.18	3.85 (0.09)	3.47 (0.0)	0	0

♣ Üreme tespit edilmedi. Parantezler ± SD değerini belirtir. a_w :su aktivitesi, %WPS: gıdanın su fazındaki tuz değişimi.

Tablo 12'nin devamı

Örnek No	a_w	pH	% Tuz	% Su miktarı	% WPS	Halofil mediumun % tuz konsantrasyonlarına göre Toplam halofilik bakteri (log cfu/g)			
						% 3 tuz	% 8 tuz	% 10 tuz	% 15 tuz
15	0.784±0.003	5.10±0.04	18.63±0.91	43.84±2.09	29.82	0	6.08	4.0 (0.45)	0
16	0.784±0.003	5.10±0.04	18.63±0.91	43.84±2.09	29.82	4.44 (0.42)	4.66 (0.88)	4.08	0
17	0.713±0.001	5.42±0.01	12.31±0.93	52.13±1.27	19.10	4.82 (0.92)	4.96 (0.32)	4.53 (0.24)	0
18	0.896±0.003	6.29±0.03	9.94±0.98	58.00±0.50	14.63	0	4.43 (0.19)	0	0
19	0.827±0.002	5.95±0.01	12.99±2.49	55.57±1.10	18.95	3.87 (0.04)	0	0	0
20	0.963±0.002	5.82±0.01	19.84±1.98	56.29±1.46	26.06	3.0 (0.0)	0	0	0

♣ Üreme tespit edilmedi. Parantezler ± SD değerini belirtir. a_w :su aktivitesini,%WPS: gıdanın su fazındaki tuz değişimi.

Tablo 13 kuru tuzlanmış ürünlerin halofilik bakteri sonuçlarını göstermektedir. Kuru tuzlanmış ürünlerdeki halofilik bakteri üremesi salamura ürünlerine göre daha düşük bulunmuştur. En yüksek değer 4.69 ile sadece bir üründe (7 aylık oda sıcaklığında saklanan hamsi) rastlanmıştır. Bu ürünlerde küf ve maya oluşmamıştır. Örneklerin %61.1'inde hiç halofilik bakteri üremesi görülmemiştir. En fazla üreme % 3 tuz konsantrasyonlu agarlarda görülmüştür.

Diğer ürünlerin tümünde üreme gerçekleşmiş olup en düşük halofilik bakteri sayısı 2.70 log cfu /g ile sirkeli uskumruda, en yüksek değer ise zeytinyağlı palamut lakerdada 6.08 log cfu /g olarak gerçekleşmiştir (Tablo 14).

Tablo 15, bir aylık buzdolabında saklanan salamura balık örneklerinin (hamsi ve palamut) mikrobiyolojik analiz sonuçlarını göstermektedir. Analiz sonuçlarına göre Toplam mezofilik bakteri sayısı örneklerde 4.09 - 6.48 log cfu/g, toplam fekal koliform sayısı 3.82 – 5.48 log cfu/g olmuştur. Bir örnekte fekal koliform tespit edilmemiştir. *V. parahymoliticus* sayımı analizinde üç örnekte üreme tespit edilip sayılabilmıştır, diğer iki örnekte ise üreme görülmemiştir. Üreme görülen örneklerdeki toplam *V. parahaemolyticus* sayıları 3.22, 3.48 ve 4.48 log cfu/g olarak tespit edilmiştir. *V. parahaemolyticus* belirlenmesi testi ise bu sonuçlardan biri hariç pozitif olarak doğrulanmıştır. Bu örneklerde *C. perfringes* ve *S. aureus* tüm örneklerde negatif bulunmuştur. Halofilik bakteri hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Ancak analiz edilen tüm örneklerde *E. coli* ve koliform pozitif bulunmuştur. Bu durumu total koliform ve *E. coli* belirlenmesi testi de pozitif olarak doğrulamıştır. *Salmonella* ve *Shigella* dört örnekte analiz edilmiş olup üçünde pozitif bulunmuştur.

Tablo 16 ise tüm örneklerden izole edilen bakteri türlerini göstermektedir. Bu bakterilerden en fazla *Enterobacter cloacae* izole edilmiş olup toplam 26 örnekte bulunmuştur. İkinci sırada *Morganella morganii* 10 örnekte rastlanmıştır. Bu bakterileri takiben *Lactobacillus spp.* (6 örnek), *Lactobacillus debrueckii spp. delbrueckii* (4), *Salmonella spp.* (4 örnek), *Pantoea spp.* (4 örnek), *E. coli* (4 örnek), *Citrobacter freundii* (4) olarak tespit edilmiştir. Diğer türler ise bir veya iki örnekte izole edilip doğrulanmıştır. İzole edilen türlerin bazılarının doğrulanması net olarak yapılamadığı için şüpheli olarak Tablo 17'de verilmiştir. Api ile uygulanan yöntemlerle toplam 30 adet bakteri izolatına yapılan doğrulama testlerinden sonuç alınamamıştır. Sırasıyla Şekil 6,7 ve 9'da üreyen *Salmonella*, *E.coli* ve *Vibrio* şüpheli koloniler, Şekil 8'deyse hareket testi görülmektedir.

Tablo 13. Kuru tuzlanmış örneklerde toplam halofil bakteriyel sonuçlarının fiziksel ve kimyasal parametrelerin sonuçlarıyla karşılaştırılması

Örnek No	a_w	pH	% Tuz	% Su miktarı	% WPS	Halofil mediumun % tuz konsantrasyonlarına göre Toplam halofil bakteriyel (log cfu/g)			
						% 3 tuz	% 8 tuz	% 10 tuz	% 15 tuz
21	0.746±0.001	5.40±0.01	17.77±0.78	49.08±3.23	26.58	2.65 (0.50)	0♣	0	0
22	0.934±0.002	5.85±0.01	20.41±2.89	51.28±3.03	28.47	2.87 (0.66)	3.31 (0.60)	2.60 (0.27)	3.30 (0.16)
23	0.816±0.002	5.98±0.01	12.95±2.59	54.11±0.81	19.31	1.71 (0.34)	0	0	0
24	0.754±0.003	5.39±0.01	21.12±2.64	44.05±0.11	32.40	3.63 (0.24)	3.47 (0.19)	0	0
25	0.713±0.001	5.32±0.01	13.10±1.77	43.83±1.75	23.01	3.44 (0.06)	0	0	0
26	0.746±0.001	6.25±0.01	9.65±1.39	45.08±0.79	17.63	2.41 (0.97)	3.19 (0.16)	2.68 (0.20)	3.30 (0.11)
27	0.748±0.002	5.60±0.01	12.10±1.75	47.36±0.95	20.34	4.34 (1.39)	3.39 (0.11)	2.89 (0.82)	0
28	0.744±0.003	5.31±0.01	16.55±1.70	49.02±1.88	25.23	5.93 (0.02)	0	0	0
29	0.755±0.002	5.51±0.01	18.65±1.97	53.29±1.46	25.92	1.30	0	0	0
30	0.717±0.001	5.20±0.01	20.29±2.15	50.95±1.33	28.48	3.09 (0.54)	4.69 (1.71)	3.36 (0.28)	0
31	0.785±0.002	5.01±0.02	22.43±2.76	42.57±1.10	34.50	1.55 (0.10)	0	0	0
32	0.842±0.001	5.26±0.02	15.96±0.70	44.72±1.45	26.30	3.60	0	0	0
33	0.767±0.002	5.63±0.03	26.79±2.84	45.00±0.30	37.32	4.61 (0.13)	0.73 (1.03)	0	0
34	0.862±0.002	5.70±0.01	23.62±1.76	57.12±1.43	29.25	0	0	0	0
35	0.742±0.001	6.14±0.01	22.98±2.32	41.27±2.11	35.77	Küf kaplamış	3.30 (0.37)	1.30 (0.27)	0
36	0.750±0.002	5.27±0.01	19.34±2.79	44.74±1.49	30.18	0	0	0	0

♣ Üreme tespit edilmedi. Parantezler ± SD değerini belirtir. aw:su aktivitesi, %WPS: gıdanın su fazındaki tuz derişimi.

Tablo 13'ün devamı

Örnek No	a_w	pH	% Tuz	% Su miktarı	% WPS	Halofil mediumun % tuz konsantrasyonlarına göre Toplam halofilik bakteri (log cfu/g)			
						% 3 tuz	% 8 tuz	% 10 tuz	% 15 tuz
37	0.710±0.003	5.12±0.01	20.13±2.13	46.24±1.57	30.32	4.97	0	0	0
38	0.801±0.000	5.22±0.01	16.35±1.20	41.05±2.10	28.49	4.16 (1.15)	0	0	0

♣ Üreme tespit edilmedi. Parantezler ± SD değerini belirtir.

Tablo 14. Diğer örneklerde toplam halofil bakteri sonuçlarının kimyasal parametrelerin sonuçlarıyla karşılaştırılması

Örnek No ve özellikleri	a_w	pH	Tuz %	% Su miktarı	% WPS	Halofil mediumun % tuz konsantrasyonlarına göre			
						% 3 tuz	% 8 tuz	% 10 tuz	%15 tuz
39-S.,7ay Hamsi	0.876±0.001	5.52±0.01	13.78±1.89	58.73±3.39	19.00	3.10 (0.28) + küf	2.72 (0.24)	2.57 (0.36)	0
40-S.,1y. Hamsi	0.888±0.002	5.54±0.01	15.60±0.90	53.82±0.48	22.47	3.78 (0.30)	3.34 (0.29)	3.07 (0.76)	2.69 (0.30)
41- SLH.,11ay Hamsi	0.997±0.004	3.83±0.01	10.25±1.41	64.13±3.08	13.77	2.70 (0.19)	0♣	0	0
42-S.,8ay Palamut	0.773±0.001	5.23±0.01	15.78±1.57	47.01±3.75	25.13	3.40 (0.17) küf + maya	3.37 (0.15)	3.37 (0.19)	0
43- L.,9ay Palamut	0.864±0.001	5.63±0.01	14.94±2.81	49.01±1.90	23.36	3.45 (0.21)	3.30 (0.19)	2.53 (0.11)	2.36 (0.13)
44-L.,11ay Hamsi	0.762±0.001	5.52±0.01	13.78±2.06	51.06±0.42	21.25	0	6.08 (0.15)	4.23 (0.08)	

Tümü oda şartlarında muhafaza ve ticari ürünlendir. ♣Üreme tespit edilmedi. Parantezler ± SD değerini, a_w : su aktivitesi, %WPS: gıdanın su fazındaki tuz derişimi. S.:Soslu, SLH.:Sirkeli-Limonlu-Haşlanmış, L.:Limonlu işleme tipini ifade etmektedir.

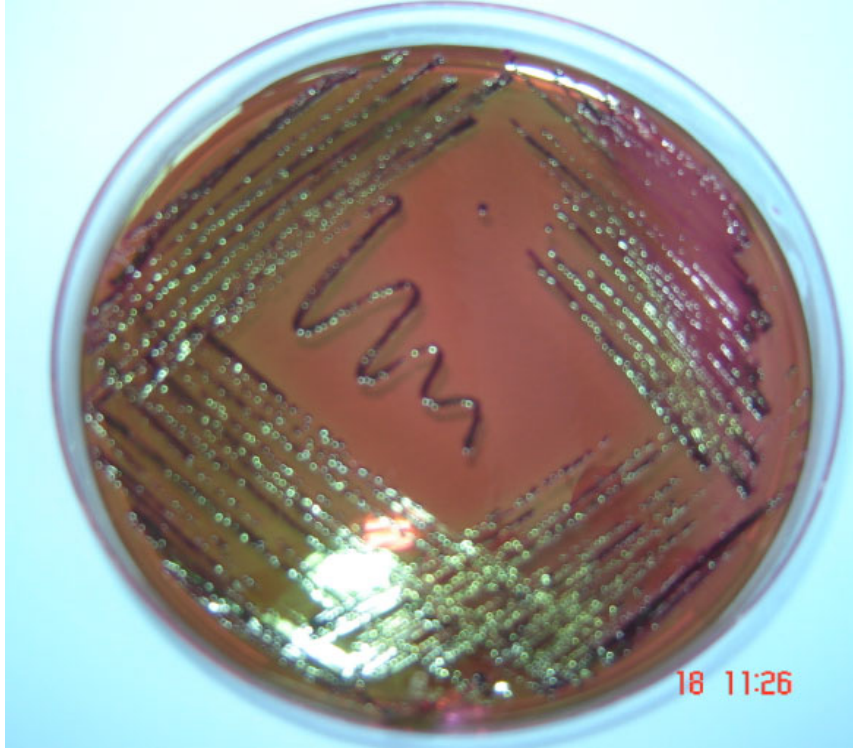
Tablo 15. Bir ay bekletildikten sonra incelenen salamura örneklerde mikrobiyolojik analiz sonuçları

Örnek No	C. perfr. Tespiti	V. par. Sayısı log cfu/g	TMB sayısı log cfu/g	Fekal Koliform sayısı	Total koliform ve E. coli sayısı	E. coli + Koliform Tespiti	V. par. Tespiti	Salmonella, Shigella sayısı	S. aureus Sayısı log cfu/g	HFB sayısı log cfu/g
45	Negatif	4.48 (0.05)	6.48 (0.14)	5.48 (0.07)	+	+	Pozitif	*	0♣	0
46	Negatif	*	6.60 (0.05)	4.60 (0.13)	+	+	Negatif	Negatif	0	0
47	Negatif	3.48 (0.13)	6.24 (0.11)	3.82 (0.04)	*	*	Negatif	Pozitif	0	0
48	Negatif	0	4.09 (0.04)	0	-	+	*	Pozitif	*	0
49	Negatif	0	5.33 (0.01)	4.48 (0.12)	+	-	Negatif	Pozitif	0	0
50	Negatif	3.22 (0.01)	*	*	*	*	Pozitif	*	0	0
51	Negatif	4.48 (0.15)	0	2.90 (0.0)	+	+	Pozitif	0	0	0

* İncelenmedi. ♣ Üreme görülmedi. C. perf.: *Clostridium perfringens*; V. par.: *Vibrio parahaemolyticus*. TMB: Total mezofilik bakteri, HFB: Halofilik bakteri



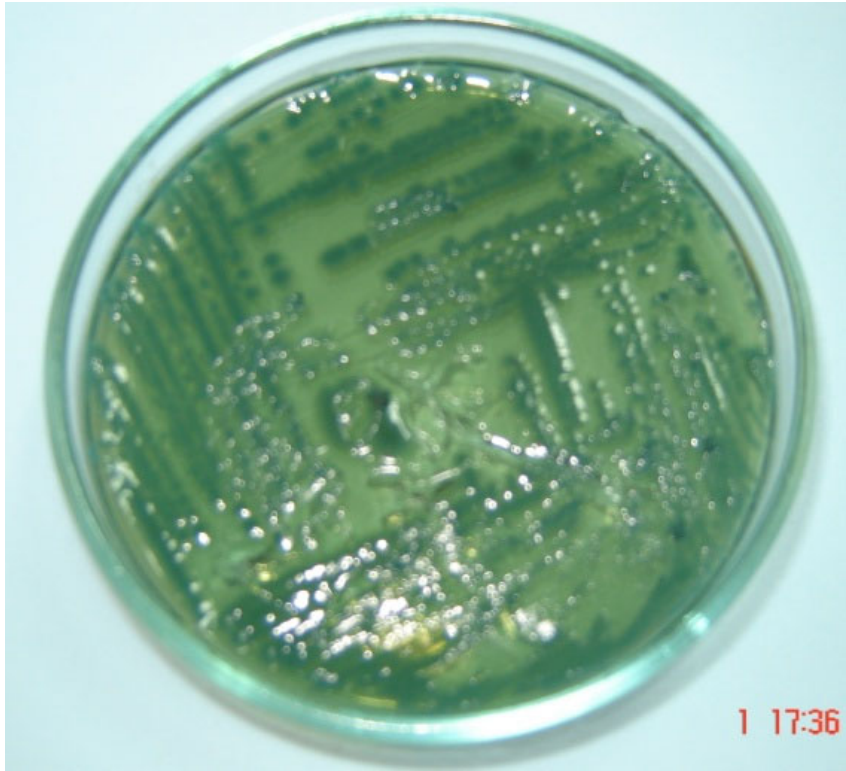
Şekil 6. BPLS agarda *Salmonella* şüpheli koloniler



Şekil 7. EMB agarda *E. coli* şüpheli kolonilerin oluşturduğu metalik röfle görüntüsü



Şekil. 8. Hareket testi.



Şekil 9. TCBS agarda *Vibrio* şüpheli koloniler

Tablo 16. İzole edilen bakteriler

İzole Edilen ve Tanımlanan Bakteriler	İzole edildiği Toplam örnek sayısı
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp.cremoris</i> %86.9	1
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> %99.9	1
<i>Lactobacillus collinoides</i> %98	1
<i>Lactobacillus spp.</i>	6
<i>Lactobacillus brevis</i> 1	1
<i>Lactobacillus pentosus</i>	1
<i>Lactobacillus debrueckii spp. delbrueckii</i> %99.2	4
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>	1
<i>Enterobacter spp.</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i> %93.1, %95, %96.7, %98, %99.1	26
<i>E.coli</i> %99.7	4
<i>Enterobacter sakazakii</i> %91.2	1
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i> %99.9, %93.8	4
<i>Citrobacter braakii</i> %93.3	1
<i>Chryseobacterium indologenes</i> %97.3	1
<i>Citrobacter koseri/farmeri</i> %92.4	1
<i>Citrobacter youngae</i>	1
<i>Chryseobacterium indologenes</i> %97.3	1
<i>Bacillus circulans</i> %96.4	1
<i>Paenibacillus macerans</i> %92.3	1
<i>Morganella morganii</i> %61.3, genellikle %99.9	10
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Pantoea spp.</i> %99.8	4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2
<i>Salmonella spp.</i> (H antiserum d POZİTİF ve H Antiiserum b POZİTİF) (Bir adet <i>Salmonell choleraesuis spp. arizona</i> %86.5, SEROLOJİK TESTTE S. Antijen H b POZİTİF)	4
<i>V. vulnificus</i>	1

Tablo 17. İzole edilen şüpheli (tam olarak tanımlanamayan) bakteri türleri

Şüpheli Bakteriler	İzole edildiği örnek sayısı
<i>Citrobacter braakii</i> (<i>Erwinia</i> spp olasılığı)	1
<i>Enterobacter intermedius</i>	1
<i>Nonfermenter</i> spp / <i>Pseudomonas</i>	1
<i>Pseudomonas fluorescens/putida/luteola</i>	1
<i>Pseudomonas luteoa/ Photobacterium damsela</i>	1
<i>Aeromonas hydrophylia/caviae/sobria 2/ V.fluvialis</i>	1
<i>Vibrio cholerae</i> ♣	1
<i>Ochrobactrum anthropi/Pseudomanas luteoa.</i>	1
<i>Klepsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	1
<i>Myroides</i> spp/ <i>Chrysseobacterium indolegenes/</i>	1
<i>Pseudomanas aerginos</i>	
<i>Aerococcus</i>	5
<i>Erwinia</i> spp	2
<i>Non-fermenter</i> spp. / <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
<i>Pseudomonas uteoa</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
<i>Burkholderia cepacio, No-fermenter/Vibrio fluvialis</i>	5
<i>Pasteurella pnetmotropica</i>	3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2
<i>Proteus vulgaris</i> group	1
<i>Chrobactrum anthropi</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	4
<i>No-fermenter</i> spp. / <i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Pantoae</i> spp / <i>Erwinia</i> spp	1
<i>Serratia marcescens</i>	1

♣Şüpheli örnek izolatu yeni testlere tabi tutulacaktır. Ayrıca farklı laboratuarlarda doğrulanacaktır.

Tablo 18’de diğ er örneklerin (örnek No: 1-44 arası) koliform sayıları, Tablo 19’da ise kü f oluşumu gözlenen örnekler verilmiştir.

Vibrio parahymolyticus, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* diğ er örneklerin de hiçbirinde tespit edilememiştir. Ancak diğ er *Listeria* türleri tespit edilmiştir. Bu türler; *L. grayii* %99, %99.5, %100 (4 örnek), *L.welshhimeri* (1 örnek), *L. ivanovii* %88 (1 örnek), *L. seeligeri* %86.2 (1 örnek) olarak Api testinde doğrulanmıştır. Ancak bu türlerin patojen olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte *Vibrio*’nun patojen olan *V. vulnificus* türü tespit edilmiştir.

Tablo 18. Diğ er örneklerde tespit edilen Koliform bakteri sayısı

Örnek No.	Kullanılan Besiyerleri	BGB’de Gaz	Koloni Sayısı (log cfu/g)
6	EMB,3EMB,FluMcK, McK,EMB	-	2.54 (0.14)
10	EMB,McK, FluMcK	+	>3.47
20	EMB,McK FluMcK	+	>3.47
19	EMB,HiCrMk,McK,FluMcK	+	>3.47
34	EMB,HiCrMcK, FluMcK	-	>3.47
20	EMB,McK,HiCrMk, FluMcK	+	3.59 (0.02)
37	EMB,HiCrMcK,McK, FluMcK	-	>3.47
38	EMB,HiCrMcK,McK,FluMcK	+	3.70 (0.11)
11	EMB,McK, FluMcK	+	>3.47
39	EMB,McK, FluMcK	-	1.79 (0.19)
3	EMB,FluMcK,McK	-	1.85 (0.15)
5	EMB,3EMB,FluMcK,McK	+	
27	EMB,3EMB,FluMcK,McK	+	
44	EMB,3EMB,FluMcK,McK	-	>3.47
9	EMB,FluMcK,McK	+	>3.47

3EMB: %3 tuz eklenmiş, EMB, EMB: Eosin Metilen Blue, McK::Mac Conkey Agar, HiCrMk: Hicrome Mac Conkey, FluMcK: Fluorocult Mac Conkey.

Tablo 19’dan da görüldüğü üzere toplam 8 örneğin analizleri sırasında kü f oluşumu gözlemlenmiştir.

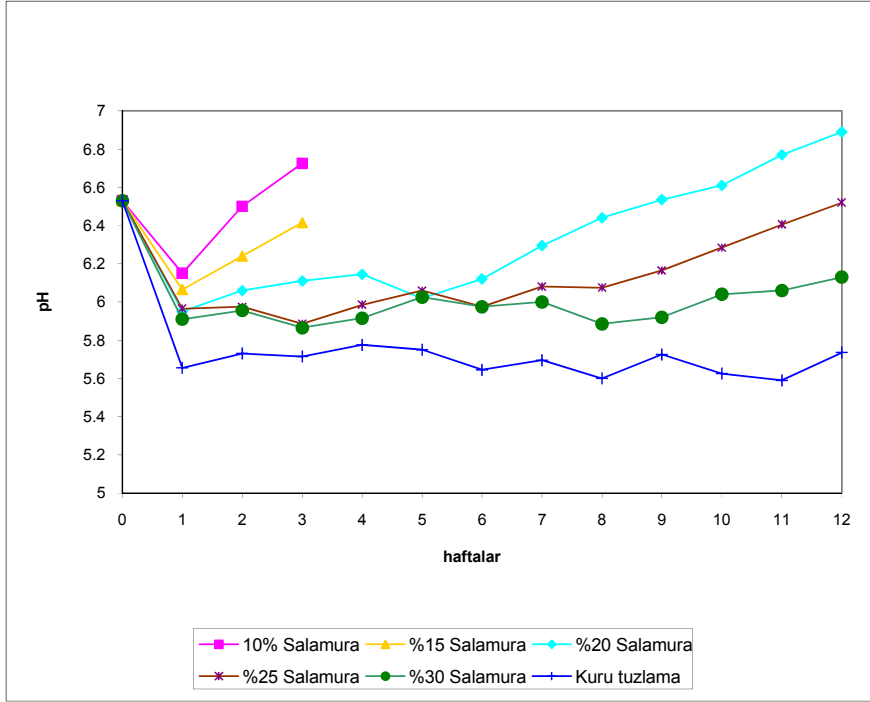
Tablo 19. Bakteri analizi esnasında küf oluşumuna rastlanan örnekler ve ilgili besi yerleri

Örnek No.	Kullanılan Besiyerleri	Küf
35	%3NaCl'li PCA	+
3	%3 NaCl'li PCA	+ (6×10^3)
40	BP	+ (7×10^3)
42	EMB 4 koloni	+
6	BPLS 3 koloni	+
29	BPLS	+
13	BP	+
14	BPLS	+

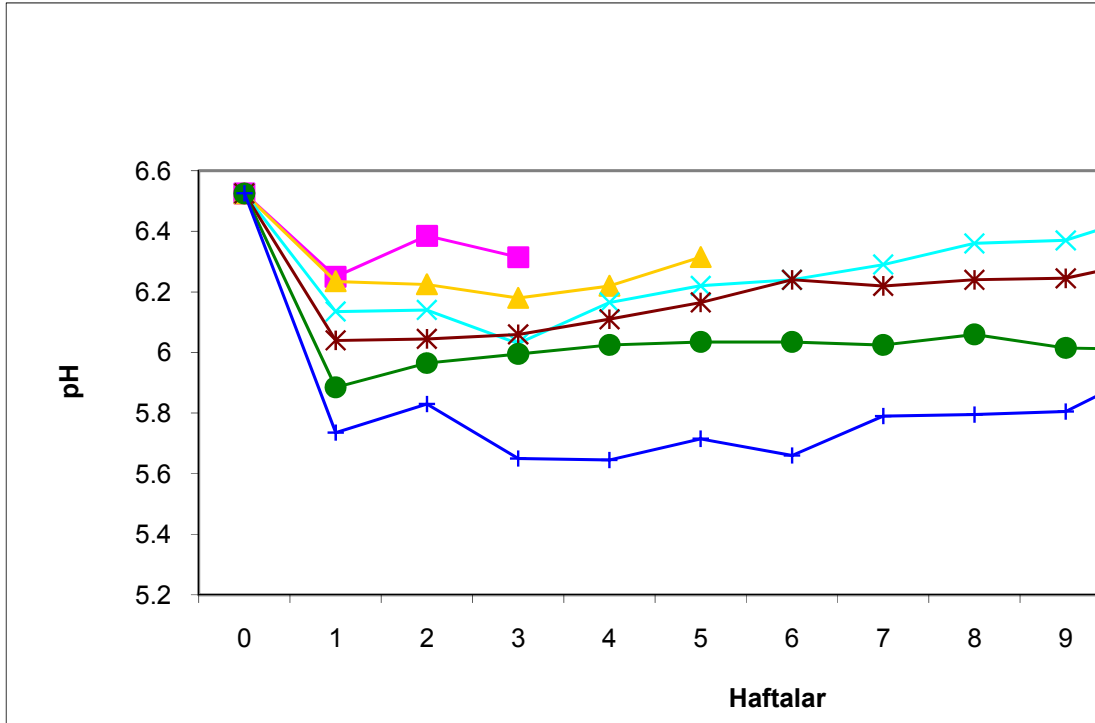
3.4. Laboratuvar Koşullarında İşlenmiş Tuzlanmış Hamsilerin Depolama Esnasında Zamana Bağlı Olarak Bazı Kimyasal Parametrelerin Değişimi

Şekil 10 ve 11'de sırasıyla oda ve buzdolabı koşullarında depolanan farklı tuz konsantrasyonlarıyla salamura ve kuru tuzlanmış hamsi örneklerindeki pH değişimini göstermektedir. Her iki koşulda depolanan tuzlanmış örneklerde pH önce düşüş göstermiş sonra artmıştır. Ancak bu artış buzdolabı koşullarında daha yavaş gerçekleşmiştir. pH düzeyi tuz konsantrasyonuna ters orantılı olarak azalmış olup en düşük pH ve en yüksek tuz konsantrasyonundaki salamura örneklerinde ve en yüksek değer ise düşük tuz konsantrasyonunda görülmüştür. Kuru tuzlama değerleri ise her iki grupta da en düşük değere sahip olmuştur. Oda sıcaklığında depolanan salamura örneklerinde %10-%20 konsantrasyonlarındaki pH değerleri zamana bağlı olarak bir örnek hariç 6.0'ın üzerinde tespit edilmiştir. % 25 konsantrasyonundaki örneklerde ise 12. hafta sonunda pH 6.52, % 30'luk ürünlerde ise depolama sonunda 6.13 olarak gerçekleşmiştir. Kuru tuzlanmış ürünlerde oda sıcaklığında en düşük pH 5.59 değeriyle 11. haftada bulunmuştur. Buzdolabı koşullarındaki örneklerde ise pH değerlerinin salamura örneklerindeki zamana bağlı değişiminde %10-25'lik tuz konsantrasyonlarında tüm haftalarda pH 6.0'ın üzerinde tespit edilmiştir. %30'luk tuz konsantrasyonlarındaki örneklerde 5.98 ile 1. hafta bulunmuş olup daha sonra biraz artarak depolama süresince 6.0 civarında gerçekleşmiştir. Kuru

tuzlanmış örneklerden, buzdolabındaki ürünlerde ise oda sıcaklığına benzer olarak pH 6.0 değerinin altında tespit edilmiş olup en düşük değer 5.65 ile 3. ve 4. haftalarda gerçekleşmiştir.



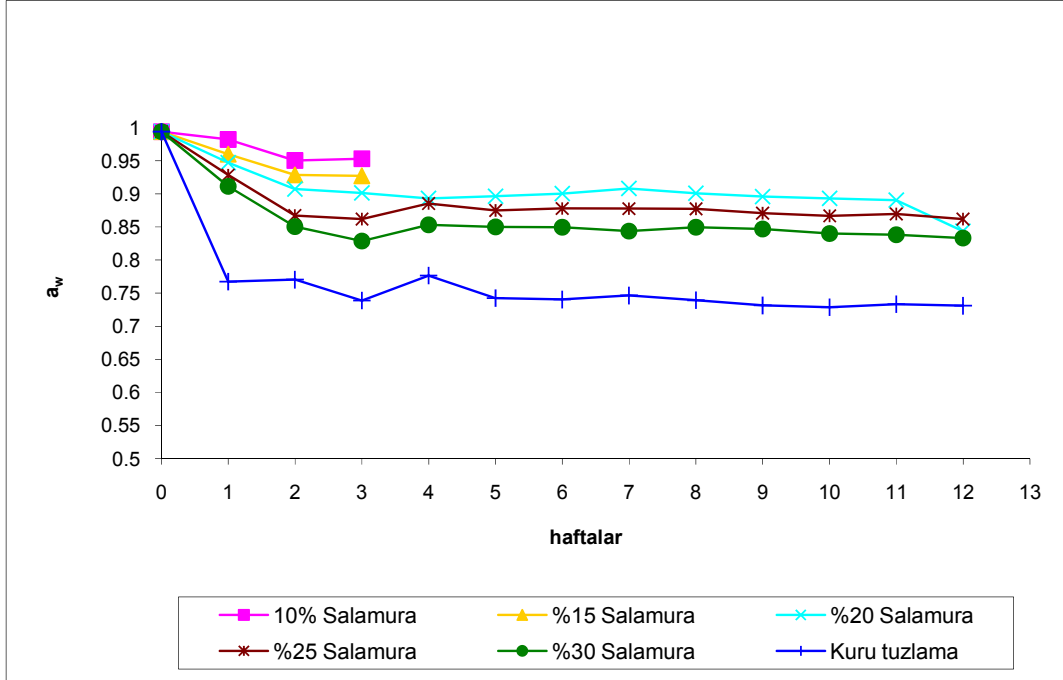
Şekil. 10. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı pH değişimi



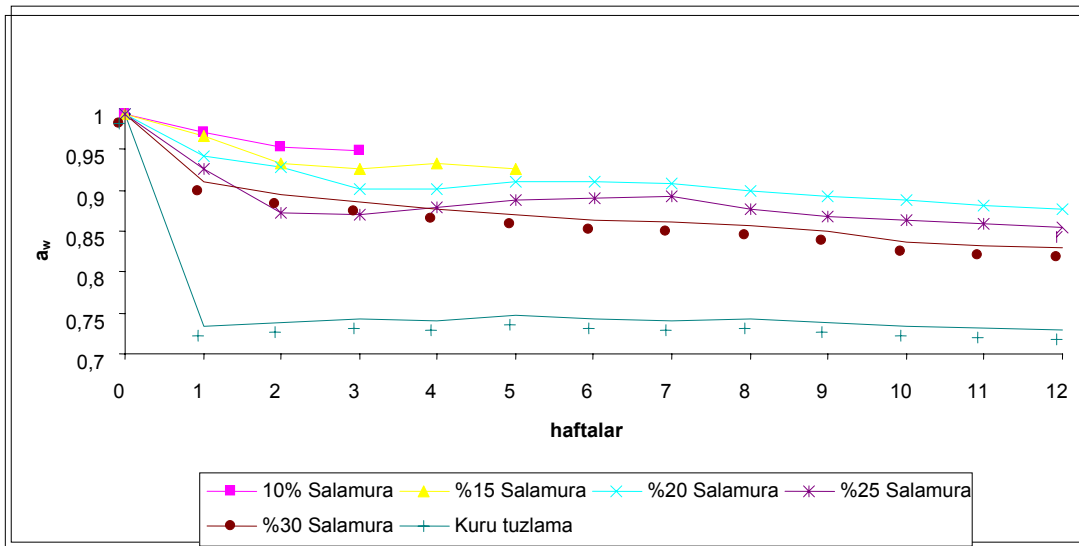
Şekil 11. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı pH değişimi

Şekil 12 ve 13, sırasıyla oda ve buzdolabı koşullarında depolanan laboratuvarda işlenmiş tuzlanmış hamsi örneklerindeki su aktivitesi değerlerinin zamana bağlı değişimini göstermektedir. Kuru tuzlanmış örneklerde a_w 0.994'den birinci hafta oda sıcaklığındaki örneklerde 0.768, buzdolabı örneklerinde ise 0.774'e düşmüş olup bu değer daha sonra düşmeye devam ederek 12. hafta sonunda oda ve buzdolabı koşullarında sırasıyla, 0.731 ve 0.729 olarak gerçekleşmiştir. En düşük su aktivitesi kuru tuzlanmış örneklerde tespit edilmiştir. Oda koşullarında depolanan salamura örneklerinde %10, 15, 20, 25 ve 30 tuz konsantrasyonlarında üretilen ürünlerde en düşük a_w değerleri sırasıyla, 0.950 (2. hafta), 0.927 (3. hafta), 0.884 (12. hafta), 0.862 (3. ve 12. hafta) ve 0.829 (10. hafta) olarak bulunmuştur. %10 ve 15'lik salamura örnekleri bozulduğu için 3. haftadan sonra analizleri yapılamadığı için bu değerler verilememiştir. Buzdolabı koşullarındaki salamura örneklerinde ise %10, 15, 20, 25 ve 30 tuz konsantrasyonlarında üretilen ürünlerde en düşük a_w değerleri sırasıyla, 0.949 (3. hafta), 0.927 (3. hafta), 0.876 (12. hafta), 0.855 (12.

hafta), 0.831 (12. hafta) olarak bulunmuştur. Buzdolabında saklanan örnekler %10 salamurada hazırlananlar 3. haftadan, %15'lik olanlar ise 5. haftadan sonra bozulmuşlardır.

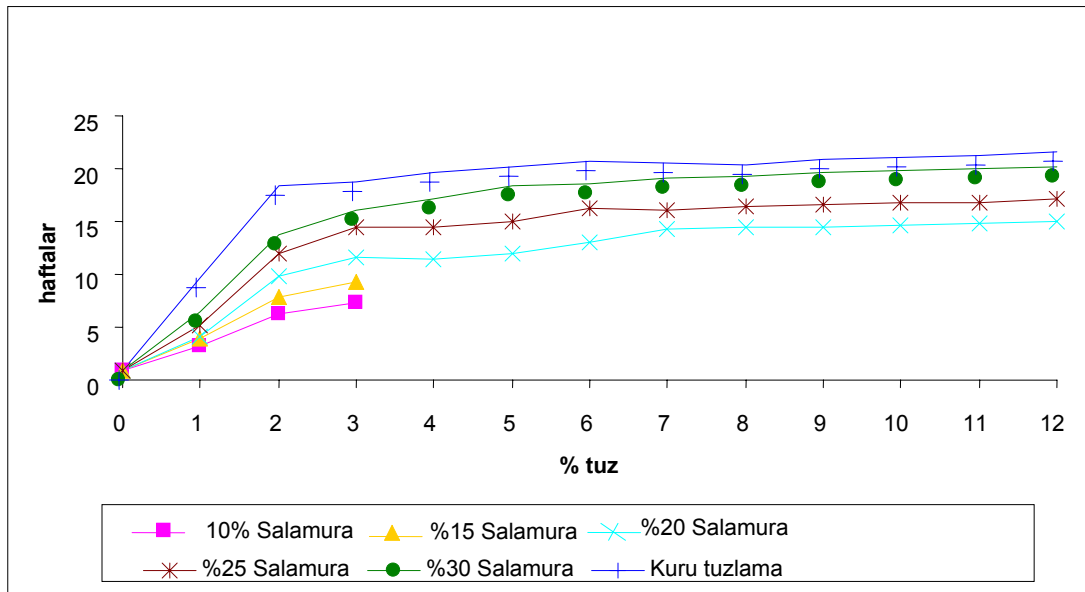


Şekil 12. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı su aktivitesi değişimi

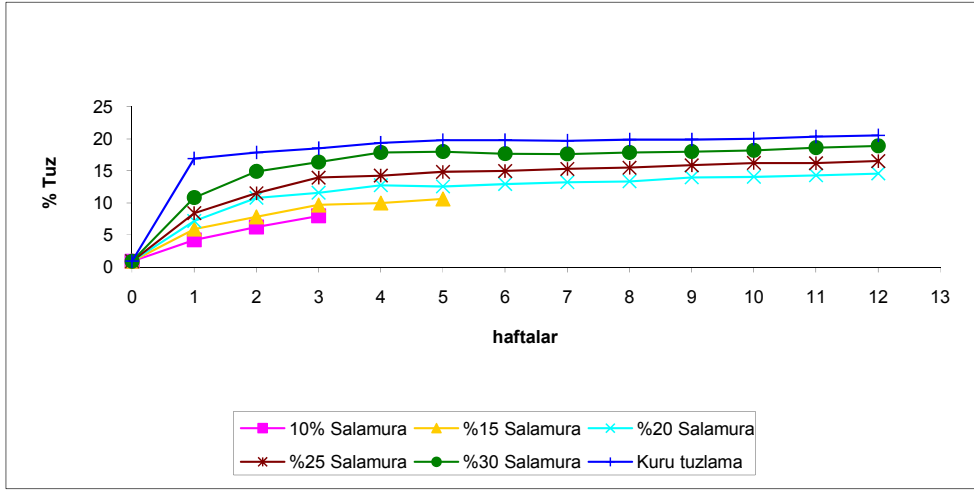


Şekil 13. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı su aktivitesi değişimi

Şekil 14 ve 15 sırasıyla laboratuvar koşullarında işlenmiş oda ve buzdolabında depolanan örneklerdeki zamana bağlı % tuz miktarlarını göstermektedir. Buna göre oda sıcaklığında depolanan örneklerde % tuz miktarı ikinci haftadan itibaren hızla artmış, daha sonra artış 3. haftaya kadar devam ettikten sonra durağan hale gelmiştir. Buzdolabı koşullarında saklanan örneklerdeki tuz miktarı yine benzer şekilde 2. haftaya kadar artış göstermiş ancak artış bu haftadan sonra tüm örneklerde yavaşlamıştır. Balığa tuz geçişi en hızlı kuru tuzlamada olup bu durum salamura şeklindeki örneklerde ise yoğun tuz küründen daha düşük olana doğru azalmıştır. Elde edilen % tuz değerlerinden ve üründeki su ve kuru madde değerlerine dayanarak hesaplanan % WPS değerinin taze üründeki % WPS'ye oranı 1.11 bulunmuştur. Bu değer, buzdolabı koşullarındaki ürünlerde depolama sonucunda % 10, 15, 20, 25 ve 30 salamura ile tuzlanmış ürünlerde sırasıyla, %9.95, 13.39, 19.26, 21.62 ve 24.41 olarak tespit edilmiştir. Aynı sıradaki oda koşullarındaki ürünlerde ise bu oranlar sırasıyla, % 9.92, 12.61, 21.32, 24.98 olarak bulunmuştur. Kuru tuzlanmış ürünlerin %WPS değerleri hem oda hem de buzdolabındaki ürünlerde salamura örneklerine karşılık daha fazla gözlenmiştir. Buna göre depolama sonucunda oda sıcaklığı ürünlerinde % 30.34, buzdolabı ürünlerinde ise %30.64 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 14. Oda koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı % tuz miktarı değişimi



Şekil 15. Buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı % tuz miktarı değişimi

4. TARTIŞMA

Laboratuar koşullarında tuzlanmış hamsilerde ülkemizde iki önemli çalışma yürütülmüştür. Bunlardan birisi Yapar (1999) tarafından tuzlanmış hamsilerde yapılmış olup, çalışmasında %7.5, 10 ve 15 salamura konsantrasyonları uygulamıştır. Ancak adı geçen çalışmada su aktivitesi ve %WPS düzeyleri belirlenmemiştir. Diğer çalışma ise Karaçam vd. (2002) tarafından yapılmış olup aynı zamanda hamsi salamura örneklerinde halofilik bakteri, değerleriyle birlikte histamin analizi ve bazı kimyasal bozulma parametrelerini incelemiştir. Bu çalışma ile elde ettiğimiz bulgular her iki çalışma ile de uyumludur. pH değerinin düşük olması Yapar'ın (1999) çalışmasında, ilk ayda halofilik bakteri görülmemesi ise Karaçam vd. (2002) tarafından da bildirilmiştir.

Örneklerde izole edilen özellikle *Morganella morgani* ve *Enterobacter cloaceae* gibi bakterilerin histamin üreten bakteriler olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. (Lehane ve Olley, 2000; Durlu-Özkaya vd. 2001 Bermejo vd., 2004; Huss vd., 2004). Ancak bu bakterilerin çoğalma koşullarının yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük su aktivitesi gibi bakteri üremesini sınırlayıcı faktörlerin analiz ettiğimiz pek çok örnekte üremenin olma ihtimali düşük kılmaktadır. Buna rağmen, fazla tuzlu örneklerin tüketiciler tarafından özellikle bir gece bekletilerek tuzunun azaltılması uygulamaları yaygın olarak gözlemlenmektedir. Bu tür uygulamaların da su ürünleri işletmeleri tarafından özellikle yoğun tuzlanmış balıkların tuzunun suda bekletilerek azaltılması ve sonra yağ karışımı başka kaplarda yeniden paketlenerek piyasaya sürüldüğü bilinmektedir. Bu tür uygulama sonucunda histamin gibi biyojenik aminlerin tehlike oluşturduğu Veciana-Nogues vd. (1997) tarafından İspanya piyasasından temin edilen kuru tuzlanmış hamsilerle yürüttüğü çalışmasında ortaya koyulmuştur. Adı geçen çalışmada, fazla tuzundan arındırılmış ve sonra yağ içinde yeniden paketlenmiş tuzlu hamsi örneklerde biyojenik amin değerinin 6 aylık depolamada toksik düzeye ulaştığı bildirilmiştir.

Karaçam'ın vd. (2002) çalışmasında oda sıcaklığında depolanan salamura hamsilerde tuz konsantrasyonuna bağlı olarak 3. aydan itibaren histamin miktarının izin verilen limitin üzerinde gerçekleştiği, buzdolabı koşullarında depolanan ürünlerde ise histamin miktarının çok düşük gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Oda sıcaklığındaki örnekler ayrıca diğer bozulma parametreleri bakımından da artış göstermiş ve yine tuz konsantrasyonuna bağlı

olarak 5 ay sonra tüm oda koşullarındaki örneklerin bozulduğu bildirilmiştir. %14 tuz konsantrasyonlu salamura hamsiler diğerlerine göre en erken bozulmuş olup 52. günde yenilemeyecek duruma geldiği gözlenmiştir. Ancak bizim çalışmamızda %10 ve %15 tuz konsantrasyonundaki ürünler 3. haftadan sonra duyusal olarak bozulmuş kabul edilmişlerdir. Bu durum örneklerin avlama zamanı, su sıcaklığı ve diğer faktörlerin etkili olduğu şeklinde açıklanabilir. Karaçam vd. (2002)'nin örnekleri Aralık ayında, bizim çalışmamızda ise Ocak ayının sonunda temin edilmiş olup tuzlama işlemine tabi tutulmuştur. Bu durumda ürünün içerdiği yağ miktarı farklılığı duyusal bozulmada yağların acılaşmasının değerlendirilmede etkili olabileceği düşünülmektedir.

Biyojenik amin oluşumuna ham materyalin uygun koşullarda saklanmamasının da etkili olacağı bildirilmiştir (Köse, 1993). Buna göre tuzlanmış ürünler eğer işlem öncesinde uygun koşullarda saklanmazlarsa toksik düzeyde histamin içermeleri muhtemel olacağı bilinmektedir (Lehane ve Olley, 2000).

Biyojenik amin üretimlerinin yanında, *Enterobacter* türlerinin özellikle *E. cloacae*'nin ayrıca bir nozokomiyal patojen olduğu da bildirilmiştir. Bu bakterilerin pek çok bakteremiya, alt solunum yolları enfeksiyonları, deri ve yumuşak deri enfeksiyonları, üriner kanalların enfeksiyonları, endokarditis, intra-abdominal enfeksiyonlar, septik arthritis, osteomyelitis ve oftalmik enfeksiyonu gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Fraser ve Arnett, 2007; Nishijima, 1993). *C. freundii* ve diğer *Citrobacter* türlerinin neonatal meninjitisi'e neden olduğu bildirilmiş olup beyin absesi oluşumunun sıkça saptandığı rapor edilmiştir (Badger vd., 1999).

Genelde bakteriler %10'luk tuz çözeltisinde çoğalamazlar ve etkinlikleri azalır. Ancak bazı bakteriler (Tuzu seven bakteriler=Halofilik bakteriler) tuzlu ortamda da gelişip çoğalabilirler. Çok tuzlu ve çok tuzsuz ortam da gelişemezler. Bunlar için en uygun tuz oranı %12-15'dir (Göğüş ve Kolasarıcı, 1992; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Varlık vd. 2004).

Patojenlerin yüksek tuz konsantrasyonlarında nadir olarak üredikleri bilinirken, Karnop (1988) histamin oluşturabilen *Pediococcus halophilus*'un 20-25°C oda ısısında uzun süre canlı kalabildiğini kanıtlamıştır (Bremmer, 2005). Tuzlanmadan önce kötü kaliteye sahip balıklarda üreyen *C. botulinum* tarafından üretilen toksinlerin tuzlanmış üründe bozulmadan kaldığı görülmüştür (Huss ve Rye-Pettersen,1980). Kreig ve Holt (1984) kırmızı halofillerin *Halobacterium* ve *Holococcus* olmak üzere iki sınıfa ait olduklarını belirtir (Bremmer, 2005). *Halobacterium* kırmızı çomak şekilli bir bakteri ve en düşük

%10-15 tuz konsantrasyonunda yaşayabilirken *Halococcus* %5-10 tuz konsantrasyonunda çok iyi ürer. Her iki bakteri de aerobiktir, 37°C da ürer ve karotinoid pigmentleri üretirler. Salamura suyunun birkaç kez kullanıldığı durumlarda, tuz solüsyonunun kimyasal kompozisyonu değişir. Organik maddeler önemli ölçüde artar, bu da bakterilerin özellikle kırmızı halofillerin ve ozmofilik küflerin salamura sıvısında aşırı miktarda artmasını sağlar. Tuzlanmış fermente balıklarda yaygın olarak görülen ve kusur olarak kabul edilen pembe ve grimsi-kahverengi renk oluşumu kırmızı halofilik bakteri ve ozmofilik mantarların çürüme işlemi sonucudur. Kırmızı halofilik bakteriler 15-55°C arasındaki ısılarıda salamura sıvılarında yaşayabilirler. %10'dan yüksek konsantrasyonlarda yalnızca birkaç patojen bakterinin çoğalabildikleri gösterilmiştir. Ancak bu bakterilerin birçoğunun doymuş tuz konsantrasyonlu ortamlarda yaşayabildiği bilinmektedir. Örneğin *Typhus* bakterisi doymuş tuzlu ortamda üç-altı ay, *Salmonella* %10 tuzlulukta 1-6 hafta yaşayabildiği bildirilmiştir. *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* ise tuzlu balıkta birçok hafta canlı kalabildiği ortaya koyulmuştur (ICMSF, 1980). Knochelz ve Huss'ın (1984), varilde tuzlanmış ringa balığı üzerine yaptıkları mikrobiyolojik bir çalışmada aerobik ve anaerobik canlı bakteri sayısı (%15 NaCl içeren besiyerinde) düşük tespit etmesine rağmen, $3 \times 10^5/g$ den az olmadığını belirtmişlerdir. Tiplendirilen mikroorganizmalar (Bremmer, 2005):

(i) gram-negatif	aerobik	halofilik	çomaklar	(%70);
(ii) gram-pozitif	aerobik	halotolerant	koklar	(%20);
(iii) mayalar				(%3).

Villar vd. (1985)'de yaptığı çalışmada *Pediococcus halophilus*'un tuzlanmış anchoviezde baskın mikroorganizma olduğunu göstermiştir (Bremmer, 2005). Genelde *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakteriler örn, *E. coli*, *Salmonella* yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanmadığı bildirilmiştir. Buna rağmen, bazı türlerin örn, *Serratia rubidea*'nın yüksek tuz konsantrasyonunu tolere ettikleri (%10 NaCl) bildirilmiştir. Halotolerant *E. coli* serotiplerinin (strain) de yüksek tuz konsantrasyonunda hem ürettiği hem de yaşadığı bildirilmiştir. Yüksek ozmotik dayanıklılığın hücrelerdeki prolinen kaynaklandığı bildirilmiştir (Colavita vd. 2003). Colavita vd. (2003) *Citrobacter freundii* türünün tuza çok hassas olduğu ve %8 tuz konsantrasyonunun üzerinde inaktive olduğunu, buna karşın *H. alvei* ve *E. coli* ve *E. cloacea* bakterilerinin tuza dayanıklı olduğu ve *E. cloacea*'nin %15'lik tuzda de bile dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda tespit

ettiğimiz *Enterobacteriaceae* türlerinin bazılarının halotolerant olabileceği, diğerlerinin ise sonradan depolama esnasında balıkçıların büyük tuzlanmış kaplardan elle muamele ile torbalara aktarma yaparken kontaminasyona maruz bırakmasından ya da evlerde kullanım esnasında bulaşmış olabileceği sanılmaktadır. Analiz edilen örneklerden belli bir kısmı halen kullanımda olan ürünlerden, diğer kısmı ise ilk orijinal kabında açılmadan temin edilmişlerdir.

Koruma Kontrol Genel Müdürlüğünün Belirlediği, ‘Dondurulmuş ve İşlenmiş Balıklardaki Mikrobiyolojik Kabul Edilebilir Değerler’ göz önüne alınarak incelemiş olduğumuz balıklar değerlendirilmiştir (URL-4, 2008).

Bu kriterlere göre patojenlerden *Salmonella*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholera* ‘25 gr’da n=10, c=0’ hiç bulunmamalıdır (n=analiz yapılması gereken örnek ünite sayısı, c=hatalı numune ünitelerinin kabul edilebilir maksimum sayısı).

Mezofilik aerobik bakteri, örneğin gramında 10^6 ’dan fazla olmamalı; 1 ay süreyle buzdolabında bekletilen örneklerimizden bazılarında bu sınırın geçildiği görülmektedir. Örneklerin genelde bir aylık olanlarında *Salmonella* pozitif çıkmıştır. Diğer örneklerden ise sadece bir tanesinde *Salmonella* izole edilip doğrulanmıştır. Bu sonuçlar bize özellikle evlerde ve küçük perakende balıkçı işletmelerinde üretilen tuzlanmış örneklerin hijyenik olmayan koşullarda üretildiğini göstermektedir. Bu durumun ayrıca genellikle insan yara enfeksiyonlarına neden olan *Vibrio vulnificus*’un bir örnekte tespit edilmesi açısından doğrulandığı düşünülmektedir. Denizel kökenli *V. parahymoliticus* sadece bir aylık örneklerde var/yok testinde pozitif çıkmış olup artıca sayılmıştır. Ancak identifikasyonu yapılmamıştır. Diğer örneklerin hiçbirinde tespit edilmemiştir. Bu durum bu bakterinin ‘Giriş’ bölümünde açıklandığı gibi yüksek tuz konsantrasyonlarında üremediğini kanıtlamıştır. Balıkçılar ve ev üretiminde tuzlanmış ürünlerin genelde yüksek tuz konsantrasyonlarında işlendiğini ancak fabrikasyon ürünlerin ise daha düşük konsantrasyonlar kullanılıp soğuk muhafaza edildiği bildirilmiştir (Köse vd. 2007). *Salmonella*’nın özellikle altı ay ve üzerindeki diğer pek çok üründe tespit edilememesi bu bakterinin tuza hassas olduğunu ve belli bir süreden sonra elimine edilmiş olabileceğini gösterir. Uzun süreli muhafaza edilen bir örnekte *Salmonella* tespit edilmesi ise bu ürünün depolama esnasında kullanırken kontamine olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yüksek tuz konsantrasyonuna toleransı *S. aureus* ve daha az toleranslı olan *L. monocytogenes* analiz edilen örneklerin hiç birinde tespit edilememesine rağmen bazı

örneklerde *Listeria*'nın diğer türleri izole edilip Api testi ile doğrulanmıştır. Bu sonuç, bu bakterinin bu ürünlerde rastlanabilme ihtimali olduğunu göstermektedir. *C. perfringes* ise tüm örneklerde incelenmiş ancak hiçbir örnekte gözlenmemiştir. Bu bakterinin tuza hassasiyeti *L. monocytogenes*'e bezemediği bildirilmiştir (FDA, 2008).

Koliform sayısı genellikle uzun süre muhafazalı örneklerde tespit edilememiştir. Tespit edilen örneklerin de balıkçı tarafından ürünün depolama esnasında perakende satışı (büyük kaplardan elle alınıp plastik torbalara aktarılırken) ya da evlerde kullanım esnasında elle temasla kontaminasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bir aylık depolanan ürünlerde koliform sayısının fazla olması bu tür ürünlerin hijyenik şartlar uygulanmadan hazırlandığını göstermektedir. Bu da ürünlere özellikle yüksek tuza ve düşük su aktivitesine duyarlı *S. aureus* gibi patojen bakterilerin bulaşma riskini göstermektedir.

Günerkaya'nın (2006) yaklaşık dört aylık oda sıcaklığında depolanmış tuzlanmış balıklarda yürüttüğü çalışmada halofilik bakteri sayısını 1.0- 3.32 log cfu/g, koliform sayısını 3.52-4.48 log cfu/g olarak bulunmuştur. Hiçbir örnekte *Salmonella* ve *V. parahymoliticus* tespit etmediğini belirtmiştir. Olgunoğlu (2007) marine hamsilerin depolama esnasında duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal parametreleri incelemiştir. Araştırmacı çalışmasında koliform bakteri sayısını 1. ayın sonunda 2.5×10^1 bulmuş olup bu aydan sonra üreme gözlememiştir. Ancak toplam mezofilik ve psikrofilik bakteri sayısında aylara bağlı olarak önce düşüş, sonra artış tespit etmişlerdir. *Salmonella*, *Staphylococcus*, küf ve maya gözlenmediğini belirtmişlerdir.

Çolakoglu vd. 'nin (2006) Dardanel bölgesinden temin edilen ve toptan ve perakende satış mağazalarında satışa sunulan deniz ürünleri üzerinde yaptığı bir çalışmada koliform sayılarını, toptan balık satış mağazalarından elde edilen örneklerde $<10^1-2.4 \times 10^4$ cfu/g ve perakende satış mağazalarından alınan örneklerde ise $<10^1-3.2 \times 10^5$ cfu/g olarak bulunmuştur. Vural vd.'nin (2006) Dicle Nehri Balıklarında üç farklı istasyondan örnekler alarak yaptığı mikrobiyolojik incelemede koliform sayılarının ortalamasını sırasıyla 3.69, 3.92 ve 4.97 (log₁₀ kob/g) olarak bulunmuştur. Kılınç vd. 'in (2008) sardalya pattieslerin 4°C sıcaklıkta bekletilen örneklerinde yaptığı incelemede başlangıçta 19 MPN/g olan koliform sayısının 6 gün sonra 70 MPN/g'a yükseldiğini belirlemiştir. Ekici'in vd. (2005) Chalcarbunus tarichi balık örneklerinde yaptığı mikrobiyolojik çalışmasında $<10^1-6.4 \times 10^3$ cfu/g olarak ; Likhitrattanapoiboon vd.'nin (2007) paketlenmeden önce süngerle silinerek işlenen Tabtim balığında koliform kontaminasyon seviyelerini 6.6×10^3 cfu/cm² olarak bulunmuştur. Arannilewa vd., (2005)'in dondurulmuş tilapia balıklarında (*Sarotherodon galiaenus*) total

koliform sayısını 3.0×10^3 - 7.5×10^6 olarak tespit etmiştir. Altuğ ve Bayrak'ın (2003), havyarda yaptıkları bir çalışmada koliform sayılarının $<10^1$ - 2.4×10^4 cfu/g arasında *E.coli* sayısının $<10^1$ - 3×10^2 cfu/g değiştiğini belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise 13 örnekte 1.85-3.59 logcfu/g arasında değişen miktarlarda koliform sayısı tespit edilmesi işleme ve/veya saklama esnasında kontaminasyonun gerçekleştiğinin ve hijyen kurallarına yeterince uyulmadığının bir göstergesi olarak yorumlanmaktadır.

Normalde yeni yakalanan balıkta pH 6.0-6.5 arasındadır. Bu değer daha sonra depolama esnasında değişir. Kabul edilebilir pH değeri'nin 6.8-7.0 olarak taze balıkta (yani işlenmemiş olan) bildirilmiş olup kesin bir kalite kriteri değildir (Varlık vd. 1993). Laboratuvar koşullarında işlenmiş ve kontrollü koşullarda (oda ve buzdolabı) saklanmış tuzlanmış hamsilerde pH kuru tuzlanmış örneklerde en düşük olarak tespit edilmesine rağmen (pH: 5.74 oda sıcaklığı, pH: 5.95 buzdolabı) bu pH düzeyinin pek çok patojen bakterinin çoğalmasına izin vereceğini göstermektedir. Ancak diğer parametreler ise bu üremeyi sınırlayıcı ya da önleyici etkisi vermesi açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda kuru tuzlanmış örneklerde a_w 0.994'den birinci hafta 0.774'e düşmüş olup bu değer bu tür ürünleri pek çok bakteri üremesi açısından güvenli görülmektedir. Huss vd. (2003) ve FDA (2001b) çoğu patojen bakterinin a_w düzeyinin 0.83'ün altında olduğu ürünlerde üremesi veya toksin oluşturulmasının durdurulduğu ya da sınırlandırıldığı bildirilmiştir. Geleneksel tuzlanmış ürünlerde bu tür tuzlama yöntemi özellikle evlerdeki üretimde tercih edilmektedir. Ancak bakterilerin bu tür ortamlarda diğer faktörler uygun olduğu sürece yaşayabilirler. Bu durum ise daha sonraki tuz çözümü veya diğer ürünlere tuzlanmış ürünlerin katılması esnasında riskli olabilirler. Ayrıca, palamut gibi büyük balıklara tuz geçişi hamsi gibi hızlı olamayacağından bu tür örneklerde bu açıdan dikkatli olunması gerekir.

Gadrini vd. (2001) *E. faecalis* türünün biyojenik amin üretimi, çoğalma kinetiği ve proteolitik aktivitesi üzerine pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun etkisini araştırmışlardır. Ancak araştırmamızda bu tür izole edilememiştir. Bunun yanında diğer izole edilen türlerin bu açıdan araştırılması diğer bir ifadeyle etki eden faktörlerin birlikte etkisi (sinerjik etki) fazla çalışılmamıştır.

Tuz konsantrasyonu su aktivitesini beklenen şekilde hızlı bir şekilde düşürmüştür. Bilindiği üzere tuz geçişi oda sıcaklığında buzdolabı sıcaklığına göre daha hızlı olmaktadır (Kutlu, 1996; Karaçam vd., 2002; Varlık vd., 2004). Bu durum bizim çalışmamızda da doğrulanmıştır.

Piyasadan ve evlerden temin ettiğimiz örneklerde % tuz miktarı yüksek çıkmıştır. Laboratuvar koşullarında üretilen salamura ve kuru tuzlanmış hamsi örneklerinde zamana bağlı tuz miktarı birinci haftadan itibaren tüm örneklerde hızla artmış daha sonra stabil konuma geçmiştir. En yüksek % tuz değeri kuru tuzlanmış ürünlerde bulunmuştur. Huss vd. (2003) ve FDA (2008) bildirdiği bakteri üremesi ve toksin üretimleri konusundaki verilerle karşılaştırıldığında ve çalışmamız sonucundaki %WPS değerleri dikkate alındığında, *S. aureus* üremesi ve toksin üretmesi bakımından %10 tuz konsantrasyonunda tuzlanmış hem oda hem de buzdolabı koşullarında depolanan ürünlerin güvensiz olduğu görülmüştür. *S. aureus* üremesi açısından ise %10, 15 ve 20 konsantrasyonunda tuzlanmış ürünler her iki depolama koşullarında depolama boyunca güvenli olmadığı, ancak toksin üretmesi açısından %15 ve %20 salamuralı örneklerde 2. haftadan itibaren sınırlandırılması düşünülmektedir. Ayrıca diğer bakterilerin de pek çoğunun bu haftadan itibaren üremesinin kısıtlanacağı ihtimali bu çalışmayla ortaya koyulmuştur. %25 ve % 30 salamuralı ürünler ise %WPS değerleri açısından bakterinin üremesi ve bazı bakterilerin toksin üretmesini daha etkili şekilde elimine edebilme özelliğine sahip olduğu görülmüştür.

Kuru tuzlanmış ürünlerde %WPS değerleri her iki depolama koşullarında da 1. haftadan itibaren %20'nin üzerinde tespit edilmiş olup bu tür ürünlerin gıda güvenliği açısından diğer yöntemlere göre daha etkili olduğu düşünülmektedir. Ancak tuzun tüketimden önce tuzunun üründen azaltılması için suda bekletilmesi uzayacağından farklı sorunlar yaratabilir. Bu durum ise buzdolabı koşullarında depolamayla çözülebilir. Her ne kadar kuru tuzlanmış ürünlerin mikrobiyolojik açıdan diğer ürünlere göre daha güvenli görünse de bu ürünlerin iyi üretim planlarının yetersiz olması bu ürünlerde pas görünümü, yağlarda acılaşıma gibi tüketicinin istemediği kalite sorunlarını ortaya koyduğu çalışmamızda da gözlenmiştir. Salamura ürünlerde ise hava ile temasın az olmasından dolayı yağlarda acılaşıma ve pas oluşumu daha az görülmüştür. Salamura ürünlerde pas yerine daha çok kırmızılık-pembemsi görünüm hakim olmuştur.

5. SONUÇ

Bu araştırmada piyasadaki perakende balık satışı yapan üreticilerden ve evlerden temin edilen, ayrıca laboratuvar koşullarında üretilen toplam 51 adet kuru tuzlanmış, salamura, lakerda ve baharat soslu hamsi örnekleri bu tür ürünlerde rastlanma ihtimali olan mikrobiyolojik tehlikeler açısından incelenmiştir. Ayrıca kontrollü koşullarda aynı partiden üretilip oda ve buzdolabı koşullarında saklanan kuru tuzlanmış ve salamura hamsi örnekleri de bakteri üremesini sınırlayıcı parametreler bakımından incelenmiştir.

Çalışma sonucunda özellikle bir aylık ürünlerde Koliform, fekal koliform sayıları diğer örneklere göre fazla gözlenmiştir. Ayrıca bu ürünlerde *Vibrio parahymolyticus* ve *Salmonella* pozitif çıkmıştır. Buna karşın halofilik bakteri tespit edilememiştir. Halofilik bakterinin varlığı tuzlamanın yapıldığı ilk aylarda tespit edilememiş olup diğer araştırmacıların sonuçlarını doğrulamıştır. Halofilik bakteri 6 ve üzeri aylarda her iki depolama koşulunda depolanan ürünlerde tespit edilmiştir.

Bu araştırmayla Karadeniz bölgesinden temin edilen tuzlanmış ürünlerin % tuz miktarı ve su aktivitesi bakımından pek çok üründe güvenli görünmesine rağmen bu ürünlerin hijyenik olmayan koşullarda işlendiği ve depolama esnasında kullanım sırasında kontamine olduklarını ortaya koyulmuştur. Ürünlerde *Salmonella*, *Vibrio vulnificus* ve *E. coli* tespit edilmesi insan ve hayvan kökenli patojen bakterilerle bulaşılı olduklarını göstermiştir. Bu çalışmayla ayrıca, histamin üreten bakterilerin yoğun bir şekilde tuz konsantrasyonuna bağlı kalmaksızın izole edilmiş olması, ürünlerde tuzun tüketim öncesi suda bekletilerek azaltılması esnasında yeniden faaliyete geçebileceği ve histamin zehirlenmesi bakımından tehlike yaratacağı düşünülmektedir.. Bu nedenle, bu tür tuz miktarı azaltma işlemlerinde buzdolabı koşullarının uygulanması gerekmektedir.

Duyusal açıdan piyasadaki ya da evlerden temin edilen örneklerin çoğu orta ve kötü kalitede görülmüştür. Ancak bu ürünlerin büyük bir kısmı oda koşullarında ve uzun süreli muhafaza edilen örnekleri temsil etmektedir. Bunun yanında laboratuvar koşullarında kontrollü hazırlanmış ve depolanmış salamura ve kuru tuzlanmış hamsilerde genellikle yüksek tuz konsantrasyonlu ürünler ve özellikle kuru tuzlanmış ürünler en iyi kalitede olmuşlardır. Bu sonuçlarımız diğer araştırmacıların bu ürünlerde yürüttüğu depo şartlarına bağlı olarak bozulma parametreleri ve histamin üretimi sonuçlarıyla da desteklendiği tespit

edilmiştir. Pas görünümünün kuru tuzlanmış ve özellikle ev yapımı ürünlerde görülmesi bu açıdan halkımızın bu yöntemleri genelde hatalı uyguladığını ortaya koymuştur. Ancak örneklerimizin genelde 1 yıl ve üzerinde sürede bulunması bu açıdan sağlıklı bir değerlendirme yapılamamıştır.

Çalışmamızın ikinci aşamasında bakteri üremesini sınırlayıcı faktörlerin zamana bağlı olarak farklı koşullardaki değişiminin izlenmesi şeklinde olmuştur. Bu çalışmada haftalık yürütülen çalışma sonucunda salamura ve kuru tuzlanmış ürünlerin pH, aw, %tuz ve %WPS değişimi gözlenmiş olup bu alanda literatürdeki eksiklik tamamlamıştır. Ancak çalışma sadece tuz geçişi kolay olabilecek hamsi örneklerinde yürütülmüş olup, diğer ürünler açısından yorum getirilememiştir. Diğer araştırmacılar ise bu tür çalışmalarda pH ve % tuz miktarı açısından değerlendirme yaptığından, bakteri üremesi ve toksin üretimi için salamura veya tuzlama olgunlaşma sürecinde hangi aylar boyunca bu açıdan risk taşıdığı konusunda net bir fikir yürütememişlerdir. Ayrıca bakteri üremesini engelleyecek tuz değerleri genelde %WPS şeklinde olup bu açıdan etkin olabilecek tuz miktarını ifade etmektedir. Bu çalışma bu değerler bakımından literatüre bir katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu değerler incelendiğinde oda ve buzdolabı koşullarında saklanan tuzlanmış hamsilerin bakteriyel açıdan en güvenli ürünlerin kuru tuzlama yöntemi olduğu ortaya koyulmuştur. Halk arasında standart bir tuzlama yöntemi uygulanmamaktadır. Bu yararın ancak bizim uyguladığımız yöntemin uygulandığı koşullarda ve ilave olarak ön tuzlama yapılması durumunda sağlanabileceği kanısına varılmıştır.

6. ÖNERİLER

Bu araştırma Karadeniz bölgesinde piyasaya sürülen ve evlerden temin edilen tuzlanmış örneklerde temin edilerek yapılmıştır. Çalışma sonucunda aşağıdaki öneriler getirilmiştir.

Bu çalışmanın ülkemizin diğer bölgelerinden de temin edilen ürünlere uygulanması ve çalışma örnek sayısının artırılması ülkemizin bu açıdan genel durumuna daha net bir açıklık kazandıracaktır. Çalışmada lakerda ve baharat soslu ürünlerden fazla örnek kullanılamamıştır. Bu tür ürünler genelde doğrudan tüketilmeye yönelik olması ve hassas üretimi nedeniyle tuz konsantrasyonlarında önemli varyasyonlar görülecektir. Ayrıca bu alanda belli standart bir yöntem mevcut değildir. Bu nedenle bu tür ürünlerin daha detaylı açıdan araştırılması gerekir. Düşük tuz konsantrasyonu bakteriyel faaliyeti farklı düzeyde etkileyeceğinden farklı sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

Çalışmaya bakteriyel tehlikelerin ve bu tehlikeleri sınırlayıcı faktörlerin tespiti yanında bozulma parametrelerinden total volatil baz, trimetil amin, thiobarbütirik asit değeri gibi parametrelerle, histamin üreten bakteri ve histamin değerlerinin tespit edilmesi bu faktörlerin birlikte değerlendirilmesi bakımından yararlı olacaktır.

Baharat eklenmiş tuzlanmış ürünlerde ve lakerda balık ürünlerinin doku yapısının diğer tuzlanmış ürünlere göre daha yumuşak olması ve kokusunda fermente kokusu andıran bir koku oluşumu bu tür ürünlerin kısmen de olsa 'fermente ürün' sınıflandırmasına girebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle ileriki çalışmalarda, laboratuvar koşullarında üretilen bu tür ürünlerde fermentasyon olup olmadığının araştırılması önerilmektedir.

Çalışmamızda laktik asit bakterileri tespit edilmiştir. Ancak bu bakteriler diğer patojenlerin araştırılması esnasında alınan izolatlardan ortaya çıkmıştır. Bu bakteriler için özel besiyerleri mevcut olması nedeniyle, bu alandaki yeni çalışmalarda bu tür bakterilerinin de çalışmaya eklenmesi yararlı olacaktır.

Ülkemiz tuzlanmış su ürünleri açısından hijyenik olmayan koşullarda ve belli bir standart olmadan üretim yapılmaktadır. Araştırma bulgularımız bu tür ürünlerin hijyenik koşullarda yapılmadığını göstermiştir. Bu nedenle, bu alanda küçük işletmecilere de kontrollerin yapılması, halkımıza ise bu alanda tavsiyelerde bulunulması gerekmektedir.

Ayrıca, tuzlanma yöntemleri için belli standartların da oluşturulması ve bu alanda üreticilere yönelik eğitimlerin verilmesi bu alandaki sıkıntıları azaltacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Ahmed, F.E vd., 1991. Seafood Safety National Academy Pres. Washington DC. USA.
- Anonim, 2005b. Mikrobiyolojide Analiz Yöntemlerinde Yeni Yaklaşımlar. Hemakim, İstanbul, Turkey.
- Anonim, 2006. Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Hizmetiçi Eğitim, Erzurum.
- Badger, J.L., Stins, M.F. ve Kim, S.S., 1999. *Citrobacter freundii* Invades and Replicates in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Infection and Immunity*, 67, 8, 4208-4215.
- Bermejo, A., Mondaca, M.A., Roeckel, M. ve Marti, M.C., 2004. Bacterial Formation of Histamine in Jack Mackerel (*Trachurus symmetricus*). [Journal of Food Processing Preservation](#), 28, 201-222.
- Besbelli, N., Kişisel İletişim, 3 Ağustos 1998. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı. Zehir Araştırma Merkezi. Resmi kayıtlar. Sayı:B.10.1.RSH.00.012/457.
- Bremmer, H.A., 2005. Safety and Quality Issues in Fish Processing. Woodhead Publishing Lt., 507s.
- Bilgehan, H., 1995. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Basım, İzmir.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K. ve Vural, N., 2001. Biogenic Amines Produced by *Enterobacteriaceae* Isolated from Meat Products, *Meat Science*, 58, 163-166.
- Chiavelli, D.A., Marsh J.W. ve Taylor, R.K., 2001. The Mannose-Sensitive Hemagglutinin of *Vibrio cholerae* Promotes Adherence to Zooplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3320-3225.
- Colavita, G., Sessa, M. Giaccone, V. ve Vergara, A., 2003. Effect of NaCl Concentration on the Survival and Growth of Coliforms in Raw Seasoned Sausages. *Veterinary Research Communications*, 27 ,1, 293-295.
- Connell, J.J., 1980. Control Of Fish Quality, Second Education, Fishing News Books Ltd., England .
- Çolakoğlu, F.A., Özen, O., Çakır, F., 2006. Microbiological Quality of Seafood in The Dardanelles Turkey, [Pakistan Journal of Biological Sciences](#), 9, 3, 425-427.
- DIE, 2003. Su Ürünleri İstatistikleri. Ankara.

- Erkman , 2007. Basic Methods for The Microbiological Analysis of Foods, 154-155.
- European Commission, 2000. Healthy Food for Europe's Citizens; The European Union and Food Quality
http://www.europa.eu.int/comm./publications/booklets/move/20/index_en.htm
 04.10.2006.
- EC (European Commission) Commission Regulation (EC), 2001. No. 466/2001 Setting Maximum Levels of Certain Contaminants of Foodstuffs. Official Journal of the European Communitites L 77, 1-14.
- FAO, 2006. Fisheries Statistics, Rome, Italy.
- Fantelli, K. ve Stephan, R., 2001. Prevalence and Characteristics of Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Minced Meat in Switzerland, International Journal of Food Microbiology, 70, 1-2 , 22 Ekim, 63-69.
- Farber J.M., 1991. *Listeria monocytogenes*, AOAC, 74, 4, 701-704.
- FDA, (US Food and Drug Administration), 2001a. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide. Yayın No.3. FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington DC, USA.), www.cfsan.fda.gov/~comm/haccpsea.html. 15.05.2006.
- FDA, Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance 2001b. Yayın No.3. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC.
- FDA, 2008. <http://www.cfsan.fda.gov>. 22.02.2008.
- FDA, Guide, Docket Number 93N-0195.U.S. 2008. Food and Drug Administration, Dockets Management Branch (HFA-305) Room 1-23, 12420 Parklawn Drive Rockville, MD 20857. Temin adresi: Florida Sea Grant, IFAS - Extension Bookstore, University of Florida, P.O. Box 110011, Gainesville, FL 32611-0011, 1-800-226-1764, USA. <http://www.cfsan.fda.gov>. 22.02.2008.
- Fraser, S.M., Arnett, M.ve Sinave, C.P., 2007. *Enterobacter* Infections. Emedicine, <http://www.emedicine.com/med/topic678.htm>. 09.08.2007.
- Gadrini, F., Martuscelli, M., Caruso, M.C., Galgano, F. Crudela, M.A., Guerzoni, M. E. ve Suzzi, G., 2001. Effects of pH, Temperature and NaCl Concentration on the Growth Kinetics, Proteolytic Activity and Biogenic Amine Production of *Enterococcus faecalis*. International Journal of Food Microbiology. 64, 105–117.
- Genç, S., 2006. Taze Tüketime Sunulan Bazı Balık Türlerinde *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahymoliticus*, Toplam Mezofilik Bakteri ve Fekal Koliform Sayılarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Gökoğlu, N., 2002. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Antalya, 58s.
- Göğüş, A.K. ve Kolsarıcı, N., 1992. Su Ürünleri Teknolojisi Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1243, Ankara .
- Gülyavuz, H. ve Ünlüsayın, M., 1999. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. SDÜ Eğridir Su Ürünleri Fakültesi, Ders Kitabı, Isparta, 359s.
- Günerkaya, N., 2006. Bazı Tuzlanmış Su Ürünlerinde Mikrobiyolojik Kalitenin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma, Bitirme Çalışması. KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Müh. Bölümü. Trabzon.
- Gürkün, V. ve Halkman, A.K., 1990. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No. 7.
- Halkman, A., 2005. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları. Merck. Başak Matb. Ankara, 358s. <http://www.mikrobiyoloji.org>. 10.06.2006.
- Hara-Kudo, Y., Nishina, T., Nakagawa, H., Konuma, H., Hasegawa, J. ve Kumagai, S., 2001. Improved Method for Detection of *Vibrio parahymoliticus* in Seafood, Applied and Environmental Microbiology, 67, No.12, 5819-5823.
- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press. San Diego. US.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. ve Williams, S. T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Yayın No.9. Williams and Wilkins, 175, 190, 193, 273, 274, 566-570.
- Huss, H.H. ve E. Rye Petersen, 1980. The stability of *C. botulinum* type E toxin in salty and/or acid environment, Journal of Food Technology,15, 619-627.
- Huss, H.H., Ababouch L. ve Gram, L., 2003. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. FAO Fisheries Technical 444s.
- Huss, H. H., Ababouch, L. ve Gram, L., 2004. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality, Food Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- ICMSF, 1986. Microorganisms in Foods. 2. Samling for Microbiological Analysis: Principles and Spesipic Aplications, Yayın No.2. University of Toronto of Press, Buffalo, NY.
- İnal, T., 1992. Besin Hijyeni, 2. baskı, İstanbul.
- Jaksic, S., Uhitil, S., Petrak, T., Bazulic, D. ve Karolyi, L.G., 2002. Occurence of *Vibrio spp.* in the Sea fish, Shrimps and Bivalve Mollucs Harvested from Adriatic Sea. Food Control 13, 491- 493.

- Karaçam, H., Boran, M. ve Köse, S.. Trabzon Sahillerindeki Midyelerde (*Mytillus galloprovincialis*) Bakteriyel Kontaminasyon, 9-11 Nisan 1997, Akdeniz Balıkçılık Kongresi, İzmir.
- Karaçam, H., Kutlu, S. ve Köse, S., 2002. Effect of Salt Concentrations and Temperature on The Quality and Shelf-Life of Brined Anchovies, International Journal of Food Science and Technology, 37, 19-28.
- Kaysner, C.A., Lund, B.M., T.C. Baird-Parker & Gould, G.W. (eds) 2000. *Vibrio species*. In: The Microbiological Safety and Quality of Foods. Aspen Publishers Inc., Gaithersberg, Maryland, USA, 1336-1362.
- Keskin, H., 1982. Besin Kimyası, İ.Ü. Kimya Fakültesi Fatih Yayınevi Matbaası, İstanbul.
- Kılınç, B., Çalkı Ş., Tolasa Ş., 2008. Quality Changes of Sardine (*Sadrina pilchardus*) Patties During Refrigerated Storages, Journal of Food Quality, 31, 3, 366-381
- Koneman, E. W. 2007. Diagnostic Microbiology. Fifth Edition. Antibiyogram Testleri CLSI .
- Köse, S. 1993. Investigation into Toxins and Pathogens Implicated in Fish meal Production. PhD Thesis. Loughborough University of Technology, Leicestershire, UK .
- Köse, S. An Update on Histamine and Biogenic Amines in Relation to Current Problems in The Fisheries Industry. Marine and Freshwater Toxins Task Force, AOAC Internatioal. Seattle, June 23 - 24 2005. Invited Speaker.
- Köse, S. 2007- 2008. Kişisel iletişim. Trabzon.
- Köse, S., Koral, S., Yaşar, A., Yaylı, N., Tufan, B., Genç, S., Üzen, F. ve Boran, M., 2007. Investigation of Some Quality Parameters of Salted and Fermented Fish Products of EU and Turkish Origin in Relation to Food Safety, Recent Andances in Food Analysis, Prauge, 7-9, Chez Republic. .
- Kutlu, S., 1996. Salamura Hamsilerde Dayanma Süresi ve Kalite Değişimleri. Yüksek Lisans Tezi. KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı. Trabzon.
- Lee, W.H. ve McClain, D., 1996. Applied Enviromental Microbiology. 52,5, 1215-1217.
- Lehane L.ve Olley, J., 2000. National Office of Animal and Plant Health Canberra 1999.Agr., Fisheries & Forestry of Australia.
- Lovett, J. ve Hitchins, A.D., FDA, 1988. Bacteriological Analytical Manual, Federal Register. 53, 211, 44148-44153.
- Likhitrattanapoiboon, M., Wilaiphon, P., Lawhavind, O., Proceedings of the 45 th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart, 30 January - 2 February 2007. 56-62.
- Martin, A.M., Chapman ve Hall, 1994. Fisheries Processing. Biological Applications. 494s.

- Martin, R., Adams, M.J. ve Nout, R., 2001. Fermentation and Food Safety, Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Mah, J.H., Han, H.K., Oh, Y.J., Kim, M.G. ve Hwang, H.J., 2002. Biogenic Amines in Jeotkals, Korean Salted and Fermented Fish Products, Food Chemistry, 79, 239-243.
- Nishijima, K.A., 1993. *Enterobacter cloacae*.
http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/Type/e_cloac.htm. 12.09.2007.
- Normanno, G., Parisi, A., Addante, N., Quaglia, N.C., Dambrosio, A., Montagna, C., ve Chicco, D., 2005. *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and Microorganisms of Fecal Origin in Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) Sold in the Puglia Region (Italy). International Journal of Food Microbiology, (Basımda).
- Norwitz, W., 1970. Drained Weight Determination of Frozen Glazed Fish and Other Marine Products, Method of Analysis of the AOAC.
- Ockerman, H.W., 1992. Fishery by products. Fish Processing Technology, Ed: Hall. G.M. Blackie Academic & Professional New York.
- Olgunoğlu, İ.A., 2007. Marine Edilmiş Hamside (*Engraulis engrasicholus* L., 1758) Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler, Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Oteiza, J.M., Chinen, I., Miliwebsky, E. ve Rivas, M., 2006. Isolation and Characterization of Shiga- Toxin-Producing *Escherichia coli* from Precooked Sausages (Morcillas), Food Microbiology, 23, 3, 283-288.
- Scotter, S.L., Langton S., Lombard B., Lahellec C., Schulten S., Nagelkerke N., Veld, P.H. ve Rollier P., 2001. Validation of ISO Method 11290 Part 1-Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods. International Journal of Food Microbiology. 64,3,296-306.
- Shalaby, A.R., 1996. Significance of Biogenic Amines to Food Safety and Human Health, Food Research International, 29, 7, 675-690.
- Taylor, S.L., 1986. Histamin Poisoning: Toxicology and Clinical Aspects. CRC Crit.Rev. Toxicol. 17, 2, 91-12.
- URL-2: <http://www.alfarm.com.tr/urunler8.asp> 14.03.2008.
- URL-1: <http://www.fao.org/fi/statist/statist.asp>. 14.03.2008.
- URL-3 <http://www.kkgm.gov.tr>. 14.03.2008.
- URL-4 <http://www.kkgm.gov.tr> 14.03.2008
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F., 1999. Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir, 2.baskı.

- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N. ve Gün, H., 1993. Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri, Yayın No: 17, İstanbul.
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S. ve Baygar, T., 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. Yayın No. 7. İstanbul, 491s.
- Veciana-Nogues, M.T., Marine -Font, A. ve Vidal-Carou, M.C. 1997. Changes in Biogenic Amines During the Storage of Mediterranean Anchovies Immersed in Oil. Journal of Agricultural Food Chemistry, 45, 1385-1389.
- Vural A., Erkan M.E.,2006, Diyarbakır Kenti'ndeki Dicle Nehri Balıklarında Mikrobiyolojik Kalite Parametreleri, Dicle Tıp Dergisi, Cilt: 33,153-156.
- Yamanaka, H., 1985. Influences of The Concentration of Sodium Chloride on The Formation of Histamine in The Meat of Mackerel. Journal of The Tokyo University of Fisheries,72,2,51-56.
- Yapar, A. 1999. Farklı Tuz Konsantrasyonları Kullanılarak Hazırlanan Tuzlanmış Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) Örneklerinde Kalite Değişimi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. 23, Ek Sayı 3, 441-445.
- Zaitsev, V., Kizevetter, I., Lagunov, L., Makarova, T., Minder, L. ve Podselvalov, V., 2004.Fish Curing and Processing. Afterword by Adam Starchild. University Press, Hawaii. USA, 737s.

8. EKLER

Ek 1. Indol Testi

Indol testi için triptonlu su besiyeri ve Kovac's ayıracı kullanılmıştır.

Triptonlu Su Besiyeri

10.0g/L Pepton From Casein (Triptofan), 5g/L NaCl karıştırılarak, 25°C'da pH 7.3±0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Vibrio şüpheli izolatlar için 25 g/L NaCl eklenmiştir.

Kovac's ayıracı

Bu amaçla 5g para-dimetilaminobenzaldehid (Merck 8.03057), 75ml n-amil alkolde (Merck 1.00975) eritilip üzerine yavaşça 25 ml konsantre HCL (Merck 1.00317) ilave edilerek hazırlanmıştır.

Ek 2. VP Testi

Test için kullanılacak olan besi yeri laboratuarda 5g /L, Glikoz 5g/L, K₂HPO₄ distile su 1 L'de 25°C'da pH 7.0±0.2 olarak hazırlanmış ve 5ml olarak tüplere dağıtılarak 100-110°C da 15 dakika steril edilmiştir.

VP Testinde kullanılacak olan O'mera (potasyum hidroksit) çözeltisi hazırlanması amacıyla 40 g KOH damıtık su ile 100mL'ye tamamlanmıştır.

Barit (∞ naphthol çözeltisi) hazırlamak için de 0.5 g ∞ Naphtol 10 mL mutlak (absolute) etil alkolde çözündürülmüştür.

Ek 3. Tuz Miktarı, Su ve Kuru Madde Miktarı Hesaplamasında Kullanılan Formüller

Tuz Miktarı:

$$\text{NaCl(\%)} = \frac{A \times 0,00585 \times 100 \times 500}{\text{Alınan örnek (g)} \times 50} \quad (\text{E.1})$$

A: gümüş nitrat sarfiyatı (ml)

$$\text{Su ve Kuru Madde Miktarı Tayini:} \quad (\text{E.2})$$

$$\text{Su (\%)} = \frac{a}{b} \times 100$$

b: ağırlık farkı (g)

a: örnek miktarı (g)

Ek 4. Tryptic Yeast Soy Agar (TSYE)

Hazırlanılışı: CASO Broth 30 g/L, Pepton from casein 8.5 g/L, Pepton from soymeal 3,0g/L, D (8+) Glukoz 2,5g/L, NaCl 5g/l, K₂HPO₄ 2,5g/L, Maya ekstraktı (Yeast extract) 6g/L ve Agar 1g/L 1 litre saf suda çözülmüştür. 25°C’ da pH 7,3+/-2 olacak şekilde hazırlanmış ve 121°C ‘da 15 dakika steril edildikten sonra 50°C’ a soğutularak petrilere dökülmüştür.

Ek 5. Serolojik Testler İçin Kullanılan Antiserumlar ve Referansları

Kullanılan antiserumlar, Refik Saydam Merkez Başkanlığı, Antijen ve Antiserum Üretim-Araştırma Laboratuarından temin edilmiştir. *Salmonella* O₃H₄Vi Antiserumları 140.130 kategorisinde yer almaktadır. *Vibrio* polyvalant ve *V.cholerae* Antiserumları 140.220 kategorisinde, *Shigella* Antiserumları için 140.400 kategorisinde yer almaktadır.

ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 1985 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisan eğitimini tamamlayarak Biyolog ünvanını aldı.

1990-1992 yılları arasında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Su Ürünleri Bölge Araştırma Enstitüsünde mevsimlik kadroda Biyolog olarak çalıştı. Karadeniz'deki Balık Popülasyonu ve İncelenmesiyle ilgili projelerde görev aldı. 1992-1996 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığına bağlı olarak Sınıf Öğretmenliği görevinde bulundu. 1996 yılında Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Merkez Başkanlığı Samsun Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğüne Biyolog olarak atandı. Halen bu görevini sürdürmektedir.

Yabancı dili İngilizcedir.