

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DONDURULMUŞ VE 4 °C'DE MUHAFAZA EDİLEN SAZAN  
BALIĞINDA (*Cyprinus carpio* L., 1758) BİYOJEN AMİN OLUŞUMU  
VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Tuncer ÇAKMAK  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Yakup Can SANCAK

VAN-2017

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DONDURULMUŞ VE 4 °C'DE MUHAFAZA EDİLEN SAZAN  
BALIĞINDA (*Cyprinus carpio* L., 1758) BİYOJEN AMİN OLUŞUMU  
VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Tuncer ÇAKMAK  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Yakup Can SANCAK

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2009-SBE-D081 nolu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2017

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DONDURULMUŞ VE 4°C'DE MUHAFAZA EDİLEN SAZAN  
BALIĞINDA (*Cyprinus carpio* L., 1758) BİYOJEN AMİN OLUŞUMU  
VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim Tuncer ÇAKMAK  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ



Prof. Dr. Yakup Can SANCAK

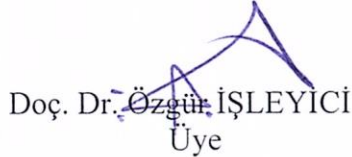
Jüri Başkanı



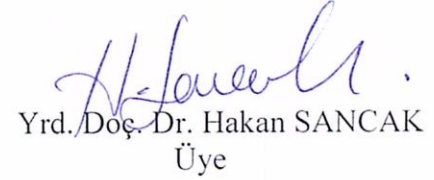
Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK  
Üye



Prof. Dr. Uğur GÜNŞEN  
Üye



Doç. Dr. Özgür İŞLEYİCİ  
Üye



Yrd. Doç. Dr. Hakan SANCAK  
Üye

TEZ KABUL TARİHİ

31.10./2017

## TEŞEKKÜR

Doktora Tez konusunun seçiminde ve çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı ve Danışman hocam Prof. Dr. Yakup Can SANCAK'a, Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Emrullah SAĞUN, Prof. Dr. Kamil EKİCİ ve Doç. Dr. Özgür İŞLEYİCİ'ye, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK ve Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. İsmail Hakkı EKİN'e, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Filiz KARADAŐ'a ve Arş. Gör. Mehmet Reşit KARAGEÇİLİ'ye, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi İstatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sıddık KESKİN'e, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. MemiŐ BOLACALI'ya, Veteriner Binbaşı Fatih MORUL'a, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na, çalışmalarımın bütün aşamalarında yardımlarını esirgemeyen eŐim Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK'a ve çocuklarıma teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VII
Şekiller Listesi.....	IX
Tablolar Listesi.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Hayvansal Kökenli Gıdaların Beslenmedeki Önemi.....	8
2.2. Balık Etinin Beslenmedeki Önemi.....	9
2.2.1. Balığın enerji ve karbonhidrat içeriği.....	10
2.2.2. Balığın protein içeriği.....	10
2.2.3. Balığın yağ içeriği.....	11
2.2.4. Balığın vitamin içeriği.....	14
2.2.5. Balığın mineral madde içeriği.....	15
2.3. Sazan Balığı ( <i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758)'nin Özellikleri.....	16
2.4. Balıklarda Mikroflora.....	17
2.5. Balık Etinde Oluşan Bozulmalar.....	20
2.5.1. Kimyasal bozulmalar.....	21
2.5.2. Mikrobiyal bozulmalar.....	25
2.5.3. Enzimatik bozulmalar.....	28
2.6. Biyojen Aminler.....	29
2.6.1. Biyojen aminlerin sınıflandırılması.....	31
2.7. Biyojen Amin Üretiminden Sorumlu Mikroorganizmalar.....	47
2.8. Biyojen Aminlerin Fizyolojik Rollerini.....	50
2.9. Gıdalarda Biyojen Aminler.....	51
2.9.1. Balık ve balık ürünleri.....	53
2.9.2. Peynir.....	55

2.9.3. Et ve et ürünleri.....	56
2.9.4. Fermente sebze ürünleri.....	57
2.9.5. Alkollü içecekler.....	57
2.10. Biyojen Amin Dekarboksilaz Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	57
2.10.1. pH.....	58
2.10.2. Isı.....	59
2.10.3. Tuz ve katkıları.....	59
2.11. Biyojen Amin Üretimini Kontrol Altına Alınması.....	60
2.11.1. Düşük sıcaklıkta depolama.....	61
2.11.2. Hijyen ve diğer uygulamalar.....	62
2.12. Biyojen Amin Tespit Metodları.....	64
2.13. Kimyasal Kalite İndeksi ve Biyojen Amin İndeksi.....	65
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	67
3.1. Gereç.....	67
3.1.1. Örneklerin temini ve analizlere hazırlanması.....	67
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve hazırlanmaları.....	68
3.1.3. Örneklerin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal analizlere hazırlanması.....	73
3.2. Yöntem.....	73
3.2.1. Mikrobiyolojik analizler.....	73
3.2.2. Kimyasal analizler.....	75
3.2.3. Duyuşsal analizler.....	76
3.2.4. Biyojen aminlerin belirlenmesi.....	76
3.2.5. İstatistiksel analizler.....	81
4. BULGULAR.....	87
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	103
ÖZET.....	175
SUMMARY.....	176
KAYNAKLAR.....	177
ÖZGEÇMİŞ.....	208

EKLER.....	209
EK 1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi.....	209
EK 2. Tez Orijinallik Raporu.....	210



## SİMGELER ve KISALTMALAR

ADP	: Adenozin difosfat
ALA	: $\alpha$ -linolenik asit
AMP	: Adenozin monofosfat
BAI	: Biyojen Amin İndeksi
CAD	: Kadaverin
DAO	: Diamino oksidaz
DHA	: Dokosaheksaenoik asit
DMA	: Dimetilamin
DPA	: Dokosapentaenoik asit
EPA	: Eikosapentaenoik asit
GHP	: Good Hijyen Practice
GMP	: Good Manufacturing Practice
HACCP	: Hazard Analysis Critical Control Point
HHP	: High Hydrostatic Pressure
HIM	: Histamin
HNMT	: Histamin-N-metiltransferaz
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HUFA	: Highly Unsaturated Fatty Acids
IMP	: İnosin monofosfat
IN	: İnosin nükleosidaz
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
LA	: Linoleik asit
LOD	: Limit of Detection (Tayin Limiti)
LOQ	: Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
MAO	: Monoamin oksidaz
MAOI	: Monoamin oksidaz inhibitörü
MPa	: Megapascal
MPN	: Most Probable Number (En muhtemel sayı)
MUFA	: Monounsaturated Fatty Acid
NF	: Nükleotid fosforilaz
NPN	: Nonprotein azot



PAO	: Poliamin oksidaz
PEA	: $\beta$ -feniletilamin
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acids
PUT	: Putresin
QI	: Quality Indeks
SPD	: Spermidin
SPM	: Spermin
TBA	: Tiyobarbitürük asit
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TMA	: Trimetilamin
TMAO	: Trimetilamin oksit
TRM	: Triptamin
TVB-N	: Toplam uçucu bazik azot
TYM	: Tiramin

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758'in genel görünüşü.....	16
<b>Şekil 2.</b>	Biyojen aminlerin kimyasal yapısı.....	33
<b>Şekil 3.</b>	Laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen biyojen amin sentez yolları.....	34
<b>Şekil 4.</b>	Triptamin kalibrasyon eğrisi.....	82
<b>Şekil 5.</b>	$\beta$ -feniletilamin kalibrasyon eğrisi.....	82
<b>Şekil 6.</b>	Putresin kalibrasyon eğrisi.....	83
<b>Şekil 7.</b>	Kadaverin kalibrasyon eğrisi.....	83
<b>Şekil 8.</b>	Histamin kalibrasyon eğrisi.....	84
<b>Şekil 9.</b>	Tiramin kalibrasyon eğrisi.....	84
<b>Şekil 10.</b>	Spermidin kalibrasyon eğrisi.....	85
<b>Şekil 11.</b>	Spermin kalibrasyon eğrisi.....	85
<b>Şekil 12.</b>	HPLC biyojen aminlerin geliş sıralamasına ait kromatografisi.....	86
<b>Şekil 13.</b>	HPLC karma biyojen aminlerin standart piklerine ait kromatografisi....	86
<b>Şekil 14.</b>	Bütün ve temiz olarak 4 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait pH değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	96
<b>Şekil 15.</b>	Bütün ve temiz olarak 4 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	96
<b>Şekil 16.</b>	Bütün ve temiz olarak -18 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait pH değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	97
<b>Şekil 17.</b>	Bütün ve temiz olarak -18 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	97
<b>Şekil 18.</b>	Bütün ve temiz olarak 4 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait pH ve TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	98
<b>Şekil 19.</b>	Bütün ve temiz olarak -18 °C'de muhafaza edilen örneklerle ait pH ve TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).....	98

<b>Şekil 20.</b>	Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları ( $\log_{10}$ kob/g).....	99
<b>Şekil 21.</b>	Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları ( $\log_{10}$ kob/g).....	99
<b>Şekil 22.</b>	Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları ( $\log_{10}$ kob/g).....	100
<b>Şekil 23.</b>	Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları ( $\log_{10}$ kob/g).....	100
<b>Şekil 24.</b>	Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).....	101
<b>Şekil 25.</b>	Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).....	101
<b>Şekil 26.</b>	Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).....	102
<b>Şekil 27.</b>	Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).....	102

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Bazı önemli balık türlerinin kimyasal kompozisyonları.....	10
<b>Tablo 2.</b>	Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak mikroflorası	20
<b>Tablo 3.</b>	Bazı biyojen aminlerin fizyolojik ve toksikolojik etkileri.....	51
<b>Tablo 4.</b>	Biyojen amin ana stokların hazırlanması.....	69
<b>Tablo 5.</b>	Biyojen amin kalibrasyon standart seviyelerinin hazırlanması.....	70
<b>Tablo 6.</b>	Biyojen amin standart çözeltilerine ait HPLC %RSD, %CV, LOD ve LOQ değerleri.....	79
<b>Tablo 7.</b>	Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler..	88
<b>Tablo 8.</b>	Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler.....	90
<b>Tablo 9.</b>	Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (*: p<0.05, **: p<0.01).....	92
<b>Tablo 10.</b>	Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (*: p<0.05, **: p<0.01).....	93
<b>Tablo 11.</b>	Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (*: p<0.05, **: p<0.01).....	94
<b>Tablo 12.</b>	Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (*: p<0.05, **: p<0.01).....	95

## 1. GİRİŞ

Tüm dünyada giderek artan bir şekilde ülkelerin ve karar vericilerin üzerinde çok fazla efor harcadıkları konuların başında gıda arzı, gıda güvenliği ve insanların beslenme sorunları gelmektedir. Dünya genelinde insanların hem yeter miktarda hem de sağlık risklerinden uzak güvenli gıdalara ulaşabilmeleri giderek daha da güçleşmektedir. Konuyla ilgili olarak dünya devletleri bu sorunların en aza indirgenmesi için sürekli yasal düzenlemeler ve bu alanda faaliyet gösteren kurumlar ihdas etmektedirler (Nah ve Chau, 2010).

Birleşmiş Milletler'in toplumların huzur ve refahlarının güven altına alınmasına yönelik bin yıllık projeksiyonu içinde tespit edilen sekiz üst başlık içerisinde yer alan ve üzerinde daha da fazla yoğunlaşılması gereken konulardan belki de en önemlisi, olumsuz etkileri giderek artan bir şekilde hissedilen açlığın; gerek direkt alınacak önlemlerin bir an önce uygulamaya konulması ile gerekse de indirekt metotlar geliştirilerek en aza indirilmesi ve gıda güvencesinin sağlanması ile ilgilidir (FAO, 2005).

Birçok faktöre bağlı olarak gıda arzının yetersizliğiyle ortaya çıkan açlık; insanların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için yeterli miktardaki gıdaya ulaşamamaları ya da günlük diyetleri ile almaları gereken enerjinin alınamaması sonucunda ortaya çıkan durum olarak tanımlanmaktadır (FAO, 2010).

Gelişmiş ülkelerde açlığa karşı yapılan mücadele hala istenilen düzeyde değildir. 2014-2016 yılları itibariyle dünya nüfusunun yaklaşık olarak 795 milyonluk bir kısmının (%10.9) yetersiz beslendiği tahmin edilmektedir (FAO, 2015).

Dünya genelinde insanların yetersiz beslenmelerine ve açlık çekmelerine neden olan faktörler arasında; doğal afetler, ülkelerin yaşadığı siyasal krizler, politik istikrarsızlık, toplumsal kargaşalar ve ülke ekonomilerinin içinde bulunduğu yetersizlikler gibi birçok etken bulunmaktadır (FAO, 2010).

Bunların yanında sera gazlarındaki artış ve buna bağlı olarak oluşan küresel ısınma, temiz su arzında azalma, belirli bölgelerde yoğunlaşan ve bazı bölgelerde ülke geneline yayılan yoksulluk, kuraklık, bilinçsiz ve ilkel metotlarla yapılan üretim, tarım

alanlarının giderek verimsiz hale gelmesi, taban suyunun artmasına paralel olarak toprağın tuz oranının artması, erozyon, nüfusun hızlı bir şekilde artması, beslenme alışkanlıklarının değişmesi ve organik gıdaların giderek daha çok tercih edilmesi, dünya gelir dağılımındaki ciddi dengesizlikler, temel gıda maddelerinde görülen fiyat artışları (Dölekoğlu ve ark., 2014), düşük gelir ve işsizlik gibi nedenlerden dolayı dünya genelinde artan yetersiz beslenme ve açlık ile üretimden tüketime kadar olan aşamalarda çeşitli nedenlere bağlı olarak gıdaların bozulması sonucunda meydana gelen kayıplar bir an evvel çözüme kavuşturulması gereken önemli problemler olarak mevcudiyetini korumaktadır (Erbaş ve Arslan, 2015).

Dünya nüfusunun hızlı artışı ve buna paralel olarak gıda maddelerine olan talebin giderek artması sonucunda, yeterli ve sağlıklı gıda üretimi; konuyla doğrudan veya dolaylı olarak ilgili bütün bilim insanlarının enerjilerinin ve zamanlarının büyük bir çoğunluğunu harcadıkları, insanlığın acilen çözüme kavuşturulması gereken en önemli problemlerinden biri olarak ortaya çıkmaktadır.

Dünya üzerinde yetersiz beslenme ve açlığın önlenmesi üzerine bilim insanları yoğun bir faaliyet içerisinde. Bu faaliyetler içerisinde gıda ürünlerinin hem çeşitliliğinin ve miktarının artırılması hem de gerek üretim aşamalarında gerekse üretim sonrası dönemlerde güvenli gıda arzının sürekliliğinin sağlanmasına yönelik çabalar artarak devam etmektedir.

Gıdalarda üretimin başlangıcından tüketime kadar olan süreçte meydana gelen bozulma ve ürün kayıplarının nedenleri arasında; fiziksel (pest ve kemirgen infestasyonu, toz, toprak ile kirlenme, yabancı otlar, ortam nemine bağlı olarak kuruma ve rutubetlenme), kimyasal (dezenfektan, ilaç, hormon ve deterjan kalıntıları), biyolojik ve mikrobiyolojik bozulmalar sayılabilir (Ayaz, 2012).

Bu bozulma faktörleri arasında en önemli ve yaygın olan mikrobiyolojik bozulmalardır. Mikrobiyolojik bozulmalar; ham madde temini aşamasından başlayarak bütün üretim süreçleri boyunca ve üretim sonrası aşamalarda gıdaların nakil ve saklama koşullarına bağlı olarak meydana gelirler (Durlu Özkaya ve Cömert, 2008).

Gıda ürünleri içinde hayvansal gıdalar çok önemli bir yere sahiptir. Hayvansal gıdalar bileşimlerinden dolayı mikrobiyolojik bozulmalara en hassas gıdalardır ve mikroorganizmalar için oldukça iyi bir üreme ortamı oluştururlar. Gerek üretim sırasında gerekse üretim sonrası taşıma, depolama ve pazarlama süresi boyunca gereken hijyen uygulamalarının eksikliğinde veya yokluğunda, duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak bozulmalara, bu şekildeki gıdaların tüketilmesi ise ölümlere kadar varan sağılık problemlerine neden olmaktadır. Aynı zamanda gıdaların üretiminden tüketimine kadar olan bu süreçte çeşitli nedenlerle bozularak tüketilemez hale gelmesi de ürün kayıplarının artması bakımından ayrı bir öneme sahiptir (Durlu Özkaya ve Cömert, 2008; Dölekoğılu ve ark., 2014).

Sürekli değışen hayat şartlarına bağılı olarak zinde ve sağılıklı bir hayat sürdürebilmek için proteinler, vitaminler ve mineral maddeler yönünden zengin gıdaların tüketilmesi çok önemlidir. Doku proteinlerinde organizma tarafından sentezlenemeyen eksojen amino asitlerin bulunması, vitaminler ve mineral maddeler bakımından zengin olması yönüyle hayvansal gıdalar içerisinde ayrı bir yeri bulunan balık ve diğıer su ürünleri çok değıerli besin kaynaklarıdır (Huss ve ark., 2000).

Günümüzde ölkelerin gelişmişlik düzeylerine bağılı olarak bireyler, beslenmelerine özen göstermekte olup, beslenme rejimlerinde sağılıklı gıdalar olarak değıerlendirilen su ürünlerinin tüketimdeki payı her geçen gün artmaktadır. Su ürünleri içerisinde de ilk sırayı; yüksek düzeyde protein içermeleri, hem vitamin hem de mineral madde yönünden zengin ve düşük kalorili olmaları, fazla miktarda çoklu doymamış yağ asitlerini içermeleri nedeni ile özellikle balık ve balık etinden üretilen ürünler almaktadır (Turan ve ark., 2006).

Dünya genelinde ortalama kişı başına düşen balık tüketimi 19.2 kg iken, bu miktar Avrupa Birliğı ölkelerinde ortalama 24 kg'a kadar çıkmaktadır. İspanya'da 40 kg, Yunanistan'da 23.1 kg, Fas'ta 28 kg, Mısır'da 11.2 kg ve Tunus'ta 9.3 kg düzeylerindeki balık tüketimi ölkemizde ortalama olarak kişı başına 7.6 kg civarında olup, bu miktar dünya ölkeleri ile karşılaştırıldığında ise hala istenilen düzeyde olmadığı görölmektedir (Oğıuzhan ve Yangılar, 2014).

Ülkemizde avlanma yoluyla ve entansif olarak yetiştiriciliği yapılan su ürünlerinin genelde büyük bir kısmı taze olarak tüketilmektedir. İhtiyaca göre değişik ısı derecelerinde muhafaza edilerek (soğukta ve dondurularak) tüketime arz edilmekte veya bu alanda gelişen teknolojik ilerlemeler sayesinde işlenmiş ürünlere (dumanlama, konserve, marinat, tuzlama, kurutma v.b.) dönüştürüldükten sonra tüketime arz edilmektedir (Öğretmen ve Öğretmen, 2010).

Su ürünleri içerisinde en önemlisi olan balık, düşük sıcaklıkta muhafaza veya kimyasal koruyucu madde uygulanmadığında son derece hızlı bozulan bir üründür (Gram, 1991).

Balıkların birçok iç ve dış faktörlerin etkisiyle sudan çıkar çıkmaz bozulmaya başlaması, tüketici açısından kaliteyi, satıcı açısından da ürünün karlılık ve satılabilirliğini etkileyen en önemli unsurdur. Balıklardaki bozulmanın en önemli nedeni, balığın bünyesinde bulunan çeşitli hidrolitik enzimler ve kontaminasyon sonucu oluşan mikroorganizmalardır. Özellikle enzimler, düşük ısı derecelerinde bile aktivitelerini devam ettirebildikleri için balığın hızlı bir şekilde bozularak ürün kalitesinin azalmasına yol açmaktadır (Yetim, 1996).

Su ürünlerinin kısa sürede bozulması ve kalitesinin düşmesinin diğer bir nedeni de doğal mikroflorasıdır (Banks ve ark., 1980; Yetim 1993). Balıkların mikroflorası, büyük ölçüde yaşadığı çevrenin mikrobiyal florasına bağlı olmakla birlikte, balık derisi üzerinde her türlü aerobik, anaerobik, psikrofil veya mezofil mikroorganizmalar bulunabilmektedir. Gerekli önlemler alınmadığında da bu flora, balıkların çok hızlı bir şekilde bozulmasına neden olmaktadır (Beri ve ark., 1989; Yetim, 1996).

Su ürünlerinin muhafaza sürelerinin belirlenmesi ve hijyenik açıdan kalite parametrelerinin ortaya konması, avlanma ve/veya hasat sezonlarında elde edilen ürünlerin avlanmanın yasak olduğu ve/veya hasat sezonu dışındaki dönemlerde tüketime arzın sürekliliğinin sağlanması açısından faydalı olacaktır (Erdem ve ark., 2005).



Balıkların muhafazasında enzim faaliyetini engelleyici tedbirlerden ziyade daha çok mikroorganizmaların faaliyetini kontrol altına almaya yönelik uygulamalar söz konusudur (Yetim, 1996).

Mikroorganizmaların gelişmelerini sınırlandıran önlemlerin yeterli olmaması, üründe kısa zaman içerisinde insan sağlığına zararlı metabolitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı balıklarda bozulmayı engelleyen veya muhafaza süresini arttıran önlemlerin avlanma ve hasattan itibaren uygulanması gereklidir. Bu amaca yönelik olarak ısı işlem uygulanarak muhafaza, tuzlama, tütsüleme, kurutma, ışınlama (ultraviyole veya gamma ışını uygulamaları), mikrobiyal gelişmeyi sınırlayan soğutma veya dondurma teknikleri, antibiyotik kullanımı, modifiye atmosfer veya vakum ambalajlama ve prezervatif maddelerle muamele etme gibi muhafaza teknikleri balıkların korunmasında tek tek veya kombine şekilde kullanılabilir (Fey ve Regenstein, 1982; Göğüş ve Kolsarıcı, 1992).

Soğukta ve dondurarak muhafaza teknikleri balık muhafazasında uygulanan en yaygın ve etkin muhafaza yöntemlerindedir. Balığın tüketiciler tarafından sağlık riski taşımayan, hijyenik ve kaliteli bir şekilde temini için hasat veya avlanma sonrasında derhal uygun teknikler kullanılarak soğutulması gerekmektedir. Çok kolay bozulabilen bir gıda maddesi olan balık etinin kendine has kalite özelliklerinin daha uzun süre korunabilmesi ve tüketimine kadar ürün kalitesindeki azalmaların minimum düzeyde tutulabilmesi için soğuk zincirin etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir. Bunun için balıkların avlanma veya hasatlarından hemen sonra ısılarının 0 °C düzeyine indirilerek enzimsel ve mikrobiyolojik faaliyetlerin sınırlandırılması ve böylece bozulma hızının ve süresinin mümkün olduğu kadar yavaşlatılması sağlanmalıdır (Kundakçı ve Ergönül, 2009).

Balık ve işlenmiş balık ürünlerinin kalitesinin belirlenmesinde fiziksel metodlar, kimyasal parametreler, mikrobiyolojik ve duyu kriterler kullanılmaktadır. Kimyasal kriterlerden en çok kullanılanları; biyogen aminler (histamin, kadaverin, putresin, tiramin, triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, spermidin ve spermin), toplam uçucu bazik azot (TVB-N), tiyobarbitürik asit (TBA) ve trimetilamin (TMA) gibi parametrelerin miktarlarının belirlenmesine yönelik analizlerdir (Huss, 1988; Varlık ve ark., 1993).

Kalite kaybıyla birlikte bu ürünlerde çoğu kez insan sağlığına zarar veren biyojen aminler, özellikle de histamin gibi toksik maddeler oluşmaktadır. Biyojen aminlerin varlığının ve bulunuş düzeylerinin belirlenmesi, hem balık ve işlenmiş balık ürünlerinde hijyen kalitesinin ortaya konulması hem de halk sağlığı açısından taşıdığı risklerin belirlenmesi yönünden önemli faydalar sağlamaktadır (Köse, 2010).

Balık etindeki kimyasal değişimlerin en önemlilerinden biri de yağların oksitlenmesi sonucu görülen acılaştırma. Yağlar, yağ asitlerine ve hidroperoksitlere daha sonra peroksitler de oksitlenerek aldehit ve ketonlara dönüşmektedir. Balık yağlarının oksidasyon miktarının belirlenmesinde kullanılan TBA miktarı özellikle yağlı balıklarda acılaştırma derecesi hakkında bilgi vermektedir (Köse ve Erdem, 2004).

pH değeri balıklarda bozulma ve kokuşmanın belirlenmesinde kullanılan bir faktördür. Balıklarda pH 6.0-6.5 düzeyinde iken ölüm sonrasında ilk anlarda kaslarda biriken laktik asit nedeni ile 5.5-5.7'ye kadar düşmektedir. İlerleyen dönemlerde pH değeri muhafaza sürecinde bozulmanın başlaması ile yükselmektedir. Tüketilebilir nitelikteki balıklarda pH değeri 6.8-7.0 olmakla birlikte bu kesin bir kriter olmayıp duyuşsal ve kimyasal analizlerle desteklenmesi gerekmektedir (Varlık ve ark., 1993).

Hayvansal kökenli gıdalar içerisinde özel bir yeri olan balık ve işlenmiş balık ürünleri doğal yapısından dolayı bozulmaya çok yatkındır. Avlanma ve/veya hasat sezonlarında yüksek miktarda üretilen su ürünlerinin arz fazlasının değerlendirilerek üretimin az olduğu veya yasaklandığı dönemler de dahil tüm yıl boyunca tüketiminin sağlanması ancak uygun şartlar altında muhafaza edilmesi ve muhafaza sürelerinin ortaya konulması ile mümkün olacağı bilinmektedir (Binici ve Kurtkaya, 2014).

Diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de mevcut doğal kaynaklardan maksimum düzeyde ürün elde edilmesi ve elde edilen ürünün mümkün olduğunca iyi değerlendirilmesi, muhafaza edilmesi ve insan tüketimine sunulması önemli bir hedefdir.

Dünya genelinde yoğun olarak aquakültür yoluyla *Cyprinidae* balık türlerinin üretimi yapılmaktadır. Ortalama 7 milyon ton civarında gümüş ve iri kafalı sazan, büyük hint sazanı, ot sazanı, adi sazan, altın sazan ve çin sazanı ile 2 milyon tondan

fazla diğer sazangil t¼r¼ ¼retilmektedir (FAO, 2012). ¼lkemiz genelinde sazan balığının; sulama ve baraj g¼lleri ile ¼retme istasyonlarında yetiştiriciliği yapılmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile 4 °C'de 14 g¼n ve -18 °C'de 120 g¼n s¼reyle muhafaza edilen sazan balığı ¼rneklerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duysal ¼zelliklerinde meydana gelen değişimler belirlenmiştir.

Gerek toksikolojik etkileri nedeniyle halk sağlığı bakımından ¼nemli olmaları gerekse de bir kalite indikat¼r¼ olarak gıdaların tazeliği hakkında bilgi vermelerinden dolayı biyojen aminlerin t¼r¼ ve miktarlarının belirlenmesinin sazan balıklarının raf ¼mr¼n¼n tayin edilmesine katkı sağlayabileceği d¼ř¼n¼lmektedir.

Gerçekleştirilen bu çalışma; soğutularak veya dondurularak muhafaza edilen sazan balıklarında raf ¼mr¼n¼n belirlenmesi ile bu balıkların bol bulunduğu b¼lgelerden sezon içerisinde avlanarak veya hasat edilerek, balık arzının daha az olduğu b¼lgelerde ve avlanmanın yasak olduğu d¼nemlerde t¼ketime sunulmasını kolaylaştıracak b¼ylece bu balık t¼r¼n¼n hasat veya avlanma d¼nemleriyle sınırlı kalmayıp yılın her mevsiminde arzda tutulmasının sağlanabilmesine y¼nelik ¼nemli bilimsel verilerin elde edilmesini katkı sunacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hayvansal Kökenli Gıdaların Beslenmedeki Önemi

Beslenme; canlı organizmanın büyümesi, yaşamın devamı ve sağlığın korunması için besinlerin yeterli ve dengeli miktarlarda tüketilmesidir (Baysal, 2007).

Yeterli düzeyde beslenme için; yaşa, fiziksel aktivitelere ve organizmanın fizyolojik durumuna bağlı olarak değişmekle birlikte, yetişkin bir kişinin günlük 45-60 g proteine ve 11-18 yaş erkeklerin ortalama olarak günlük 2500-2800 kcal ve kızların ise 2200 kcal enerjiye ihtiyacı vardır (Erkan, 2011).

Sağlıklı bireylerde günlük gerekli olan toplam enerjinin %10-15'i proteinlerden sağlanmalı ve toplam vücut ağırlığının 0.8 g/kg/gün oranında protein tüketilmesi gerekmektedir (Nehir, 2016). Proteinlerin yapı taşları olan amino asitlerden bazıları (esansiyel amino asitler) organizma tarafından sentezlenememekte ve zorunlu olarak gıda maddeleri ile alınması gerekmektedir (Craig ve ark., 2009).

Biyolojik değer açısından yumurta akı 100 olarak değerlendirilmekte ve diğer gıda ürünleri biyolojik değer yönünden yumurta akıyla karşılaştırıldığında bunu 85 biyolojik değer puanı ile süt takip ederken, onu 76 ile balık ve 74 ile de sığır eti izlemektedir (Çopur ve ark., 2004).

Ülkemizde yaygın olarak ve bol miktarda tüketilen tahılların (bakla, nohut, kuru fasulye gibi) hayvansal gıdalara oranla biyolojik değerlerinin 56-76 seviyelerinde olduğu göz önünde tutulduğunda, hayvansal gıdaların yeterli ve dengeli beslenmedeki önemi ve gerekliliği net bir şekilde görülmektedir (Pekşen ve Artık, 2005).

Organizmanın protein ihtiyacının en az %50'sinin hayvansal orijinli gıdalardan sağlanması ve insan vücudu için gerekli olan kalori miktarının da %25'lik kısmının yine bu şekilde sağlanması, yeterli ve dengeli beslenme için en önemli kurallardan biridir (Gürlük ve Turan, 2008).

Ortalama 70 kg ağırlığında bir insanın yeterli ve dengeli beslenebilmesi için gıdalarla birlikte günlük alması gereken protein miktarı erkeklerde 56 g, kadınlarda ise

44 g'dır (Çelebi ve Karaca, 2006). Bu durumda yetişkin bir insanın (31-50 yaş) günlük alması gerekli olan hayvansal orijinli protein miktarı ortalama olarak erkeklerde 35.2 g ve kadınlarda 23.6 g olmalıdır (SAGEM, 2014).

## **2.2. Balık Etinin Beslenmedeki Önemi**

Deniz ve iç sulardan elde edilen balık ve diğer su ürünleri, insanlar için önemli besin kaynaklarıdır (Turan ve ark., 2006).

Dünya genelinde 30.000'den fazla türü bilinen balık, hayvansal orijinli gıdalar içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bunlardan yaklaşık 700 türden gerek ticari anlamda gerekse de gıda olarak faydalanılmaktadır. Ayrıca 100 kadar kabuklu ve yumuşakça da insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bileşenleri yönünden bakıldığında balık ve diğer su ürünleri farklı besleyici özellikleri yanında önemli bir protein kaynağıdır (Brown, 2000; Baygar, 2004).

Türe, vücut şekline, yaşa ve fizyolojik durumlarına göre değişmekle birlikte balıkların vücut ağırlığının yaklaşık %40-65'i yenilebilir kas kısımlarından oluşmaktadır. Balık eti, sindirimi daha kolay, protein açısından zengin, insan sağlığı açısından önemli olan yağ asitlerinden bol miktarda omega 3 ( $\omega$ 3) ve omega 6 ( $\omega$ 6) ile doymamış yağ asitlerini içermesinden dolayı ve bileşiminde bulunan eikosapentaenoikasit (EPA) ve dokosaheksaenoikasit (DHA) nedeniyle mükemmel bir besin kaynağıdır. Balık eti, vitaminler (niasin, folik asit, A, D, E, K ve B vitaminleri) ve mineral maddeler (fosfor, kalsiyum, iyot, selenyum, vanadyum ve sülfür gibi) yönünden zengin olması ile düşük kalorisinden dolayı tercih edilen önemli bir besindir (Tatar, 1995; Simopoulos ve ark., 1999; Erdem ve Çelik, 2003).

Balık etinin, selüloz veya lif içeren gıdalar ile çiftlik hayvanlarının etlerine oranla sindirimi daha kolay olmaktadır. Bu ve benzer nedenlerle balık, özellikle sağlıklı beslenme yönüyle diyetlerine özen göstermesi gereken insanlarda önerilen bir besin kaynağıdır (Gorga, 1998).

**Tablo 1.** Bazı önemli balık türlerinin kimyasal kompozisyonları (Wheaton ve Lawsont, 1985; Jay, 1992; Ehsani ve Jasour, 2012a).

<b>Türler</b>	<b>Su (%)</b>	<b>Protein (%)</b>	<b>Yağ (%)</b>	<b>Kül (%)</b>
Morina	82.6	16.5	0.4	1.2
Mezgit	80.7	18.2	0.1	1.4
Kalkan	75.4	18.6	5.2	1.0
Ringa	67.2	18.3	12.5	2.7
Uskumru	68.1	18.7	12.0	1.2
Salmon	63.4	17.4	16.5	1.0
Kılıçbalığı	75.8	19.2	4.0	1.3
Sazan	67.2-79.8	17.4-19.3	3.3-14.8	1.0-1.2
Gümüş sazan	75.46	17.49	7.21	1.15

### **2.2.1. Balığın enerji ve karbonhidrat içeriği**

Balık etlerinde karbonhidrat miktarı önemsenmeyecek kadar az olduğundan sahip olduğu enerji yoğun olarak yağ ve protein kaynaklıdır. Balık türleri arasında içerdikleri protein miktarı yönünden büyük farklılık bulunmazken, içerdiği yağ miktarı yönünden bazı farklılıklar vardır. Bu sebeple enerji miktarları, bileşimlerinde bulunan yağ miktarına göre farklılık gösterir ve yağlı balıklar daha yüksek enerji değerlerine sahipken yağsız balıklarda bu oran daha düşüktür (Besler, 2007).

### **2.2.2. Balığın protein içeriği**

Genel olarak balıklarda amino asit ve yağ asiti kompozisyonu birbirine yakın seviyelerdedir ve türler arasında farklılıklar gösterir. Bu değerler yaşa, cinsiyete, beslenme durumuna, mevsimsel ve çevresel nedenler gibi birçok etkene bağlı olarak değişebilmektedir. Balık etinin biyokimyasal kompozisyonu ile beslenme durumu, göçler, üreme ve yumurtlama dönemleri arasında çok yakın bir ilişki bulunmaktadır (Balogun ve Talabi, 1985; Love, 1988).

Farklı kimyasal kompozisyona sahip balık eti esansiyel ve esansiyel olmayan 20 farklı amino asiti içermesinden dolayı değerli bir besindir (King ve ark., 1990).

Proteinlerin balık etindeki miktarı tür, doğal habitat, avlandığı veya hasat yapıldığı mevsim, yaş, cinsiyet, yağlılık oranı ve su miktarı, sıcak ya da soğuk sularda yaşama gibi bir çok faktöre bağlı olarak değişmekle beraber, genellikle 18-22 g/100 g civarındadır (Dean, 1990).

Balık eti içerdiği protein miktarı ve protein kalitesi yönünden diğer kırmızı ve beyaz etlere benzerlik gösterirken; bağ doku içeriğinin oransal değeri açısından bu etlerle arasında önemli farklar bulunmaktadır. Balık eti diğer etlerle kıyaslandığında kollojen miktarı bakımından oldukça fakirdir. Bu özelliği onu sindirimi kolay bir gıda haline getirir. Çiftlik hayvanlarının vücutlarındaki bağ doku oranı yaklaşık %10-13 iken, %1-2 lik oranla balıklar çok daha az bağ doku içerirler (Rehbein ve Oehlenschlager, 2009).

Balık eti, bağ dokusunun az olmasının yanı sıra kompozisyon yönüyle de diğer etlerden ayrılmaktadır. Bu özellikleri balık etini diğer etlerden daha yumuşak kılar ve ısıl işlemlerle bağ dokusunun daha kolay dağılmasına imkan verir. Bu durum sindirim enzimlerinin balık etine daha iyi nüfuz etmesini sağlayarak, proteinden faydalanma oranını yükseltmektedir (Brown, 2000).

Balık eti kreatin (200-700 mg/100 g), trimetilamin oksit (TMAO) (100-1000 mg/100 g), nükleotidler (ATP) (200-400 mg/100 g), serbest amino asitler ve dipeptidler gibi nonprotein azot (NPN) bileşikleri yönünden oldukça zengindir. Toplamda NPN bileşikleri balık etlerinde yaklaşık olarak 420 mg/100 g civarında olup ham protein içeriğinin %15'ini oluştururlar (Oehlenschlager, 1989; Rehbein ve Oehlenschlager, 2009).

### **2.2.3. Balığın yağ içeriği**

Lipitlerin yapı taşları olan yağ asitleri; metil grubu ve karboksil grubunun bağlı olduğu uzun hidrokarbon zincirinden oluşmaktadır ve tüm canlılarda 100'den fazla yağ asiti tanımlanmıştır (Sargent ve ark., 2002).

Yapılarında bulunan karbon sayısı 18-20 adet olan ve 2 ile 4 arasında çift bağ taşıyan yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA, Polyunsaturated Fatty Acids), karbon sayısı 20'den fazla olan ve dördün üzerinde çift bağ taşıyan yağ asitleri ise yüksek oranda doymamış yağ asitleri (HUFA, Highly Unsaturated Fatty Acids) olarak adlandırılmaktadır (Gunstone, 1996; Sargent ve ark., 2002; Benatti ve ark., 2004).

Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA, Monounsaturated Fatty Acid; oleik asit C18:1, palmitoleik asit C16:1 gibi) ve doymuş yağ asitleri (palmitik asit C16:0 gibi) protein ve karbonhidrat metabolizması sonucu vücut tarafından sentezlenirken (Calabrese, 1999; Stoll, 1999), çoklu doymamış yağ asitleri PUFA (LA-linoleik asit 18:2/ $\omega$ -6, ALA- $\alpha$ -linolenik asit 18:3/ $\omega$ -3) vücut tarafından sentezlenemezler ve esansiyel yağ asitleri olarak kabul edilirler (Ersoy ve Bayşu, 1986).

Vücuda alınan  $\alpha$ -linolenik asit (ALA-18:3/ $\omega$ -3); eikosapentaenoik asit (EPA-20:5/ $\omega$ -3) ve dokosaheksaenoik asite (DHA-22:6/ $\omega$ -3) metabolize edilirken, linoleik asit de (LA-18:2/ $\omega$ -6) benzer şekilde  $\alpha$ -linolenik asit ve araşidonik asite (AA- 20:4/ $\omega$ -6) dönüştürülebilmektedir (Assisi ve ark., 2006).

$\omega$ -3 yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (EPA-C20:5/ $\omega$ -3), dokosaheksaenoik asit (DHA-C22:6/ $\omega$ -3) ve dokosapentaenoik asit (DPA-C22:5/ $\omega$ -3) balıklarda bol miktarda bulunan en önemli yağ asitleridir (Gordon ve Ratliff, 1992).

Tatlı su balıklarında yağ asitlerinin bulunuş şekli deniz balıklarına göre farklıdır. Tatlı su balıklarında  $\omega$ -6 yağ asitleri deniz balıklarına kıyasla daha yüksek oranda bulunur. Ortalama olarak bu oran ( $\omega$ -6/ $\omega$ -3) tatlı su balıklarında 0.37 iken, deniz balıklarında 0.16 seviyesindedir. Oranlar arasındaki bu değişikliğin nedeni; balıkların beslendikleri habitatın farklı olması ve mevsimsel değişkenlikler ile suyun kimyasal yapısı ve ısı değişikliğine bağlı olarak adaptasyon sürecinde metabolizmanın ihtiyaç duyduğu PUFA miktarının değişkenlik göstermesidir (Sikorski ve Kolakowska, 2003).

Balık etlerini diğer hayvansal kökenli gıdalardan farklı kılan özellik hiç şüphesiz ki uzun zincirli doymamış yağ asitlerini fazla miktarda içermeleridir. Balık etinde yağ kompozisyonu büyük farklılıklar göstermektedir. Bu farklılık balık türleri arasında olduğu gibi aynı balık türü içinde mevsimsel değişiklikler, beslenme durumu, suyun



tuzluluk oranı ve suyun sıcaklık seviyesi gibi daha birçok faktöre bağılı olarak değişebilmektedir (Suzuki ve ark., 1986; Gokoğlu, 2002; Kaya ve ark., 2004).

Diyetin yağ yönünden sağlıklı sayılabilmesi için doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerinin eşit oranlarda olması gerekmektedir (WHO, 2003).

Balık etlerinde yağ miktarı %1-20 arasında geniş bir dağılım marjı gösterirken, kabuklu deniz mahsüllerinde bu oran %1 civarlarındadır. Çiftlik hayvanları veya kümes hayvanları etlerine göre genellikle daha az oranda yağ içeriğine sahiptirler. Balık etleri gıdalar içerisinde az yağlı besinler olarak değerlendirilirler (Erkoyuncu, 2000; Baysal, 2002).

Balık etleri içerdikleri yağ oranına göre; yağsız balıklar (%2'den az), orta derecede yağlı balıklar (%4-8), yağlı balıklar (%8-15) ve çok yağlı balıklar (>%15) olarak sınıflandırılmaktadır. Yağların büyük çoğunluğu balık etinde yağ asitlerinin gliserolle yaptığı esterler olan trigliseridler ve PUFA şeklinde bulunur. Tatlı su balığı olan sazan balığında yağ miktarı 5.6 g/100 g, doymuş yağ miktarı 1.1 g/100 g, tekli doymamış yağ miktarı 2.3 g/100 g, çoklu doymamış yağ miktarı 1.3 g/100 g, EPA 0.2 g/100 g ve DHA 0.1 g/100 g'dır (Pigott ve Tucker, 1990).

Esansiyel yağ asitlerinin vücuttaki önemi; metabolizmaları sürecinde vücutta linoleik asitin ( $\omega$ -6 PUFA) araşidonik asite dönüştürülmesi,  $\alpha$ -linolenik asitin ( $\omega$ -3 PUFA) EPA ve DHA'ya dönüştürülmesi ile meydana gelen, hormonal etkileri de olabilen eikosanoidler, tromboksanlar ve lökotrienler gibi metabolitlerin açığa çıkmasıdır. PUFA, dokularda hücre membranının temel bileşeni olup membran permeabilitesi ve iyon transferinde önemli rol oynar (Brown, 2000).

$\omega$ -3 yağ asitleri özellikle kalp kası, retina, beyin hücreleri, plasenta ve gonatların yapısında bol miktarda bulunur (Gordon ve Ratliff, 1992).

Genel olarak  $\omega$ -3 yağ asitleri ( $\alpha$ -linolenik asit, EPA, DHA) kalp krizi, kalp ve damar hastalıkları, eklem romatizmaları, alerjik durumlar, kanser, yüksek kolesterol, tansiyon, astım, Alzheimer ve daha birçok hastalığın önlenmesi ya da tedavisinde, hücre fonksiyonlarının etkin bir şekilde yerine getirilmesi ile retina ve beyin gelişiminde aktif rol oynamaktadır (Lauritzen ve ark., 2001).

Diyetlerinde balık ve diğer deniz mahsüllerini bol miktarlarda tüketen uzak doğu ülkelerinde diyetle alınan linoleik asit/ $\alpha$ -linolenik asit oranı (LA/ALA) ( $\omega$ -6/ $\omega$ -3) 1/5 iken özellikle batı ülkelerinde bu oranın 100/1'e kadar ters bir şekilde arttığı görülmektedir. Sağlıklı yaşam için diyetteki bu oranın 1/5 ile 1/10 arasında olması ve bu oranın korunabilmesi için ise  $\alpha$ -linolenik asit, EPA ve DHA yönünden zengin olan balık veya diğer deniz mahsüllerinin tüketiminin artırılması gerektiği tavsiye edilmektedir (Gordon ve Ratliff, 1992; Akyurt, 1993).

#### **2.2.4. Balığın vitamin içeriği**

Vücudumuz için elzem olan en az 13 vitamin tanımlanmaktadır. Balık etinin kas dokusunda dağılım oranları ve miktarları farklı olmakla birlikte, bu vitaminlerin neredeyse tamamı bulunmaktadır (Love, 1982; Turan ve ark., 2006).

Balık suda çözünebilir B ve C vitaminleri yönünden çiftlik hayvanlarıyla hemen hemen aynı oranlara sahipken, yağda eriyen vitaminler (A, D, E ve K vitamini) yönünden oldukça zengin bir gıda maddesidir. Ayrıca, koyu renkli balık etleri suda çözünen vitaminler yönünden, beyaz etli balıklara oranla daha zengindir (Burr ve ark., 1989; Pigott ve Tucker, 1990).

A vitamininin özellikle de yağlı balıklarda (ton, uskumru, ringa vb) bulunuş formu retinol şeklindedir. 100 g balık eti, alınması tavsiye edilen günlük miktarın (RDA, Recommended Dietary Allowance) %10-15'ni karşılamaktadır (Brown, 2000).

Balıklar, D vitamini ve özellikle de vitamin D<sub>3</sub> (kolekalsiferol) yönünden diğer hayvansal gıdalara oranla daha zengindirler. D vitamini için günlük ortalama ihtiyaç 10 µg civarındadır ve türlere göre değişmekle birlikte 100 g balık eti organizmanın ihtiyacının %50-200'ünü karşılayabilmektedir (Fletcher ve ark., 2002).

Balıklar türlere göre değişen oranlarda (300-1000 IU/100 g) D vitamini içeriğine sahipken, D vitamini yönünden en zengin gıdalar arasında bulunan karaciğerde bu oran 100-400 IU/100 g, sütte 3-10 IU/L, yumurta sarısında ise 20-100 IU'dir (Besler, 2007).

E vitamini balık ve diğer deniz mahsullerinin çoğunda önemli miktarlarda bulunmaktadır. Bu vitaminin günlük gereksinim miktarının (5-10 mg) yaklaşık %10-20 kadarı balık ve diğer su ürünlerinden karşılanabilmektedir (Norday, 2001).

Balık eti; B<sub>1</sub> (tiamin), B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>3</sub> (niasin), B<sub>6</sub> (pidoksin) ve B<sub>12</sub> (kobalamin) vitaminleri yönünden de zengindir. 100 g balık eti B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve B<sub>6</sub> vitaminleri yönünden vücudumuzun günlük ihtiyacının yaklaşık olarak %10'unu; B<sub>12</sub> vitamini ihtiyacının ise %100'ünü karşılayabilmektedir. C vitamini balık etinde çok az (1-5 mg/100 g) miktarda bulunmaktadır (Turan ve ark., 2006).

### **2.2.5. Balığın mineral madde içeriği**

Balık ve diğer su ürünleri mineral madde yönünden zengindir ve kalsiyum, iyot, fosfor, potasyum, sodyum, flor, magnezyum, selenyum, demir, kobalt, bakır ve çinko önemli minerallerdendir (Atar ve Alçiçek, 2009).

Türlere göre değişmekle birlikte balıklar, 15-200 mg/100 g kalsiyum, 100-400 mg/100 g fosfor, ortalama 60 mg/100 g sodyum, 250-500 mg/100 g potasyum ve magnezyum, 10-12 µg/100 g selenyum içermeleri yönünden iyi bir mineral madde kaynağıdır (Dean, 1990).

İyot bakımından en zengin gıda balık ve diğer su ürünleridir. Balık derisi iyot bakımından çok zengindir. Deniz balıkları iyot bakımından (50-800 µg/100 g) tatlı su balıklarına (5 µg/100 g) oranla daha zengindir. Günlük 150 µg olan iyot ve 75 µg olan selenyum ihtiyacı, haftada bir veya iki kere balık tüketilmesiyle karşılanabilmektedir (Ökten, 2007).

Türlere göre değişmekle birlikte balık etindeki 1:2 ile 1:10 aralığında değişen miktarlarda dağılım gösteren sodyum/potasyum oranı ve 2.15/1 kalsiyum/fosfor oranı sağlıklı beslenme yönünden oldukça iyidir. Kalsiyum içeriği yönünden çok zengin olmayan balık etleri; hamsi, sardalya ve diğer kemikleri ile birlikte tüketilen türler açısından değerlendirildiğinde organizmanın ihtiyaç duyduğu kalsiyum miktarının yaklaşık olarak %30-40 kadarını karşılayabilmektedir (Gökoğlu, 2002; Besler, 2007; Ökten, 2007).

### 2.3. Sazan Balığı (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758)'nin Özellikleri

Daha çok ılıman iklime sahip bölgelerde yoğunlaşan popülasyonlarıyla çok fazla türü olan sazan (cyprinidae) balıkları, gerek doğal yaşam alanlarında gerekse de entansif olarak dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan bir balık türüdür. Sazan türlerinin 4 °C'den 30 °C'ye kadar geniş bir ısı tolerans yetenekleri bulunmaktadır (Aydın, 1984; Çelikkale, 1988).



**Şekil 1.** *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758'in genel görünüşü.

Oksijen gereksinimleri azdır ve optimal gelişimi 20 °C'nin üzerinde olmaktadır. 23-24 °C'lerde yem tüketimleri ve alınan yemin değerlendirilmesi maksimum düzeydedir. Ani ısı değişimlerine çabuk adapte olurlar ve 1 °C'nin altındaki su sıcaklığına bile tolerans gösterebilirler. Aynı zamanda bazı türleri %0.5 tuz oranına sahip sularda ve pH 5-9 gibi geniş bir skalada rutin büyümelerine devam edebilirler (Wood ve Ghannudi, 1985; Pullin, 1986). Yapılan deneysel çalışmalarda %0.12 tuz oranına sahip sularda bile gelişimlerini sürdürdükleri belirlenmiştir (Kim ve ark., 1975).

Aynalı sazan ülkemizde en çok bilinen sazan türü olup doğal sazanın kültür formudur. Genel olarak nehirlerde, sulama ve baraj gölleri/göletlerinde yetiştirilen sazan balığı üretiminin; daha çok Akdeniz (Kepez/Antalya Üretme İstasyonu), Ege ve İç Anadolu Bölgesi'nde yoğunlaştığı görülmektedir. Bulunduğu su ortamına göre

değişmekle birlikte 3 yıl içerisinde 2.5 kg ağırlığa ulaşabilmektedir. Sazan balıklarının 40 yıla kadar yaşayabildiği, 30 kg üzerinde ağırlığa ve bir metreden fazla boy uzunluğuna ulaşabildikleri bildirilmektedir (Atay ve Çelikkale, 1983; Anonymous, 1999).

Omnivor bir tür olan sazan balığı bentik su canlıları, plankton, su bitkileri ve bitkisel artıklarla beslenir. Dip bölgelerdeki küçük canlıları suyun çökelti kısmıyla alırlar ve çamur kısmını sonra çıkarırlar. Oksijen gereksinimleri nispeten düşüktür, avlama ve hasat işlemleri ile mekanik travmalara karşı diğer balık türlerine göre daha dayanıklıdırlar (Alpbaz, 1978).

Üreme dönemleri su sıcaklığının 22 °C'ye yaklaştığı nisan-mayıs aylarında daha yoğundur ve bazı bölgelerde temmuz ayına kadar devam ederek balıklar bitkilerin yoğun olduğu sığ alanlara yumurtalarını bırakırlar. 3-4 gün içinde larvalar yumurtadan çıkar ve yumurtadan çıkan larvalar 3 gün içinde beslenmeye başlarlar (Atay, 1987; Kuru, 2006).

Larvalar ilk dönemlerde beslenme ihtiyaçlarını planktonlardan karşılarken (algler, rotiferler gibi), boyları 20 mm'ye yaklaştığında bentik canlılarla beslenmeye başlarlar (Bakos, 1984; Atay, 1987).

Ülkemizde Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Su Ürünleri İstatistikleri (2017)'ne göre; iç sularda ve denizlerde yetiştiriciliği yapılan türler arasında 107.013 ton/yıl ile alabalık ilk sırada yer alırken, toplam 55 ilde 541 kaynağa 5.500.000 adet sazan balığı bırakılmıştır.

#### **2.4. Balıklarda Mikroflora**

Balık ve diğer su ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi; tür, avlama bölgesi, avlama ve hasat teknikleri, mevsim, teknolojik işlemler, personel ile makine-ekipman hijyeni ve sanitasyon uygulamaları (ısı-süre) gibi faktörlerden etkilenmektedir (Martin ve ark., 1978). Besleyici değeri oldukça yüksek olan balık eti çok çabuk kalite kaybına uğrayabilen bir gıdadır. Gevşek bir bağ dokuya sahip olması, enzimatik faaliyetlerin yoğun olması, yüksek pH ve içerdiği su miktarı gibi nedenlerden dolayı kısa sürede bozulmalar başlamaktadır (Özden ve Gökoğlu, 1996).

Su kalitesi yüksek olan alanlarda avlanan balıklar ve su ürünleri genellikle mikroorganizma yükü bakımından oldukça iyidir. Ancak hasat veya avlanma sırasında ve sonrasında yüzeysel mikroorganizma sayısında önemli ölçüde artış meydana gelmektedir (Patır ve ark., 2002).

Deri, solungaçlar ve bağırsak içeriği ile suyun kendi mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar primer kontaminasyonlardan sorumluyken, avlama ve hasat, işleme prosesleri, transport ve satış/pazarlama dönemlerinde fiziksel kontaminantlar nedeniyle sekonder bulaşmalar oluşabilir. Her iki durumda da mikrobiyal bozulmalar ve neticede bu ürünlerin tüketilmesi ile gıda zehirlenmeleri meydana gelmektedir (İnal, 1992).

Gram (-) mikroorganizmalar (*Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Shewanella* ve *Vibrio* gibi) daha çok soğuk sulardan yakalanan/hasat edilen balıkların derisinden yoğunlukla izole edilirken, ılık sulardan yakalanan veya hasatı yapılan balıkların derisinde ise Gram (+) mikroorganizmalar (*Micrococcus*, *Coryneform* ve *Bacillus* spp. gibi) hakim florayı oluşturmaktadır (Sikorski ve ark., 1990).

Canlı balıklar buldukları suların mikrobiyal florasını taşımaktadırlar ve tatlı sularda yaşayan balıklarda deniz sularında bulunan mikroorganizmalara ilaveten *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Alcaligenes* ve *Streptococcus* cinslerine ait türler de bulunabilir. Tatlı su balıklarının sindirim sisteminde *Aeromonas* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait türler yoğun olarak bulunmaktadır (Diler ve ark., 2000; Katırcıoğlu, 2001).

*Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Lactobacillus* ve *Brevibacterium* cinslerine ait mikroorganizmalar tatlı ve tuzlu sularda yaşayan balıkların sindirim sisteminde tespit edilmiştir (Frazier ve Westhoff, 1988).

Yoğunlukla *Vibrio parahaemolyticus* ve diğer *Vibrio* türleri (*V. cholerae*, *V. vulnificus* ve *V. mimicus*) insanlar için deniz kaynaklı patojen mikroorganizmalardır (Sikorski ve ark., 1990). Özellikle *Vibrio parahaemolyticus* kıyı bölgelerinden, körfez alanlarından, nehir sularının deniz sularına karıştığı alanlardan avlanan balıklarda ve

diğer deniz mahsüllerinde yoğun olarak da yaz aylarında tespit edilmektedir (Göktaş, 1990; Jay, 1992, Çaklı ve Kışla, 2003 ). Fekal kontaminasyonun olduğu deniz sularında ve bu sularda yaşayan çift kabuklu yumuşakçalarda canlılığını uzun süre muhafaza edebildiği bilinen *Vibrio cholerae* daha yoğun olarak izole edilmektedir (Karapınar ve Gönül, 1998).

*Aeromonas hydrophila*, sulardan sıkça izole edilmekte olup tatlı ve tuzlu su kaynakları, atık sular, kuyu ve yüzey suları gibi alıcı kaynaklarda ve değişik klor oranına sahip sularda yüksek oranda bulunabilmektedir. Midye, diğer çift kabuklu yumuşakçalar ve balıklarda sıklıkla izolasyonu yapılabilmektedir (Dökmeci, 1995).

*Listeria* türleri özellikle tatlı sulardan, endüstriyel, insan ve hayvan kaynaklı kontaminasyona maruz kalmış sığ deniz sularından izole edilmektedir (Embarek, 1994).

*Clostridium botulinum* E tipi çoğunlukla deniz ve göl sularında, balıkların bağırsaklarında, deniz ve göl diplerindeki çamurda bulunmaktadır (Banwart, 1981).

**Tablo 2.** Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak mikroflorası (Katırcıoğlu, 2001).

<b>Tatlı su balıklarının deri mikroflorası</b>	<b>Tatlı su balıklarının bağırsak mikroflorası</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Acinetobacter</i> spp.</li><li>- <i>Alcaligenes</i> spp.</li><li>- <i>Escherichia coli</i></li><li>- <i>Flexibacter</i> spp.</li><li>- <i>Vibrio fluvialis</i></li><li>- <i>Pseudomonas fluorescens</i></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Acinetobacter</i> spp.</li><li>- <i>Enterobacter</i> spp.</li><li>- <i>Escherichia coli</i></li><li>- <i>Klebsiella</i> spp.</li><li>- <i>Serratia</i> spp.</li><li>- <i>Proteus</i> spp.</li><li>- <i>Aeromonas</i> spp.</li><li>- <i>Flexibacter</i> spp.</li><li>- <i>Pseudomonas</i> spp.</li></ul>
<b>Deniz balıklarının deri mikroflorası</b>	<b>Deniz balıklarının solungaç mikroflorası</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Acinetobacter</i> spp.</li><li>- <i>Alcaligenes</i> spp.</li><li>- <i>Escherichia coli</i></li><li>- <i>Cytophaga</i> spp.</li><li>- <i>Pseudomonas fluorescens</i></li><li>- <i>Pseudomonas marina</i></li><li>- <i>Vibrio</i> spp.</li><li>- <i>Bacillus cereus</i></li><li>- <i>Bacillus firmus</i></li><li>- <i>Coulobacter</i> spp.</li><li>- <i>Coryneform</i> spp.</li><li>- <i>H. vulgare</i></li><li>- <i>P. angustum</i></li><li>- <i>Prostecomicrobium</i> spp.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Alcaligenes</i> spp.</li><li>- <i>Flavobacterium</i> spp.</li><li>- <i>Micrococcus</i> spp.</li><li>- <i>Bacillus</i> spp.</li><li>- <i>Achromobacter</i> spp.</li></ul>

### 2.5. Balık Etinde Oluşan Bozulmalar

Gıda maddelerinin lezzet, koku, görünüş ve tekstüründe meydana gelen istenmeyen değişiklikler bozulmanın belirtileri olarak tarif edilir (Ashie ve ark., 1996). Balıklardaki bozulmalar mikroorganizma gelişimi, renk değişikliği, tekstürde oluşan değişiklikler, istenmeyen kötü koku, kötü lezzet ve gaz oluşumu gibi birçok belirtiyile kendini göstermektedir (Huis in't Veld, 1996).

Balık ve diğer su ürünlerinde soğuk ortam koşulları sağlanmasına rağmen yine de solungaçlarda, bağırsaklarda, deride bulunan mikroorganizmalar ve enzimatik faaliyetler ile dokularda meydana gelen otoliz ve oksidatif reaksiyonlar sonucunda kısa sürede ürün içeriğinde önemli değişiklikler oluşur. Neticede balığın kalitesi, lezzeti,



kokusu, görünüşü ve tekstüründe bozulmalar meydana gelir (Garthwaite, 1992; Ghazala, 1994).

Yüksek besleyici değeri yanında bozulmalara karşı oldukça hassas bir ürün olan balıklar; kaslarında bulunan bağ dokunun zayıf yapıda olması, enzim aktivitesinin yoğunluğu, pH değeri ve su içeriğinin yüksek olması gibi özellikleri nedeniyle kısa sürede bozulabilen besinlerdir (Özden ve Gökoğlu, 1996).

Balıkların vücut şekli, yağlılık dereceleri ve avlanma veya hasat edildikleri dönemleri ile sindirim sistemlerindeki içeriğin miktarı gibi faktörler bozulma üzerinde doğrudan etkilidir. Yassı balıklar daha çabuk bozulurken silindirik balıklarda bu süre uzayabilmekte, yağların hızlı bir şekilde okside olmaları nedeniyle yağlı balıkların yağsız balıklara nazaran daha çabuk bozulduğu bilinmektedir (Stammen ve ark., 1990).

Balıkta tazeliğin sürdürülebilmesi ve raf ömrünün uzatılabilmesi amacıyla otolitik enzimlerin aktivitesinin ve mikroorganizmaların gelişiminin inhibe edilmesine yönelik tütsüleme, marinasyon, soğukta ve dondurarak muhafaza gibi bir çok yöntem uygulanmaktadır (Ochrem ve ark., 2014).

Balık etlerinde bozulmanın değerlendirilmesinde; pH, TMA/TMAO (trimetilaminoksit), TVB-N, TBA, biyojen aminler, duyuşal değerlendirmeler ve özellikle de mikrobiyolojik analizler (Özoğul, 2010), adenozin trifosfat (ATP), adenozin difosfat (ADP), adenozin monofosfat (AMP) ve inosin monofosfat (IMP), inosin, hipoksantin oluşumu ve K değerinin belirlenmesi, serbest yağ asitleri, peroksit değeri ve toplam proteolitik aktivite kullanımı oldukça yaygındır (Aguilar ve ark., 2000; Ocano-Higuera ve ark., 2011).

Balık etlerinde oluşan bozulma şekilleri kimyasal, enzimatik ve mikrobiyal bozulmalar olarak üç ana başlık altında toplanabilir (Ertaş, 1981).

### **2.5.1. Kimyasal bozulmalar**

Balık etinde protein, lipid, karbonhidrat ve su oranı türlere, yaşa, mevsimsel dönemlere, aquatik ortama, üreme dönemine, beslenme şekillerine ve sindirim sisteminin doluluk durumu gibi bir çok etkene bağlı olarak değışiklik göstermektedir.

Aynı zamanda vitamin ile bozulmada önemli rol oynayan serbest amino asitler, şekerler ve volatil azotlu bazlar gibi minör maddeleri de yüksek oranda içermektedir (Göğüş ve Kolsarıcı, 1992).

Bozulma evresi içerisinde post mortem dönemde glikojenin parçalanarak laktik aside hidrolize olmasıyla balık etinde pH'da önemli değişimler meydana gelir ve neticede pH'nın düştüğü gözlenir (Ryder ve ark., 1993; Şengör ve ark., 2000).

Taze balıklarda pH değerinin 6.0-6.5 aralığında olması gerektiği belirtilmekte olup bu değerlerin muhafaza süresince artış gösterdiği ve tüketim için sınır değerlerin 6.8-7.0 olarak kabul edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Mol ve ark., 2004).

Otolitik enzimatik faaliyetler neticesinde fosfolipit ve PUFA'lar yönünden zengin olmaları nedeniyle sıklıkla lipid oksidasyonu (oksidatif ransidite) ve son ürün olarak hidroperoksit oluşumu ile enzimatik faaliyetlere bağlı olmayan esmerleşme olayları da balık etlerinde görülen kimyasal bozulmalardandır (Gennari ve ark., 1999).

Kas dokusunda avlama ve/veya hasat sonrası birtakım biyokimyasal reaksiyonlar gelişmekte, lipidler, proteinler ve nonprotein azotlu bileşiklerde yıkımlanmalar oluşmakta ve bazı uçucu bileşikler oluşarak kalite kaybı meydana gelmektedir (Ashie ve ark., 1996).

TVB-N tayini, ilk olarak 1913 yılında total volatil nitrojen olarak adlandırılan ve sardalya konservelerinde tazeliğin bir indikatörü olarak amonyak içeriğinin belirlenmesi sonucunda balık ürünlerinde tazeliğin değerlendirilmesinde kullanılan kimyasal bir testtir (Rehbein ve Oehlenschlager, 2009).

Avlanma dönemi, bölgesi, derinliği ve mevsimi, balığın cinsi, avlandığı andaki açlık durumu, yaşı, büyüklüğü ve cinsiyeti TVB-N değerleri üzerinde oldukça etkili olmaktadır (Oehlenschlager, 1989; Baygar ve ark., 2004).

Yapılan bir çalışmada -18 °C'de 6 ay boyunca muhafaza edilen sazan kıymasının pH değeri 0. günde 6.1 ve elde edilen köftelerin pH değeri 120. günde 6.3 olarak, TVB-N değerleri ise sırasıyla 10.52 mg 100 g<sup>-1</sup> ve 12.95 mg 100 g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir (Yanar ve Fenercioğlu, 1999).

Şengör ve ark. (2000), 2 °C ile 4 °C'de 18 gün boyunca muhafaza edilen istavrit balıklarında muhafazanın 0. gününde pH ve TVB-N değerlerini 6.26 ve 23.8 mg/100 g, 14. gün ise 6.73 ve 67.2 mg/100 g olarak tespit etmişlerdir.

Ojagh ve ark. (2010) farklı paketleme yöntemi kullanarak ve katkı maddesi ekleyerek buzdolabında muhafaza edilen alabalıklarda yaptıkları bir çalışmada, kaliteli bir balık için maksimum izin verilebilir TVB-N düzeyini 25 mg 100 g<sup>-1</sup> olarak önermişlerdir.

Beyaz ve koyu renkli kas kısımları kullanılarak hazırlanan aynalı sazan örneklerinin, normal atmosfer basıncı ve vakum paketleme teknikleri kullanılarak hazırlanan numunelerin 20 gün boyunca 4 °C'de muhafaza edildiği bir çalışmada, TVB-N değerlerinin muhafazanın başlangıcında beyaz kas kısımlarında 10.08 mg 100 g<sup>-1</sup> ve koyu kas kısımlarında ise 6.54 mg 100 g<sup>-1</sup> olduğu, her iki kas şeklinde de muhafaza süresince artışların olduğu, 18. günde beyaz kas kısımlarında 25.77 mg 100 g<sup>-1</sup>'e ulaştığı ancak koyu kas kısımlarında TVB-N miktarının bu değerin altında olduğu, pH değerlerinin muhafazanın başlangıcında beyaz kas kısımlarında 6.74 ve koyu kaslarda 6.28 olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2016).

Majumdar ve ark. (2013) -20 °C'de muhafaza edilen gümüş sazan balığı kıymalarının içilebilir nitelikteki soğuk su ile yıkanarak ve yıkanmadan hazırlanan, aynı zamanda kriyoprotektan eklenen ve eklenmemiş örneklerde yaptıkları araştırmada; pH değerini başlangıçta yıkanmamış kıyma örneklerinde 7.07 ve yıkanmış örneklerde 6.63 olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada kriyoprotektan eklenmemiş örneklerde TVB-N değerini 15. günde 12.56 mg/100 g, 30. günde 14.34 mg/100 g, 60. günde 14.26 mg/100 g ve 90. günde ise 16.58 mg/100 g olarak tespit etmişlerdir. Muhafaza süresince TVB-N miktarında meydana gelen bu artışın, örneklerde bulunan endojen bileşimlerin parçalanması ve bu bileşimler içinde bulunan NPN bileşiklerinden kaynaklandığını değerlendirmişlerdir.

Ot sazanlarında yapılan bir çalışmada 3 °C'de muhafaza edilen örneklerde TVB-N miktarı muhafazanın başlangıcında 10.01 mg/100 g iken, 15. günde 22.18 mg/100 g olarak tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Fan ve ark. (2016) siyah sazanlarda yaptıkları bir çalışmada, 4 °C'de 21 gün süreyle muhafaza edilen örneklerde başlangıçta 6.80 olan pH değerinin muhafaza süresince artarak 21. günde 7.07'ye ulaştığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada TVB-N miktarının 0. günde 9.71 mg/100 g iken, muhafaza süresinin 6. gününden itibaren muhafaza süresinin sonuna kadar önemli derecede arttığını, pH değerindeki başlangıçtaki azalmanın kaslardaki glikojenin parçalanması sonucu oluşan laktik asitten kaynaklandığını, ilerleyen sürelerde pH değerlerindeki artışın ise mikrobiyal veya diğer endojen enzimler nedeniyle proteinlerin parçalanmasıyla oluşan amonyak gibi volatil bileşikler nedeniyle oluştuğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre taze ve soğutulmuş balıklar TVB-N mg 100 g<sup>-1</sup> değerlerine göre; uygun (<20 mg 100 g<sup>-1</sup>), kabul edilebilir (20-28 mg 100 g<sup>-1</sup>) ve kabul edilemez (>28 mg 100 g<sup>-1</sup>) olarak sınıflandırılırken, Balıkçılık Ürünlerine Ait Duyusal Özellikler ve Toplam Uçucu Bazik Azot Limitleri Tebliği (2012)'nde bazı balık türlerinde (derinsu iskorbiti, pisi balığı, Atlantik somonu, Berlam balığı ve mezigit balığı, barbun, kırmızı tekir vb.) farklı limitler tanımlanmış olup, kabul edilebilir en fazla TVB-N miktarı 25-35 mg Azot/100 g arasında belirlenmiştir. Aynı Tebliğ'de insan tüketimi amaçlı balık yağı üretiminde kullanılacak olan tüm balıkçılık ürünlerinde yasal limit 60 mg Azot/100 g olarak sınırlandırılmıştır. İlgili Tebliğ'de sazan balıkları ile ilgili ayrıca bir yasal limit bulunmamaktadır. Daha önce yayımlanan Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'nde TVB-N tayini için organoleptik muayene sonucu şüphelenildiği takdirde tüm balık türlerinde yapılması gereken bir analiz olarak bildirilmektedir.

Balık etinde görülen kimyasal bozulmaların belirlenmesinde, hypoksantin (H<sub>x</sub>) tespiti ve diğer benzer testlerin çoğu zaman tutarlı sonuçlar vermediği görülmüştür. Volatil asitler, indol ve H<sub>2</sub>S gibi diğer tespitler artık ürünün tamamen bozulduğu ve sağlık açısından tehlike arz ettiği durumlarda önem kazanır (Malle ve Poumeyrol, 1989).

### 2.5.2. Mikrobiyal bozulmalar

Canlı balık normal durumda steril kabul edilmektedir. Ancak canlı veya yeni yakalanmış/hasat edilmiş balıklarda deri ( $10^2$ - $10^7/cm^2$ ), solungaçlar ve sindirim sistemi ( $10^3$ - $10^9/g$ ) değişen oranlarda mikroorganizma içermektedir (Liston, 1980).

Balık öldüğü zaman vücuttaki bütün direnç mekanizmaları bozulur ve düşük ısılarda bile mikrobiyal (psikrofilik ve psikrotrofik) enzimler (Venugopal, 1990), doğal doku enzimleri (proteaz ve diğer hidrolitik enzimler) veya her iki grup enzimlerin aynı anda dokularda bulunan doğal substanslarla reaksiyona girmeleri neticesinde bozulma süreci başlamış olur (Gram, 1992; Soyer, 1999; Sverstvik ve ark., 2002).

Balıklarda bozulma süresi ve derecesi; mikrobiyal kontaminasyon ve oranı, balık türleri ve büyüklükleri, yakalama ve hasat metodları, avlama alanı, tekne ve diğer transport araçlarının hijyeni, işleme teknikleri ve muhafaza şartları (Chen ve Chai, 1982; Ward ve Baj, 1988), suyun ısısı, tuz oranı, transport ve muhafaza ısısı ile süresi, balık etlerindeki su aktivitesinin ( $a_w$ ) yüksekliği, ölüm sonrası pH'nın yüksek olması (genellikle  $pH > 6$ ), çok miktarda NPN ve TMAO varlığı, oksidasyon/redüksiyon potansiyeli ve mikrobiyal interaksiyonlara bağlı olarak değişmektedir (Gram ve Huss, 1996; Ünlütürk ve Turantaş, 1999; Koutsoumanis ve Nychas, 2000; Hisar ve ark., 2004).

Genelde balıkların bozulmasında etkili olan mikroorganizmalar, balıkların yaşadıkları aquatik çevre ile ilgilidir. Ilık sularda yaşayan balıklarda psikrotrofik mikroorganizmalardan *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Shewanella*, *Moraxella*, *Acinobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio* ve *Photobacterium* türleri doğal florayı oluştururken (Stammen ve ark., 1990), Gram (+) mezofilik mikroorganizmalardan *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium* ve *Corynebacterium* türleri ve enterik mikroorganizmalar hakim florayı oluşturmaktadır (Sikorski ve ark., 1990; Huss, 1995). Soğuk sularda yaşayan balıklarda ise etkin flora Gram (-) psikrofilik *Moraxella*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinsi mikroorganizmalardan oluşmaktadır (Shewan, 1977; Fraser ve Sumar, 1998).

Denizlerde yaşayan balıklarda genelde halofilik Gram (-) *Shewanella putrefaciens*, *Vibrio* ve *Photobacterium* spp. dominant türler olurken, tatlı su

balıklarında *Moraxella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Photobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Corynebacterium* cinsi mikroorganizmalar yoğun durumdadırlar (Gram, 1992).

Soğukta muhafaza edilen balıklarda psikrotrof mikroorganizmalardan *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Shewanella*, *Moraxella* ve *Acinetobacter* cinsleri yoğunlukla tespit edilirken (Venugopal, 1990), yüksek ısılarda bekletilen balıklarda mezofilik mikroorganizmalar hızla çoğalmaktadır (İnal, 1992). Kontamine sulardan avlanan balıklarda *Enterobacteriaceae* ve koliform grubu mikroorganizmalar dominant florayı oluşturmaktadır (Sousa ve Silva-Souza, 2001).

Ayrıca *Clostridium botulinum* ile *Salmonella*, *Listeria* ve *Shigella* cinsi gibi patojen mikroorganizmalar havuzlarda yetiştirilen balıklarda bulunabilir (Anonymous, 1984; Wallace ve ark., 1999; Huss ve ark., 2003; Silva ve ark., 2009).

*Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* ve diğer bozulmaya neden olan potansiyel mikroorganizmalar bozulmanın başlangıç safhasında hızlı bir şekilde çoğalırlar ve yüksek oranda proteolitik ve hidrolitik enzim üretirler (Shewan, 1961).

Bazı maya türleri (*Rhodotorula*, *Torulopsis* ve *Candida*) balık derisinden izole edilirken, küflerin su ürünlerinde bulunma oranı düşüktür (Sikorski ve ark., 1990; Gökoğlu, 2002).

Balık ve ürünlerinde insan tüketimi için toplam mikroorganizma yoğunluğunun kontrolünde; 5 örnekten az olmamak kaydıyla (n=5)  $5 \times 10^5$  altındaki değerlerin iyi kalite,  $5 \times 10^5$ - $10^7$  arasındaki değerlerin kabul edilebilir (n=3) ve  $10^7$  ile üzerindeki değerlerin ise kabul edilemez seviye olduğu bildirilmektedir (ICMSF, 1986).

Zhang ve ark. (2011) farklı sıcaklıklarda 18 gün boyunca muhafaza edilen ot sazanlarında yaptıkları çalışmada, 3 °C'de muhafaza edilen örneklerde TAMB sayısını 0. günde 3.45 log cfu/g, 9. günde ise 5.45 log cfu/g olarak tespit etmişlerdir.

Dondurularak bütün halde muhafaza edilen gümüş sazanlarında muhafazanın başlangıcında mezofilik ve psikrofilik mikroorganizma sayısının 3 log cfu/g olduğu, 30. güne kadar mezofilik ve psikrofilik mikroorganizma sayısında azalma olduğu ve bu

durumun muhafaza şartlarına bağılı olarak soğuk şok etkisinden kaynaklanabileceğı, devam eden muhafaza süresince 90. güne kadar mezofilik ve özellikle psikrofilik mikroorganizma sayısında artış olduğı ve 90. günde mezofilik ve psikrofilik mikroorganizma sayılarının sırasıyla 3 log cfu/g ve 4 log cfu/g değerlerini aştığı, ancak kritik değer olan 7 log cfu/g'a ulaşmadığı bildirilmiştir (Ehsani ve Jasour, 2012a).

Emire ve Gebremariam (2010) 90 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen tatlı su çipurası olarak da bilinen tilapia balıklarında; muhafazanın başlangıcında kötü sanitasyon şartları ya da hijyen uygulamalarının yetersizliğine bağılı olarak mezofil mikroorganizma sayısı 6.41 log cfu/g iken soğuk şokuna bağılı olarak bu sayıda 60. güne kadar 2 log cfu/g azalma olduğunu ancak 75. günden itibaren sayının tekrar artmaya başladığını, total koliform grubu mikroorganizmaların muhafazanın başlangıcında 460 MPN/g (Most Probable Number) olduğunu, 60. güne kadar sayılarının azaldığını ve muhafazanın 75. gününden sonra ise artış göstermeye başladığını tespit etmişlerdir.

3 °C'de 14 gün boyunca muhafaza edilen sazan filetolarında mezofilik mikroorganizma sayısı başlangıçta 4.49 log cfu/g ve muhafazanın sonunda ise 9.25 log cfu/g, psikrotrofik mikroorganizma sayısı muhafaza süresi sonunda 8.75 log cfu/g, koliform grubu mikroorganizma sayısı muhafaza başlangıcında 3.17 log cfu/g olarak tespit edilirken muhafaza süresince arttığı ve 14. günde 7.60 log cfu/g olduğu bildirilmiştir (Krizek ve ark., 2004).

Fan ve ark. (2016) tarafından 4 °C'de muhafaza edilen siyah sazanalarda yapılan bir çalışmada; muhafazanın başlangıcında toplam aerobik mezofil mikroorganizma, *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla 4.45 log cfu/g, 3.71 log cfu/g ve 3.97 log cfu/g olarak tespit edilirken, 3. günde 5.40 log cfu/g, 5.28 log cfu/g ve 5.05 log cfu/g, 15. gününde ise 8.67 log cfu/g, 8.70 log cfu/g ve 8.59 log cfu/g olduğu belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar balıklarda olası bir bozulmanın değerlendirilmesinde toplam aerobik mezofil mikroorganizma sayısının daima önemli bir kalite indikatörü olarak kullanılması ve bozulmanın neden kaynaklandığının tam olarak anlaşılması için mikrobiyal floranın belirlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Balıklarda histamin düzeyi ile mikroorganizma yükü arasında bir ilişkinin olup olmadığını ortaya koymak için yapılan çalışmalarda, oda sıcaklığında muhafaza edilen

balıklarda mezofilik mikroorganizma sayısı ile histamin düzeyi arasında yüksek oranda bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Du ve ark., 2002; Kim ve ark., 2012).

### 2.5.3. Enzimatik bozulmalar

Bozulma süreci içerisinde; kas dokularında ve sindirim sisteminde bulunan endojen enzimler ile mikroorganizmalardan kaynaklanan enzimler vasıtasıyla otolitik reaksiyonlar, TMAO, proteinler, NPN, ATP ve lipidlerdeki enzimatik yıkımlanmalar neticesinde balık etinde bozulmalar meydana gelmekte, istenmeyen koku ve lezzet oluşumları gözlenmektedir (Küçüköner ve Küçüköner, 1990; Hisar ve ark., 2004).

Balıkların solungaç kısımları hassas bölgelerdir ve duyuşsal bozulmaların ilk olarak belirlendiğı yerlerdir (Sverstvik ve ark., 2002).

Balıklarda rigor mortis ATP miktarı 1.0  $\mu\text{mol/g}$  ve altına düştüğünde oluşmaktadır (Çelik ve Küçükgülmez, 2007). ATP-az'lar ATP'yi önce ADP'ye indirgemekte ve aktomiyosin oluşumu neticesinde rigor şekillenmesi görülmekte, daha sonra miyokinaz enzimi vasıtasıyla ADP ise AMP'ye dönüştürülmektedir (Soyer, 1999; Hard ve Simpson, 2000). AMP deaminaz, AMP'yi balık etine kendine has kokusunu veren IMP ve  $\text{NH}_3$ 'e (amonyak) parçalar. AMP deaminaz'ın beyaz renkli kaslarda koyu renkli kaslara oranla daha yoğun oranda bulunduğu bildirilmiştir (Hard ve Simpson, 2000; Thebault ve ark., 2005). IMP, IMP fosfohidrolaz ile alkali ve asit fosfataz enzimleri tarafından inosine, inosin de NF (nükleotid fosforilaz) ve IN (inosin nükleosidaz) enzimleri vasıtasıyla hipoksantine ( $\text{H}_x$ ) indirgenir ve hipoksantin oluşumu balık etinin tüketilemez olduğu durumdur. K Değeri (tazelik indeksi), muhafaza süresince otolitik reaksiyonların sonucunda nükleotid yıkımlanması ile ilgili olarak bozulmanın derecesi hakkında bir kriter olarak değerlendirilmektedir ve bozulma seviyesi ne kadar fazla ise K değeri de yükselmektedir (Sen, 2005; Watanabe ve ark., 2005). K değerinin %70'den fazla olması, bozulmanın bir indikatörü olarak değerlendirilmektedir (Zhang ve ark., 2015a).

TMAO miktarı deniz balıklarının çoğu türünde ozmotik basıncın düzenlenmesinde aktif rol oynayan (Pedraso-Menabrito ve Regenstein, 1990) ve tatlı su



balık türlerinde ise önemsenmeyecek düzeyde bulunan bir bileşiktir (Regenstein ve ark., 1982; Foegeding ve ark., 1996; Shahidi ve Dunford, 1998).

Kokusuz bir bileşik olan TMAO, özellikle soğuk deniz sularında yaşayan balıklarda mikrobiyal (*Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Shewanella putrefaciens* ve *Photobacterium phosphoreum* gibi) kökenli enzimlerin aktiviteleri sonucu bozulmaya uğramasıyla uçucu bir baz olan ve düşük koku eşliğine sahip TMA'ya indirgenmekte (Gram ve Huss, 1996; Olafsdottir ve ark., 2006), bozulmanın başlaması ile birlikte de bu bileşik yağ asitleri ile reaksiyona girmekte ve bu reaksiyon sonucunda bozuk balık kokusunun kaynağı haline gelmektedir (Foegeding ve ark., 1996; Soyer, 1999; Yeşilsu ve Polat, 2013). Balık etinde TMAO miktarı ile tazeliğin derecesi arasında ters bir orantı bulunmaktadır ve aynı zamanda sudaki tuz oranı azaldıkça dokulardaki TMAO yoğunluğunda da azalma görülmektedir (Gökoğlu, 2002).

TMAO'nun TMA'ya indirgenmesinde mikrobiyal bir enzim olan TMAO-oksidoredüktaz rol oynamaktadır. Bu enzim vasıtasıyla TMAO aktif hale gelmekte ve mikrobiyal dehidrogenaz tarafından TMA oluşumu meydana gelmektedir. TMA miktarı soğukta muhafazanın ilk günlerinde daha düşük seviyede iken muhafazanın ilerleyen dönemlerinde artmaktadır (Regenstein ve ark., 1982; Hard ve Simpson, 2000). TMA dondurularak muhafaza edilen balıklarda bir kalite indikatörü olarak değerlendirilmemekte olup daha çok buzda muhafaza edilen balıklarda tazeliğin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (Hebard ve ark., 1982; Marrakchi ve ark., 1990; Serdaroğlu ve Deniz, 2001).

Dondurularak muhafaza edilen balıklarda mikrobiyal kaynaklı enzimsel aktivite durduğu için TMAO, endojen bir enzim olan TMAO dimetilazın etkisiyle oksijen varlığında dimetilamin (DMA) ve formaldehite (FA) indirgenmesiyle tekstür bozulur ve sert süngerimsi bir hal alır. Bu durum bozulmanın çok ileri düzeyde olduğunun bir göstergesidir (Hard ve Simpson, 2000; Serdaroğlu ve Deniz, 2001).

## **2.6. Biyojen Aminler**

Biyoaktif aminler bitkilerin, hayvanların ve mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu oluşan düşük molekül ağırlığına sahip organik bazlardır (ten Brink

ve ark., 1990; Halasz ve ark., 1994). Bu aminler taze ve işlenmiş gıdalarda serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu, termal dekompozisyon, nitrojenli komponentlerin hidrolizi ile aldehitlerin veya ketonların transaminasyonu ile meydana gelmektedir (Silla Santos, 1996; Saaïd ve ark., 2009; Park ve ark., 2010).

Aminler, vücut ısısının düzenlenmesi, kan basıncının kontrol edilmesi, hormonların sentezlenmesinde öncül maddeler olmaları, alkaloidlerin, nükleik asitlerin ve proteinlerin sentezinde azot kaynağı olarak kullanılmaları (Bouchereau ve ark., 2000; Jansen ve ark., 2003), gıdalarda aroma verici maddelerin yapısında bulunmaları, mide hacminin ve mide asit salgısının düzenlenmesi, vücut sıcaklığının dengelenmesi ve beyin fonksiyonlarının devamlılığı açısından son derece önemlidirler (Ölmez, 2000; Allen, 2004). Ayrıca dopamin ve seratonin gibi psikoaktif aminler merkezi sinir sisteminde nörotransmitter olarak rol almaktadırlar (Önal, 2007).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu için iki biyokimyasal yol olduğu düşünülmektedir. Bu yollar; gıdalarda doğal olarak bulunan enzimler (endojen dekarboksilaz enzimleri) vasıtasıyla dekarboksilasyon ya da mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler (eksojen dekarboksilaz enzimleri) tarafından gerçekleştirilen dekarboksilasyondur (Silla Santos, 1996; Flick ve Granata, 2005).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen amin oluşumu, ilgili amino asitin yapısında bulunan  $\alpha$ -karboksil grubun uzaklaştırılması ile gerçekleşmektedir ve bu olay mikrobiyal dekarboksilazlar tarafından gerçekleştirildiğinde biyojen amin adını almaktadır (Shalaby, 1996).

Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu dekarboksilaz pozitif spesifik mikroorganizma tür/türlerinin varlığına, dekarboksilaz aktivitesinin düzeyine ve substrat olarak serbest amino asit bulunuşuna bağlıdır (Suzzi ve Gardini, 2003; Rivas ve ark., 2008).

Farklı tipte ve konsantrasyonlarda biyojen amin oluşumu direk olarak gıdanın kendi yapısı ve o gıdada bulunan mikroorganizmaların sayısı, cinsi ve türleri ile ilişkilidir (den Brinker ve ark., 2002; Innocente ve ark., 2007).

Bozulmanın indikatörü olarak kullanılan bir diğer enzimatik bozulma ürünü olan biyojen aminler; özellikle balık ve ürünlerinde hem kalite indikatörü ve mikrobiyal bozulma indeksi olarak değerlendirilmeleri açısından, hem de toksik etkilerinden dolayı halk sağlığı açısından ayrı bir öneme sahiptir (Gökoğlu ve Varlık, 1995).

Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumunda, serbest amino asitlerin varlığı ve dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların ortamda bulunmasının yanında (Önal, 2007), gıda maddesinde prekursor amino asitlerin bulunması gibi intrinsik nedenler ile fermente olabilen karbonhidratların olması, serbest amino asitlerin miktarı, ko-enzimlerin varlığı, vitaminlerin bulunması,  $a_w$ , karbon kaynaklarının bulunması, oksijen yoğunluğu, pH ve sıcaklık gibi ekstrinsik parametreler de rol oynamaktadır (Greif ve ark., 2006; Bover-cid ve ark., 2008).

Gıdalarda ve içeceklerde en yaygın olarak bulunan biyojen aminler; histamin,  $\beta$ -feniletilamin, tiramin, kadaverin, putresin, triptamin, spermidin, spermin ve agmatin'dir (Shalaby, 1996; Bodmer ve ark., 1999). Bunların yanında oktopamin ve dopamin de bazı et ve et ürünleri ile balıklarda tespit edilmiştir (Hernandez-Jover ve ark., 1996).

Biyojen aminler balık ve balık ürünleri, süt ürünleri, et ve et ürünleri, şarap, bira, meyve suları, sebze ve meyveler, fındık ve çikolata gibi çok geniş bir yelpazede gıda ürünlerinde bulunabilmektedir (Bardocz, 1995, Silla Santos, 1996; Bodmer ve ark., 1999).

### **2.6.1. Biyojen aminlerin sınıflandırılması**

Genel olarak biyojen aminlerin isimlendirilmesi üretildiği amino asite göre olmaktadır. Histamin histidinden, tiramin trozinden, triptamin triptofandan,  $\beta$ -feniletilamin fenilalaninden, kadaverin lizinden ve putresin ornitin ya da argininden oluşmaktadır (Ladero ve ark., 2010).

Biyoaktif aminler biyosentez yollarına göre (Bardocz, 1995; Shalaby, 1996; Kalac ve ark., 2009);

**a- Biyojen aminler:** Mikrobiyal kökenli dekarboksilazlar tarafından oluşurlarsa biyojen aminler olarak adlandırılırlar. Bunlar histamin, serotonin, tiramin,  $\beta$ -feniletilamin, triptamin, putresin, kadaverin ve agmatin'dir.

**b- Natural aminler:** Spermin ve spermidinden oluşur. Doğal olarak bulunur ve hücreler için gereklidirler.

Biyojen aminlerin moleküllerinde bulunan amin sayısına göre (Bardocz, 1995; Silla Santos, 1996; Vidal-Carou ve ark., 2003);

**a- Monoaminler** : Tiramin,  $\beta$ -feniletilamin

**b- Diaminler** : Histamin, Triptamin, Putresin, Kadaverin, Serotonin

**c- Poliaminler** : Spermin, Spermidin ve Agmatin

Kimyasal yapılarına göre (Silla Santos, 1996; Saaid ve ark., 2009);

**a-Alifatik aminler** : Putresin, Kadaverin, Spermin ve Spermidin

**b-Aromatik aminler** : Tiramin ve  $\beta$ -feniletilamin

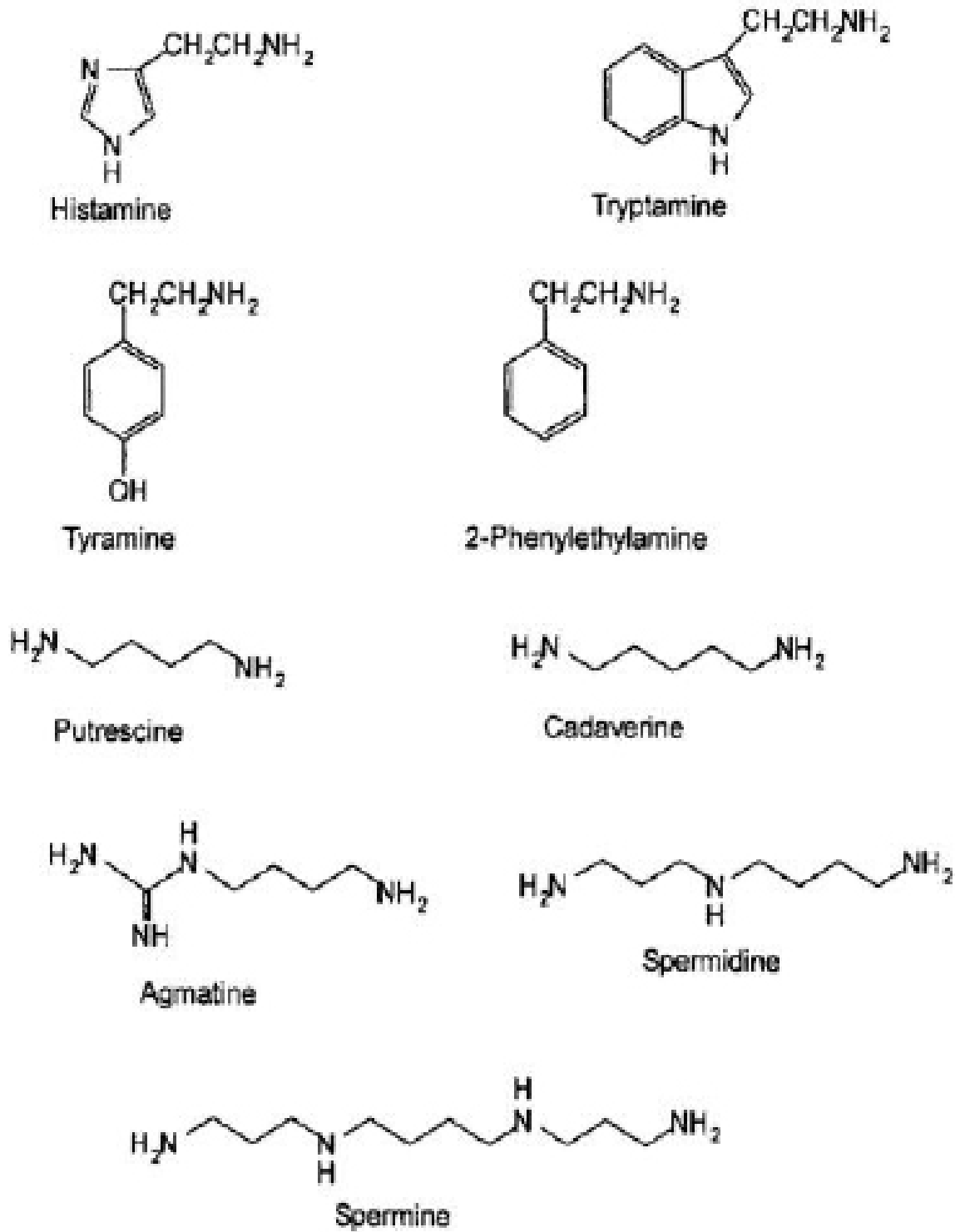
**c-Heterosiklik aminler** : Histamin ve Triptamin

Organizmadaki etkilerine göre (Coisson ve ark., 2004; Eerola ve Maijala, 2004; Kalac ve ark., 2009);

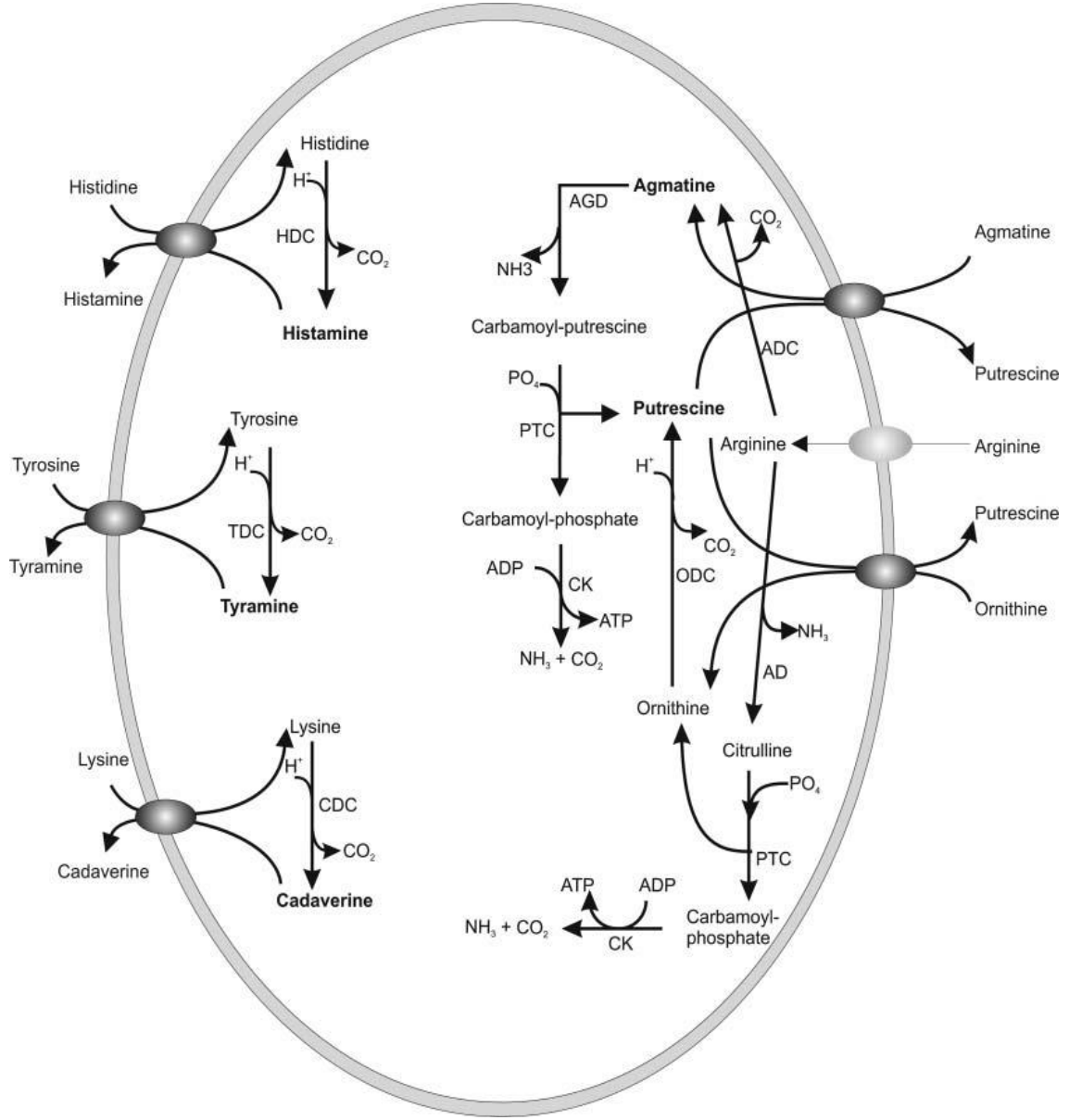
**a-Vasoaktif aminler** : Tiramin, Triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, Histamin, Serotonin ve İzoamilamin

**b-Psikoaktif aminler:** Norepinefrin, Serotonin ve Dopamin

olarak sınıflandırılmaktadır.



Şekil 2. Biyojen aminlerin kimyasal yapısı (Önal, 2007).



**Şekil 3.** Laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen biyojen amin sentez yolları (Arginine decarboxylase (ADC), agmatine deiminase (AGD), arginine deiminase (AD), histidine decarboxylase (HDC), lysine decarboxylase (LDC), tirozine decarboxylase (TDC), ornithine decarboxylase (ODC), carbamate kinase (CK), putrescine carbamoyl transferase (PTC)) (Linares ve ark., 2011).

## Histamin

Histamin, hidrofilik ve vazoaaktif özelliği olan (Bardocz, 1995), mikroorganizmalar tarafından üretilen dekarboksilazlar ve organizmada da L-Histidin dekarboksilaz enzimi tarafından histidin amino asitinin dekarboksilasyonu ile oluşturulan ve kimyasal yapısı 2-(4-imidazol) etilamin ( $C_5H_9N_3$ ) olan heterosiklik yapıdaki diamindir (Neumann ve ark., 2014). Hem lokal bir hormon hem de nörotransmitter olarak etkileri bulunan histamin, mast hücrelerinde, bazofillerde, kan pulcuklarında, nöronlarda ve enterokromafin hücrelerinde pirodoksal fosfat içeren L-Histidin dekarboksilaz enzimi ile katalize edilen dekarboksilasyon işlemi ile histidinden sentezlenir (Maintz ve Novak, 2007).

Mide asit sekresyonu, hücre büyümesi ve farklılaşması, kardiyak ritim, dikkat ve kavrama yetenekleri gibi bir çok fizyolojik faaliyette rolleri bulunmaktadır (Ladero ve ark., 2010; Olajos, 2015). Bunun yanında düz kas hücrelerinde (bağırsak, akciğer, uterus gibi) spesifik reseptörlere bağlanarak; kan damarlarında dilatasyon ve buna bağlı olarak kızarıklık ile ödem gibi alerjik reaksiyonlara da neden olmaktadır (Jorgensen ve ark., 2007). Böbrek üstü bezleri üzerindeki etkisiyle kalp, bağırsaklar, uterus ve solunum sisteminde düz kasları etkileyerek kasılmalara, motorik sinir sisteminde uyarıcı etkiye, midede pariyetal hücrelerden asit salgısında artış/azalma ile gastrik pH'nın düzenlenmesinde fonksiyonları bulunmaktadır (Joosten, 1988). 4 farklı reseptörü bulunmaktadır ve hedef hücrelerdeki bu spesifik reseptörlere bağlanarak etkisini göstermektedir.  $H_1$  reseptörleri beyin hücrelerinde, bronşiyal düz kaslarda, endotel hücrelerinde, salgı bezlerinde, sinir hücrelerinde, hepatositlerde ve bağırsak düz kaslarında olmak üzere yaygın bir dağılım göstermektedir (Yayla ve ark., 2014). Beyinde kardiyak ritim kontrolü, dikkat ve kavrama gibi fonksiyonları kontrol ederken, periferal dokularda özellikle bronşiyal kaslarda kasılma, vazodilatasyon, kan basıncında düşme, ödem ve ürtiker gibi alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır.  $H_2$  reseptörleri vücut dokularında geniş bir dağılım göstermekte olup asit salgısının düzenlenmesinde aktif görevi bulunmaktadır. Histamin varlığına yanıt olarak mide asit sekresyonunda artış ve bağırsak düz kasları üzerinde kontraksiyona neden olmaktadır.  $H_3$  reseptörleri beyinde presinaptik nöronlarda histamin sentezini ve salınımını kontrol etmektedir (Ladero ve ark., 2010).  $H_4$  reseptörleri eozinofil, nötrofil ve T hücrelerinde

bulunmaktadır ve immun sistem proseslerinin modülasyonunda etkileri görülmektedir (Zampeli ve Tiligada, 2009).

Histamin, lokalizasyonuna bağlı olarak histamin-N-metiltransferaz (HNMT) enzimi tarafından metilasyon yoluyla ve diamino oksidaz (DAO) enzimi tarafından oksidatif deaminasyon yoluyla metabolize edilir (Jarisch, 2004).

Histamin, triptamin,  $\beta$ -feniletilamin ve tiramin insanlarda genellikle psikoaktif ya da vasoaktif önemli fizyolojik etkileri olan aktif aminlerdir. Psikoaktif aminler nörotransmitter etkiyle sinir sisteminde, vasoaktif aminler vasküler sistem üzerinde etkilerini göstermektedir (Eerola ve Maijala, 2004; Kalac ve ark., 2009).

Balık ve diğer su ürünleri, et ve et ürünleri, süt ürünleri içerisinde özellikle peynir ve diğer bazı gıdalar ile çoğu fermente gıdalarda bulunan serbest histidinin dekarboksilasyonu ile histamine dönüştürülmektedir (Taylor, 1986). Genellikle hayvansal dokularda 0.01 mg/g düzeyinde bulunan histamine en yüksek konsantrasyonlarda akciğer, karaciğer, deri ve gastro-intestinal kanalda rastlanmaktadır (Serrar ve ark., 1995).

Çoğu Gram (-) mikroorganizmalar histamin üretebilirler. En güçlü histamin üreten mikroorganizmalar olarak *Hafnia alvei*, *Morganella morganii* ve *Klebsiella pneumonia* ile son zamanlarda da *Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum* ve *Photobacterium psychrotolerans*, balıklarda Scombroid balık zehirlenme vakalarından sorumlu mikroorganizmalar olarak izole edilmişlerdir (Kanki ve ark., 2004; Emborg ve ark., 2006; Özogul ve Özogul, 2006; Dalgaard ve ark., 2008).

Yoshida ve Nakamura (1982) taze uskumrunun histamin düzeyinin belirlendiği bir çalışmada yeni yakalanmış uskumrulara histamin bulunmadığını ortaya koymuşlardır. Okuzumi ve ark. (1990), 30 °C'de muhafaza edilen ve kıyma haline getirilmiş uskumrulara histamin seviyesinin sürekli artarak 210-1336 mg/100 g seviyelerine ulaştığını tespit etmişlerdir.

Normal atmosfer basıncı altında paketlenen, vakumlanarak paketlenen ve modifiye atmosfer altında paketlenen (%60 CO<sub>2</sub> ve %40 N<sub>2</sub>), 4 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen sardalyaların histamin seviyesinin, normal atmosfer basıncı altında



paketlenen örneklerde 20 mg/100 g, vakum paketlenen örneklerde 13 mg/100 g ve modifiye atmosfer basıncı altında paketlenen örneklerde ise 10 mg/100 g değerlerine yükseldiği tespit edilmiştir (Özoğul ve ark., 2004a).

Ritchie ve Mackie (1980), 7 gün süreyle 1 °C'lik buzda, 10 °C'de ve 25 °C'de muhafaza edilen uskumru ve ringa örneklerinde, histamin seviyesinin uskumru örneklerine oranla ringada daha yüksek olduğunu, 25 °C'de muhafaza edilen ringa numunelerinde 3. gün sonunda 100 mg/100 g seviyelerini aştığını ve bozulmuş uskumru örneklerinde histamin seviyesinin daha düşük tespit edildiğini bildirmişlerdir.

### **Histamin zehirlenmesi**

Histamin, dolaşım sistemi ile salgı bezleri hücrelerinde membran reseptörleriyle (H<sub>1</sub> ve H<sub>2</sub>) bağlar kurarak çeşitli zehirlenme belirtilerine ait semptomlara neden olan (Joosten, 1988) ve gıdalarda tespit edilen en toksik amindir (ten Brink ve ark., 1990). Histamin zehirlenmesi solunum güçlüğü, kusma, ciltte kaşıntı ve kızarıklık, ateş ve hipertansiyon gibi alerjik reaksiyonlarla karakterizedir (Hernandez-Jover ve ark., 1997; Emborg ve Dalgaard, 2008).

İnsanlarda 8-40 mg/kg histaminin hafif düzeyde, 70-1000 mg/kg histaminin orta düzeyde ve 1500-4000 mg/kg histaminin ise ağır zehirlenmelere neden olduğu belirtilirken (Sinell, 1978; Wurziger ve Dickhaut, 1978; Schulze ve ark., 1979), 50-100 mg/kg histaminin duyarlı bireylerde hafif, 100-1000 mg/kg konsantrasyonun ise şiddetli toksik etki gösterdiği, genel olarak 80-100 mg/kg konsantrasyonun insanlar için toksik olarak kabul edildiği bildirilmektedir (Wurziger ve Dickhaut, 1978).

Periferik dolaşım sisteminde dilatasyon ve buna bağlı kızarıklık ve ödem, taşikardi, bronkospazm, ekstrasistol, hipotansiyon, ürtiker, nasal sekresyonda artış, ishal, bulantı ve kusma (Taylor, 1986), haemodinamik semptomlar, kaşıntı, kızarıklık, kulak çınlaması ve baş ağrıları olmaktadır (Stratton ve ark., 1991; Maintz ve Novak, 2007).

Biyojen aminlerin toksik düzeylerinin belirlenmesi, bireysel farklılıklar ve diğer biyojen aminlerin aynı anda bulunmasından dolayı oldukça güç olmaktadır. Genetik dispozisyon, depresif hastalar tarafından kullanılan antidepresif ilaçlar, alkollü

içeceklerin alınması, sindirim sistemi hastalıkları gibi diğer risk faktörlerinin bulunuşu özellikle histamin başta olmak üzere diğer biyojen aminlerin toksikolojik eşik noktasının belirlenmesini güçleştiren faktörlerdendir (Shalaby, 1996).

Gıda maddelerinde bulunan düşük seviyedeki histamin organizma için tehlikeli değildir. Az miktarda alınan histamin, amin oksidaz sayesinde veya konjugasyon faaliyeti ile yıkımlanmaktadır. Sindirim sisteminde güçlü bir detoksifikasyon sistemi mevcuttur. Detoksifikasyonda etkili olan enzimler monoamin oksidaz (MAO), DAO, HNMT'dir (Maintz ve Novak, 2007). Bu enzimlerin etkisiyle histamin toksik olmayan bileşiklere dönüştürülmektedir. Sindirim sisteminde bulunan bu güçlü detoksifikasyon sisteminin varlığı ile gıdalarla alınan histamin, toksik etki göstermeyecek şekilde kontrol altında tutulmaktadır. Ancak histamine duyarlı bireylerde ve aynı zamanda MAOI ilaçların (alkol, antidepresanlar gibi) kullanımında ya da organizmanın detoksifikasyon sisteminin kapasitesinin üzerinde kısa sürede gıdalarla yüksek konsantrasyonlarda histamin alınımı bu detoksifikasyon sisteminde aksamalara neden olmakta ve neticede zehirlenmeler görülmektedir (Shalaby, 1996; Hornero-Mendez ve Garrido, 1997). Bozulmuş gıdaların tüketilmesi ve bazı fermente ürünlerin sindirilmesi sürecinde bu detoks sistemi bazen yetersiz kalabilmektedir (ten Brink ve ark., 1990).

*Scombridae* ve *Scomberesocidae* familyalarına ait scombroid balık türleri, "Scombridae balık zehirlenmesi" olarak adlandırılan histamin zehirlenmesine neden olan türlerdir. Bu tip zehirlenmelere, kaslarında serbest amino asit düzeyi yüksek olan ringa, sardalya ve hamsi gibi scombroid olmayan balık türlerinde de rastlanmaktadır (Özoğul, 2001).

Zehirlenmelerde görülen semptomlar, histamin emiliminden sonra ilk dakikalardan birkaç saate kadar değişen sürelerde açığa çıkmaktadır. Genelde zehirlenme belirtileri birkaç saat sürmekte olup bir iki güne kadar devam edebilmektedir (Özoğul, 2001).

Avrupa Birliği direktifleri (EU directive) (2007)' nde *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae* (*Coryphaenidae*), *Pomatomidae* ve *Scombresosidae* familyalarına ait balık türlerinde 9 örnekleme yapılması zorunlu kılınmıştır. Bu familyalardan herhangi birine ait balık türlerinden seçilen 9 örnekte histamin miktarları

ile ilgili yasal sınırlar getirilmiştir. Buna göre histamin değeri; 10 mg/100 g (100 mg/kg - 100 ppm)'ı aşmamalıdır. Ancak iki örnekte 10 mg/100 g'ı aşmasına izin verilse bile bu değerin 20 mg/100 g (200 mg/kg - 200 ppm)'ı geçmemesi gerekmektedir.

Avrupa Birliği direktifleri (EU directive) (2007)'nde salamurada enzim aktivitesiyle olgunlaştırma sağlanan balık ürünleri için daha yüksek yasal sınırlar belirtilmiştir. Bu tür ürünlere fermente ürünler de girmektedir. Buna göre histamin değeri; 20 mg/100 g (200 ppm) olabilir, iki örnekte 20 mg/100 g'dan yüksek olmasına izin verilir ancak 40 mg/100 g (400 ppm)'ı geçmemelidir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından fermente ürünler hariç diğer tüm balık ürünlerinde yasal sınır 5 mg/100 g (50 mg/kg - 50 ppm), fermente ürünlerden balık sosu için ise 500 ppm olarak belirtilmiştir (FDA, 2001). Ülkemizde yürürlükte bulunan mevzuta göre Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011) ve Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'nde, taze soğutulmuş ve dondurulmuş ürünlerdeki yasal sınır AB'nin normal balık ve işlenmiş ürünler için belirttiği limitler, işlenmiş tüm ürünler için ise yine AB'nin fermente ürünler için uyguladığı yasal limitler geçerli kılınmıştır.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011) ve Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'nde *Engraulidae*, *Scombridae*, *Clupeidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae* ve *Scombressosidae* familyasındaki türlere ait taze soğutulmuş balıklar, dondurulmuş balıklar, işlenmiş balıklar, konserve balıkçılık ürünleri ve işlenmiş çift kabuklu yumuşakçalar (kara midye, kıllı midye, akivades, kidonya istiridyeye, kum midyesi vb.), kabuklular (kerevit, karides, istakoz, yengeç vb.), karından bacaklılar (deniz salyangozu vb.) ve kafadan bacaklılar (ahtapot, mürekkep balığı, kalamar vb.) için histamin limitlerine yer verilmiştir.

Buna göre taze soğutulmuş balıklar ve dondurulmuş balıklarda kabul edilebilir en yüksek değer 100 ppm (100 mg/kg) iken bu değer konserve balık ürünleri ve işlenmiş çift kabuklu yumuşakçalar (kara midye, kıllı midye, akivades, kidonya istiridyeye, kum midyesi vb.), kabuklular (kerevit, karides, istakoz, yengeç vb.), karından bacaklılar (deniz salyangozu vb.) ve kafadan bacaklılar (ahtapot, mürekkep balığı, kalamar vb.) için 200 ppm (200 mg/kg)'dir. Yukarıda belirtilen balık ve balık

ürünlerinden konserve balıkçılık ürünleri hariç alınan 9 adet numunenin ortalaması 100 ppm'i geçmemelidir, iki örnekte 100 ppm'den fazla 200 ppm'den az olabilir, fakat hiçbir numunede 200 ppm'i geçmemelidir. Konserve balıkçılık ürünleri ve işlenmiş çift kabuklu yumuşakçalar (kara midye, kıllı midye, akivades, kidonya istiridye, kum midyesi vb.), kabuklular (kerevit, karides, istakoz, yengeç vb.), karından bacaklılar (deniz salyangozu vb.) ve kafadan bacaklılar (ahtapot, mürekkep balığı, kalamar vb.)'da alınan 9 adet numunenin ortalaması 200 ppm'i geçmemelidir, iki örnekte 200 ppm'den fazla 400 ppm'den az olabilir fakat hiçbir numunede 400 ppm'i geçmemelidir.

Balık zehirlenmelerinin çoğunda histamin düzeylerinin 200 ppm'in üzerinde ve sıkça 500 ppm dolaylarında olduğu gözlenmiş, ancak daha düşük düzeylerin de zehirlenmelere yol açabileceği vurgulanmıştır (Lehane ve Olley, 2000; FDA, 2001; Huss ve ark., 2003).

Histamin ağız yoluyla tüketildiğinde bağırsakta absorbe edilir, fakat sistemik dolaşıma geçemez. Çünkü kısmen bağırsak florasındaki mikroorganizmalar tarafından inaktive edilir. Bu inaktivasyon sisteminden kurtulup absorbe edilen histamin ise bağırsak çeperinden ve karaciğerden geçerken metabolize edilir. Histamin, kan dolaşımından hızla dokulara dağılır ve inaktive edilir. Ancak ortamda herhangi bir nedenle aminoksidaz enzim inhibitörlerinin bulunması durumunda biyojen amin detoksifikasyonu engellenmekte ve sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır (Stratton ve ark., 1991; Shalaby, 1996; Turantaş ve Öksüz, 1998).

Bireysel olarak gelişen allerjik durumlarda veya monoaminoksidaz inhibitörlerinin varlığı halinde biyojen aminler vücutta birikir. Biyojen amin zehirlenmesinin tipik semptomları ishal, bulantı, baş ağrısı, hiper veya hipotansiyondur. Hastalığın teşhisi hastalarda görülen semptomlara, başlama zamanına ve antihistamin tedavi etkisine dayalıdır. Şüpheli gıda biyojen amin seviyesini belirlemek amacıyla bir iki saat içinde analize alınmalıdır. En çok rastlanan biyojen amin zehirlenmesi histaminden kaynaklanmaktadır. Zehirlenme, *Scomberesidae* ve *Scomberidae* familyasına dahil olan uskumru, palamut ve ton balığı gibi balıkların tüketilmesiyle sıkça görüldüğü için "histamin zehirlenmesi" veya "scombroid zehirlenmesi" adını alır (Halasz ve ark., 1994).

## **Kadaverin ve putresin**

Kadaverin (1,5-diaminopeptan) lizin amino asitinin, Putresin (1,4-diaminobütan) ornitin amino asitinin dekarboksilasyon ürünüdür (Bjeldanes ve ark., 1978). Putresin aynı zamanda karbamilputresin ve agmatin kanalı yoluyla argininden de üretilebilmektedir (Lucas ve ark., 2007). Putresinin; insanlarda fizyolojik poliaminler olarak adlandırılan spermidin ve spermin için öncül amin olması yanında hücre büyümesinin düzenlenmesi, hücre bölünmesi ve tümör oluşumuna öncü olması gibi birçok etkileri bulunmaktadır (Halasz ve Barath, 2002). Bağırsak mukozası yüksek oranda proliferasyon geçirdiği için putresine özel olarak ihtiyaç duymaktadır (Loser ve ark., 1999). Gerek kadaverin gerekse de putresin DAO substratı olarak bağırsaklardaki biyojen aminlerin detoksifikasyon sürecinde histaminle rekabete girmektedirler. Aynı zamanda alınan gıdada spermin ve kadaverin varlığı gastrointestinal sistemden histamin emilimini pozitif yönde etkilemektedir (Jung ve Bjeldanes, 1979).

Kadaverin ve putresinin, histamin ve tiraminden daha az farmakolojik etkisi olduğu bilinmektedir. Tanımlanan yan etkileri arasında hipotansiyon, bradikardi, ekstremitelerde tetanoz benzeri kasılmalar ve kısmi felçler de sayılabilir (Halasz ve Barath, 2002).

Poliaminlerden spermidin, spermin ve putresin, yapılarında bulunan amin sayısı ile orantılı bir şekilde PUFA'ların oksidasyonunu önleyerek antioksidan etki gösterebilmektedirler. Aynı şekilde yapısındaki amin ve hidroksil gruplarının sayısına bağlı olarak tiramin de poliaminlere benzer şekilde güçlü bir antioksidan etki gösterebilmektedir (Ölmez, 2000).

Putresin, kadaverin, spermidin ve spermin gibi diamin ve poliaminler, nitritlerle reaksiyona girerek kanserojenik bileşiklerden olan nitrozaminlerin oluşumuna neden olurlar. Bu tip kanserojenik bileşikler genellikle gıda ürünlerinin depolanması, muhafazası, pişirme ve kızartma gibi işlemler sırasında, amin gruplarının nitrit yada azot oksitlerle tepkimesi sonucunda oluşurlar (Eerola ve ark., 1997; Hernandez-Jover ve ark., 1997).

Gıda ürünleri içerisinde özellikle balık ve diğer su ürünlerinde mikrobiyal bozulmanın başlamasıyla birlikte kadaverin ve putresin miktarlarında değişen oranlarda artış görülmekte olup, bu aminler kalitenin belirlenmesinde potansiyel bir indikatör olarak değerlendirilmektedir (Fernandez-Salguero ve Mackie, 1987).

Fernandez-Salguero ve Mackie (1987) yaptıkları bir araştırmada, iç organları çıkarılmış şekilde 12 gün boyunca buz bulunan kutularda muhafaza edilen ringa balığında putresin ve kadaverin miktarlarını 1.49 mg 100 g<sup>-1</sup> ve 14.77 mg 100 g<sup>-1</sup> olarak tespit etmişlerdir.

Sims ve ark. (1992), konserve ton balıklarında putresin ve kadaverin seviyeleri ile duyuşal özellikler arasında pozitif yönlü bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir araştırmada; -18 °C'de ve -25 °C'de 9 ay süreyle dondurularak muhafaza edilen beyaz ton balıklarında en fazla artışın putresinde olduğu tespit edilmiştir. Putresin miktarının -18 °C'de 59.04 mg/kg iken -25 °C'de ise 68.26 mg/kg seviyelerine çıktığı tespit edilmiştir. Kadaverin konsantrasyonunda ise önemli bir artış olmadığı ve her iki muhafaza ısısında da 3 mg/kg değerinin altında olduğu bildirilmiştir (Ben-Gigirey ve ark., 1998).

2±2 °C'de 16 gün boyunca buzlu ve buzsuz kutularda temizlenmiş halde muhafaza edilen ringa balıklarında putresin ve kadaverin miktarları muhafaza süresince artış göstermiş olup, muhafaza sürecinin sonunda putresin ve kadaverin seviyelerinin 7.42 mg 100 g<sup>-1</sup> ve 32.93 mg 100 g<sup>-1</sup>'a ulaştığı tespit edilmiştir (Özoğul ve ark., 2002b).

Kıyılarak hazırlanan uskumru etlerinin 5 °C'de muhafaza edilmesi sürecinde putresin (2.3-54 mg 100 g<sup>-1</sup>) ve kadaverin (11-15 mg 100 g<sup>-1</sup>) seviyelerinin yüksek olduğu, 30 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise kadaverin seviyesinin çok yükseldiği (74-612 mg 100 g<sup>-1</sup>) gözlenmiştir (Okuzumi ve ark., 1990).

Kadaverin ve putresinin balık ve diğer su ürünlerindeki toksik dozu hakkında yeterli veri bulunmamasına rağmen, >40 mg üzerinde bir seferde alınan miktarların potansiyel olarak toksik etki gösterebileceği düşünülmektedir (Shalaby, 1996). Spanjer ve Van Roode (1991), balık ve diğer su ürünlerinde histamin, putresin ve kadaverin total miktarının 300 mg kg<sup>-1</sup> ile sınırlandırılması gerektiğini önermişlerdir.

## **Tiramin, $\beta$ -feniletilamin ve triptamin**

İz aminler olarak da adlandırılan bu aminler, insanlarda tirozin, fenilalanin ve triptofandan dekarboksilasyon yoluyla sentezlenmektedir (Shalaby, 1996).

Bu aminlerin katabolizması başlıca MAO tarafından gerçekleştirilmektedir. Farklı substrata ve lokalizasyona sahip MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki tip MAO izoenzimi bulunmaktadır. MAO-A; mide, bağırsaklar ve plasentada bulunmakta ve substrat olarak adrenalin ve oktopamin gibi polar aromatik aminleri ve monoaminleri kullanmaktadır. MAO-B ise daha çok beyinde lokalize olmuştur ve polar karakterde olmayan  $\beta$ -feniletilamin, dopamin gibi aromatik aminleri substrat olarak kullanmaktadır. Tiramin, MAO'nun her iki formu için de substrattır. MAO-A, tiraminin daha çok bağırsaklardaki metabolizmasından sorumludur ve böylece sistemik absorpsiyonu bu şekilde engellenmektedir (Azzaro ve ark., 2006; Broadley, 2010).

Tiramin, triptamin ve  $\beta$ -feniletilamin vasoaktif (damar sisteminde etkili) amin grubunda yer almaktadır. Tiraminin vazokonstriksiyon etkisi,  $\beta$ -feniletilamin ve triptaminin ise hipertansiyon etkisi bulunmaktadır. Bunların yanında başağrısı, terleme, kusma ve pupillalarda dilatasyon gibi zehirlenmeye bağlı semptomlar da gelişebilmektedir (Broadley, 2010).

Gıdalarda meydana gelen tiramin, monoamin oksidaz inhibitörü (MAOI) ilaçlarla reaksiyona girerek alerjik belirtilerle kendini gösteren toksik etkilere neden olabilmektedir (Marine-Font, 1978). Bu enzim kanda bulunan aminlerin deaminasyonunu sağlamakta ve kan amin seviyesini düşürmektedir. Depresif hastalıkların tedavisinde kullanılan MAOI ilaçlar detoksifikasyonu engellemekte, böylece kanda tiramin seviyesinin artmasına bağlı olarak değişik alerjik belirtiler ortaya çıkmaktadır (Lejonc ve ark., 1979). Kan basıncının yükselmesine, kan glikoz seviyelerinde yükselmeye ve pupillarda dilatasyona neden olmaktadır (Joosten, 1988). Süt ürünleri içerisinde özellikle birçok peynir çeşidinde tiramin yoğun olarak bulunabildiği için “peynir reaksiyonu (cheese reaction)” olarak da bilinen ve kan basıncında ani yükselme ve migren benzeri şiddetli baş ağrıları gibi bazı alerjik semptomlarla beyin kanaması ve kalp problemleri gibi rahatsızlıklara neden olabilmektedir (Smith, 1980; Bunkova ve ark., 2013). MAOI ilaç tedavisi gören

hastalarda peynir, tslenmi ya da salamura haldeki et ürünleri ve balık, alkollü içecekler (bira, şarap vb.), turu ve benzeri fermentatif ürünlerin tktilmesine bağlı olarak ölüm vakalarının olabildiği ciddi tiramin zehirlenmeleri bildirilmektedir (Jones, 1992).

Veciana-Nogues ve ark. (1997b), farklı ısılarda muhafaza edilen ton balığı örneklerinde tiramin miktarında büyük bir artış olduğunu; tiramin düzeyinin 0 °C’de 12 gün süreyle muhafaza edilen örneklerde yaklaşık 5.7  $\mu\text{g g}^{-1}$  iken 8 °C’de 5 gün süreyle muhafaza edilen örneklerde 9.1  $\mu\text{g g}^{-1}$  olduğunu ve 8.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  seviyelerinin ise 20 °C’de 1.5 gün sonra tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Konserve edilmiş ton balıkları üzerinde yapılan bir çalışmada ise, taze ton balığında tiramin seviyesi 10.65  $\mu\text{g g}^{-1}$  olurken, konserve örneklerinde ise en yüksek tiramin seviyesi 3  $\mu\text{g g}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir (Veciana-Nogues ve ark., 1997a).

Tiraminin toksik dozu hakkında fazla bir bilgi mevcut olmamasına rağmen eik değer 100-800 mg/kg olarak rapor edilmiştir (ten Brink ve ark., 1990).

Feniletilamin,  $\beta$ -phenethylamine veya phenylethylamine olarak isimlendirilse de International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)’a göre 2-phenylethylamine olarak tanımlanmaktadır (Cashin, 1972; Shannon ve ark., 1982).

Fenilalaninin dekarboksilasyon ürünü olan  $\beta$ -feniletilamin bir çok alg türü, mantar ve mikroorganizma ile bir çok farklı bitki türünde bulunabilmektedir (Smith, 1977; Guven ve ark., 2010; Kim ve ark., 2012). Birçok tahıl, baklagil (Kim ve ark., 2012) ve ticari yumurta (Figueiredo ve ark., 2013) gibi gıda ürünlerinde bulunan  $\beta$ -feniletilamin mantarlar ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilmekte ve gıdalarda varlığı tazeliğin ve kalitenin belirlenmesinde bir indikatör olarak değerlendirilmektedir (nal ve ark., 2013).

$\beta$ -feniletilaminin insan vücudundaki yüksek konsantrasyonu uzun srmemekte olup MAO-B tarafından oksidatif deaminasyona uğratılarak doğal endorfinlerle benzer etkiye sahip fenilasetik asite dönüştürülür (Yang ve Neff, 1973).



Bir iz amin olan  $\beta$ -feniletilaminin ve diğ er biyojen aminlerin balık ve diğ er su ürünleri ile et ve et ürünleri, sebzeler gibi gı dalarda yüksek konsantrasyonlarda bulunması, ham maddeden başlayarak gıda ürünlerinin tüm üretim ve/veya fermentasyon prosesleri ile taşınması ve muhafaza süreci boyunca mikrobiyal faaliyetlerin bir sonucu olarak ortaya çı kmaktadır (Moret ve ark., 2005; Li ve ark., 2012; Kulawik ve ark., 2013; Liu ve ark., 2013a).

$\beta$ -feniletilamin gı dalarda bulunan mikrobiyal kaynaklı tirozin dekarboksilaz enziminin fenilalanin üzerine etkili olmasının bir reaksiyonu sonucunda da oluşabilmektedir. Mikrobiyal bozulmanın bir sonucu olarak oluş an  $\beta$ -feniletilamin diğ er aminler (tiramin, histamin) gibi migreni tetikleyebilmektedir (Marcobal ve ark., 2006).

$\beta$ -feniletilaminin toksik dozu hakkında fazla bir bilgi mevcut olmamasına rağmen eş ik değ er 30 mg/kg olarak rapor edilmiştir (ten Brink ve ark., 1990).

Triptamin, monoamin alkaloidler grubundandır ve bitkilerde, mantarlarda, hayvanlarda, mikroorganizmalarda ve amfibik canlılarda (hem karada hem de suda yaş ayabilen canlılar) bulunmakta ve triptofanın dekarboksilasyonu ile sentezlenmektedir (Tittarelli ve ark., 2015).

Triptamin organizmada nöral ve periferik dokular tarafından üretilen, yapısal olarak serotonin (5-hydroxytryptamine) şeklinde bulunabilen bir biyojen amindir (Anwar ve ark., 2013).

Serum triptamin konsantrasyonu prekürsor amino asiti olan triptofan ile ilişkilidir (Wollman ve ark., 1985). Triptamin MAO-A ve MAO-B tarafından (Tipton ve ark., 2004) deaminasyona uğ ratılarak indol-3-asetaldehit formuna dönüştürülür ve daha sonra aldehit dehidrogenaz enzimi tarafından indol-3-asetikasite indirgenir (Weissbach ve ark., 1959; Anwar ve ark., 2013).

Triptamin indirek olarak noradrenalin salınımını arttırarak semptomimetik etkiyle kan basıncında yükselmeye, migren, hipertansiyon ve kalp krizi gibi çeş itli kardiyovasküler bozukluklara neden olabilmektedir (Sewell ve ark., 2006; Zucchi ve ark., 2006).

## Spermidin ve spermin

Bütün canlı organizmalarda bulunan, düşük molekül ağırlıklı, alifatik yapıdaki poliaminlerdir (Miller-Fleming ve ark., 2015). Vücutta bulunan poliaminler gıdalarla alınabildiği gibi, hücreler tarafından ve sindirim kanalında bulunan mikrofauna tarafından arginin, ornitin ve methioninden sentezlenmekte, son basamakta iki yada bir aminopropil grubun ayrılması ile putresinden önce spermidin daha sonra da spermidinden spermin oluşmakta ve bu reaksiyonlar için iki enzim, S-adenosil-methionine dekarboksilaz (AdoMetDC) ve transferaz enzimi (N<sup>1</sup>-asetiltransferaz) görev almaktadır (Minois ve ark., 2011).

Spermidin ve sperminin, sitosolik spermidin/spermin N<sup>1</sup>-asetiltransferaz enzimi (bu enzim spermidin'in putresin'e dönüştürülmesi için de gereklidir) tarafından asetilasyon reaksiyonundan sonra poliamin oksidaz (PAO) enzimi tarafından oksidasyona uğratarak yıkımı tamamlanır (Bardocz, 1995; Minois ve ark., 2011). Bu aminler çok yüksek yoğunlukta tüketilmedikçe ve eksojen olarak alınan diğer biyojen aminlerin organizma tarafından katabolize edilmesiyle inhibisyonu durumunda sağlık yönünden herhangi bir riski bulunmamaktadır (Halasz ve ark., 1994). Poliaminlerin (spermidin, spermin, putresin) toksikolojik yönden direkt etkileri olmamasına rağmen özellikle organizmanın detoksifikasyon sisteminde etkili olan enzimlerle rekabete girmeleri ve negatif yönde etkilerinden dolayı monoaminlerin (tiramin) ve diaminlerin (histamin) toksisitesini arttırabildiği görülmüştür (Moret ve ark., 2005).

Spermidin ve spermin gıda ürünlerinin doğal bileşiminde bulunduğu için bu poliaminlerin formasyonu esas itibariyle mikrobiyal bozulmayla ilişkilendirilmemektedir (Maijala ve ark., 1995a; Veciana-Nogues ve ark., 1997b). Balık ve diğer su ürünlerinde spermidin ve sperminin muhafaza süresince düşük seviyelerde olduğu görülmüştür (Ritchie ve Mackie, 1980).

Konserve ve taze ton balıkları üzerinde yapılan bir araştırmada, spermidin miktarının spermin seviyesinden düşük olduğu tespit edilmiş; konserve ton örneklerinde spermidin miktarı en yüksek 9.95 µg g<sup>-1</sup> ve spermin miktarı en yüksek 35.2 µg g<sup>-1</sup> olarak bulunurken taze ton balığı örneklerinde spermidin miktarı en yüksek 11.7 µg g<sup>-1</sup> ve spermin miktarı en yüksek 37.0 µg g<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Taze ton balığı

örneklerinde spermidin ve spermin seviyesinin istatistiksel olarak konserve ton balığı örneklerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Veciana-Nogues ve ark., 1997a).

Mackie ve ark. (1997), deniz tarağı, orkinos ve ringa balıkları üzerinde yaptıkları bir çalışmada her üç balığa ait taze kas örneklerinde spermidin ve spermin miktarının 1 mg 100 g<sup>-1</sup>'in altında olduğunu, ancak bu değer in balık türlerinin farklılığı, kaslarda bulunan öncül serbest amino asit sayısı ve miktarı, doğal mikrobiyal flora ve/veya mikrobiyal kontamisyona bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Temizlenmiş ve bütün halde 8 gün boyunca buzda muhafaza edilen ringa balığı örneklerinde spermidin ve spermin miktarları 0.5 mg 100 g<sup>-1</sup>'in altında tespit edilmiştir (Fernandez-Salguero ve Mackie, 1987).

Ben-Gigirey ve ark. (1998), 9 aylık süre boyunca -18 °C ve -25 °C'de dondurularak muhafaza edilen beyaz ton balığı örneklerinde, -18 °C'de muhafaza edilen numunelerde muhafaza süresinin sonunda spermidin miktarını 93.71 ppm ve -25 °C'de muhafaza edilenler de ise 81.89 ppm olarak, spermin içeriğini ise -18 °C'de muhafaza edilen numunelerde 9.5 ppm ve -25 °C'de muhafaza edilenlerde ise 10.27 ppm olarak tespit etmişlerdir.

Temizlenmiş ringa balığı örnekleri, modifiye atmosfer basıncı altında paketlenmiş numuneler ve kutularda bulunan numuneler olmak üzere iki farklı şekilde hazırlanarak 2±2 °C'de soğuk depoda 16 gün boyunca muhafazaya alınmış, spermidin ve spermin miktarı 1 mg 100 g<sup>-1</sup>'in altında tespit edilmiştir (Özoğul ve ark., 2002a).

## **2.7. Biyojen Amin Üretiminden Sorumlu Mikroorganizmalar**

Gıda ürünlerinde mikroorganizmalar tarafından biyojen amin üretiminde ilk basamak, ilgili amine ait serbest öncül amino asitlerin bulunması ve dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların çoğalması için uygun şartların varlığına bağlıdır (Ladero ve ark., 2010).

Gıdalarda mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen biyojen amin sentezi asit stresinden korunmalarına yardımcı olması ve/veya enerji ihtiyaçlarının

sağlanmasına yönelik olarak iki farklı şekilde açıklanabilmektedir (Konings ve ark., 1997; Foster, 2004).

Gıdalarda biyojen amin oluşumunda temel faktör, amino asitleri dekarboksile etme kapasitesine sahip mikroorganizmaların varlığıdır. Gerek Gram (+) gerekse de Gram (-) farklı cins ve tür mikroorganizmalar bu yeteneğe sahiptirler (Ladero ve ark., 2010).

Amino asit dekarboksilaz pozitif mikroorganizmalar; *Enterobacteriaceae* familyasına ait bazı türler, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Photobacterium* cinsi yanısıra *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Carnobacterium* türleridir. *Streptococcus* cinsleri de bir ya da birkaç amino asiti dekarboksilasyona uğratarak biyojen amin oluşumuna neden olabilmektedir (ten Brink ve ark., 1990; Shalaby, 1996; Ben-Gigirey ve ark., 1999; Bover-Cid ve ark., 2000).

4 °C’de muhafaza edilen ot sazani filetolarında mikroorganizmaların gen sekans analizinin yapıldığı bir çalışmada, *Acinetobacter* türlerinin dominant olduğu görülmüştür. Araştırmanın başlangıcında *Brevundimonas*, *Empedobacter*, *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Shewanella* ve *Soonwooa* türleri tespit edilmiş, 6 gün sonra *Aeromonas* ve *Acinetobacter* türlerinin dominant hale geldiği belirlenmiştir. *Aeromonas* türlerini muhafazanın son dönemlerinde *Pseudomonas* türleri takip etmiştir. *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Flavobacteriaceae* ve *Psychrobacter* türlerinin daha az sayılarda olduğu görülmüştür. *Shewanella putrefaciens*’in diğer türlere göre daha yüksek oranda putresin ürettikleri, *Aeromonas veronii*’nin güçlü bir şekilde putresin ve kadaverin ürettikleri görülmüştür. *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türlerinin de biyojen amin üretebildikleri tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2014).

Scombroid balık zehirlenmesinde *Morganella morganii* (Arnold ve Brown, 1978), *Klebsiella pneumoniae* (Taylor ve ark., 1979) ve *Hafnia alvei*’nin (Havelka, 1967) histamin üreten mikroorganizmalar olduğu ve histamin zehirlenmesinde izole edilen türler olduğu bildirilmiştir. Bunların yanında *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio alginolytius* türlerinin de

dekarboksilaz aktivitesine sahip oldukları ve histamin ürettiği tespit edilmiştir (Arnold ve ark.,1980; Frank ve ark., 1985).

Middlebrooks ve ark. (1988), bozulmuş balık örneklerinde histidin dekarboksilaz pozitif mikroorganizmalardan *Aeromonas hydrophyla*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio alginolyticus*, *Enterobacter aerogenes* ve *Pseudomonas putrefaciens* türleri olduğunu belirlemişlerdir. Lopez-Sabater ve ark. (1994), *Plesiomonas shigelloides*'in yeni bir histamin üreticisi olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada; 4 ve 6 ay süreyle fermente edilmiş ve tuzlanmış sardalya örneklerinde halotolerant ve halofilik histamin üreten mikroorganizmalar araştırılmış ve histamin, putresin, kadaverin, spermidin ve tiramin üreticisi olarak *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Vibrio* ve *Pseudomonas* cinsleri tespit edilmiştir (Yatsunami ve ark., 1994). *Photobacterium* türlerinin de histamin, kadaverin ve agmatin ürettiği bilinmektedir (Okuzumi ve ark., 1990; Rawles ve Flick, 1996).

Mikroorganizmalar farklı amino asit dekarboksilaz enzimine sahip oldukları için gıda maddesinde aynı anda bir çok biyojen amin bulunabilir (Lovenberg, 1973). Yarı konserve tuzlanmış hamsi örneklerinde *Morganella morganii*'nin 2123 ppm ile en yüksek histamin üreticisi olduğu, histamin üretimi yüksek olan türlerin diğer biyojen aminlerin üretiminden sorumlu olan türlerle genelde benzer türler olduğu bildirilmiştir (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994).

Gıda ürünlerinde oluşan biyojen aminlerin türü ve yoğunluğu ilgili gıda maddesinin yapısı ve gıdada bulunan ve/veya sonradan kontamine olan mikroorganizma türlerine göre değişiklik göstermektedir. *Enterobacteriaceae* üyeleri ile bazı *Laktobasil*, *Pediococcus* ve *Enterococcus* türleri biyojen amin oluşumunda etkilidir. *Klebsiella pneumoniae* ve *Lactobacillus buchneri* gibi türlerin sadece birkaç suşu histidin dekarboksilaz pozitif iken *Proteus morganii* gibi türlerin bütün suşlarında histidin dekarboksilaz enzimi görülmektedir (Wurziger ve Dickhaut, 1978; Taylor, 1986).

*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus morganii* ve *Edwardsiella* spp. gibi mikroorganizmalar ile *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Micrococcus* cinsine ait mikroorganizmaların et ve et ürünlerinde biyojen amin ürettiği (Maijala ve Eerola,

1993; Shalaby, 1996), obligat heterofermentatif *Lactobacillus brevis*, *L. divergens* ve *L. Hilgardii* ile fakültatif heterofermentatif *L. carnis* ve homofermentatif *L. curvatus*'un biyojen amin ürettikleri belirlenmiştir (Maijala ve ark., 1993; Maijala, 1994).

## 2.8. Biyojen Aminlerin Fizyolojik Rollerini

Biyojen aminler, hücre çoğalmasında ve büyümesinde başlıca DNA ve RNA'nın, hormonların ve proteinlerin sentez basamaklarında azot kaynağı olmaları yönüyle insanların ve hayvanların biyolojik fonksiyonlarının yerine getirilmesinde aktif rol oynamaktadır (Bardocz, 1995; Çolak ve Aksu, 2002; Akyol ve ark., 2015). Ayrıca, kan dolaşımının düzenlenmesinde, hücre membranının stabilitesinde, uterus, sindirim sistemi ve akciğerlerde bulunan düz kasların kasılmasında ve sinir sisteminde transmitter madde olarak önemli rol oynarlar (Graf, 1992; Yerlikaya ve Gökoğlu, 2002).

Histamin ve tiramin en aktif biyojen aminlerdir. Nörotransmitter ve aynı zamanda lokal bir hormon olan histaminin en önemli etkisi kapillar vazodilatasyona, mide asit salgısında artışa ve alerjik reaksiyonlara neden olmasıdır (Barke ve Hough, 1993; Varlık ve Berker, 2001). Ayrıca histaminin organizmada gelişen lokal kanamalarda regüle edici etkisi de bulunmaktadır. Serotonin de kan basıncında etkilidir, bağırsak mukozasında oluşur ve serotoninin peristaltik hareketleri artırıcı etkisi bulunmaktadır (Graf, 1992; Düz ve Fidan, 2016).

Tiramin ise sempatik sinir sistemine etki ederek epinefrin ve norepinefrin salgısında artışa, vazokontraktör etkiyle kan basıncında yükselmeye, hipertansiyon ve taşikardiye, kan glikoz düzeyinde artışa ve diğer bazı semptomimetik etkilere neden olmaktadır. Ayrıca düz kasları da uyarır (Bardocz, 1995; Joneja, 1995; Shalaby, 1996). Tiramin ve  $\beta$ -feniletilamin, hipertansiyon ve diyetle bağlı şiddetli baş ağrılarında (migren) neden olabilirler (Özdestan ve Üren, 2012).

Putresin, spermidin ve sperminin DNA ile RNA'nın katyon stabilitesinin korunarak makromoleküler bütünlüğünün sağlanması, protein sentezi ve membran stabilitesinin devamlılığı açısından önemli işlevleri bulunmaktadır. Amin sayısı ile orantılı bir şekilde PUFA'lar üzerinde antioksidan etki gösterirler (Halasz ve ark., 1994; Silla Santos, 1996; Yıldız ve Kırım 2015).

Biyojen aminlerin fizyolojik fonksiyonları yanında, aroma ve lezzet maddeleri olması, nonenzimatik esmerleşme olaylarında etkili olmaları, nükleik asitlerin, alkaloidlerin ve proteinlerin sentezinde azot kaynağı olarak rol almaları, nitritle reaksiyona girerek kanserojenik nitrozaminlerin oluşumuna katılmaları gibi etkileri de bulunmaktadır (Eerola ve ark., 1997; Hernandez-Jover ve ark.,1997; Ölmez, 2000; Yerlikaya ve Gökoğlu, 2002).

**Tablo 3.** Bazı biyojen aminlerin fizyolojik ve toksikolojik etkileri (Ladero ve ark., 2010).

<b>Biyojen Amin</b>	<b>Fizyolojik Etkileri</b>	<b>Toksikolojik Etkileri</b>
<b>Histamin</b>	Nörotransmitter lokal hormon gastrik asit sekresyonu hücre büyümesi ve farklılaşması kardiyak ritmin düzenlenmesi vücut sıcaklığının ayarlanması öğrenme ve hafıza immün yanıt alerjik reaksiyonlar	Baş ağrısı, terleme nasal sekresyonda artış yüzeysel kızarıklıklar deride kırmızı döküntüler baş dönmesi, bulantı kaşıntı, ürtiker, yutkunma güçlüğü, diyare bronkospazm solunum güçlüğü taşikardi kan basıncında bozukluk
<b>Tiramin</b>	Nörotransmitter periferel vazokonstrüksiyon, taşikardi solunum sayısında artış kan glikoz seviyesinde artış norepinefrin salınımını arttırması	Baş ağrısı, migren sinirsel bozukluklar bulantı ve kusma solunum bozukluğu hipertansiyon
<b>Putresin</b>	Hücre büyümesi ve farklılaşması	Taşikardi hipotansiyon kanserojenik etki

Bazı gıdalarda kalitenin değerlendirilmesi amacıyla diğer parametrelerle birlikte tamamlayıcı unsur olarak kullanılan biyojen aminlerin varlığının ve miktarının tespit edilmesi hem ilgili gıda maddesinin kalite düzeyinin belirlenmesi hem de toksikolojik yönden halk sağlığı açısından önem arz etmektedir (Ölmez, 2000; Alberto ve ark., 2002).

## 2.9. Gıdalarda Biyojen Aminler

Gıdalarda varlığı açısından büyük öneme sahip olan biyojen aminlere; triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin, spermin, serotonin,

dopamin, agmatin, oktopamin, metilamin, etilamin, etanolamin ve diaminobütan örnek gösterilebilir (Shalaby, 1996; Bucak, 2011; Özdekan ve Üren, 2012).

Biyojen aminler gıdalarla yüksek oranlarda tüketilmedikçe, bireyin doğal katabolizma mekanizması sınırlı veya genetik olarak kusurlu olmadıkça sağlık tehlikesi oluşturmazlar (Rice ve ark., 1976).

Gıdalarda farklı biyojen aminlerin oluşumu ve konsantrasyonları ile gıda maddesinin yapısı ve o gıdada bulunan mikroorganizmaların türleri arasında direkt ilişki bulunmaktadır (Brinker ve ark., 2002; Innocente ve ark., 2007).

Mikrobiyal dekarboksilazların birden çok amino asit üzerine etkileri olabildiği gibi, substrat özel dekarboksilaz faaliyeti ile bir amino asit üzerinde de etkili olabilmektedirler (Özoğul ve ark., 2004b ).

Biyojen amin oluşumuna neden olan mikroorganizmalar, gıdanın kendi doğal mikroflorasında bulunabildiği gibi işleme öncesinde, işleme süreci boyunca ve işleme sonrasında oluşan kontaminasyonlardan da köken alabilirler (Rokka ve ark., 2004).

Gıdalarda bozulma süreci içerisinde mikroorganizmalar, serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu ile yüksek konsantrasyonlarda biyojen amin üretebilmekte olup, değişen yoğunluktaki biyojen amin konsantrasyonları gıdalarda mikroorganizma kontaminasyonunun indikatörü olarak gösterilmektedir. Sazanlarda yapılan bir çalışmada putresin ile *Pseudomonas* spp. ve psikrotrof mikroorganizmalar arasında, kadaverinle *Pseudomonas* türleri arasında pozitif yönlü önemli bir ilişki bulunmuştur (Rezaei ve ark., 2007). Histamin, tiramin, agmatin, putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi biyojen aminlerin tespit edilmesi sadece toksik etkilerinden dolayı önemli olmamakta, aynı zamanda gıdaların tazelik veya bozulma derecesinin bir indikatörü olarak da kullanılmaktadır (Halasz ve ark., 1994).

Dekarboksilasyonların hemen hepsinde mikrobiyal proteoliz gözlenmektedir. Bu nedenle proteinli yapılarda biyofiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerde biyojen aminlerin oluşumu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durumda proteince zengin ve fermente edilmiş gıdaların elde edilmesi, işlenmesi, hazırlanması ve depolanması sırasında bu tip aminler oluşabilir (Rice ve ark., 1976).



Biyojen aminlerin, gıdalardaki ya da içeceklerdeki düzeylerinin kritik eşiği aşması durumunda ya da bireylerin genetik olarak detoksifiye mekanizmalarında yetersizlik olması durumunda, hastalık veya biyojen aminlerin katabolizmasını sağlayan enzimleri inhibe edici ilaç kullanımı (aintidepresif) gibi durumlara bağlı olarak biyojen aminlerin doğal katabolizmasında oluşan hasarlar nedeniyle insan sağlığı açısından tehlikeli olabilmektedirler (Kalac ve ark., 2009; Ladero ve ark., 2010).

Normal şartlar altında gıdalarla alınan biyojen aminler N-metil transferaz (N-MT), PAO, DAO ve MAO gibi amin oksidaz enzimleri tarafından oksidasyon ya da konjugasyon yoluyla hızlı bir şekilde metabolize edilirler (Bardocz, 1995; Ortolani ve Pastorello, 2006).

Biyojen aminler bir çok farklı gıdada ve içekte hatta aynı gıda tipleri içerisinde bile çok farklı miktarda ve türde bulunabilirler (Silla Santos, 1996).

Biyojen aminler; balık ve balık ürünleri, et ve et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira ve şarap gibi alkollü içecekler, fındık ve çikolata gibi geniş bir gıda yelpazesinde bulunabilmektedirler (ten Brink ve ark., 1990; Silla Santos, 1996; Ladero ve ark., 2010).

### **2.9.1. Balık ve balık ürünleri**

Balıklarda biyojen aminlerin oluşmasında mikroorganizmaların varlığı önemli rol oynamaktadır. Otolitik veya mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen proteoliz olayı, proteinlerden serbest amino asitlerin meydana gelmesine neden olur ve böylece dekarboksilaz reaksiyonları için substrat sağlanmış olur. Bu nedenle balığın bozulması veya ayrışması süresince, mikroorganizmaların faaliyeti, amino asit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalmakta ve biyojen amin üretilmektedir (Eitenmiller ve De Souza, 1984; Yıldız ve Kırım, 2015).

Taze olarak veya işlenmiş haldeki balık ve ürünlerinin tüketiminden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri ve alerjilerine, bozulmanın başlaması ile birlikte bu ürünlerde oluşan yüksek yoğunluktaki biyojen aminlerin özellikle de histaminin neden olduğu bilinmektedir (Taylor ve ark., 1978). Histamin kaynaklı zehirlenmeler Amerika Birleşik Devletleri'nde deniz mahsüllerinin tüketilmesi nedeniyle görülen 3 önemli

sağlık problemi arasındadır (Ben-Gigirey ve ark., 1999). Balık ve balık ürünleri çok yüksek miktarda (1000-2000 mg/kg üzerinde) histamin içerebilirler ve histamin zehirlenmesine neden olabilirler (Taylor, 1985). Bireysel farklılıklara göre değişmekle birlikte bir öğünde 70-1000 mg histamin alınması toksikasyona bağlı olarak gelişen klinik semptomların görülmesine neden olmaktadır (Taylor ve ark., 1978).

Histamin düzeyleri ve balıkların bozulması arasındaki ilişki ilk olarak Gieger tarafından incelenmiştir. Ton balığında kimyasal bir bozulma belirleyicisi bulmak amacıyla yapılan bir çalışmada histamin, putresin ve kadaverin miktarının bozulmayla birlikte arttığı gözlenmiştir (Mietz ve Karmas, 1977).

Histamin özellikle balık ve balık ürünlerinde kalite belirleyici ve mikrobiyal bozulmanın indeksi olarak kullanılmaktadır. Taze bir balığın histamin içeriği çok düşüktür ve balıkta histaminin varlığı bozulma belirtisidir (Veciana-Nogues ve ark., 1989; Vidal-Carou ve ark., 1990).

Bireyin detoksifikasyon mekanizmasının etkinliğine bağlı olarak toksik dozun belirlenmesi oldukça güçtür. Ayrıca putresin ve kadaverin gibi diğer biyojen aminlerin varlığı sindirim sisteminde histamin emilimini arttırarak sinerjik etki göstermekte ve toksisiteyi güçlendirmektedir (Jung ve Bjeldanes, 1979).

Balıklarda biyojen aminlerin oluşumunda pH, muhafaza süresi ve ısı,  $a_w$ , tuz miktarı ve starter kültürün varlığı dekarboksilaz aktivitesini etkileyen faktörlerdendir (Dalgaard ve ark., 2008).

*Scomberesocidae* ve *Scombridae* familyalarına ait Scombroid balıklar olarak adlandırılan ve kas dokuda fazla miktarda serbest histidin içeren ton balığı türleri, palamut, uskumru, kolyos, istavrit ve zargana gibi türlerin tüketiminde histamin zehirlenmeleri sıklıkla görülen zehirlenmelerdendir (Edmund ve Eitenmiller, 1975). Bu balıkların koyu kırmızı renkli kas kısmı, beyaz etli kısımdan üç kez daha fazla proteolitik aktivite göstermektedir (Wurziger ve Dickhaut, 1978).

Hamsi, pisi balığı, salmon, ringa, sardalya, kalkan, alabalık, morina, bazı midye çeşitleri, karides, yengeç ve salyangoz gibi türlerin kas dokularında yüksek miktarda

serbest histidin bulunmakta ve bu nedenle histamin zehirlenmelerine neden olabilmektedir (Schulze ve ark., 1979; Varlık ve ark., 1992).

Balık kaslarında histamin bir kez oluştuğunda balığın pişirilmesi veya kızartılması histamin aktivitesini engellemez. Konservelerde uygulanan ısı işlemler de mevcut biyojen aminleri inaktive etmemekte ancak üretimini durdurmaktadır. Balıkta histamin oluşumu için optimum sıcaklığın 15-20 °C olduğu ve maksimum 30-38 °C'ye çıkabildiği de saptanmıştır (Yerlikaya ve Gökoğlu, 2002).

### **2.9.2. Peynir**

Balık ve balık ürünlerinden sonra biyojen aminlerin en fazla üretildiği gıda peynirdir. Peynir, histamin zehirlenmesi ve tiramin toksisitesinin en yaygın şekilde gözlemlendiği gıdalar arasında yer almaktadır (Stratton ve ark., 1991; El-Sayed, 1996; Shalaby, 1996; Turantaş ve Öksüz, 1998). Çok sık rastlanan biyojen amin zehirlenmesi peynirlerde yaygın olarak bulunabilen tiraminden kaynaklanmaktadır (Halasz ve ark., 1994).

Peynirlerde biyojen aminlerin bulunuşu büyük ölçüde çiğ sütün mikrobiyal kalitesine bağlıdır. Eğer pastörize edilmemiş süt kullanılırsa laktobasillerle kontaminasyonu önlemek güçleşir. Bu mikroorganizmalar olgunlaşmanın ilk devrelerinde kolayca çoğalırlar. Ayrıca peynirlerde biyojen amin oluşumu üzerine sıcaklık, tuz konsantrasyonu, peynirin mikroflorası ve pıhtılaştırıcı enzimlerin de önemli etkileri vardır (Maijala, 1994; Silla Santos, 1996; Turantaş ve Öksüz, 1998).

Peynirler çok yüksek konsantrasyonlarda tiramin içerebilirler. Özellikle de uzun süre olgunlaştırma işlemine tabi tutulan ve çiğ süttten üretilen peynirlerde tiramin miktarı 1000 mg/kg seviyelerinin üzerine çıkabilir (Fernandez ve ark., 2007).

Taze sütte çok düşük düzeyde serbest histidin bulunmasına rağmen, süt proteinleri histidin içermektedir. Peynirlerde histamin üretiminin özellikle proteoliz aşamasında gerçekleştiği bildirilmektedir. Proteoliz sırasında peynirin, rengi, lezzeti ve yapısında belirgin bir takım değişiklikler olmakta ve bu aşamada serbest amino asit içeriği önemli düzeyde artmaktadır. Bunun sonucunda da mevcut amino asitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen aminler oluşmaktadır (Stratton ve ark., 1991).

Peynirlerde bulunan önemli biyojen aminler tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin ve  $\beta$ -feniletilamindir. Peynirlerde olgunlaşma süresi boyunca sütü pıhtılaştırıcı enzimler, süt proteazları, starter kültürler ve kontamine mikroflora nedeniyle bazı değişimler söz konusudur. Olgunlaşma sürecindeki protein degradasyonu hem peptidlerin hem de serbest amino asitlerin üretimi ile sonuçlanan en önemli faktörlerden birini oluşturmaktadır. Bu nedenle fosfotungstik asitte çözünen azot (PTA) veya trikarboksilik asitte çözünen azot (TCA) gibi proteolitik aktivite göstergeleri ile biyojen amin oluşumu doğru orantılıdır (Sumner ve ark., 1990).

Peynirlerde histamin zehirlenmesinde asıl rol alan mikroorganizmanın *Lactobacillus buchneri* olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. taitis* ve *Enterococcus faecium* gibi mikroorganizmaların da peynirlerde histamin ürettiği saptanmıştır. Yapılan bir çok çalışmada süt ürünlerinde spesifik bir ortamda bir veya iki amino asiti dekarboksile etme yeteneğine sahip bir çok mikroorganizmanın varlığı saptanmıştır. *L. buchneri* histidin dekarboksilaz içerirken, çoğu enterokokların da tirozin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu, koliform grubu mikroorganizmaların birçoğunun da putresin ve kadaverin oluşturabildikleri belirlenmiştir (Joosten ve Stadhouders, 1987).

İsviçre peynirlerinden *Streptococcus faecium*, *S. mitis*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. caei*, *L. acidophilus*, *L. arabinose* ve *Propionibacterium* gibi histamin üreten mikroorganizmalar izole edilmiştir (Sumner ve Taylor, 1989).

### **2.9.3. Et ve et ürünleri**

Biyogen aminler yönünden önemli gıdalar arasında yer alan et ve et ürünlerinde biyojen aminlerin bulunuşu ve konsantrasyonları hakkında önceki yıllara ait daha az araştırma olmasına rağmen, yapılan çalışmalarda değişik düzeylerde biyojen amin varlığı tespit edilmiştir (Ruiz-Capillas ve Jimenez-Colmenero, 2004).

Sosisler bazen yüksek düzeyde histamin içerebilmektedir. Yarı kuru sosisler laktik asit kültürlerinin ilavesiyle kısa bir süre için fermente edilirken kuru sosisler daha uzun sürede doğal mikroflora tarafından fermente edilir. Bu sosislerin olgunlaşma işlemi sırasında ve özellikle olgunlaşmanın ilk üç gününde histamin konsantrasyonu

artar. Fermente sosislerde histamin konsantrasyonu olgunlaşma işleminin süresine bağlı olarak değişir. Fermentasyon koşulları oluşan histamin miktarını etkileyebilir ve histamin miktarı fermentasyon koşulları ile kontrol altına alınabilir (Taylor ve ark., 1978; Yerlikaya ve Gökoğlu, 2002).

#### **2.9.4. Fermente sebze ürünleri**

Fermente ürünlerde biyojen amin üretiminden başlıca laktik asit bakterileri sorumludur. Çünkü çiğ ürünlerde bulanabilmeleri, starter kültür olarak kullanılabilmesi veya üretim aşamalarının herhangi bir safhasında kontaminant olarak yer alabilmeleri mümkündür (Crow ve ark., 2001, Lonvaud-Funel, 2001).

Lahana turşusunda histamin, tiramin, putresin ve kadaverin en fazla bulunan biyojen aminler olurken,  $\beta$ -feniletülin çok az miktarda bulunmaktadır. Ticari susuz lahana turşusu (sauerkraut) örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, bu örneklerin 540 mg/kg düzeyinde biyojen amin içerdikleri tespit edilmiştir (Halasz ve ark., 1999).

#### **2.9.5. Alkollü içecekler**

Şaraplarda *Oenococcus oeni*'nin histamin üretiminden sorumlu başlıca mikroorganizma olarak düşünülmesine rağmen, *Lactobacillus hilgardii* ve *Pediococcus parvulus* türlerinin de histamin ürettiğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Lucas ve ark., 2005, Moreno-Arribas ve Polo, 2008).

Malta yüksek düzeyde putresin, agmatin, spermin ve spermidin, düşük düzeylerde histamin,  $\beta$ -feniletülin, triptamin ve kadaverin bulunmaktadır. Biradaki histamin içeriği arpa veya malttan köken almadığından, bira işleme sırasında hijyenik koşulların göstergesi olarak kabul edilebilir. Biradaki histamin düzeyi ile arpanın mikrobiyal yükü ve kullanılan maya arasında korelasyon bulunmaktadır (Karahana, 2003).

#### **2.10. Biyojen Amin Dekarboksilaz Aktivitesini Etkileyen Faktörler**

Gıdalarda biyojen amin birikiminin yanı sıra biyojen amin dekarboksilaz aktivitesini etkileyebilen bazı faktörler vardır. Uygun substrat, sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonu biyojen amin dekarboksilaz aktivitesini etkilemektedir. Aminler

gıdalardaki enzimatik aktiviteler sırasında veya dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların aktivitesi sonucunda oluştukları için bu enzimlerin aktivitelerinin inhibisyonu veya mikroorganizmaların çoğalmasının önlenmesi, gıda maddesinin içeriğinin kontrolü açısından çok önemlidir (Turantaş ve Öksüz, 1998; Ölmez, 2000).

Biyojen aminlerin miktarları; gıdalarda doğal olarak bulunabilen serbest amino asitlerin varlığı veya proteinlerin proteolitik aktivitelerle parçalanması, dekarboksilaz aktivitesi yüksek mikroorganizmaların ortamda bulunması, bu mikroorganizmaların çoğalması ve dekarboksilaz enzimlerinin oluşumu için uygun koşulların varlığına bağlı olarak değişebilmektedir (Gökoğlu ve Varlık 1995; Ölmez, 2000).

Dekarboksilaz pozitif mikroorganizmalar, gıdanın doğal mikroflorası içerisinde bulunabileceği gibi gıda maddesinin işlenmesi öncesinde, işlenmesi esnasında ve sonrasında, taşıma ve muhafaza dönemlerinde gıdaya bulaşabilir (Ölmez, 2000). Mikroorganizmalar, dekarboksilaz aktivitelerini etkileyen faktörlerin varlığında ve uygun şartlar olduğu zaman hızla çoğalarak gıda maddesinde biyojen amin miktarlarında yükselmelere neden olurlar (Çolak ve Aksu, 2002).

### **2.10.1. pH**

Ortamın pH'sı dekarboksilaz aktivitesini ve dolayısı ile biyojen amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Biyojen amin üretiminin, asidik ortamlarda mikroorganizma için asidik koşullara karşı koruyucu bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (Halasz ve ark., 1994).

Asidik ortamlarda amino asit dekarboksilaz aktivitesi daha güçlü olmaktadır ve pH 4.0-5.5 arasında aktivite gösterdiği (Silla Santos, 1996), pH 5 seviyelerinde ise enzim aktivitesinin optimum düzeyde olduğu bildirilmektedir (Moreno-Arribas ve Lonvaud-Funel, 2001).

Benzer şekilde glikoz gibi fermente olabilen karbonhidratların ortamda bulunması ve laktik asit akümülyasyonuna bağlı olarak oluşan asidik pH'nın da mikroorganizmaların gelişimini ve böylece amin dekarboksilaz aktivitesini stimüle ettiği görülmüştür (Maijala, 1994). Glikozun %2 civarında bulunduğu ortamlarda amin

dekarboksilaz aktivitesinin optimum düzeyde olmasına karşılık, %3 üzerindeki konsantrasyonlarında olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir (Halasz ve ark., 1994).

### **2.10.2. Isı**

Balık ve balık ürünlerinde tazeliğin sürdürülebilmesi için düşük sıcaklıklarda muhafaza, mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal faaliyetleri sınırlayıcı etkisi nedeniyle çok önemli bir uygulamadır (Wang ve ark., 2003).

Gıdalarda biyojen amin oluşumunda ortam ısısı en önemli etkenlerden biri olarak kabul edilmektedir (Stratton ve ark., 1991). Biyojen amin oluşumu için gereken ısı değerleri mikroorganizma türlerine göre değişiklik arz etmektedir (Halasz ve ark., 1994). Balık ve balık ürünlerinde biyojen aminlerin oluşumunda ısının pozitif bir etkisi bulunmaktadır (Gardini ve ark., 2001).

Klausen ve Lund (1986), uskumru ve ringada yaptıkları bir çalışmada biyojen amin içeriğinin sıcaklığa bağlı olduğunu ve 10 °C'deki biyojen amin içeriğinin 2 °C'ye göre 2-20 kat daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Wendakoon ve ark. (1990), buzda bekletilen uskumruda hiçbir amin üretimi olmadığını, 20 °C'de buzsuz halde bekletilen numunelerde histamin, putresin, kadaverin ve tiramin miktarlarında artış olduğunu belirlemişlerdir.

### **2.10.3. Tuz ve katkıları**

Biyojen amin oluşumunda tuz önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Tuz, amin dekarboksilaz aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir, ancak halotolerant mikroorganizmalar için bu durum geçerli olmamaktadır (Shalaby, 1996; Yeğin ve Üren, 2008).

İçeriğinde %12 NaCl bulunan sardalya ürünlerinin 30 °C gibi yüksek sıcaklıkta depolanması süresince halotolerant mikroorganizmalardan dolayı histamin, putresin ve kadaverinin hızlı bir şekilde arttığı görülmüştür (Yatsumuni ve Echigo, 1993; Özoğul ve ark., 2004b).

Yapılan bir araştırmada; 30 °C’de uskumru etine eklenen karanfil yağı ve sodyum klorürün, *Enterobacter aerogenes*’in gelişimini ve amin üretimini inaktive ettiği tespit edilmiştir (Wendakoon ve Sakaguchi, 1992).

### **2.11. Biyojen Amin Üretimini Kontrol Altına Alınması**

Gıdalarda biyojen amin birikimine neden olan faktörlerin başında muhafaza şartları ile üretimde uygulanan teknolojik metotlar (Komprda ve ark., 2001), üretim süreçleri (Rivas ve ark., 2008), dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların varlığı ve miktarı (Silla Santos, 1996), ham madenin kalitesi (Maijala ve ark., 1995b) ve serbest amino asitlerin varlığı ve miktarı gelmektedir (Maijala ve ark., 1995a). Halk sağlığının korunması açısından biyojen amin oluşma riski bulunan gıdaların üretim ve depolanmasında bu aminlerin oluşumu kontrol altına alınmalıdır. Bunun için biyojen amin oluşumunda etkili mikroorganizmaların ve dekarboksilaz enzim aktivitelerinin önlenmesi esastır. Biyojen aminler ısı uygulamalarına karşı oldukça dayanıklıdır (Tapingkae ve ark., 2010) ve bir kez oluştuktan sonra gıda maddelerinin soğutulmaları veya uzun süre ısıtılmaları oluşan biyojen aminleri elimine etmemektedir (Duflos, 2009; Gonzaga ve ark., 2009).

Düşük başlangıç kontaminasyonu ile çiğ materyallerdeki ve üretim yerlerindeki hijyene önem verildiği takdirde ürünler yüksek histamin seviyesinden korunmuş olurlar. Gıdalardaki enzimatik aktiviteyi, dekarboksilaz aktivitesini ve mikroorganizmaların çoğalmasını önlemek amin üretiminin kontrolü için önemlidir. Bazı dekarboksilazlar pastörizasyonda bile aktif kalabilmektedir (Özoğul, 2001).

Kontaminasyonla ilişkili tehlikeler, işleme sırasında oluşan kontaminasyonlar veya ortaya çıkan biyolojik tehlikeler HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) kontrol programlarının yanı sıra GMP (Good Manufacturing Practice) ve GHP (Good Hijyen Practice) tarafından kontrol edilmektedir. HACCP kavramı ürün kalitesi ve güvenliği için önemli programları sunmaktadır. Bu kavram biyojen amin ürünlerinin yanısıra balık ve balık ürünlerindeki histamin formasyonunu kontrol etmek için de kullanılabilir (Özoğul, 2001).



### 2.11.1. Düşük sıcaklıkta depolama

Biyojen amin üretimini etkileyen önemli faktörlerden biri sıcaklıktır ve düşük sıcaklıklar biyojen amin oluşumunu sınırlandırmaktadır (Duflos, 2009, Prester ve ark., 2009). Düşük sıcaklıklarda mikrobiyal gelişme ve enzim aktivitesinde azalmalar meydana gelmektedir (Du ve ark., 2002).

Biyojen amin birikimini önlemek için kullanılan en basit metot avlandıktan veya hasat edildikten sonra balığın çabucak soğutulması ve tüketim aşamasında soğuk zincir uygulamalarına özen gösterilmesi şeklindedir (Bover-Cid ve ark., 2006; Dalgaard ve ark., 2006). Farklı sıcaklık derecelerinde depolanan balık ve balık ürünlerindeki histamin üretimi konusunda birçok araştırma yapılmaktadır.

Edmunds ve Eitenmiller (1975), 4 °C’de histamin seviyesinin düşük olduğunu ve psikrofilik mikroorganizmaların serbest histidini kolayca dekarboksile edemediğini bildirmişlerdir.

Düşük depolama sıcaklığı, balık ve balık ürünlerinde mikroorganizmaların çoğalmasını ve enzimatik aktiviteyi kontrol etmede kullanılmaktadır. Wei ve ark., (1990), ton balığı örneklerinde histamin üretiminin kontrolü için düşük depolama sıcaklığının vakum paketlerden daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. Çünkü vakum paketlenmiş örnekler 2 °C ve 10 °C gibi iki sıcaklık derecesinde genellikle daha yüksek bir histamin seviyesine sahip olmuştur. Ton balığı infüzyon suyunda histamin üretimi 19 °C ve 30 °C’deki üretime kıyasla 7 °C’de daha düşük olmuştur.

Arnold ve ark. (1980), *H. alvei*’nin 19 °C’de aerobik, mikroaerofilik veya anaerobik şartlar altında üç gün sonra histamin üretebildiğini, bununla birlikte özellikle düşük düzeydeki psikrofilik *Photobacterium* spp. kontaminasyonundan sonra, hafif tuzlanmış ringa filetoalarının vakum pakette soğuk derecede tutulması ile yüksek seviyede histamin oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Behling ve Taylor (1982), 7 °C’de 72 saat inkübe edilen ton balığı infüzyon solüsyonunda *K. pneumoniae*’nin önemli miktarlarda histamin ürettiğini bildirmişlerdir.

### 2.11.2. Hijyen ve diğ er uygulamalar

Avlanan ya da hasatı yapılan balığın elde edilmesinden tüketim aşmasına kadar olan tüm süreç boyunca gerçekleştirilen hijyenik uygulamalar, kalitenin ve raf ömrününün uzatılmasına önemli katkılar sağlamaktadır.

Balık etinde bir çok sebebe bağı olarak bozulmalar görülmekte olup ana sebep mikrobiyal kontaminasyondur. Bazı mikroorganizmaların 5 °C'nin altında biyojen amin üretebildikleri göz önünde bulundurulduğunda ilk andan itibaren uygulanan soğuk zincir ve düşük sıcaklıkta muhafaza tek başına biyojen amin üretiminin kontrol altına alınmasını her zaman mümkün kılmamaktadır (Emborg ve ark., 2005; Emborg ve Dalgaard, 2006).

Balık ve diğ er su ürünleri gıda zehirlenmelerine ve nihayetinde ölümlerle sonuçlanabilen rahatsızlıklara neden olabilen patojenik mikroorganizmalarla kontamine olabilmektedir. Dokulardaki proteolitik aktivite sonucu amino asitlerin serbest hale gelmesi ve mikrobiyal dekarboksilasyon faaliyeti neticesinde biyojen amin oluşumu meydana gelmektedir. Bu nedenle mikroorganizmaların çoğalmasını minimize etmek ve bu süreyi geciktirmek için gerekli tüm hijyen önlemleri ile hasat ve/veya avlama anından itibaren gerekli termal tedbirlerin alınması gerekmektedir (Bremer ve ark., 1998; Özoğ ul ve ark., 2004b).

Kontrol önlemleri olarak hijyenik ve termal tedbirlerin yanında balık ve balık ürünlerine starter kültürlerin eklenmesi, hidrostatik basınç uygulamaları, enzim kullanımı (DAO), radyasyon uygulamaları, diğ iş ik paketleme tekniklerinin uygulanması, gıda katkı maddelerinin ve koruyucularının kullanılması, biyojen amin üreten mikroorganizmalar temelinde uygulamalar yapılması ve muhafaza şartlarının diğ iş tirilmesi alınacak önlemler olarak diğ erlendirilebilir (Naila ve ark., 2010).

Katkı maddeleri (karabiber, kırmızı biber, tuz, şeker, zerdaçal vb.) ve koruyucu maddelerin (kriyoprotektan) (glukono delta lakton, potasyum pirofosfat, sodyum sorbat, sitrik asit, D-sorbitol, malik asit, süksinik asit vb.) ilavesi mikroorganizmaların gelişmesini önleyerek ve dekarboksilaz aktivitesini inhibe ederek biyojen amin oluşumunu azaltmaktadır (Kang ve Park, 1984; Shalaby, 1996).

Potasyum sorbatın su ürünlerinin raf ömrünün uzatılmasında önemli katkısı olduğu görülmüştür (Shalini ve ark., 2001). Yine aynı şekilde gıda katkı maddesi olarak kullanılan glisin fermente balık ürünlerinde biyojen amin oluşumunu azalttığı görülmüştür (Mah ve Hwang, 2009).

Nontermal bir koruma uygulaması olan yüksek hidrostatik basınç uygulamaları (HHP-High Hydrostatic Pressure) mikroorganizmaların hücre membranlarına zarar vermesi sonucunda inaktive etmesi ya da öldürücü etkisiyle biyojen amin oluşumunu azaltmaktadır (Rivas ve ark., 2008). HHP gıda maddesinin orijinal halini muhafaza ederken raf ömrünü uzatmaktadır (Patterson, 2005). 4.4 °C ve 12 gün süreyle depolanan bazı balık türlerinde 5 dakika süreyle 300-400 megapascal (MPa) basınç uygulamasının bazı mikroorganizma ve dekarboksilaz aktivitesini azalttığı görülmüştür (Bolton ve ark., 2009).

Radyasyon uygulamaları gıdalarda raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Mbarki ve ark., 2009). Aynı şekilde biyojen amin üretiminden sorumlu mikroorganizmaların sayılarını azaltması (Kim ve ark., 2003) ve biyojen aminlerin radyolizis (Mbarki ve ark., 2009) yoluyla azaltmasını sağlaması ile gıdalarda biyojen amin oluşumunu kontrol altına alabilmektedir. Gıdalarda radyasyon uygulamaları ile biyojen amin miktarının azaltılması model bir sistem olarak gösterilmektedir ve araştırmacılar bu konu üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerektiğini belirtmektedirler (Naila ve ark., 2010). Balıklar üzerinde yapılan bir araştırmada 1.5 kGy radyasyon uygulamasının vakum paketlenmiş örneklerde 1 °C'de 14 gün muhafaza süresince biyojen amin miktarında önemli düzeyde (Histamin düzeyi 50.91 ppm'den 2.87 ppm'e düşmüştür) azalmaya neden olduğu görülmüştür (Mbarki ve ark., 2009).

Değişik yöntem ve ürünlerle gıda ürünlerinin paketlenerek muhafaza edilmesi, gıda maddesinin çevresindeki gaz oranlarının değiştirilmesini içermektedir. Böylece biyojen amin üretimine neden olan enzimler ve/veya mikroorganizmaların inhibisyonu nedeniyle biyojen amin üretimi gecikebilmektedir (Naila ve ark., 2010). Vakum paketlenme (Mbarki ve ark., 2009; Schirmer ve ark., 2009), modifiye atmosferde paketlenme (Emborg ve ark., 2005; Dalgaard ve ark., 2006), aktif paketlenme (farklı gaz tutucular kullanılarak paket içerisindeki oksijen miktarının elimine edilmesi) (Mohan ve

ark., 2009), balık ve diğer su ürünlerinde biyojen amin üretiminin kontrol altına alınmasında başarıyla kullanılan paketlenme yöntemlerindedir.

Fermente gıda ürünlerinde ürünlerin olgunlaşması için kullanılan starter kültürler biyojen amin oluşumunu geciktirmektedirler. Bu starter kültürler hem amin negatif hem de aminleri okside etme özelliğindeki mikroorganizmalardır (Bover-Cid ve ark., 2001; Spicka ve ark., 2002). Bazı balık ürünlerinde miks olarak kullanılan starter kültürlerin kontaminant mikroorganizmaları baskıladığı ve biyojen amin oluşumunu inhibe ettiği görülmüştür (Petaja ve ark., 2000; Hu ve ark., 2007).

*Lactobacillus plantarum* gibi mikroorganizmalar (Capozzi ve ark., 2012) ve enzimler (DAO) gıdalarda oluşan biyojen aminlerin yıkımlanması veya okside edilmesi amacıyla gıdaların muhafaza yöntemleri içerisinde kullanılmaktadır (Naila ve ark., 2012).

## **2.12. Biyojen Amin Tespit Metodları**

Biyojen aminlerin güçlü polar karakterdeki kompleks bileşikler olması ve bu nedenle de su yerine organik solventlerde çözdürülmeleri, aynı numune içerisinde yapısal olarak çok farklı aminlerin aynı anda bulunması, ekstrakt içerisinde aminlerle benzer yapısal özellik taşıyan amino asitlerin varlığı, gıda maddesine göre bazı aminlerin düşük konsantrasyonlarda bulunmaları gibi nedenlerden dolayı tespit edilmesinde ve miktarlarının belirlenmesinde spektrofotometrik, florometrik ya da elektrokimyasal farklı ve kompleks metodlar kullanılmaktadır (Shalaby, 1996).

Kromatografik metod; numunenin ekstraksiyon ve derivasyon işlemlerine tabi tutularak içerisindeki aminlerin ayrıştırılması ve miktarlarının belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Ekstraksiyon, farklı solventler kullanılarak numuneden aminlerin uzaklaştırılmasını sağlar. Ultraviyole veya floresans spektrumu absorpsiyonu için derivasyona tabii tutulur (Proestos ve ark., 2008; Vidal-Carou ve ark., 2009). Bunun için en sık dansil klorür, floresin ve orto-fitalaldehit (OPA) kullanılmaktadır (Lavizzari ve ark., 2006).

Yine gıda maddesinin türüne göre biyojen aminlerin ayrıştırılmasında ve miktarının belirlenmesinde İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) (bütün gıdalarda), İyon

Değiştirici Kromatografisi (IEC), Gaz Kromatografisi (GC) (meyve suları, bira, şarap vb.), Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC), Spektroflorometrik Yöntem, Ultra-Performans Sıvı Kromatografisi (UPLC) ve Kapillar Bölge Elektrofrezisi (CZE) (aromatik ve heterosiklik biyojen aminler) yöntemleri (Dadakova ve ark., 2009), Polimer Zincir Reaksiyonu (PCR), Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay (ELISA) (Rodriguez ve ark., 2014) ve HACCP uygulamaları için kimyasal kolorometrik analiz yöntemi (test kitleri) kullanılmaktadır (Rogers ve Staruszkiewicz, 2000).

### 2.13. Kimyasal Kalite İndeksi ve Biyojen Amin İndeksi

Biyojen aminler taze balıklarda çok düşük düzeylerde bulunurlar. Yüksek düzeylerdeki varlıkları ise mikrobiyal bozulmayla ilişkilidir (Özogul ve Özogul, 2006; Simat ve Dalgaard, 2011). Gıdalarda biyojen aminlerin varlığının değerlendirilmesi hem toksikolojik etkileri hem de tazeliğin ya da bozulmanın derecesini belirlemede bir indikatör olarak kullanılabilmesi açısından önem arz etmektedir (Alberto ve ark., 2002; Özogul ve Özogul, 2006; Önal, 2007; Park ve ark., 2010; Silva ve ark., 2013). Mietz ve Karmas (1977) konserve ton balıklarında yaptıkları bir çalışmada, iyi kalitede olan örneklerle kıyaslandığında bozulmuş örneklerde histamin, putresin ve kadaverin miktarları artarken spermidin ve spermin miktarlarının azaldığını tespit etmişler ve bu bulgular ışığında işleme prosesleri öncesinde tazeliğin derecesinin belirlenmesi amacıyla Chemical Quality Index (CQI/QI) adı verilen ve aşağıda formüle edilen bir indeks önermişlerdir.

Quality Indeks (QI) (ppm) =  $\frac{\text{histamin (ppm)} + \text{putresin (ppm)} + \text{kadaverin (ppm)}}{1 + \text{spermidin (ppm)} + \text{spermin (ppm)}}$

İlgili araştırmacılar konserve ürünlerinde duyuşal değerlendirme puanları artarken kalite indeksinin de arttığını tespit etmişlerdir. Böylece araştırmacılar QI puanlamasında; 1. kalite ham maddelerde QI <1 ve mikrobiyolojik kalitesi kötü (bozulmuş) ham maddelerde QI >10 şeklinde değerlendirilebileceğini önermişlerdir.

Veciana-Nógués ve ark. (1997b), 0 °C, 8 °C ve 20 °C'de sırasıyla 21, 8 ve 4 gün muhafaza edilen ton balığı örneklerinde spermidin ve spermin miktarlarının kalitenin kaybı sürecinde bir indikatör olarak değerlendirilmemesini, muhafaza edilen örneklerde

muhafaza süresince histamin, putresin, kadaverin ve tiramin miktarlarında ise önemli değişikliklerin olduğunu bozulma proseslerinin değerlendirilmesinde bu biyojen aminlerin daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. Mietz ve Karmas (1977) tarafından bildirilen QI puanlamasına göre örnekler 10 değerine ulaşmamasına rağmen, 8 °C’de muhafaza edilen numunelerin muhafazanın 5. gününde duyuşal değerlendirmeler sonucunda reddedildiğini tespit etmişler ve araştırma sonuçlarına göre Biogenic Amine Index (BAI) adı verilen başka bir indeks geliştirmişlerdir ve bu indeksi;

$$\text{Biogenic Amine Index (BAI)} = \text{histamin} + \text{putresin} + \text{kadaverin} + \text{tiramin}$$

şeklinde formüle etmişlerdir. İyi kalitede gıdalarda bu aminlerin miktarlarının toplamının 50 mg kg<sup>-1</sup> altında olması gerektiği bildirilmektedir (Andrade ve ark., 2014).

Krizek ve ark. (2002), hermetik olmayan paketler içerisinde 3 °C ve 15 °C’de sırasıyla 13 ve 4 gün süreyle muhafaza edilen sazan balığı örneklerinde spermin konsantrasyonunda azalma olmadığını ve bu durumun aksine Mietz ve Karmas (1977) tarafından yapılan çalışmada örneklerde histamin, putresin ve kadaverin miktarı artarken spermidin ve spermin miktarının azaldığını, bunun nedeninin de çalışmada kullanılan örneklerin farklı deniz türlerine ait olmasından kaynaklanabileceğini, ilgili araştırmacılar tarafından önerilen QI’nin sazan balıklarında kalitenin değerlendirilmesinde kullanılmasının genel olarak tavsiye edilmediğini, sazan balıklarında putresin ve kadaverin konsantrasyonlarının toplamının kalitenin değerlendirilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Örneklerin temini ve analizlere hazırlanması

Çalışmada önceden siparişi verilen ve Van Gölü Balıkçılık ticari ünvanı ile faaliyet gösteren işletmeden Şubat ayı içerisinde bir gecede tek seferde avlanan 300 adet sazan balığı kullanılmıştır. İlgili firma tarafından avlanması yapılan balıklar içerisinde buz bulunan polietilen strafor kutulara bırakılarak yaklaşık 1 saat içinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Balıkların ortalama boyları  $32.77 \pm 2.49$  cm ve ortalama ağırlıkları ise  $416.77 \pm 37.70$  g olarak tespit edilmiştir. Balıklar 2 lota ayrılmıştır.

Birinci lottaki balıklar bütün olarak steril eldivenlerle daha önceden steril hale getirilmiş kovalar içerisinde içme suyu olarak kullanılan soğuk su ile yıkanmış, steril süzgeçlerde 15 dk sularının süzülmesi sağlandıktan sonra her tabakta en az 3 adet balık olacak şekilde (yaklaşık 1.250 kg) steril strafor tabaklarda manuel olarak ambalajlanmış ve streç film ile sarılmıştır. Başlangıç analizleri (0. gün) yapılacak numuneler hariç hazırlanan ambalajlar iki takıma ayrılmış; 1. takım örnekler (SBB)  $4 \pm 1$  °C'de buzdolabında (Arçelik, 8825 SBS NY, TR) muhafaza edilmiştir. 2. takım örnekler (DBB) ilk önce  $-40 \pm 1$  °C'de 4 saat derin dondurucuda (UCF, 10 SF, TR) şoklama işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra  $-18 \pm 1$  °C'de derin dondurucuda (UCF, 310 SSL, TR) muhafaza edilmiştir.

$-18 \pm 1$  °C'de muhafaza edilen her iki takıma ait örneklerin analizleri yapılmadan önce yaklaşık 6-10 saat  $4 \pm 1$  °C'de buzdolabında bekletilerek çözünmeleri sağlanmıştır.

İkinci lottaki balıkların başları, iç organları ve solungaçları steril eldivenler, bistüri ve makas kullanılarak aseptik şartlarda uzaklaştırılmış, daha önceden steril hale getirilmiş kovalar içerisinde içme suyu olarak kullanılan soğuk su ile kan pıhtıları ve diğer temizleme kalıntıları uzaklaştırılmaya kadar yıkanmış, steril süzgeçlerde 15 dk sularının süzülmesi sağlandıktan sonra her tabakta en az 3 adet olacak şekilde (yaklaşık 1.250 kg) steril strafor tabaklarda manuel olarak ambalajlanmış ve streç film ile sarılmıştır. Başlangıç analizleri (0. gün) yapılacak numuneler hariç hazırlanan ambalajlar iki takıma ayrılmıştır. 1. takım örnekler (STB)  $4 \pm 1$  °C'de buzdolabında

(Arçelik, 8825 SBS NY, TR) muhafaza edilmiştir. 2. takım örnekler (DTB) ilk önce  $-40\pm 1$  °C’de 4 saat derin dondurucuda (UCF 10 SF, TR) şoklama işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra  $-18\pm 1$  °C’de derin dondurucuda (UCF, 310 SSL, TR) muhafaza edilmiştir.

$-18\pm 1$  °C’de muhafaza edilen her iki takıma ait örnekler, analiz yapılmadan önce yaklaşık 6-10 saat  $4\pm 1$  °C’de buzdolabında bekletilerek çözümleri sağlanmıştır.

### **3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve hazırlanmaları**

#### **Biyojen amin standartları ana stoklar ve hazırlanması**

Kullanılan amin standartları, triptamin hidroklorür (93650, Sigma-Aldrich, Germany),  $\beta$ -feniletilamin (77905, Sigma-Aldrich, Germany), putresin dihidroklorür (P7505, Sigma-Aldrich, Germany), kadaverin dihidroklorür (33220, Sigma-Aldrich, Germany), histamin dihidroklorür (53300, Sigma-Aldrich, Germany), tiramin hidroklorür (93820, Sigma-Aldrich, Germany), spermidin trihidroklorür (85580, Sigma-Aldrich, Germany) ve spermin tetrahidroklorürdür (85607, Sigma-Aldrich, Germany).

Her bir biyojen amin standardının hassas terazide (ANDGR 200, Japan) 25 ml’lik balon joje içerisinde tartımları yapılmış ve ultra saf su ile çözüldürülerek 25 ml’ye tamamlanmıştır.

Her bir standart için 1000 ppm olacak şekilde 25 ml ultra saf suda çözdürülerek ana stok çözeltisi hazırlanmıştır. 25 ml’den 1 ml alınıp 10 ml’ye tamamlanarak 100 ppm’lik dilüsyonlar ve 100 ppm’lik solüsyondan 1ml alınıp 10 ml’ye tamamlanarak 10 ppm’lik dilüsyonlar hazırlanmıştır.



**Tablo 4.** Biyojen amin ana stokların hazırlanması.

ANA STOKLAR (1000 ppm=1000 mg/ml)				
Standart	Miktar		Hazırlık	Konsantrasyon
Triptamin	30.69 mg	0.0306 g	Bu tartımlar Ultra Saf su ile 25 ml'ye tamamlanır	1000 ppm
$\beta$ -feniletılamin	32.59 mg	0.0325 g		1000 ppm
Putresin	45.72 mg	0.0459 g		1000 ppm
Kadaverin	42.87 mg	0.0428 g		1000 ppm
Histamin	41.43 mg	0.0417 g		1000 ppm
Tiramin	31.65 mg	0.0313 g		1000 ppm
Spermidin	43.86 mg	0.0440 g		1000 ppm
Spermin	43.05 mg	0.0434 g		1000 ppm

**Tablo 5.** Biyojen amin kalibrasyon standart seviyelerinin hazırlanması.

Kalibrasyon Seviyesi	Stok Çözeltisi (ppm)	Stoktan alınan miktar ( $\mu$ l)	İnternal Standart ( $\mu$ l)	0.4 M Perklorik asid ( $\mu$ l)	Toplam hacim türev öncesi ( $\mu$ l)	Son konsantrasyon türev öncesi (ppm)	Son konsantrasyon türev sonrası (ppm)
1	10	50x8=400	50	550	1000	0.5	0.1
2	100	12.5x8=100	50	850	1000	1.25	0.25
3	100	25x8=200	50	750	1000	2.5	0.50
4	100	50x8=400	50	550	1000	5	1
5	100	100x8=800	50	150	1000	10	2
6	1000	20x8=160	50	790	1000	20	4

### **1.7 Diamino heptan (internal standart) stok solüsyonunun hazırlanması**

25 mg 1.7 diamino heptan (Merck, Germany) ultra saf su içinde çözündürülerek 25 ml'ye tamamlanmıştır. Bu solüsyonun konsantrasyonu 1 mg serbest baz/ml'dir. Numunelerin ekstraksiyon işlemi sırasında bu stok solüsyondan 125 µl numuneye katılmıştır.

Numunenin ekstraksiyon işlemi sürecinde son aşamada toplam hacim 25 ml'ye tamamlandığı için 1/200 oranında seyreltilmiş olmaktadır. Bu işlem sonucunda  $1000 \text{ ppm}/200=5 \text{ ppm}$  ( $5 \text{ µg/ml}$ ) oranına düşmüştür. Yine numunenin türevlendirme işlemi sürecinin son aşamasında bu 1 ml'lik ekstrakt işlem sonunda 5 ml'ye tamamlanmış ve böylece 1/5 oranında seyreltilmiştir. Nihai aşamada her bir numunede  $5/5=1 \text{ ppm}$  ( $1 \text{ µg/ml}$ ) 1.7 diamino heptan bulunmaktadır.

#### **Dansil klorür**

Dansil klorür (5-dimethylaminonaphtalene-1-sulfonyl chloride, D2625-5G, Sigma-Aldrich, UK) türevlendirme maddesi olarak kullanılmış ve kullanılmadan önce taze olarak hazırlanmıştır. Çözündürme işlemi asetonla (Merck, Germany) yapılmıştır. 10 mg dansil klorür/1 ml aseton olacak şekilde amber renk kapaklı şişede çözündürülmüş ve ışıktan korunmuştur.

#### **Ultra saf su**

Çalışmalarda kullanılan saf su, ultra saf su cihazından (Synergy® Water Purification System, Germany) elde edilmiş ve 0.45 µm milipore filtreden süzülükten sonra kullanılmıştır.

#### **Sodyum hidroksit**

2 Mol sodyum hidroksit (NaOH, Merck, Germany) kullanılmıştır. Günlük taze olarak hazırlanmış ve 8.0 g tartılan sodyum hidroksit 100 ml ultra saf su içinde çözündürülmüş ve 0.45 µm milipore filtreden süzülükten sonra kullanılmıştır.

### **Perklorik asit**

0.4 M perklorik asit (%70 HClO<sub>4</sub>, Merck, Germany) kullanılmıştır. 1000 ml'lik balon jojeye 44 ml perklorik asit eklenmiş ve 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

### **Doymuş sodyum bikarbonat çözeltisi**

100 ml'lik bir erlen içerisinde 20 g sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>, Merck, Germany) 60 ml ultra saf su içerisinde 45 °C'de sıcak su banyosunda eritilerek doymuş çözeltisi hazırlanmıştır.

### **Amonyak**

Amonyak (%25 NH<sub>3</sub>, Merck, Germany) 50 ml'lik amber cam şişeye alınarak kullanılmıştır.

### **Amonyum asetat 0.1 mol/l : asetonitril karışımı**

1:1 (v:v) olacak şekilde 50 ml'lik kapaklı cam şişede karıştırılarak hazırlanmıştır. Her analiz döneminde taze olarak hazırlanmıştır.

### **Mobil faz solüsyonları**

#### **a. Mobil faz-A (amonyum asetat (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>))**

0.1 M amonyum asetat kullanılmıştır. 7.708 g amonyum asetat (Merck, Germany) 1000 ml'lik balon jojeye tartılarak ultra saf su ile eritilmiş, üzeri ultra saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> tamamen çözündürüldükten sonra 0.45 µm milipore filtreden süzölmüş ve HPLC cihazının pompa cam şişesine aktararak degazötörüne yerleştirilmiştir. Her analiz döneminde taze olarak hazırlanmıştır.

#### **b. Mobil faz-B (asetonitril (CH<sub>3</sub>CN))**

HPCL saflıkta asetonitril (Merck, Germany) kullanılmıştır. 0.45 µm glass filtreden vakum süzme aparatı kullanılarak pompa cam şişesine aktarılmış ve 15 dk degaz yapıldıktan sonra HPLC cihazının degazötörüne yerleştirilmiştir.

### **3.1.3. Örneklerin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal analizlere hazırlanması**

Bütün ve temizlenmiş olarak  $4\pm 1$  °C'de muhafaza edilen örneklerden (SBB/STB) çalışmanın 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerinde analizler yapılmıştır.

Bütün ve temizlenmiş olarak  $-18\pm 1$  °C'de muhafaza edilen örneklerden (DBB/DTB) çalışmanın 1., 15., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde analizler yapılmıştır.  $-18$  °C'de muhafaza edilen örnekler analiz yapılmadan önce derin dondurucudan çıkarılarak  $4\pm 1$  °C'de 6-10 saat bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. Analizler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Strafor ambalajların aseptik şartlarda streç filmleri açılmış, steril bistüri ve pens yardımı ile balıkların dorsal ve lateral kaslarından alınan parçalar aseptik şartlarda karıştırılıp homojen hale getirilmiştir. İlk önce mikrobiyolojik analizler ve daha sonra kimyasal analizler yapılmıştır.

Hazırlanan homojenatlardan steril stomacher torbalarına 10 g tartılarak üzerine 90 ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su ilave edilerek stomacherde (Interscience Bag Mixer 400 P, Germany) beş dakika süre ile homojenize edilmiştir. Örneklerin log 8'e kadar desimal dilüsyonları hazırlanarak mikrobiyolojik ekimler yapılmıştır (Pichhardt, 1993).

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Mikrobiyolojik analizler**

#### **Toplam aerob mezofil mikroorganizma sayımı**

Toplam aerob mezofil mikroorganizma (TAM) sayımı için Plate Count Agar (Oxoid® CM463) kullanılmıştır. Ekimi yapılan, petri kutuları  $37$  °C'de 24-48 saat süreyle aerobik şartlarda inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra 30-300 koloni üreyen petriler değerlendirmeye alınmış ve bu petri plaklarındaki koloniler TAM olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt, 1993).

### **Toplam aerob psikrofil mikroorganizma sayımı**

Toplam aerob psikrofil mikroorganizma (TAP) sayımı için Plate Count Agar (Oxoid® CM463) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları 7 °C'de 7-10 gün süreyle aerobik şartlarda inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra 30-300 koloni üreyen petriler değerlendirmeye alınmış ve bu petri plaklarındaki koloniler TAP olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt, 1993).

### ***Pseudomonas* spp.'nin sayımı**

*Pseudomonas* spp.'nin (PS) sayımı için *Pseudomonas* Agar (Oxoid® CM559+SR103) kullanılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 25 °C'de 48-72 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra petri kutularında üreyen çapı 1 mm'den büyük ve oksidaz (Oxidase Identification Sticks, Oxoid® BR64) testinde pozitif sonuç veren kolonilerin sayımı yapılmıştır (Pichhardt, 1993).

### **Maya/küf sayımı**

Maya/küf (MK) sayımında Potato Dextrose Agar (Oxoid® CM 139B) kullanılmıştır. Besiyeri sterilize edildikten sonra 50 °C'ye kadar soğutulmuş ve steril %10'luk tartarik asitle pH'sı 3.5±0.1'e ayarlanmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları 20-25 °C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra koloniler sayılarak maya/küf olarak değerlendirilmiştir (Koburger ve Marth, 1984).

### **Koliform grubu mikroorganizma sayımı**

Koliform grubu mikroorganizma (KG) sayımı için Violet Red Bile Agar (Oxoid® CM107) kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan petri kutularına 1'er ml ekim yapılmış ve üzerine yaklaşık 15 ml besiyeri dökülerek karıştırılıp katılaşması beklendikten sonra üzerine tekrar aynı besiyerinden 10 ml konularak ikinci kat besiyeri dökülmüştür. Ekimi yapılan petri kutuları 37±1 °C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda üreyen 0.5 mm çapında veya daha büyük koyu kırmızı koloniler koliform grubu mikroorganizma olarak değerlendirilmiştir (Harrigan ve Mc Cance, 1976; Pichhardt, 1993).

### **Fekal streptokokların sayımı**

Fekal streptokokların (FS) sayımı için Slanetz&Bartley Agar (Oxoid® CM377) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları önce 35 °C'de 4 saat, daha sonra 44-45 °C'de 44 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra üreyen tipik 1-2 mm'den büyük ve pembe kırmızıdan kahverengiye kadar değişen renkteki koloniler fekal streptokoklar olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt, 1993).

### ***Enterobacteriaceae*'ların sayımı**

*Enterobacteriaceae*'ların (EB) sayımı için Violet Red Bile Glukoz Agar (Oxoid® CM485) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları 30±1 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda üreyen kırmızı koloniler *Enterobacteriaceae* olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt, 1993).

### **Laktobasillerin sayımı**

Laktobasillerin (LB) sayımı için Rogosa Agar (Oxoid® CM0627) kullanılmıştır. Diğer mikroorganizmaların gelişmesini önlemek için besi yerinin pH'sı glacial asetik asit ile 5.7'ye ayarlanmıştır. Çift kat olarak ekimi yapılan petri kutuları 35±1 °C'de 72 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda oluşan 1-2 mm çapında beyaz tipik koloniler laktobasiller olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt, 1993).

## **3.2.2. Kimyasal analizler**

### **pH değerinin belirlenmesi**

Hazırlanan homojenattan 10 g alınarak 1:1 oranında distile su ile sulandırılmış ve pH-metrenin (Hanna® PH890) probu bu karışıma daldırılarak yaklaşık 45 sn sonra pH değeri okunmuştur (Manthey ve ark., 1988).

### **Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) miktarının belirlenmesi**

Örneklerdeki TVB-N miktarının belirlenmesi, Antonacopoulos tarafından modifiye edilen yonteme göre yapılmıştır (Varlık ve ark. 1993). Uygulanan yontemde 50 g balık eti homojenize edilerek bir balon içerisine 10 g tartılıp, üzerine 2-3 damla

silikon köpük kesici, 1 g magnezyum oksit (MgO) ve 100 ml distile su eklenmiştir. Tüpler daha önceden çalıştırılarak uygun ısı ayarına getirilen su buharı destilasyon cihazının (Kjeldahl) ısıtıcı keplerine yerleştirilerek destilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Destilasyon çıkışına 500 ml'lik erlenmayer içerisinde 100 ml distile su, 10 ml %3'lük borik asit (H3BO3) ve 7-8 damla 0.5 g metilen kırmızısı (Merck 1.06076, Germany)+250 ml %95'lik etil alkolde çözdürülerek hazırlanan taşıro indikatörü eklenerek yerleştirilmiştir. 200 ml'lik destilat oluşunca destilasyon sonlandırılmıştır. Erlen içerisinde toplanmış olan destilat 0.1 N hidroklorik asit (HCl) ile mevcut rengin pembemsi-mat beyaz renge döndüğü noktaya kadar titre edilmiştir. Destilasyon sonucu TVB-N miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{TVB-N (mg)} = \text{Harcanan 0.1 N HCl miktarı (ml)} \times 1.4 \times 100 / \text{Örnek miktarı (g)}$$

### **3.2.3. Duyusal analizler**

Duyusal analizler Paulus ve ark. (1979)'nın geliştirmiş olduğu puan sistemine göre 6 kişilik panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresi boyunca bu panelistlerin aynı kişilerden seçilmesine dikkat edilmiştir. Örneklerin renk, koku, lezzet ve genel kabul edilebilirlik kriterleri hedonik skalaya göre 9 puan üzerinden değerlendirilmiştir. Puanlamada 9.00-7.00 puan "çok iyi", 6.90-4.10 puan "iyi", 4.00 "tüketilebilir" ve 3.90-1.00 puan ise "bozulmuş" olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.4. Biyojen aminlerin belirlenmesi**

Biyojen aminlerin analizi Eerola ve ark. (1993)'nin önerdiği metoda göre yapılmıştır ve analizde; örnek ekstraksiyonu, türevlendirme ve HPLC cihazına enjekte etme aşamaları uygulanmıştır.

#### **Amin standart solüsyonlarının hazırlanması**

Hazırlanan amin stok solüsyonundan 1 ml alınıp 10 ml'ye tamamlanarak 1/10 oranında seyreltilen amin standart solüsyonları hazırlanmıştır.



### **Numunelerin ekstraksiyonu**

Her bir numune için hazırlanan homojenattan 2 g örnek (3 paralel) 30 ml'lik santrifüj tüpü içerisine tartılmış ve üzerine 125 µl internal standart (1.7-diaminoheptan, Merck, Germany) ilave edilmiştir. Üzerine 10 ml 0.4 M %70'lik perklorik asit (%70 Merck, Germany) çözeltisi ilave edilmiş, ultra turrax homojenizatörde (IKA® Yellowline DI Basic, USA) soğutulmuş alkol-buz banyosu kullanılarak 3 dakika homojenize edilmiştir. Bu homojenat soğutmalı santrifüjde (Sigma® 3-30K, Germany) 3000 rpm de 4 °C'de 10 dk santrifüj edilmiş ve üsteki berrak kısım Wathman (Filter lab® 1240 90 mm) filtre kağıdı ile 25 ml'lik balon jojeye süzümüştür. Santrifüj tüpüne tekrar 10 ml 0.4 M %70'lik perklorik asit ilave edilmiş, vortexte (Heidolph Reax Top D-91126, USA) 1 dk karıştırılmış, önceki gibi santrifüj edilmiş ve tekrar aynı şekilde berrak kısmı aynı balon jojeye süzümüştür. Süzüntü 0.4 M %70 lik perklorik asit ile 25 ml'ye tamamlanmış ve vortexte 1 dk karıştırılmıştır.

### **Numunelerin türevlendirilmesi**

Numunelerin türevlendirmesinde ise ekstrakte edilen her bir örnekten 5 ml'lik amber balon jojelere 1 ml ekstrakt alınmış ve üzerine 200 µl 2 N NaOH, 300 µl doymuş NaHCO<sub>3</sub> ve 2 ml dansil klorür ilave edildikten sonra 20 sn vortekste karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 40 °C'de 45 dk etüvde (Nüve® EN 120, TR) inkübe edilmiş, 15 dk karanlık ortamda bekletilerek tüplerin inkübasyon ısısının oda sıcaklığına düşmesi sağlanmış, bu sürenin sonunda üzerine 100 µl %25'lik amonyak eklenmiş ve 20 sn vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. Toplam hacim amonyum asetat:asetonitril (v:v, 1:1) karışımı ile 5 ml'ye tamamlanmış, vortekste karıştırıldıktan sonra örnekler 2500 rpm'de 4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiş, 0.45 µm enjektör uçlu filtreden süzümüş ve 2 ml'lik amber viallere (LCMS Certified Amber Glass 12 x 32mm Screw Neck Vial, 2 ml, Waters) konularak HPCL analizine hazır hale getirilmiştir.

### **Amin standartların türevlendirilmesi**

1/10 oranında sulandırılmış amin standart çözeltisinden standart kurvelerini çizmek amacıyla 5 ml'lik amber balon jojelere 12.5 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl, 50 µl x 8

mix (100 ppm) ve 20 µl x 8 mix (1000 ppm) miktarlarında alınmış, üzerine 50 µl internal standart ilave edilmiş ve 0.4 M perklorik asit ilave edilerek toplam hacim 1 ml'ye tamamlanmıştır. Üzerine 200 µl 2 N NaOH, 300 µl doymuş NaHCO<sub>3</sub> ve 2 ml dansil klorür ilave edildikten sonra 20 sn vortekste karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 40 °C'de 45 dk etüvde inkübe edilmiş, 15 dk karanlık ortamda bekletilerek tüplerin inkübasyon ısısının oda sıcaklığına düşmesi sağlanmış, bu sürenin sonunda üzerine 100 µl %25'lik amonyak eklenmiş ve 20 sn vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 30 dk karanlık ortamda bekletilmiştir. Toplam hacim amonyum asetat:asetonitril (v:v, 1:1) karışımı ile 5 ml'ye tamamlanmış, vortekste karıştırıldıktan sonra örnekler 2500 rpm'de 4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiş, 0.45 µm enjektör uçlu filtreden süzölmüş ve 2 ml'lik amber viallere konularak HPCL analizine hazır hale getirilmiştir. Bu standartlardan kalibrasyon eğrilerinin elde edilmesi için 100 µl HPLC sistemine enjeksiyon yapılmıştır. HPLC karma biyojen aminlerin geliş sıralamasına ait kromatografi Şekil 12'de, HPLC karma biyojen aminlerin standart piklerine ait kromatografi Şekil 13'de ve HPLC biyojen amin standartlarına ait kalibrasyon eğrileri de Şekil 4-11'de verilmiştir. Biyojen amin standartlarına ait %RSD, %CV, LOD ve LOQ değerleri Tablo 6'da verilmiştir.

**Tablo 6.** Biyojen amin standart çözeltilerine ait HPLC %RSD, %CV, LOD ve LOQ değerleri.

<b>Amin Standart</b>	<b>%RSD</b>	<b>%CV</b>	<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>
<b>Triptamin</b>	6.52	1.24	0.025	0.311
<b><math>\beta</math>-fenilettilamin</b>	9.02	2.40	0.038	0.014
<b>Putresin</b>	1.35	1.97	0.028	0.086
<b>Kadaverin</b>	2.73	0.96	0.039	0.117
<b>Histamin</b>	2.72	1.56	0.033	0.101
<b>Tiramin</b>	6.41	1.27	0.309	0.937
<b>Spermidin</b>	5.13	0.79	0.114	0.436
<b>Spermin</b>	3.24	1.80	0.109	0.331

%RSD: Bağlı standart sapma (Relative Standard Deviation), %CV: Varyasyon değişim katsayısı, LOD: Tayin limiti (Limit of Detection), LOQ: Ölçüm limiti (Limit of Quantification)

## **HPLC cihazının konfigürasyonu**

Pompa: Shimadzu LC-20 AT series, 2 adet, Japonya

Degasser Ünitesi: Shimadzu DGU-20A 5, Japonya

Oto Örnekleyici: Shimadzu SIL20AC (soğutmalı, 4 °C), Japonya

Dedektör: Shimadzu SPD-M20A, DAD dedektör, Japonya

Kolon Fırını: Shimadzu CTO-10AS VP (ısıtmalı), Japonya

Sistem Kontrol: Shimadzu CBM-20 ALITE, Japonya

Cihaz yazılımı: LC solution 1.12 SP1

**Enjeksiyon miktarı:** 20 µl

**Akış hızı:** 0.8 ml/dk

**Kolon tipi:** C 18 (Inertsil® ODS-2, 5 µm, 4.6 x 150 mm, Japonya)

**Dedektör tipi:** DAD

**Kolon fırını sıcaklık:** 40 °C

**Taşıyıcı faz A:** 0.1 mol amonyum asetat

**Taşıyıcı faz B:** Asetonitril (%50-%90 16. dk, 16-22. dk %90, 22-30. dk  
%50 post run)

**Dalga boyu:** 254 nm

**Süre:** 22 dk-8 dk post run, toplam 30 dk

Mobil faz akış hızı 0.8 ml/dk olarak ayarlanmış ve ölçümler 254 nm'de (Shimadzu CTO-10AS) yapılmıştır. Biyojen amin analizi için bir SPD-M20A diode array dedektör, iki kanallı gradient pompa (Shimadzu LC-10AT), autosampler (SIL 20AC), kolon fırını (CTO-20AC), FCV-11AL dalga birimli communication bus modüle

(CBM-20A) sahip Shimadzu Prominence HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Kolon olarak Inertsil® ODS-2, (GL Sciences B.V., Japonya) kullanılmıştır. Biyojen aminlerden triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin belirlenmiştir. Sonuçlar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Eerola ve ark., 1993).

$$C_u = 125 \times (H_u \times R_{fu} \times C_{istd}) / (H_{istd} \times R_{fistd} \times W_s)$$

C<sub>u</sub>: Biyojen amin miktarı (mg/kg)

H<sub>u</sub>: Bilinmeyen maddenin pik yüksekliği

R<sub>fu</sub>: Bilinmeyen maddenin response faktörü

C<sub>istd</sub>: İnternal standart spike konsantrasyon

H<sub>istd</sub>: İnternal standardın pik yüksekliği

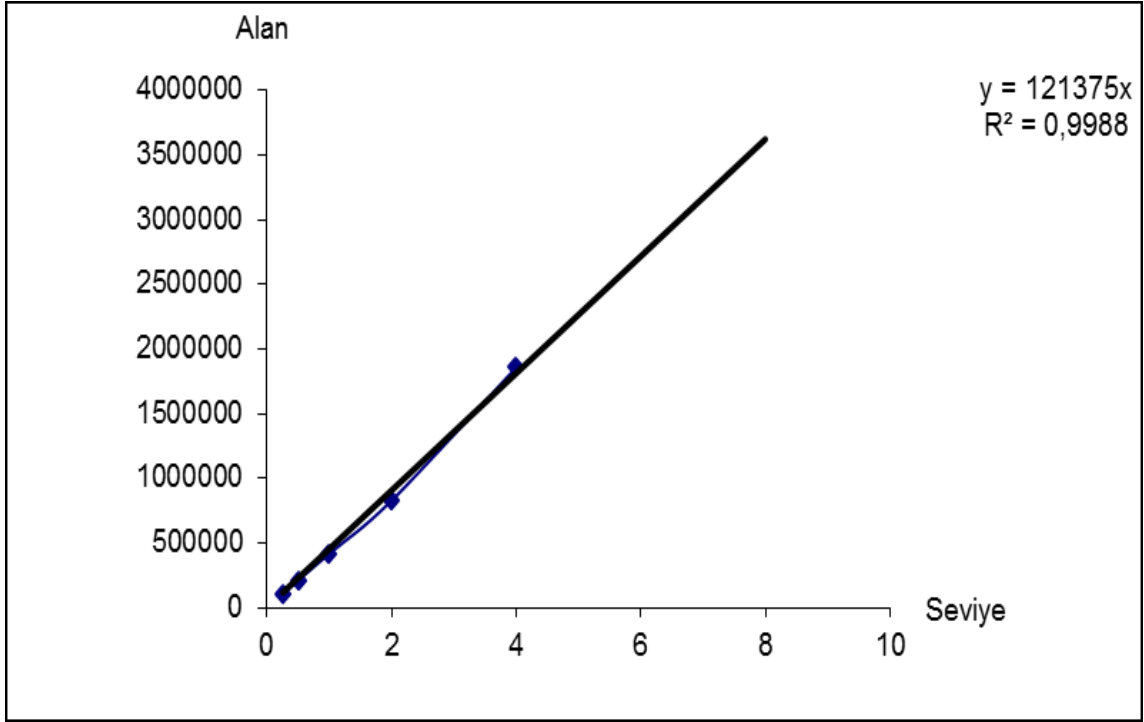
R<sub>fistd</sub>: İnternal standardın response faktörü

W<sub>s</sub>: Örnek ağırlığı

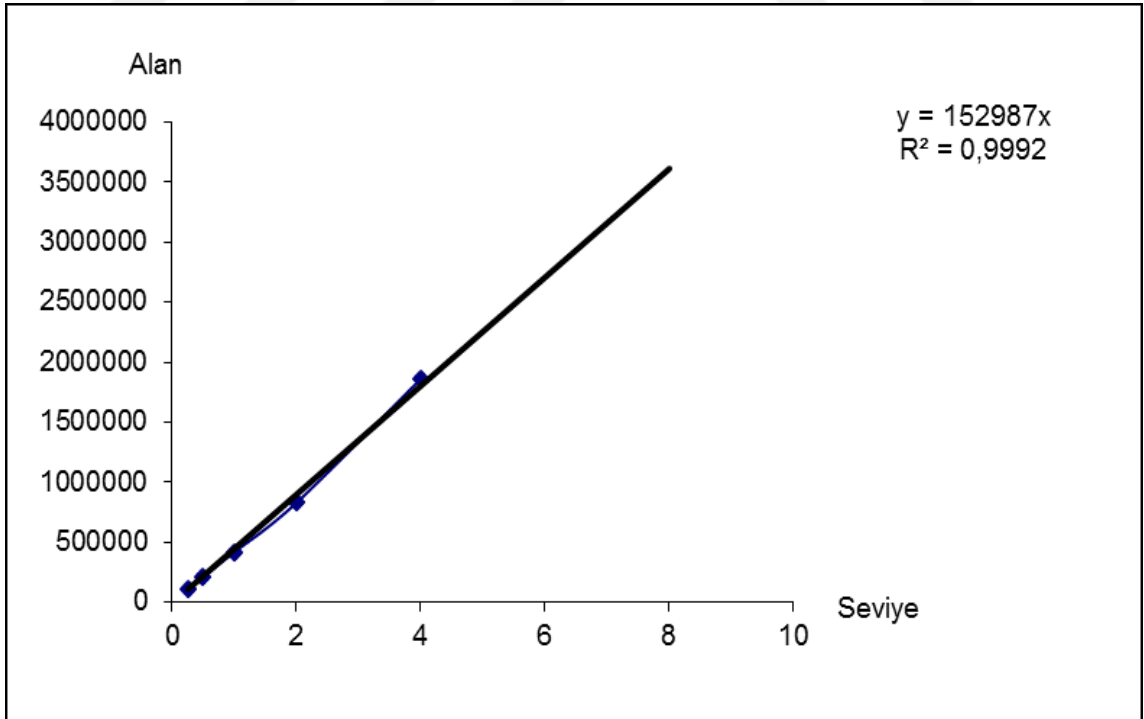
125: İnternal standart miktarı 125  $\mu$ l (konsantrasyonu 1  $\mu$ g/ml)

### 3.2.5. İstatistiksel analizler

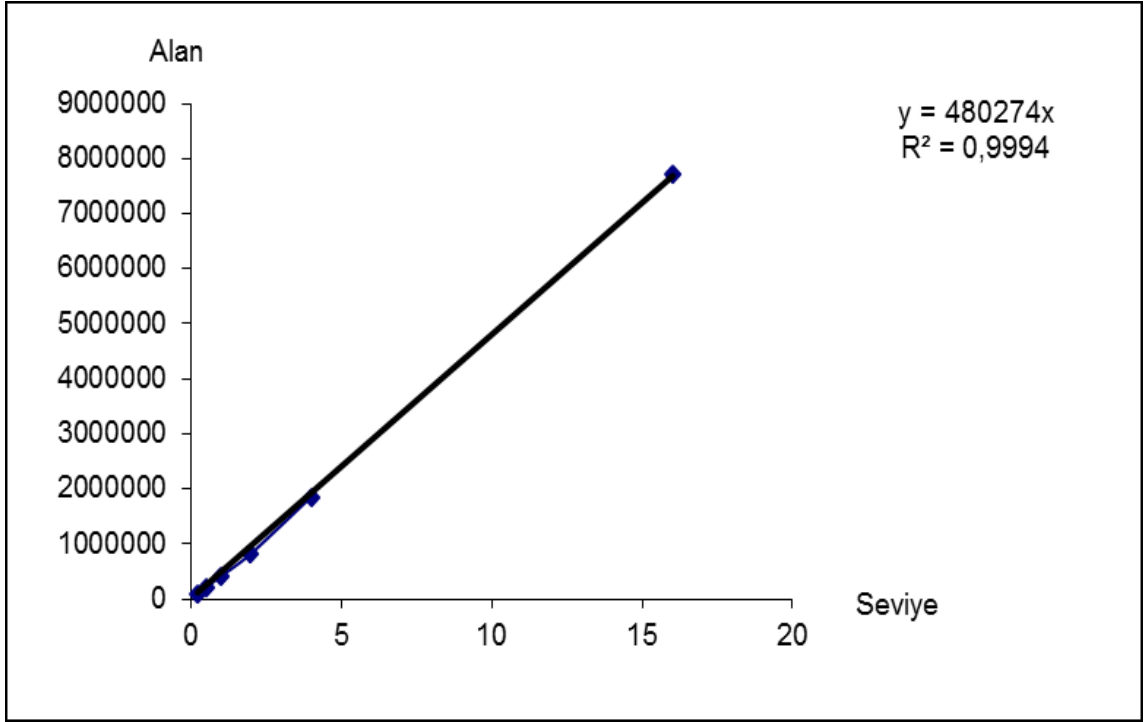
Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler, ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından gruplara göre yapılan karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Farklı grupları belirlemede Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Özellikler arası ilişkiyi belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (version 23, Windows; Inc., Chicago, IL) istatistik paket programı kullanılmıştır (Özdamar, 2010).



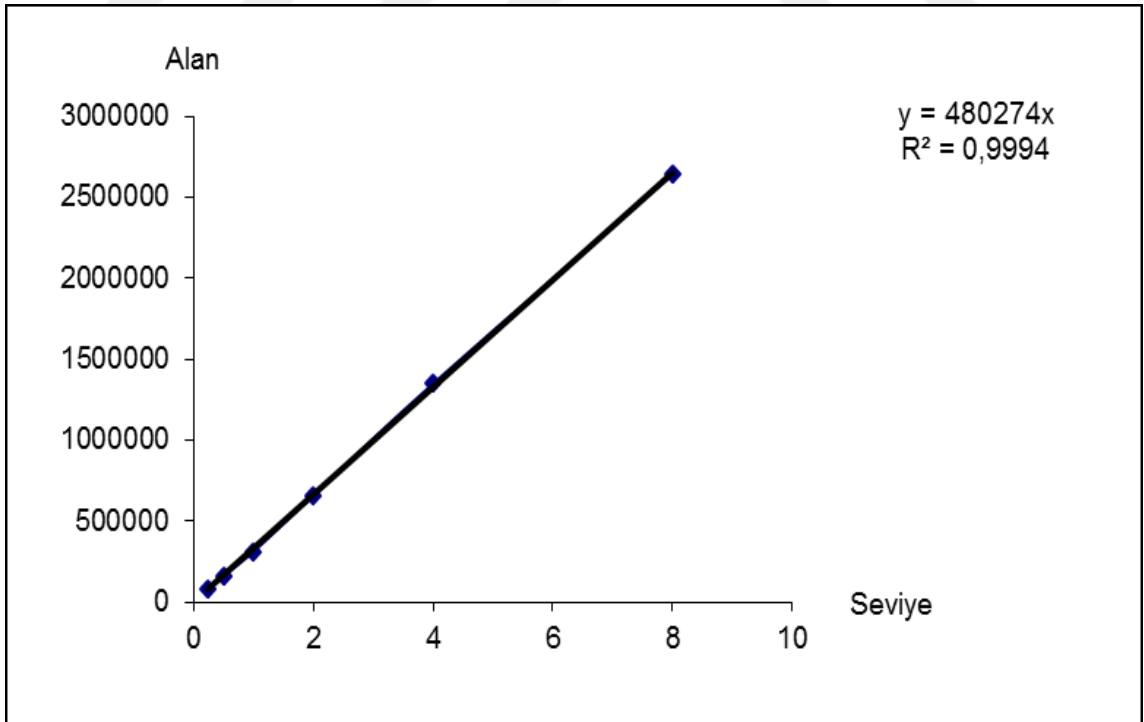
Şekil 4. Triptamin kalibrasyon eğrisi.



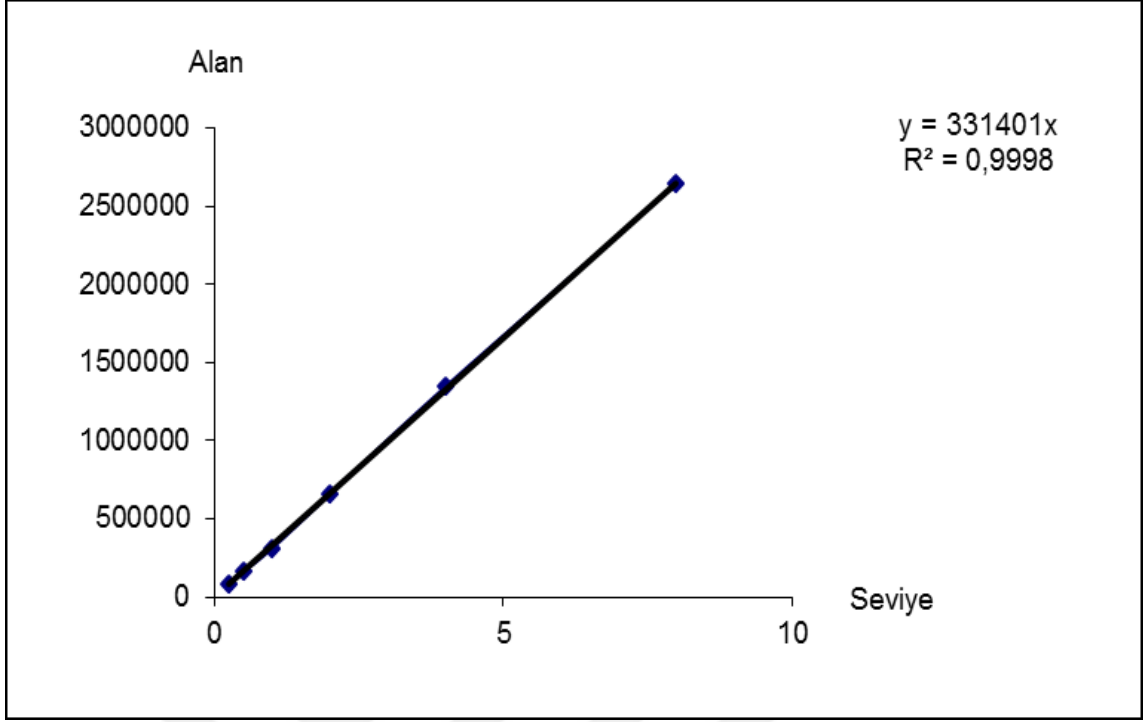
Şekil 5.  $\beta$ -feniletilamin kalibrasyon eğrisi.



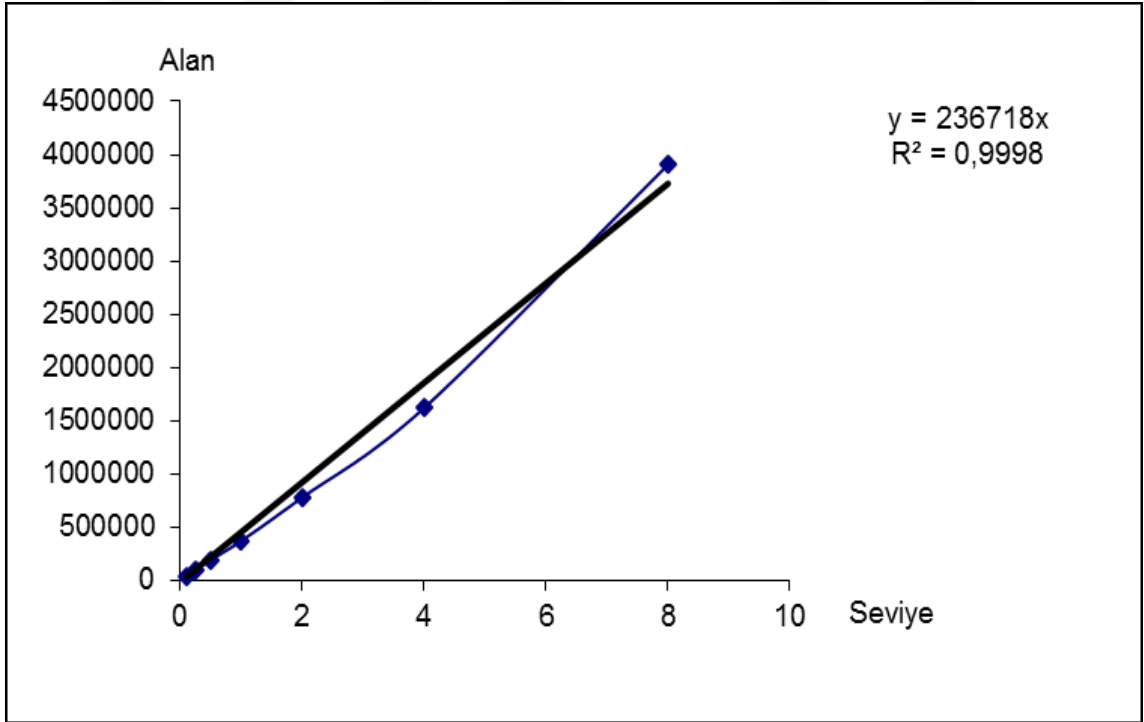
Şekil 6. Putresin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 7. Kadaverin kalibrasyon eğrisi.

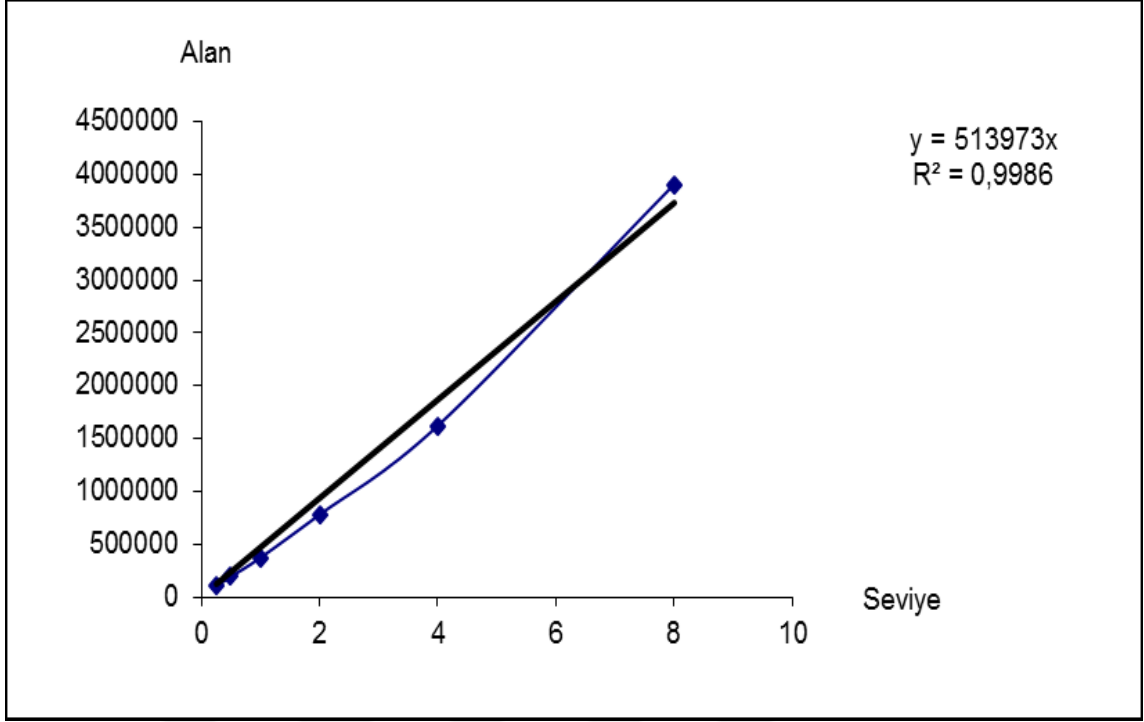


Şekil 8. Histamin kalibrasyon eğrisi.

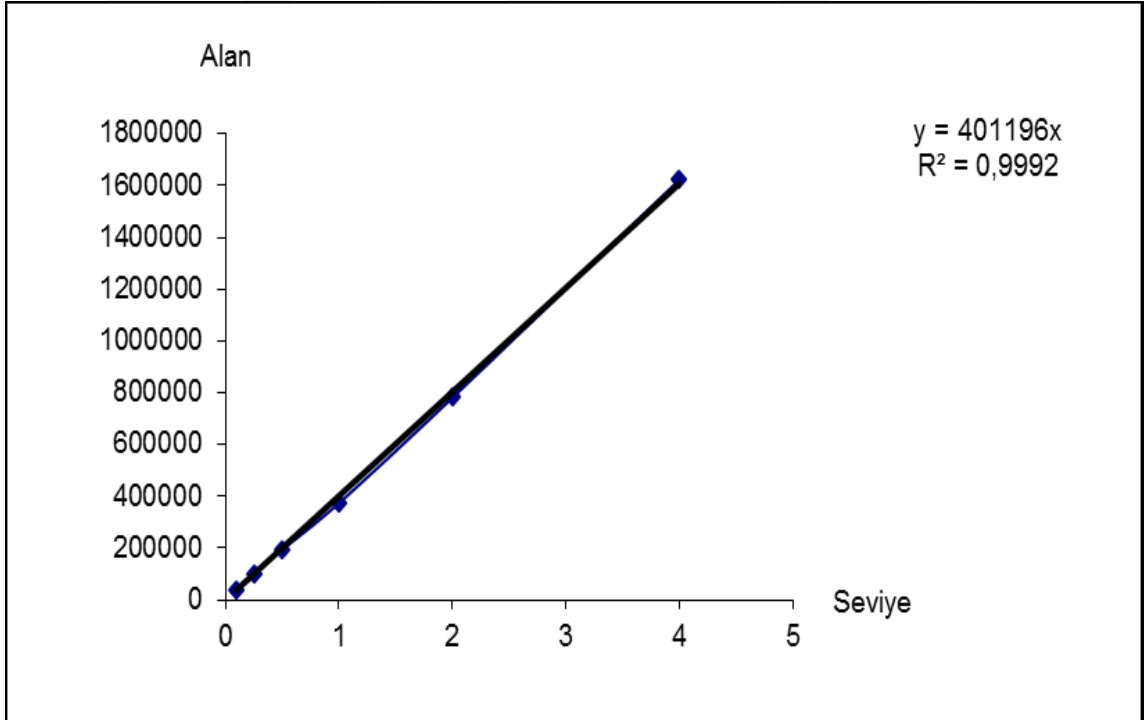


Şekil 9. Tiramin kalibrasyon eğrisi.

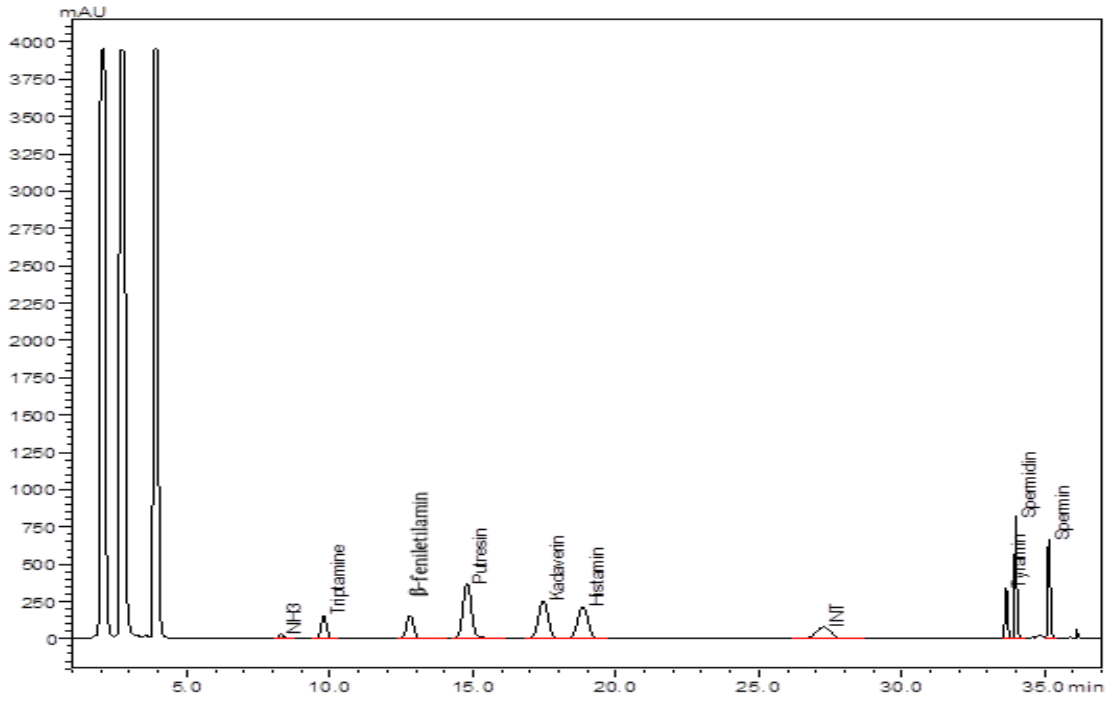




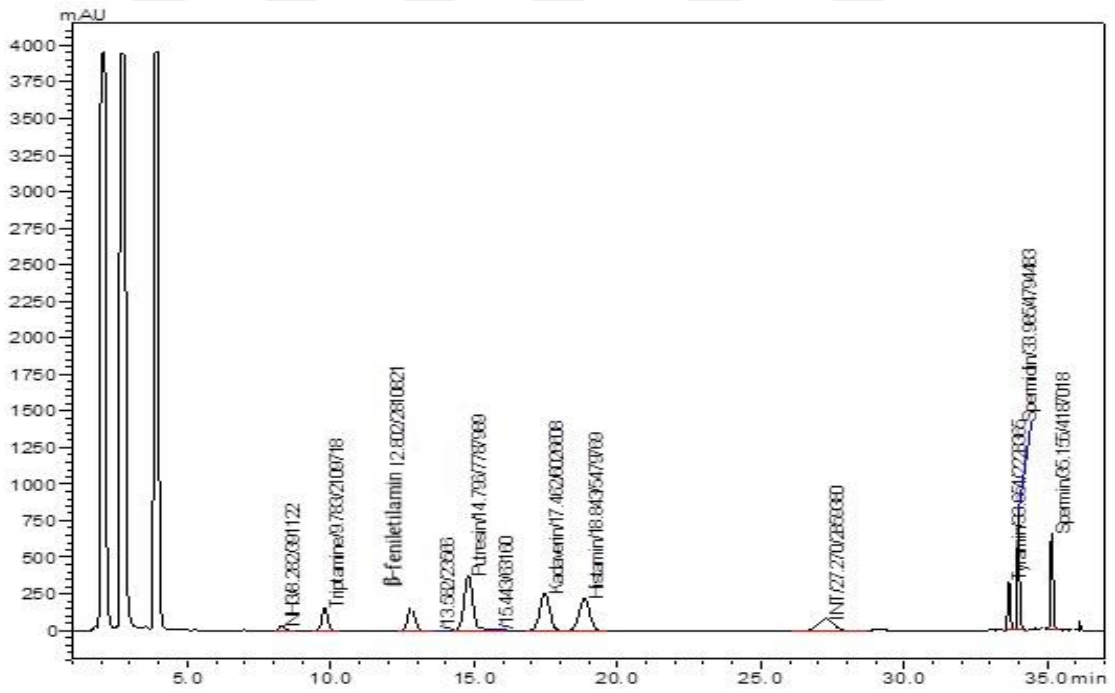
Şekil 10. Spermidin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 11. Spermin kalibrasyon eğrisi.



Şekil 12. HPLC biyojen aminlerin geliş sıralamasına ait kromatografi.



Şekil 13. HPLC karma biyojen aminlerin standart piklerine ait kromatografi.

#### 4. BULGULAR

Bütün ve temiz olarak 4 °C'de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler Tablo 7'de ve Şekil 14, 15, 18, 20, 21, 24 ve 25'de, bütün ve temiz olarak -18 °C'de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler Tablo 8'de ve Şekil 16, 17, 19, 22, 23, 26 ve 27'de verilmiştir.

Bütün olarak 4 °C'de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar Tablo 9'da, temiz olarak 4 °C'de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar Tablo 10'da, bütün olarak -18 °C'de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar Tablo 11'de, temiz olarak -18 °C'de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar Tablo 12'de verilmiştir.

**Tablo 7.** Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler.

Parametreler		Muhafaza Süresi (Gün)								İstatistik Değerler		
Mikroorganizma sayısı (log <sub>10</sub> kob/g)	Uyg. Şekli	0.Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün	12. Gün	14. Gün	Min.	Max.	Ortalama
<b>T. Aerob. Mezofil</b>	BB	3.10±0.08 <sup>D</sup>	#4.42±0.04 <sup>C</sup>	#4.23±0.35 <sup>C</sup>	4.99±0.14 <sup>B</sup>	5.07±0.12 <sup>B</sup>	5.28±0.33 <sup>B</sup>	5.47±0.08 <sup>B</sup>	6.10±0.20 <sup>A</sup>	3.04	6.24	4.83±0.90
	TB	3.14±0.10 <sup>D</sup>	3.08±0.17 <sup>D</sup>	3.14±0.08 <sup>D</sup>	4.56±0.06 <sup>C</sup>	5.15±0.16 <sup>B</sup>	5.55±0.05 <sup>A</sup>	5.20±0.13 <sup>B</sup>	5.53±0.22 <sup>A</sup>	2.96	5.69	4.42±1.09
<b>T. Aerob. Psikrofil</b>	BB	5.85±0.25 <sup>E</sup>	#6.90±0.13 <sup>D</sup>	7.35±0.25 <sup>CD</sup>	7.39±0.13 <sup>CD</sup>	7.75±0.21 <sup>BC</sup>	#7.95±0.05 <sup>AB</sup>	8.28±0.16 <sup>A</sup>	8.24±0.33 <sup>AB</sup>	5.68	8.47	7.46±0.79
	TB	5.63±0.04 <sup>E</sup>	5.32±0.09 <sup>E</sup>	6.34±0.22 <sup>D</sup>	7.36±0.17 <sup>C</sup>	7.77±0.02 <sup>B</sup>	8.31±0.10 <sup>A</sup>	8.25±0.27 <sup>A</sup>	8.58±0.10 <sup>A</sup>	5.26	8.65	7.20±1.23
<b>Pseudomonas spp.</b>	BB	3.09±0.13 <sup>E</sup>	#3.72±0.10 <sup>CD</sup>	3.63±0.06 <sup>D</sup>	#3.98±0.08 <sup>C</sup>	3.79±0.13 <sup>CD</sup>	4.57±0.12 <sup>B</sup>	4.44±0.19 <sup>B</sup>	6.15±0.11 <sup>A</sup>	3.00	6.22	4.16±0.90
	TB	2.98±0.09 <sup>E</sup>	2.80±0.08 <sup>E</sup>	3.31±0.11 <sup>D</sup>	3.07±0.23 <sup>DE</sup>	4.17±0.12 <sup>C</sup>	4.25±0.07 <sup>C</sup>	4.78±0.06 <sup>B</sup>	6.46±0.06 <sup>A</sup>	2.75	6.50	3.98±1.19
<b>Maya/küf</b>	BB	1.85±0.21 <sup>D</sup>	#3.05±0.13 <sup>B</sup>	3.07±0.10 <sup>B</sup>	3.55±0.09 <sup>A</sup>	#2.44±0.04 <sup>C</sup>	#2.27±0.05 <sup>C</sup>	3.57±0.11 <sup>A</sup>	3.28±0.32 <sup>A</sup>	1.70	3.65	2.88±0.62
	TB	1.47±0.10 <sup>D</sup>	2.24±0.05 <sup>C</sup>	3.26±0.12 <sup>AB</sup>	3.14±0.15 <sup>B</sup>	3.47±0.18 <sup>AB</sup>	3.51±0.03 <sup>B</sup>	3.17±0.21 <sup>B</sup>	3.57±0.13 <sup>A</sup>	1.40	3.66	2.98±0.72
<b>Koliform grubu</b>	BB	1.82±0.16 <sup>D</sup>	#3.48±0.09 <sup>B</sup>	#3.78±0.11 <sup>A</sup>	#3.90±0.09 <sup>A</sup>	3.20±0.13 <sup>BC</sup>	3.31±0.10 <sup>B</sup>	2.95±0.18 <sup>C</sup>	4.01±0.11 <sup>A</sup>	1.70	4.09	3.30±0.69
	TB	1.64±0.14 <sup>E</sup>	2.60±0.08 <sup>C</sup>	2.56±0.06 <sup>D</sup>	2.44±0.03 <sup>D</sup>	2.99±0.12 <sup>D</sup>	3.48±0.04 <sup>C</sup>	3.33±0.07 <sup>B</sup>	3.81±0.11 <sup>A</sup>	1.54	3.86	2.86±0.67
<b>Fekal streptokok</b>	BB	<1	1.17±0.13 <sup>C</sup>	#2.58±0.07 <sup>A</sup>	#2.38±0.10 <sup>AB</sup>	#2.33±0.14 <sup>AB</sup>	#2.30±0.04 <sup>AB</sup>	2.15±0.21 <sup>B</sup>	2.52±0.10 <sup>A</sup>	<1	2.63	2.05±0.60
	TB	<1	<1	1.15±0.21 <sup>D</sup>	1.45±0.21 <sup>C</sup>	1.61±0.19 <sup>C</sup>	2.61±0.05 <sup>AB</sup>	2.50±0.02 <sup>B</sup>	2.82±0.01 <sup>A</sup>	<1	2.82	1.77±0.74
<b>Enterobakteri’ler</b>	BB	2.10±0.11 <sup>E</sup>	#4.04±0.11 <sup>D</sup>	#4.77±0.04 <sup>C</sup>	4.78±0.23 <sup>C</sup>	4.82±0.16 <sup>C</sup>	#4.97±0.02 <sup>BC</sup>	#5.27±0.09 <sup>B</sup>	#5.79±0.24 <sup>A</sup>	2.02	5.96	4.56±1.08
	TB	2.34±0.06 <sup>G</sup>	3.28±0.06 <sup>F</sup>	4.15±0.07 <sup>E</sup>	4.43±0.14 <sup>D</sup>	5.31±0.14 <sup>C</sup>	5.51±0.02 <sup>C</sup>	6.05±0.13 <sup>B</sup>	6.63±0.06 <sup>A</sup>	2.30	6.67	4.71±1.39
<b>Laktobasil’ler</b>	BB	1.59±0.16 <sup>E</sup>	#3.20±0.09 <sup>D</sup>	#3.13±0.05 <sup>D</sup>	#4.43±0.11 <sup>C</sup>	#5.61±0.04 <sup>A</sup>	#5.54±0.05 <sup>A</sup>	#4.92±0.01 <sup>B</sup>	4.86±0.06 <sup>B</sup>	1.48	5.64	4.16±1.36
	TB	2.13±0.10 <sup>F</sup>	2.28±0.04 <sup>F</sup>	2.57±0.09 <sup>E</sup>	3.56±0.06 <sup>D</sup>	4.07±0.10 <sup>C</sup>	5.26±0.07 <sup>A</sup>	5.30±0.10 <sup>A</sup>	4.68±0.16 <sup>B</sup>	2.06	5.37	3.72±1.26
<b>pH</b>	BB	6.54±0.23 <sup>C</sup>	6.64±0.04 <sup>BC</sup>	6.49±0.12 <sup>C</sup>	#6.58±0.04 <sup>BC</sup>	#6.62±0.06 <sup>BC</sup>	#6.81±0.01 <sup>AB</sup>	#6.60±0.01 <sup>BC</sup>	6.89±0.01 <sup>A</sup>	6.38	6.90	6.64±0.15
	TB	6.52±0.06 <sup>D</sup>	6.65±0.00 <sup>C</sup>	6.78±0.01 <sup>B</sup>	6.75±0.04 <sup>B</sup>	6.89±0.04 <sup>A</sup>	6.67±0.02 <sup>C</sup>	6.78±0.04 <sup>B</sup>	6.95±0.02 <sup>A</sup>	6.48	6.96	6.75±0.13
<b>TVB-N (mg/100 g)</b>	BB	11.34±0.20 <sup>E</sup>	#11.41±0.10 <sup>E</sup>	#12.67±0.10 <sup>DE</sup>	14.35±0.50 <sup>CD</sup>	#16.45±0.50 <sup>C</sup>	26.95±0.50 <sup>B</sup>	28.00±1.98 <sup>B</sup>	30.80±1.98 <sup>A</sup>	11.20	32.20	18.99±7.93
	TB	11.76±0.20 <sup>CD</sup>	12.32±0.20 <sup>C</sup>	10.50±0.20 <sup>D</sup>	11.97±0.89 <sup>CD</sup>	13.51±0.30 <sup>C</sup>	25.69±0.69 <sup>B</sup>	30.45±0.49 <sup>A</sup>	26.61±1.57 <sup>B</sup>	10.36	30.80	17.85±7.95

**Tablo 7.** Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler.

<b>Duyusal analizler</b>	BB	9.00±0.00 <sup>A</sup>	7.92±0.65 <sup>B</sup>	6.62±0.16 <sup>C</sup>	4.04±0.35 <sup>D</sup>	1.87±0.42 <sup>E</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00	9.00	4.08±3.20
	TB	9.00±0.00 <sup>A</sup>	8.50±0.31 <sup>B</sup>	6.54±0.32 <sup>C</sup>	4.08±0.29 <sup>D</sup>	2.08±0.29 <sup>E</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00±0.00 <sup>F</sup>	1.00	9.00	4.15±3.26
<b>Biyojen Aminler</b>												
<b>(ppm) (n=3)</b>												
<b>Triptamin</b>	BB	#1.25±0.06 <sup>F</sup>	1.10±0.08 <sup>G</sup>	#1.54±0.15 <sup>CD</sup>	#1.61±0.07 <sup>C</sup>	1.47±0.09 <sup>DE</sup>	#2.72±0.04 <sup>B</sup>	#2.90±0.05 <sup>A</sup>	#1.36±0.17 <sup>EF</sup>	0.98	2.94	1.75±0.65
	TB	0.92±0.07 <sup>F</sup>	1.04±0.14 <sup>F</sup>	1.26±0.15 <sup>E</sup>	1.51±0.04 <sup>D</sup>	1.53±0.04 <sup>D</sup>	3.41±0.20 <sup>C</sup>	4.92±0.07 <sup>B</sup>	5.67±0.20 <sup>A</sup>	0.83	5.99	2.53±1.79
<b>β-feniletilamin</b>	BB	#1.36±0.09 <sup>C</sup>	#0.43±0.02 <sup>F</sup>	#1.02±0.09 <sup>D</sup>	#1.80±0.11 <sup>B</sup>	#0.71±0.08 <sup>E</sup>	#2.40±0.30 <sup>A</sup>	#0.76±0.05 <sup>E</sup>	#0.12±0.04 <sup>G</sup>	0.08	2.90	1.07±0.71
	TB	1.05±0.11 <sup>B</sup>	1.05±0.12 <sup>B</sup>	2.06±0.10 <sup>A</sup>	1.12±0.06 <sup>B</sup>	1.06±0.10 <sup>B</sup>	0.59±0.06 <sup>C</sup>	0.62±0.08 <sup>C</sup>	0.45±0.04 <sup>D</sup>	0.41	2.26	1.00±0.48
<b>Putresin</b>	BB	1.65±0.04 <sup>H</sup>	#3.44±0.26 <sup>F</sup>	#2.20±0.32 <sup>G</sup>	#5.66±0.26 <sup>E</sup>	#7.34±0.29 <sup>D</sup>	#14.29±0.34 <sup>B</sup>	#16.24±0.11 <sup>A</sup>	#10.85±0.41 <sup>C</sup>	1.58	16.37	7.71±5.25
	TB	1.68±0.10 <sup>E</sup>	0.94±0.07 <sup>F</sup>	1.60±0.18 <sup>E</sup>	1.15±0.16 <sup>EF</sup>	2.57±0.16 <sup>D</sup>	15.59±0.11 <sup>C</sup>	21.07±0.32 <sup>B</sup>	24.61±0.09 <sup>A</sup>	0.85	25.46	8.65±9.52
<b>Kadaverin</b>	BB	#1.64±0.04 <sup>H</sup>	#3.45±0.08 <sup>G</sup>	#4.51±0.42 <sup>F</sup>	#17.29±0.61 <sup>G</sup>	#41.81±1.22 <sup>A</sup>	#37.87±0.75 <sup>C</sup>	#36.05±0.45 <sup>D</sup>	#38.67±0.33 <sup>B</sup>	1.57	42.96	22.66±16.8
	TB	0.40±0.01 <sup>F</sup>	0.52±0.20 <sup>F</sup>	0.30±0.02 <sup>F</sup>	1.51±0.08 <sup>E</sup>	5.39±0.10 <sup>D</sup>	17.85±0.51 <sup>C</sup>	32.55±0.47 <sup>B</sup>	38.99±0.76 <sup>A</sup>	0.27	39.86	12.19±14.9
<b>Histamin</b>	BB	#1.30±0.04 <sup>D</sup>	#0.32±0.04 <sup>F</sup>	#ND	#0.74±0.03 <sup>E</sup>	#2.49±0.21 <sup>C</sup>	#4.89±0.08 <sup>A</sup>	#3.14±0.08 <sup>B</sup>	#1.25±0.03 <sup>D</sup>	ND	5.03	1.77±1.56
	TB	ND	ND	0.15±0.03 <sup>D</sup>	0.16±0.01 <sup>D</sup>	0.23±0.01 <sup>D</sup>	0.75±0.04 <sup>C</sup>	2.43±0.07 <sup>A</sup>	2.25±0.28 <sup>B</sup>	ND	2.57	0.75±0.96
<b>Tiramin</b>	BB	#1.25±0.01 <sup>F</sup>	#1.41±0.04 <sup>E</sup>	#1.37±0.03 <sup>E</sup>	#2.00±0.03 <sup>D</sup>	#2.41±0.07 <sup>C</sup>	3.32±0.19 <sup>A</sup>	#2.52±0.06 <sup>B</sup>	#2.43±0.05 <sup>BC</sup>	1.23	3.56	2.09±0.68
	TB	1.07±0.03 <sup>F</sup>	0.96±0.03 <sup>G</sup>	1.53±0.04 <sup>D</sup>	1.29±0.05 <sup>E</sup>	1.36±0.05 <sup>E</sup>	3.37±0.06 <sup>B</sup>	3.52±0.02 <sup>A</sup>	2.84±0.06 <sup>C</sup>	0.93	3.76	1.99±1.01
<b>Spermidin</b>	BB	#1.24±0.00 <sup>E</sup>	#1.13±0.01 <sup>F</sup>	1.27±0.02 <sup>E</sup>	#1.45±0.02 <sup>D</sup>	#1.42±0.03 <sup>D</sup>	#1.76±0.02 <sup>D</sup>	#1.57±0.01 <sup>C</sup>	#1.66±0.02 <sup>B</sup>	1.11	1.79	1.44±0.21
	TB	1.18±0.01 <sup>E</sup>	1.05±0.04 <sup>F</sup>	1.23±0.03 <sup>D</sup>	1.35±0.01 <sup>C</sup>	1.22±0.03 <sup>D</sup>	1.33±0.01 <sup>D</sup>	1.96±0.01 <sup>A</sup>	1.85±0.03 <sup>B</sup>	1.00	1.98	1.40±0.31
<b>Spermin</b>	BB	#1.28±0.02 <sup>E</sup>	#1.25±0.06 <sup>F</sup>	#1.15±0.01 <sup>G</sup>	#1.54±0.02 <sup>B</sup>	#1.11±0.01 <sup>H</sup>	#1.67±0.01 <sup>A</sup>	#1.31±0.01 <sup>D</sup>	#1.48±0.01 <sup>C</sup>	1.10	1.69	1.35±0.19
	TB	1.19±0.02 <sup>D</sup>	1.05±0.02 <sup>F</sup>	1.34±0.01 <sup>C</sup>	1.33±0.04 <sup>C</sup>	1.52±0.02 <sup>B</sup>	1.14±0.00 <sup>E</sup>	1.55±0.04 <sup>B</sup>	1.77±0.02 <sup>A</sup>	1.02	1.79	1.36±0.23

#: ↓ Bir değişken için, aynı muhafaza günleri içerisinde bütün ve temiz uygulamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05)

A,B, .....H: → Aynı uygulama şekli içinde muhafaza günleri arası farkı göstermektedir. ND: Not Detected (<LOD), BB: Bütün balık, TB: Temiz balık

**Tablo 8.** Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler.

İncelenen parametreler		Muhafaza Süresi (Gün)						İstatistik Değerler		
Mikroorganizma sayısı (log <sub>10</sub> kob/g)	Uygulama Şekli	1. Gün	15. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	120. Gün	Min.	Max.	Ortalama
<b>Toplam Aerobik Mezofil</b>	BB	#1.75±0.21	#2.02±0.09	1.93±0.21	2.27±0.05	2.01±0.23	2.12±0.31	1.60	2.34	2.02±0.22
	TB	3.20±0.20 <sup>A</sup>	3.00±0.05 <sup>AB</sup>	2.64±0.13 <sup>BC</sup>	2.36±0.30 <sup>C</sup>	2.34±0.03 <sup>C</sup>	2.51±0.04 <sup>C</sup>	2.15	3.33	2.67±0.36
<b>Toplam Aerobik Psikrofil</b>	BB	4.73±0.18 <sup>C</sup>	5.10±0.03 <sup>AB</sup>	4.79±0.04 <sup>BC</sup>	5.16±0.13 <sup>A</sup>	5.36±0.11 <sup>A</sup>	5.20±0.023 <sup>A</sup>	4.60	5.43	5.06±0.26
	TB	5.26±0.08	5.06±0.09	4.99±0.27	5.53±0.18	5.39±0.21	5.11±0.24	4.80	5.66	5.22±0.24
<b><i>Pseudomonas</i> spp.</b>	BB	#1.59±0.16 <sup>D</sup>	2.43±0.14 <sup>C</sup>	2.94±0.07 <sup>B</sup>	2.85±0.18 <sup>B</sup>	2.75±0.14 <sup>B</sup>	3.33±0.02 <sup>A</sup>	1.48	3.34	2.65±0.58
	TB	2.42±0.13 <sup>CD</sup>	2.22±0.11 <sup>D</sup>	2.80±0.12 <sup>B</sup>	2.59±0.11 <sup>BC</sup>	2.54±0.16 <sup>BC</sup>	3.26±0.10 <sup>A</sup>	2.14	3.33	2.64±0.35
<b>Maya/küf</b>	BB	1.84±0.08 <sup>B</sup>	2.51±0.11 <sup>A</sup>	2.31±0.04 <sup>A</sup>	#1.95±0.13 <sup>B</sup>	2.39±0.30 <sup>A</sup>	2.40±0.01 <sup>A</sup>	1.78	2.60	2.23±0.28
	TB	2.16±0.06 <sup>C</sup>	2.23±0.18 <sup>C</sup>	2.63±0.17 <sup>BC</sup>	3.15±0.26 <sup>A</sup>	3.05±0.20 <sup>AB</sup>	2.26±0.19 <sup>C</sup>	2.10	3.33	2.58±0.44
<b>Koliform grubu</b>	BB	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	TB	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<b>Fekal streptokok</b>	BB	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	TB	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<b>Enterobakteri’ler</b>	BB	#2.34±0.27 <sup>B</sup>	2.48±0.17 <sup>B</sup>	2.92±0.09 <sup>A</sup>	#2.35±0.04 <sup>B</sup>	3.08±0.05 <sup>A</sup>	2.37±0.02 <sup>B</sup>	2.15	3.11	2.59±0.33
	TB	3.36±0.18 <sup>A</sup>	2.35±0.12 <sup>C</sup>	3.06±0.15 <sup>AB</sup>	2.88±0.13 <sup>B</sup>	2.96±0.21 <sup>AB</sup>	2.75±0.19 <sup>BC</sup>	2.26	3.49	2.89±0.34
<b>Laktobasil’ler</b>	BB	<1	1.50±0.14 <sup>B</sup>	<1	1.39±0.12 <sup>B</sup>	1.72±0.10 <sup>A</sup>	<1	<1	1.78	1.27±0.30
	TB	1.45±0.21 <sup>ABC</sup>	1.86±0.13 <sup>A</sup>	1.16±0.21 <sup>C</sup>	1.69±0.13 <sup>AB</sup>	1.50±0.28 <sup>ABC</sup>	1.25±0.07 <sup>BC</sup>	1.01	1.95	1.48±0.29
<b>pH</b>	BB	6.63±0.18 <sup>A</sup>	6.59±0.04 <sup>AB</sup>	#6.61±0.01 <sup>A</sup>	#6.61±0.02 <sup>A</sup>	6.36±0.03 <sup>C</sup>	#6.41±0.01 <sup>CD</sup>	6.34	6.75	6.53±0.12
	TB	6.75±0.06 <sup>A</sup>	6.68±0.04 <sup>A</sup>	6.67±0.01 <sup>A</sup>	6.70±0.01 <sup>A</sup>	6.44±0.01 <sup>B</sup>	6.52±0.00 <sup>B</sup>	6.44	6.79	6.63±0.11
<b>TVB-N (mg/100 g)</b>	BB	12.60±0.99 <sup>B</sup>	12.46±0.20 <sup>B</sup>	11.48±0.20 <sup>B</sup>	14.35±0.50 <sup>A</sup>	15.05±0.50 <sup>A</sup>	14.35±0.50 <sup>A</sup>	11.34	15.40	13.38±1.39
	TB	12.39±0.30 <sup>B</sup>	12.32±0.20 <sup>B</sup>	12.11±0.10 <sup>B</sup>	13.30±0.10 <sup>AB</sup>	12.95±0.50 <sup>AB</sup>	14.14±0.20 <sup>A</sup>	12.04	14.28	12.87±0.81

**Tablo 8.** Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda muhafaza süresince analizi yapılan parametrelerde meydana gelen değişimler.

<b>Duyusal analizler</b>	BB	9.00±0.00 <sup>A</sup>	#7.71±0.31 <sup>B</sup>	#7.46±0.29 <sup>B</sup>	#6.21±0.21 <sup>C</sup>	5.75±0.50 <sup>C</sup>	5.16±0.36 <sup>D</sup>	4.83	9.00	6.88±1.36
	TB	9.00±0.00 <sup>A</sup>	8.21±0.21 <sup>B</sup>	8.08±0.39 <sup>B</sup>	6.62±0.16 <sup>C</sup>	6.08±0.55 <sup>D</sup>	5.29±0.34 <sup>E</sup>	4.83	9.00	7.20±1.37
<b>Biyojen Aminler (ppm) (n=3)</b>										
<b>Triptamin</b>	BB	1.10±0.04 <sup>BC</sup>	#1.17±0.04 <sup>AB</sup>	#1.15±0.03 <sup>AB</sup>	#1.22±0.04 <sup>A</sup>	0.99±0.12 <sup>D</sup>	1.05±0.07 <sup>CD</sup>	0.85	1.27	1.11±0.10
	TB	1.04±0.07 <sup>B</sup>	1.28±0.05 <sup>A</sup>	1.06±0.04 <sup>B</sup>	0.85±0.11 <sup>C</sup>	0.97±0.13 <sup>B</sup>	0.99±0.05 <sup>B</sup>	0.72	1.34	1.03±0.15
<b>β-feniletülin</b>	BB	#0.99±0.04 <sup>C</sup>	#0.89±0.04 <sup>D</sup>	#0.94±0.04 <sup>CD</sup>	#1.57±0.05 <sup>A</sup>	0.61±0.05 <sup>E</sup>	#1.24±0.02 <sup>B</sup>	0.56	1.64	1.03±0.31
	TB	0.93±0.05 <sup>C</sup>	1.74±0.07 <sup>A</sup>	1.14±0.03 <sup>B</sup>	0.93±0.04 <sup>C</sup>	0.65±0.06 <sup>D</sup>	1.17±0.03 <sup>B</sup>	0.56	1.80	1.09±0.34
<b>Putresin</b>	BB	#0.70±0.08 <sup>D</sup>	#0.81±0.04 <sup>BC</sup>	#0.86±0.11 <sup>B</sup>	#0.82±0.08 <sup>BC</sup>	#0.97±0.06 <sup>A</sup>	0.75±0.03 <sup>CD</sup>	0.61	1.04	0.82±0.11
	TB	0.46±0.06 <sup>B</sup>	0.67±0.11 <sup>A</sup>	0.73±0.10 <sup>A</sup>	0.66±0.06 <sup>A</sup>	0.69±0.15 <sup>A</sup>	0.71±0.04 <sup>A</sup>	0.39	0.86	0.66±0.12
<b>Kadaverin</b>	BB	#0.36±0.03 <sup>C</sup>	0.27±0.03 <sup>D</sup>	#0.35±0.06 <sup>C</sup>	#1.51±0.03 <sup>A</sup>	#0.81±0.05 <sup>B</sup>	ND	ND	1.56	0.55±0.50
	TB	0.25±0.03 <sup>B</sup>	0.23±0.03 <sup>B</sup>	ND	0.93±0.04 <sup>A</sup>	ND	ND	ND	1.00	0.24±0.34
<b>Histamin</b>	BB	ND	ND	0.17±0.01 <sup>B</sup>	#0.84±0.02 <sup>A</sup>	ND	ND	ND	0.87	0.17±0.31
	TB	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Tiramin</b>	BB	#0.87±0.05 <sup>D</sup>	#1.02±0.12 <sup>C</sup>	#1.23±0.04 <sup>B</sup>	#1.73±0.09 <sup>A</sup>	#1.03±0.04 <sup>C</sup>	#1.06±0.07 <sup>C</sup>	0.80	1.85	1.16±0.29
	TB	1.04±0.04 <sup>E</sup>	1.32±0.04 <sup>B</sup>	1.10±0.06 <sup>D</sup>	1.10±0.03 <sup>D</sup>	1.25±0.01 <sup>C</sup>	1.36±0.08 <sup>A</sup>	0.99	1.47	1.20±0.13
<b>Spermidin</b>	BB	#0.99±0.05 <sup>E</sup>	#1.00±0.09 <sup>E</sup>	#1.30±0.04 <sup>B</sup>	#1.77±0.01 <sup>A</sup>	#1.21±0.06 <sup>C</sup>	#1.09±0.05 <sup>D</sup>	0.92	1.78	1.23±0.27
	TB	1.32±0.05 <sup>A</sup>	1.33±0.02 <sup>A</sup>	1.25±0.03 <sup>B</sup>	1.17±0.05 <sup>C</sup>	1.33±0.03 <sup>A</sup>	1.36±0.03 <sup>A</sup>	1.12	1.40	1.29±0.07
<b>Spermin</b>	BB	#0.94±0.04 <sup>B</sup>	#1.07±0.09 <sup>A</sup>	#1.22±0.01 <sup>D</sup>	#1.83±0.08 <sup>C</sup>	#1.04±0.09 <sup>B</sup>	#1.12±0.02 <sup>A</sup>	0.88	1.90	1.20±0.30
	TB	1.24±0.04 <sup>E</sup>	1.46±0.01 <sup>CD</sup>	1.07±0.10 <sup>B</sup>	1.18±0.04 <sup>A</sup>	1.26±0.02 <sup>D</sup>	1.42±0.02 <sup>C</sup>	0.97	1.47	1.27±0.14

#: ↓ Bir değişken için, aynı muhafaza günleri içerisinde bütün ve temiz uygulamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ( $p < 0.05$ )

A, B, .....H: → Aynı uygulama şekli içinde muhafaza günleri arası farkı göstermektedir. ND: Not Detected (<LOD), BB: Bütün balık, TB: Temiz balık

**Tablo 9.** Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01).

İncelenen parametreler	pH	TVB-N	DA	TAM	TAP	PS	MK	KG	FS	EB	LB	TRM	PEA	PUT	CAD	HIS	TYM	SPD	SPM
<b>pH</b>	1																		
<b>TVB-N</b>	,667**	1																	
<b>Duyusal analizler</b>	-,558*	-,871**	1																
<b>Toplam Aerobik Mezofil</b>	,645**	,808**	-,896**	1															
<b>Toplam Aerobik Psikrofil</b>	,514*	,783**	-,901**	,934**	1														
<b><i>Pseudomonas spp.</i></b>	,738**	,855**	-,730**	,848**	,740**	1													
<b>Maya/küf</b>	-,041	,264	-,300	,529*	,506*	,411	1												
<b>Koliform grubu</b>	,335	,244	-,381	,650**	,595*	,529*	,668**	1											
<b>Fekal streptokok</b>	,251	,488	-,694**	,692**	,783**	,535*	,428	,681**	1										
<b>Enterobakteri’ler</b>	,423	,679**	-,815**	,917**	,949**	,750**	,646**	,785**	,832**	1									
<b>Laktobasil’ler</b>	,475	,676**	-,932**	,863**	,876**	,582*	,285	,486	,703**	,823**	1								
<b>Triptamin</b>	,187	,675**	-,649**	,431	,592*	,277	,167	-,038	,378	,427	,513*	1							
<b>β-feniletülin</b>	-,019	-,054	-,030	-,183	-,139	-,265	-,330	-,153	,071	-,197	,071	,433**	1						
<b>Putresin</b>	,523*	,920**	-,881**	,772**	,808**	,657**	,269	,146	,447	,656**	,763**	,838**	,100	1					
<b>Kadaverin</b>	,561*	,822**	-,967**	,833**	,827**	,672**	,137	,250	,606*	,711**	,919**	,541**	-,029	,838**	1				
<b>Histamin</b>	,404	,642**	-,673**	,383	,452	,251	-,298	-,233	,194	,239	,616*	,799**	,470**	,801**	,718**	1			
<b>Tiramin</b>	,587*	,775**	-,895**	,715**	,733**	,558*	-,023	,208	,541*	,606*	,873**	,715**	,319*	,882**	,893**	,867**	1		
<b>Spermidin</b>	,607*	,891**	-,896**	,756**	,742**	,711**	,110	,235	,624**	,633**	,773**	,671**	,292*	,862**	,847**	,748**	,917**	1	
<b>Spermin</b>	,560*	,516*	-,421*	,437	,314	,507*	,117	,278	,241	,298	,371	,420**	,575**	,497**	,322*	,464**	,605**	,696**	1



**Tablo 10.** Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01).

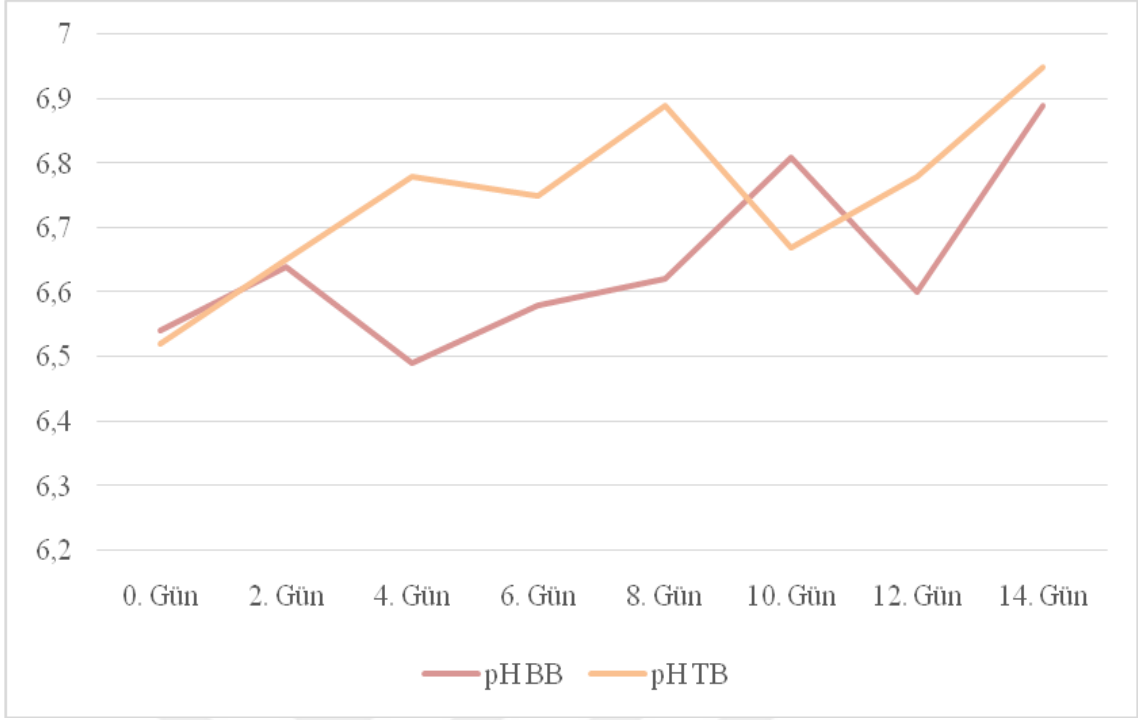
İncelenen parametreler	pH	TVB-N	DA	TAM	TAP	PS	MK	KG	FS	EB	LB	TRM	PEA	PUT	CAD	HIS	TYM	SPD	SPM
<b>pH</b>	1																		
<b>TVB-N</b>	,334	1																	
<b>Duyusal analizler</b>	-,659**	-,790**	1																
<b>Toplam Aerobik Mezofil</b>	,596*	,756**	-,967**	1															
<b>Toplam Aerobik Psikrofil</b>	,669**	,773**	-,984**	,966**	1														
<b><i>Pseudomonas spp.</i></b>	,714**	,791**	-,786**	,767**	,808**	1													
<b>Maya/küf</b>	,776**	,460	-,825**	,740**	,801**	,597*	1												
<b>Koliform grubu</b>	,683**	,804**	-,869**	,815**	,826**	,842**	,806**	1											
<b>Fekal streptokok</b>	,498*	,929**	-,910**	,883**	,905**	,869**	,653**	,890**	1										
<b>Enterobakteri’ler</b>	,794**	,788**	-,954**	,894**	,940**	,874**	,863**	,937**	,895**	1									
<b>Laktobasil’ler</b>	,510*	,880**	-,971**	,948**	,951**	,745**	,719**	,849**	,933**	,906**	1								
<b>Triptamin</b>	,538*	,936**	-,780**	,752**	,800**	,923**	,549*	,853**	,939**	,859**	,820**	1							
<b>β-feniletilamin</b>	-,177	-,722**	,587**	-,704**	-,568*	-,599*	-,179	-,583*	-,703**	-,525*	-,659**	-,696**	1						
<b>Putresin</b>	,447	,965**	-,754**	,730**	,769**	,895**	,474	,817**	,934**	,813**	,819**	,985**	-,717**	1					
<b>Kadaverin</b>	,529*	,941**	-,758**	,740**	,779**	,928**	,495	,828**	,921**	,839**	,805**	,993**	-,714**	,987**	1				
<b>Histamin</b>	,540*	,903**	-,703**	,661**	,722**	,885**	,450	,757**	,850**	,803**	,745**	,965**	-,623**	,940**	,970**	1			
<b>Tiramin</b>	,329	,961**	-,805**	,765**	,809**	,750**	,575*	,817**	,937**	,803**	,901**	,882**	-,609**	,911**	,862**	,829**	1		
<b>Spermidin</b>	,520*	,847**	-,704**	,648**	,723**	,813**	,424	,655**	,795**	,766**	,724**	,920**	-,555**	,883**	,920**	,968**	,781**	1	
<b>Spermin</b>	,843**	,483	-,656**	,618*	,701**	,815**	,564*	,567*	,581*	,758**	,544*	,682**	-,287*	,604**	,697**	,718**	,404**	,769**	1

**Tablo 11.** Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01).

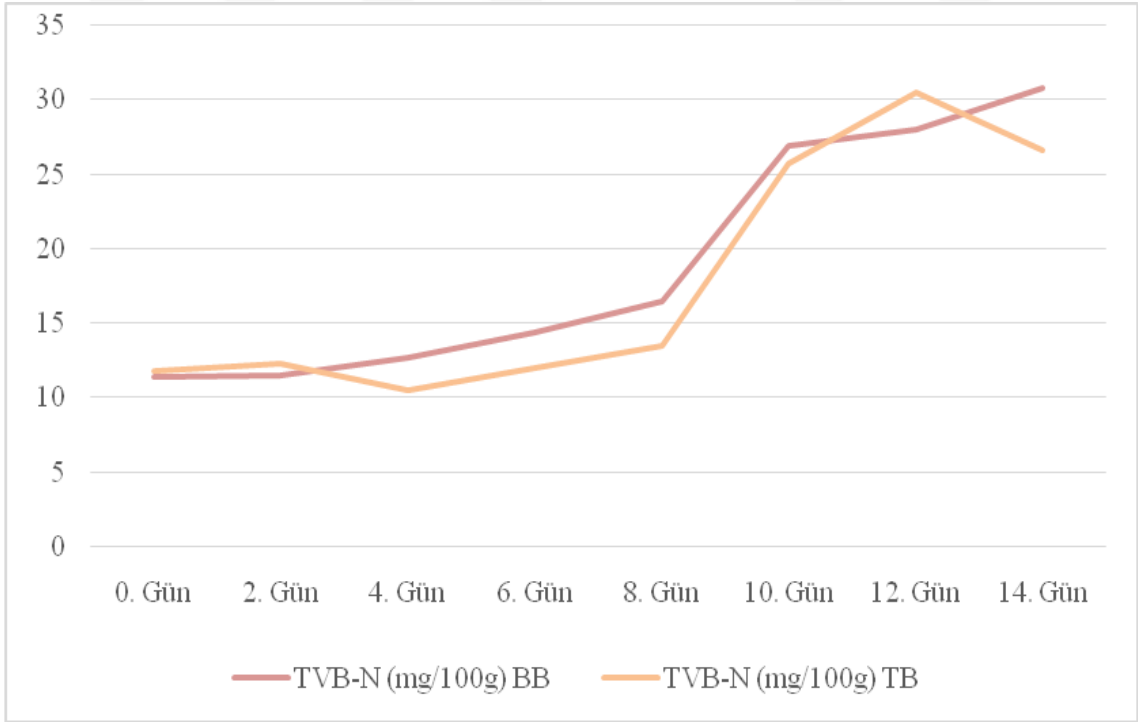
İncelenen parametreler	pH	TVB-N	DA	TAM	TAP	PS	MK	EB	LB	TRM	PEA	PUT	CAD	HIS	TYM	SPD	SPM
<b>pH</b>	1																
<b>TVB-N</b>	-,734**	1															
<b>Duyusal analizler</b>	,700*	-,741**	1														
<b>Toplam Aerobik Mezofil</b>	-,304	,455	-,398	1													
<b>Toplam Aerobik Psikrofil</b>	-,554	,698*	-,696*	,599*	1												
<b><i>Pseudomonas spp.</i></b>	-,468	,369	-,768**	,605*	,523	1											
<b>Maya/küf</b>	-,478	,082	-,292	,289	,466	,557	1										
<b>Enterobakteri’ler</b>	-,230	-,046	-,211	-,136	,228	,220	,410	1									
<b>Laktobasil’ler</b>	-,321	,496	-,296	,311	,680*	,072	,364	,394	1								
<b>Triptamin</b>	,647*	-,329	,324	,078	-,465	-,129	-,439	-,657*	-,300	1							
<b>β-feniletülin</b>	,351	,120	-,182	,434	-,040	,203	-,459	-,733**	-,360	,529**	1						
<b>Putresin</b>	-,171	-,110	-,298	,048	,150	,470	,463	,849**	,292	-,141	-,394*	1					
<b>Kadaverin</b>	,098	,438	-,193	,386	,279	,026	-,444	,027	,495	,309	,405*	,282	1				
<b>Histamin</b>	,343	,186	-,192	,487	,073	,218	-,460	-,242	,097	,545**	,769**	,043	,851**	1			
<b>Tiramin</b>	,220	,282	-,345	,516	,144	,407	-,375	-,210	,033	,552**	,711**	,103	,770**	,939**	1		
<b>Spermidin</b>	,194	,275	-,345	,465	,108	,365	-,421	-,063	,042	,450**	,629**	,241	,855**	,938**	,961**	1	
<b>Spermin</b>	,313	,187	-,295	,522	,081	,333	-,413	-,295	-,009	,581**	,781**	,076	,777**	,962**	,981**	,950**	1

**Tablo 12.** Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen balıklarda incelenen parametreler arası korelasyonlar (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01).

İncelenen parametreler	pH	TVB-N	DA	TAM	TAP	PS	MK	EB	LB	TRM	PEA	PUT	CAD	TYM	SPD	SPM
<b>pH</b>	1															
<b>TVB-N</b>	-,467	1														
<b>Duyusal analizler</b>	,744**	-,732**	1													
<b>Toplam Aerobik Mezofil</b>	,620*	-,386	,779**	1												
<b>Toplam Aerobik Psikrofil</b>	-,043	,331	-,086	-,232	1											
<b><i>Pseudomonas</i> spp.</b>	-,404	,672*	-,636*	-,402	-,024	1										
<b>Maya/küf</b>	-,270	,192	-,310	-,663*	,711**	,051	1									
<b>Enterobakteri’ler</b>	,193	-,085	,301	,161	,388	,172	,185	1								
<b>Laktobasil’ler</b>	,265	-,009	,292	,246	,520	-,519	,226	-,284	1							
<b>Triptamin</b>	-,090	-,406	,396	,541	-,531	-,300	-,544	-,271	,099	1						
<b>β-feniletilamin</b>	,375	-,212	,334	,481	-,545	-,185	-,564	-,665*	,311	,712**	1					
<b>Putresin</b>	-,481	,306	-,466*	-,845**	,075	,315	,671*	-,275	-,192	-,124	,197	1				
<b>Kadaverin</b>	,533	,109	,046	-,091	,570	-,297	,402	-,011	,509	-,375*	-,063	-,159	1			
<b>Tiramin</b>	-,656*	,580*	-,586**	-,255	-,182	,374	-,187	-,677*	,093	,294	,385*	,322	-,405*	1		
<b>Spermidin</b>	-,378	,109	-,047	,379	-,278	,193	-,583*	,057	-,136	,458**	,165	-,050	-,686**	,549**	1	
<b>Spermin</b>	-,290	,368	-,268	,176	-,073	-,063	-,414	-,635*	,429	,408*	,510**	,083	-,177	,775**	,591**	1



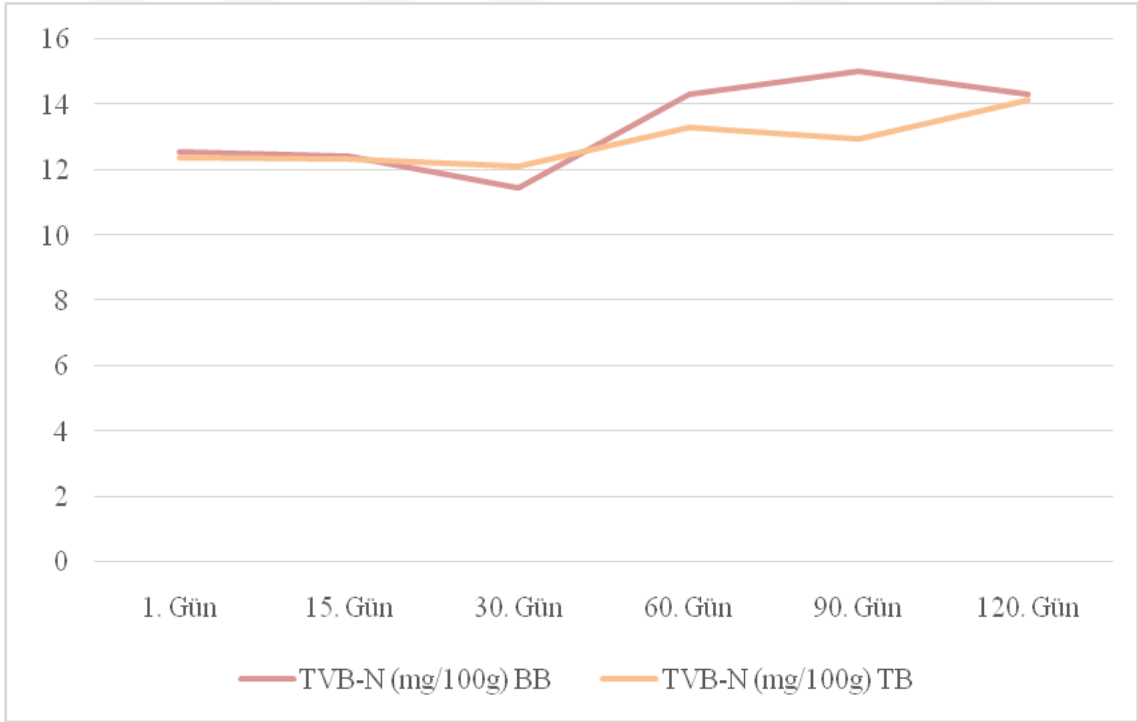
**Şekil 14.** Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait pH değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



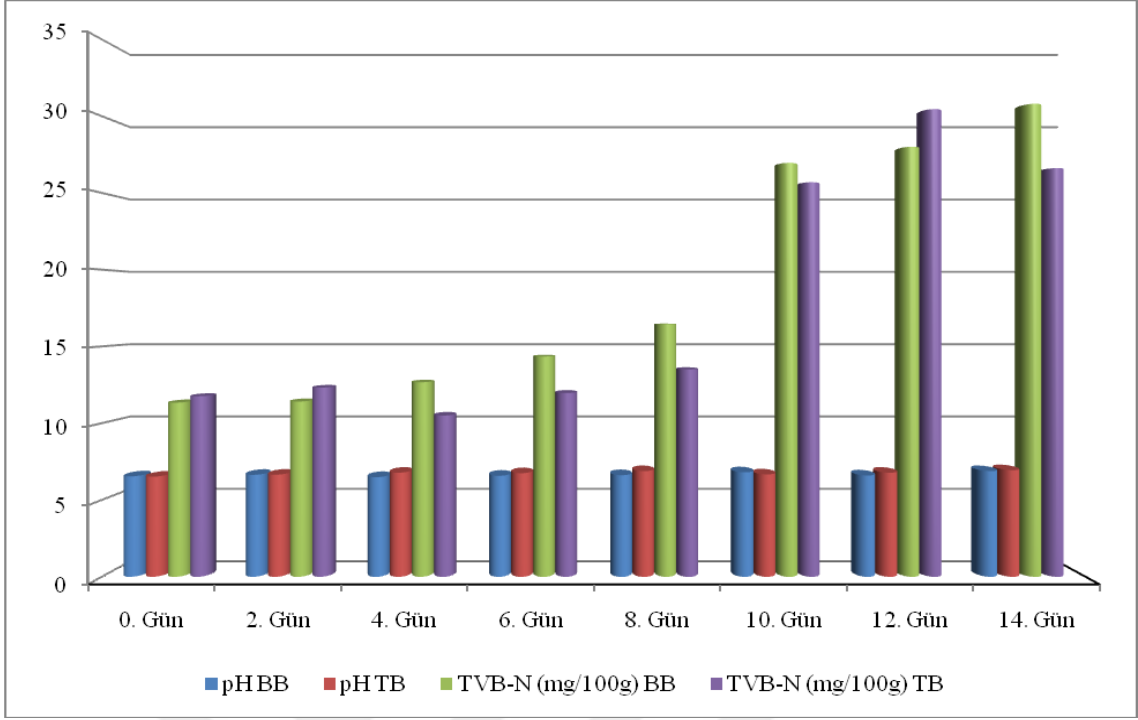
**Şekil 15.** Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



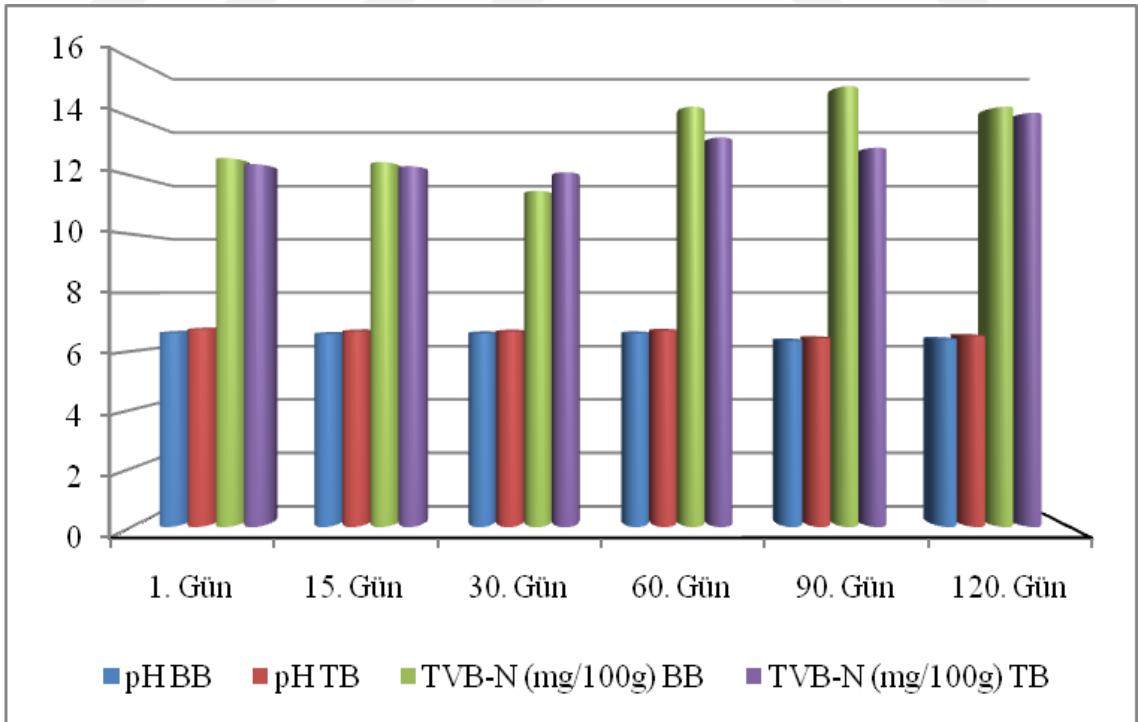
**Şekil 16.** Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait pH değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



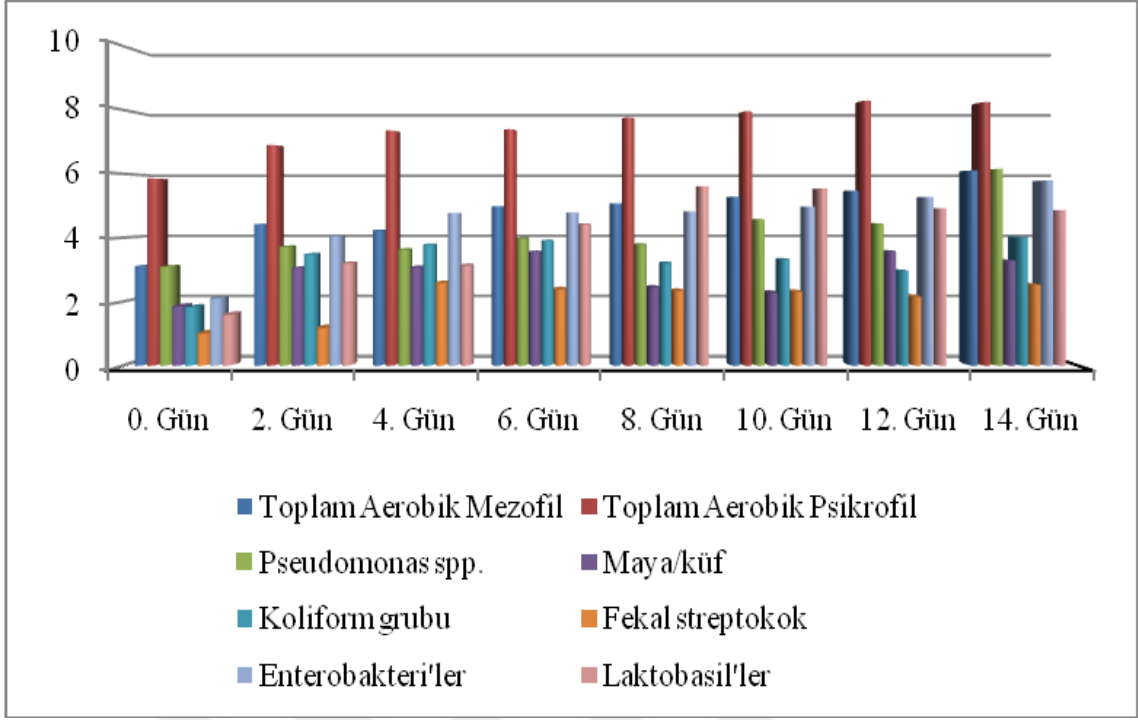
**Şekil 17.** Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



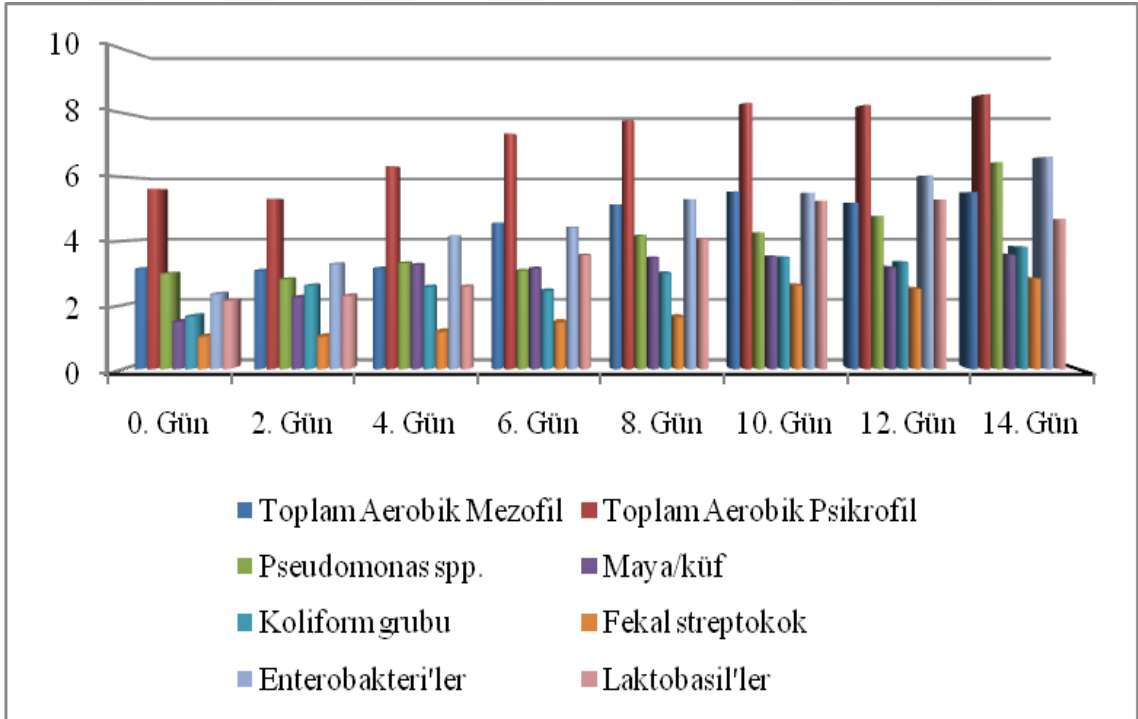
**Şekil 18.** Bütün ve temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait pH ve TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



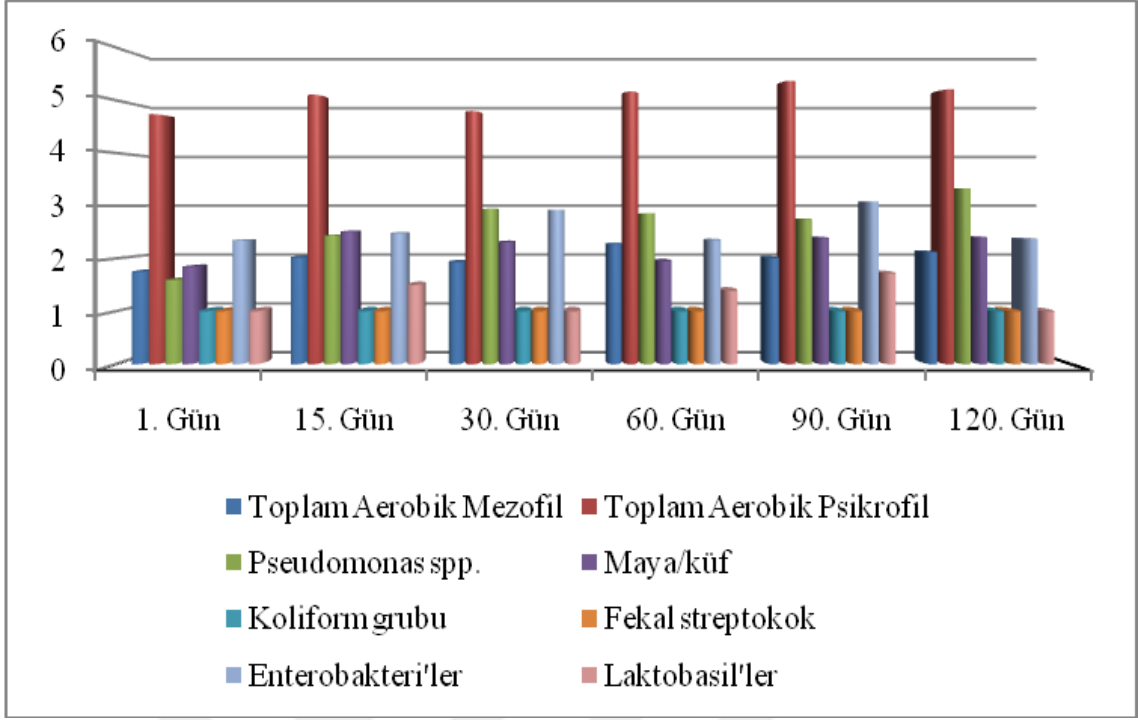
**Şekil 19.** Bütün ve temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait pH ve TVB-N (mg/100 g) değerleri (BB: Bütün balık, TB: Temiz balık).



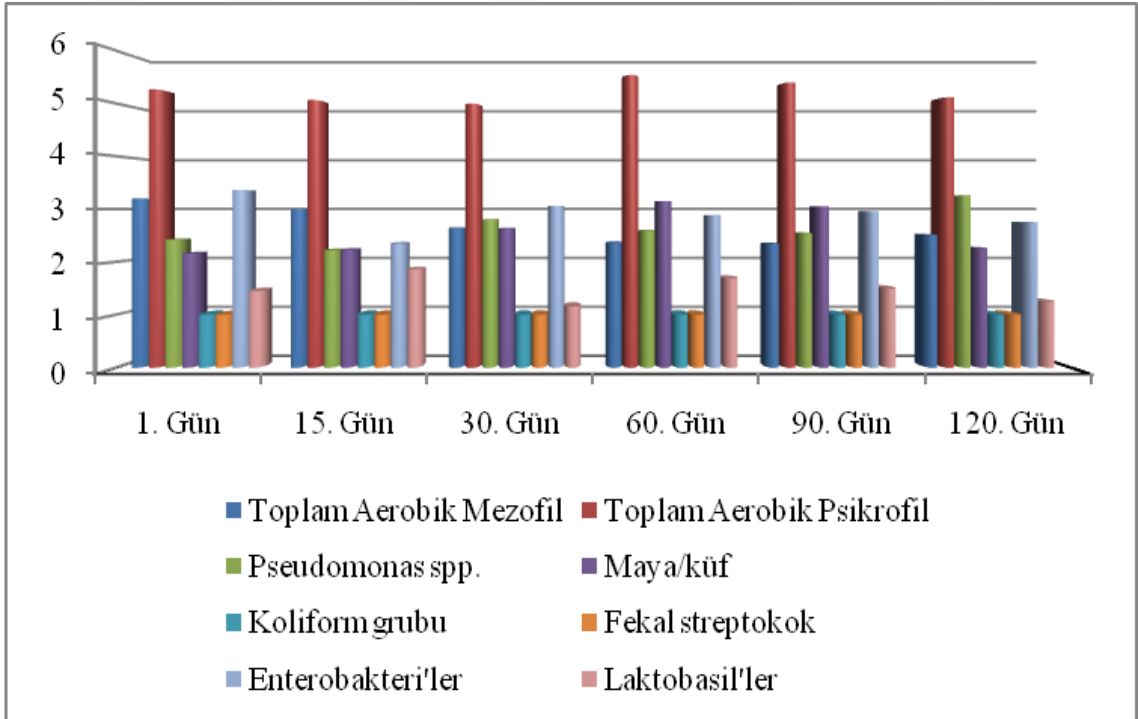
**Şekil 20.** Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları (log<sub>10</sub> kob/g).



**Şekil 21.** Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları (log<sub>10</sub> kob/g).

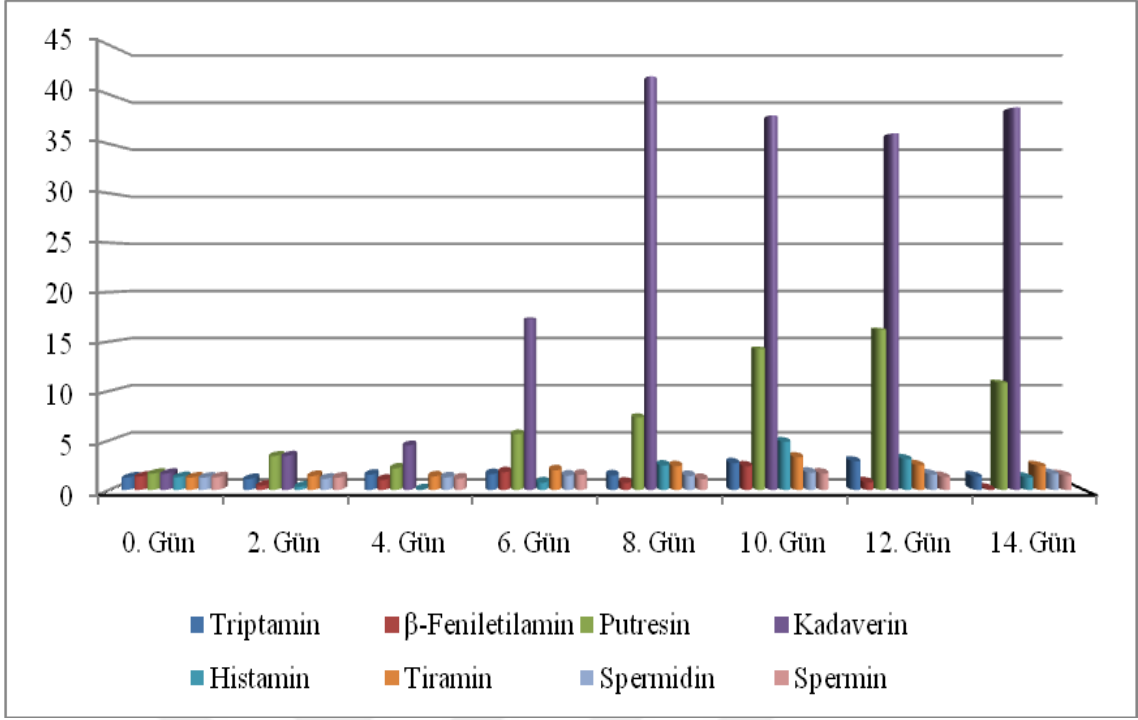


Şekil 22. Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları (log<sub>10</sub> kob/g).

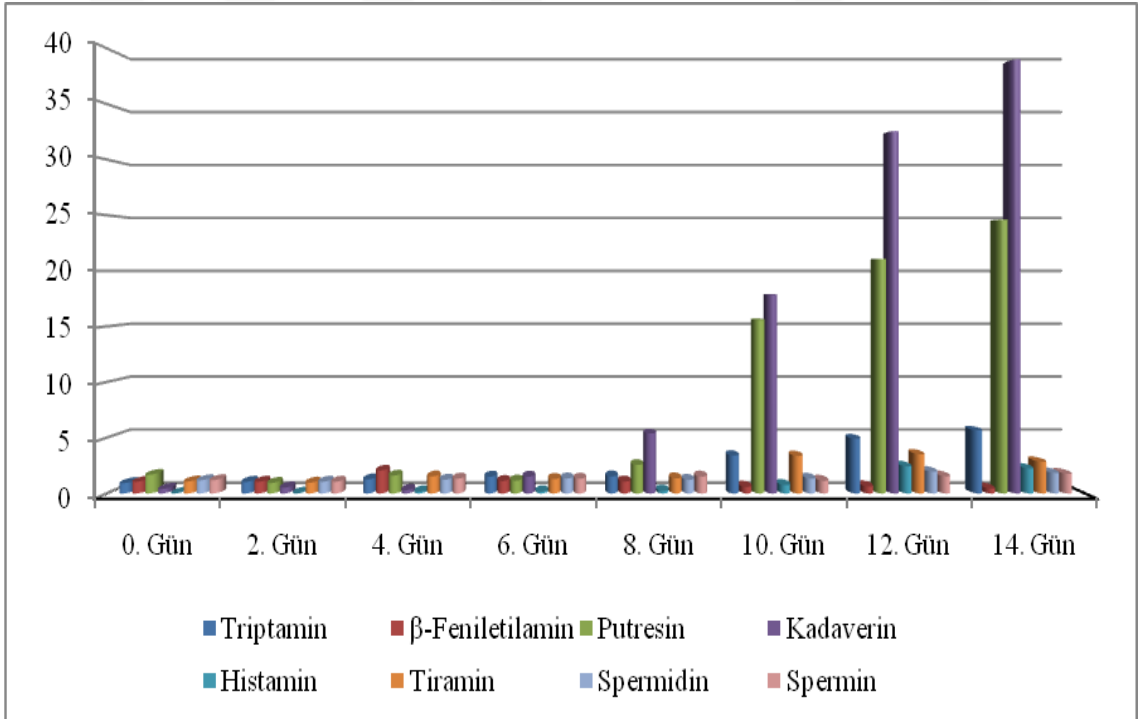


Şekil 23. Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait mikroorganizma sayıları (log<sub>10</sub> kob/g).

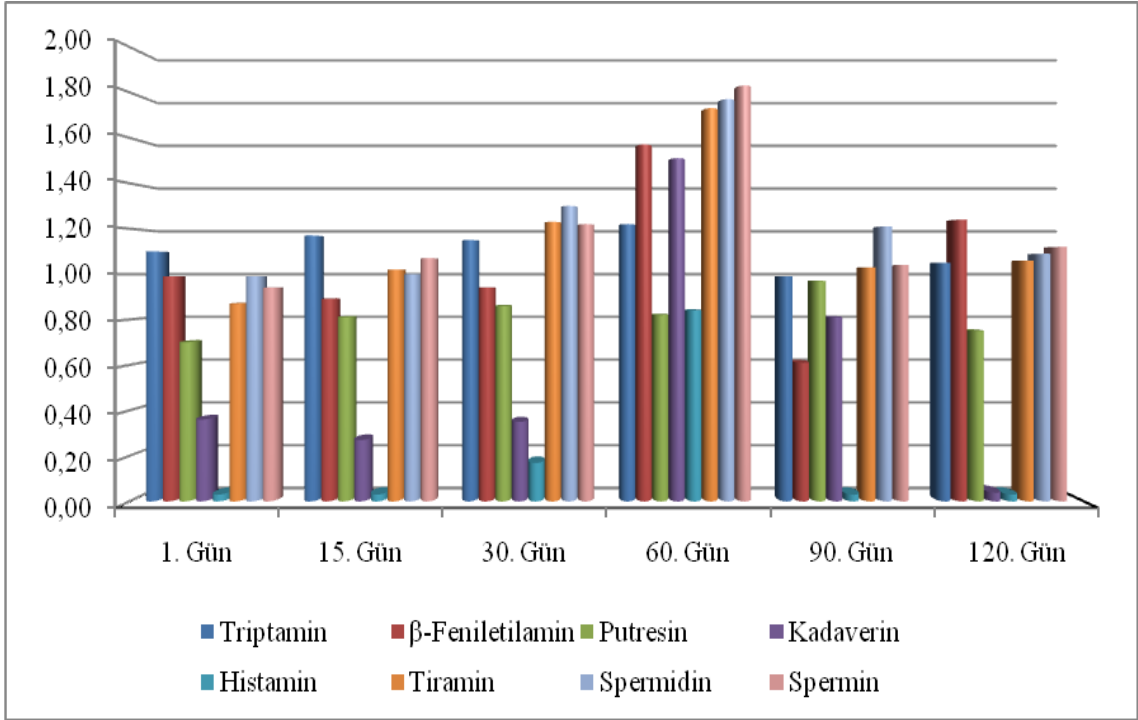




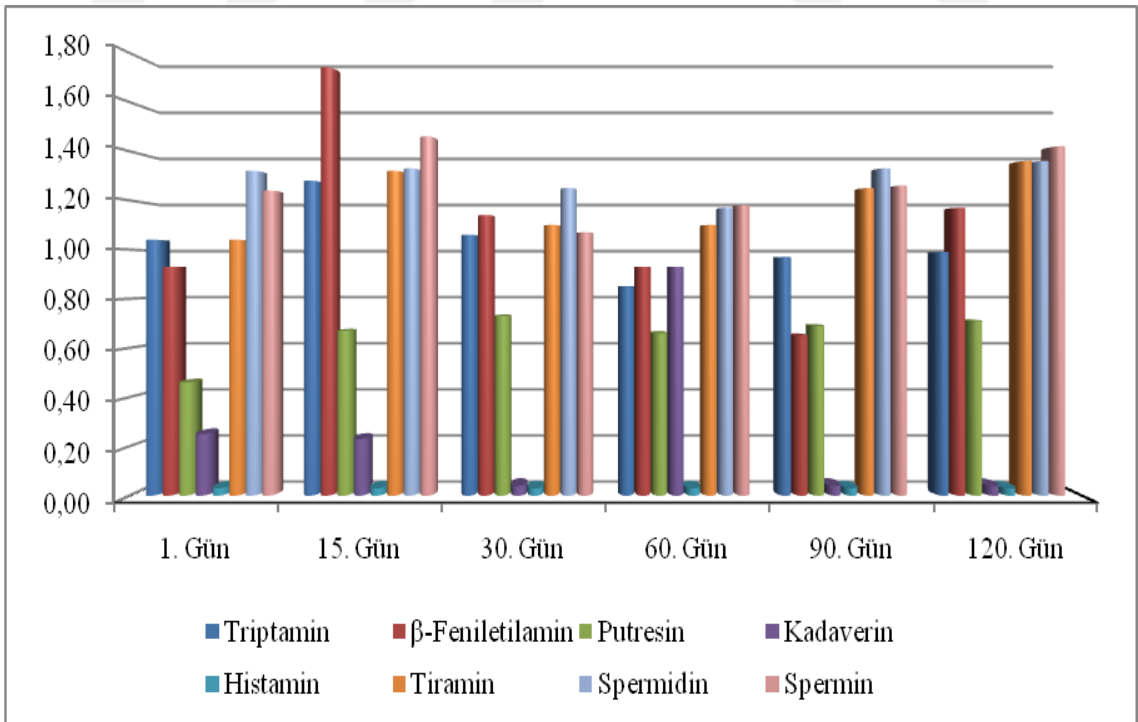
**Şekil 24.** Bütün olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).



**Şekil 25.** Temiz olarak 4 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).



**Şekil 26.** Bütün olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).



**Şekil 27.** Temiz olarak -18 °C’de muhafaza edilen örneklere ait biyojen amin miktarları (mg/kg).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu çalışmada Van ili Sarımehmet barajından avlanma yoluyla temin edilen sazan balıklarının bütün ve temizlenmiş olarak iki farklı uygulama biçiminde hazırlanan örneklerinin 4 °C’de 14 gün süreyle soğukta muhafazası ve -18 °C’de 120 gün süreyle dondurularak muhafaza süresince örneklerde mikrobiyolojik, kimyasal, duyuşsal ve biyojen amin miktarlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir.

4 °C’de soğukta muhafaza edilen örneklerin 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde bütün balık (SBB) ve temizlenmiş balık (STB) örneklerine ait toplam aerobik mezofilik mikroorganizma (TAM), toplam aerobik psikrofilik mikroorganizma (TAP), *Pseudomonas* spp. (PS), maya/küf (MK), koliform grubu mikroorganizma (KG), fekal streptokok (FS), *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizma (EB), *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* grubu mikroorganizma (LB), pH değeri, TVB-N miktarı, duyuşsal analiz puanları, biyojen aminlerden; triptamin (TRM),  $\beta$ -feniletülamın (PEA), putresin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HİM), tiramin (TYM), spermidin (SPD) ve spermin (SPM) miktarları belirlenmiştir.

Belirtilen günlerde analizi yapılan bu parametreler için SBB ile STB örneklerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri sırasıyla; TAM sayısı 3.04, 6.24 ve  $4.83\pm 0.90$  log<sub>10</sub> kob/g ile 2.96, 5.69 ve  $4.42\pm 1.09$  log<sub>10</sub> kob/g, TAP sayısı 5.68, 8.47 ve  $7.46\pm 0.79$  log<sub>10</sub> kob/g ile 5.26, 8.65 ve  $7.20\pm 1.23$  log<sub>10</sub> kob/g, PS sayısı 3.00, 6.22 ve  $4.16\pm 0.90$  log<sub>10</sub> kob/g ile 2.75, 6.50 ve  $3.98\pm 1.19$  log<sub>10</sub> kob/g, MK sayısı 1.70, 3.65 ve  $2.88\pm 0.62$  log<sub>10</sub> kob/g ile 1.40, 3.66 ve  $2.98\pm 0.72$  log<sub>10</sub> kob/g, KG sayısı 1.70, 4.09 ve  $3.30\pm 0.69$  log<sub>10</sub> kob/g ile 1.54, 3.86 ve  $2.86\pm 0.67$  log<sub>10</sub> kob/g, FS sayısı <1 log<sub>10</sub> kob/g, 2.63 ve  $2.05\pm 0.60$  log<sub>10</sub> kob/g ile <1 log<sub>10</sub> kob/g, 2.82 ve  $1.77\pm 0.74$  log<sub>10</sub> kob/g, EB sayısı 2.02, 5.96 ve  $4.56\pm 1.08$  log<sub>10</sub> kob/g ile 2.30, 6.67 ve  $4.71\pm 1.39$  log<sub>10</sub> kob/g, LB sayısı 1.48, 5.64 ve  $4.16\pm 1.36$  log<sub>10</sub> kob/g ile 2.06, 5.37 ve  $3.72\pm 1.26$  log<sub>10</sub> kob/g; pH değeri 6.38, 6.90 ve  $6.64\pm 0.15$  ile 6.48, 6.96 ve  $6.75\pm 0.13$ , TVB-N miktarı 11.20, 32.20 ve  $18.99\pm 7.93$  mg/100 g ile 10.36, 30.80 ve  $17.85\pm 7.95$  mg/100 g; duyuşsal analiz puanları 1.00, 9.00 ve  $4.08\pm 3.20$  ile 1.00, 9.00 ve  $4.15\pm 3.26$ ; biyojen aminlerden TRM miktarı 0.98, 2.94 ve  $1.75\pm 0.65$  ppm ile 0.83, 5.99 ve  $2.53\pm 1.79$  ppm,  $\beta$ -feniletülamın miktarı 0.08, 2.90 ve  $1.07\pm 0.71$  ppm ile 0.41, 2.26 ve  $1.00\pm 0.48$  ppm, PUT miktarı

1.58, 16.37 ve  $7.71 \pm 5.25$  ppm ile 0.85, 25.46 ve  $8.65 \pm 9.52$  ppm, CAD miktarı 1.57, 42.96 ve  $22.66 \pm 16.08$  ppm ile 0.27, 39.86 ve  $12.19 \pm 14.09$  ppm, HIS miktarı ND (<LOD), 5.03 ve  $1.77 \pm 1.56$  ppm ile ND (<LOD), 2.57 ve  $0.75 \pm 0.96$  ppm, TYM miktarı 1.23, 3.56 ve  $2.09 \pm 0.68$  ppm ile 0.93, 3.76 ve  $1.99 \pm 1.01$  ppm, SPD miktarı 1.11, 1.79 ve  $1.44 \pm 0.21$  ppm ile 1.00, 1.98 ve  $1.40 \pm 0.31$  ppm, SPM miktarı 1.10, 1.69 ve  $1.35 \pm 0.19$  ppm ile 1.02, 1.79 ve  $1.36 \pm 0.23$  ppm olarak tespit edilmiştir.

-18 °C’de dondurularak muhafaza edilen örneklerin 1., 15., 30., 60., 90. ve 120. günlerde bütün balık (DBB) ve temizlenmiş balık (DTB) örneklerine ait toplam aerobik mezofilik mikroorganizma (TAM), toplam aerobik psikrofilik mikroorganizma (TAP), *Pseudomonas* spp. (PS), maya/küf (MK), koliform grubu mikroorganizma (KG), fekal streptokok (FS), *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizma (EB), *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* grubu mikroorganizma (LB), pH değeri, TVB-N miktarı, duyu analizi puanları, biyogen aminlerden; triptamin (TRM),  $\beta$ -feniletülin (PEA), putresin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HIM), tiramin (TYM), spermidin (SPD) ve spermin (SPM) miktarları belirlenmiştir.

Belirtilen günlerde analizi yapılan bu parametreler için DBB ile DTB örneklerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri sırasıyla; TAM sayısı 1.60, 2.34 ve  $2.02 \pm 0.22$  log<sub>10</sub> kob/g ile 2.15, 3.33 ve  $2.67 \pm 0.36$  log<sub>10</sub> kob/g, TAP sayısı 4.60, 5.43 ve  $5.06 \pm 0.26$  log<sub>10</sub> kob/g ile 4.80, 5.66 ve  $5.22 \pm 0.24$  log<sub>10</sub> kob/g, PS sayısı 1.48, 3.34 ve  $2.65 \pm 0.58$  ile 2.14, 3.33 ve  $2.64 \pm 0.35$  log<sub>10</sub> kob/g, MK sayısı 1.78, 2.60 ve  $2.23 \pm 0.28$  ile 2.10, 3.33 ve  $2.58 \pm 0.44$  log<sub>10</sub> kob/g, KG sayısı her iki uygulama şeklinde de <1 log<sub>10</sub> kob/g, <1 log<sub>10</sub> kob/g ve <1 log<sub>10</sub> kob/g, FS sayıları her iki uygulama şeklinde de <1 log<sub>10</sub> kob/g, <1 log<sub>10</sub> kob/g ve <1 log<sub>10</sub> kob/g, EB sayısı 2.15, 3.11 ve 2.59 log<sub>10</sub> kob/g ile 2.26, 3.49 ve  $2.89 \pm 0.34$  log<sub>10</sub> kob/g, LB sayısı <1 log<sub>10</sub> kob/g, 1.78 ve  $1.27 \pm 0.30$  log<sub>10</sub> kob/g ile 1.01, 1.95 ve  $1.48 \pm 0.29$  log<sub>10</sub> kob/g; pH değeri 6.34, 6.75 ve  $6.53 \pm 0.12$  ile 6.44, 6.79 ve  $6.63 \pm 0.11$ ; TVB-N miktarı 11.34, 15.40 ve  $13.38 \pm 1.39$  mg/100 g ile 12.04, 14.28 ve  $12.87 \pm 0.81$  mg/100 g; duyu analizi puanları 4.83, 9.00 ve  $6.88 \pm 1.36$  ile 4.83, 9.00 ve  $7.20 \pm 1.37$ ; biyogen aminlerden TRM miktarı 0.85, 1.27 ve  $1.11 \pm 0.10$  ppm ile 0.72, 1.34 ve  $1.03 \pm 0.15$  ppm,  $\beta$ -feniletülin miktarı 0.56, 1.64 ve  $1.03 \pm 0.31$  ppm ile 0.56, 1.80 ve  $1.09 \pm 0.34$  ppm, PUT miktarı 0.61, 1.04 ve  $0.82 \pm 0.11$  ppm ile 0.39, 0.86 ve  $0.66 \pm 0.12$  ppm, CAD miktarı ND (<LOD), 1.56 ve  $0.55 \pm 0.50$

ppm ile ND (<LOD), 1.00 ve  $0.24\pm 0.34$  ppm, HIS miktarı ND (<LOD), 0.87 ve  $0.17\pm 0.31$  ppm ile min., max. ve ortalama değerler ND (<LOD), TYM miktarı 0.80, 1.85 ve  $1.16\pm 0.29$  ppm ile 0.99, 1.47 ve  $1.20\pm 0.13$  ppm, SPD miktarı 0.92, 1.78 ve  $1.23\pm 0.27$  ppm ile 1.12, 1.40 ve  $1.29\pm 0.07$  ppm, SPM miktarı 0.88, 1.90 ve  $1.20\pm 0.30$  ppm ile 0.97, 1.47 ve  $1.27\pm 0.14$  ppm olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular incelendiğinde 4 °C’de soğukta muhafaza edilen SBB ve STB örneklerinde muhafazanın başlangıcında TAM sayısı sırasıyla  $3.10\pm 0.08$  ve  $3.14\pm 0.10$  log<sub>10</sub> kob/g olup başlangıçtaki düşük TAM değerleri balık örneklerinin iyi kalitede olduğunu göstermekte olup, ICMSF (1986)’e göre çoğu su ürününün hasat veya avlanma sırasındaki mikrobiyal yükünün 10<sup>2</sup>-10<sup>5</sup> kob/g arasında olabileceği bildirilmiştir (Tablo 7).

Zhang ve ark. (2011) temizlenmiş ot sazani örneklerinde muhafaza başlangıcında TAM sayısını 3.45 log<sub>10</sub> kob/g, Rong ve ark. (2009) bütün haldeki tilapia balıklarında 3.00 log<sub>10</sub> kob/g ile temizlenmiş haldeki tilapialarda ise 3.20 log<sub>10</sub> kob/g ve Fan ve ark. (2009) temizlenmiş haldeki gümüş sazanlarında 2.90 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit etmişler ve bu çalışmada belirlenen TAM değerlerine benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Araştırma bulgularından farklı olarak Krizek ve ark. (2004), 3 °C’de vakumlanmadan muhafaza edilen sazan filetolarında muhafazanın başlangıcında TAM sayısını ortalama 4.49 log<sub>10</sub> kob/g iken 14 günlük muhafaza süresi sonunda 9.25 log<sub>10</sub> kob/g olarak belirlendiğini ve tüketilebilirlik sınır değerini aştığını bildirmişlerdir. İlgili çalışmada muhafazanın başlangıcındaki mikrobiyal yükün fazlalığının, örneklerin elde edildiği suların mikrobiyal yükünün fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Lunda ve ark. (2016) normal atmosfer basıncı altında paketlenmiş sazan filetolarında  $3.8\pm 0.5$  °C’de 8 günlük muhafaza süresince kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmada, bu çalışmanın sonuçlarına benzer bulgular elde etmişlerdir. TAM sayısını muhafaza başlangıcında 2.30-2.69 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit ederken 3 günlük muhafaza sonunda 3.19-3.90 log<sub>10</sub> kob/g, 6. günde 4.03-6.00 log<sub>10</sub> kob/g ve 9. günde ise 6.35-8.28 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre muhafaza başlangıcında TAM sayısı SBB örneklerinde  $3.10\pm 0.08$  log<sub>10</sub> kob/g ve STB örneklerinde 3.14 log<sub>10</sub> kob/g olup belirlenen bu değerler ilgili araştırmacıların

bulgularından biraz yüksek olurken, 6. günde belirlenen değerlerin ( $4.99 \pm 0.14 \log_{10}$  kob/g ve  $4.56 \pm 0.06 \log_{10}$  kob/g) bu araştırma bulgularına benzer olduğu görülmektedir. Muhafaza başlangıcında TAM sayısının diğer araştırmaların sonuçlarından farklı olmasının örneklerin temizlenmesi ve hazırlık proseslerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu araştırma sonuçlarından farklı olarak Zhang ve ark. (2015b) tarafından normal atmosfer basıncı altında paketlenmiş sazan filetolarında  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 8 gün muhafaza edilen örneklerin muhafaza başlangıcındaki TAM sayısı  $3.53 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiş ve kabul edilebilirlik üst sınırı olan  $7 \log_{10}$  kob/g (ICMSF, 1986) değerini 6. günde aşarak  $8.67 \log_{10}$  kob/g olduğu belirlenmiştir. Örneklerin duyusal olarak red edildiği 8. günde ise  $8.79 \log_{10}$  kob/g olduğu görülmüştür. Bu araştırmada kullanılan örnekler Şubat ayında temin edilmiş olup diğer araştırmacılara ait sonuçlara göre farklı değerlerin görülmesinin; örneklerin temin edildiği suyun mikroflorasından, mevsimsel dönemden (Eylül) ve transport sürecindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Hasani ve Hasani (2014),  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetolarında TAM ve TAP sayısında muhafaza süresince önemli artışlar olduğunu, özellikle muhafazanın 6. ve 9. günlerinde bu artışların daha yüksek olduğunu, TAM sayısının muhafazanın başlangıcında  $4 \log_{10}$  kob/g'ın üzerinde olduğunu, muhafazanın 6. gününde  $6 \log_{10}$  kob/g olarak belirlendiğini ve TAM ile TAP sayıları arasında 15 günlük muhafaza sonrasında önemli farklılıkların olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu araştırmada; bu araştırmanın sonuçlarına göre muhafazanın başlangıcında, 6. gününde ve muhafaza sonunda yüksek TAM sayısının elde edilmesinin, örneklerin temin edildiği suyun mikrobiyal yüküne, laboratuvar aşamasına kadar olan süreçteki mikrobiyal kontaminasyona ve numunelerin temizlenmesi ile hazırlanması süreçlerine bağlı olabileceği değerlendirilmektedir.

Tatlı su balıklarında başlangıçtaki mikrobiyal yükün suyun mikrobiyal durumuna ve sıcaklığına bağlı olduğu kabul edilmektedir (Chytiri, 2004; Ehsani ve Jasour, 2012a). Bu araştırmada muhafaza süresince her iki uygulama şeklindeki örneklerde de TAM sayısı artmış ve muhafazanın 14. gününde bu değer SBB örneklerinde  $6.10 \pm 0.20 \log_{10}$  kob/g'a ve STB örneklerinde ise  $5.53 \pm 0.22 \log_{10}$  kob/g'a ulaşmıştır. Her iki uygulama şeklinde de örneklerde duyusal yönden bozulmanın olduğu 8. günde TAM sayıları SBB ve STB örnekleri için sırasıyla  $5.07 \pm 0.12$  ve  $5.15 \pm 0.16 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Ancak her iki uygulama şeklinde de tüm muhafaza

süresince elde edilen değerlerin deniz ve tatlı su balıklarında TAM için izin verilen limit olan  $7 \log_{10}$  kob/g (ICMSF, 1986; Wang ve ark., 2014) değerini aşmadığı belirlenmiştir. Balıkların iyi kalite sınıfında değerlendirilmesi için TAM sayısının  $5 \log_{10}$  kob/g'in altında olması gerektiği bildirilmekte (Varlık ve ark., 1993) ve bu değerlendirmeye göre örneklerin duyuşal bozulmanın görüldüğü 8. güne kadar iyi kalitede olduğu görülmektedir. Muhafazanın farklı günlerinde STB örneklerinde tespit edilen TAM sayısının SBB örneklerine göre kısmi olarak daha düşük olduğu görülmüştür.

SBB örneklerinde TAM sayısı 0. günde  $3.10 \pm 0.08 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş ve 6. güne kadar istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiştir. Muhafazanın 6. gününden 12. gününe kadar olan artış istatistiksel açıdan önemsiz bulunurken, muhafaza süresince TAM sayısı  $6.10 \pm 0.20 \log_{10}$  kob/g'a ulaşmıştır. Muhafaza süresince bütün balıklarda TAM sayısının, temizlenmiş balıklara oranla genel olarak daha yüksek olduğu, özellikle muhafazanın 2. ve 4. günlerinde bütün ve temizlenmiş balıklar arasında TAM değerleri açısından önemli fark ( $p < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. İki uygulama şeklinde de her ne kadar 14. günde sınır değerlere yakın veya altında bulgular elde edilmiş olsa da panelistler tarafından yapılan duyuşal değerlendirmeler yönünden 8. günde bozulmanın başladığı görülmektedir (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde TAM sayısı ile TAP, PS, KG, FS, EB, LB, putresin, kadaverin, tiramin ve spermidin arasında  $p < 0.01$  ve MK arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde TAM sayısının muhafazanın 0. gününde  $3.14 \pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olduğu belirlenmiş, 6. güne kadar istatistiksel açıdan önemli bir artış olmazken 6. günden itibaren muhafaza sürecinin sonuna kadar olan artışlar istatistiksel yönden önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Muhafaza sürecinin sonunda TAM sayısının  $5.53 \pm 0.22 \log_{10}$  kob/g olduğu tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde TAM sayısı ile TAP, PS, MK, KG, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin ve spermidin arasında  $p < 0.01$  ve spermin arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

Sazan balıkları üzerinde yapılan bazı çalışmalarda mezofil mikroorganizma sayısının psikrotrofik mikroorganizma sayısından fazla olduğu ve biyojen amin oluşumunda mezofilik mikroorganizma aktivitesinin daha etkili olduğu bildirilmektedir (Krizek ve ark., 2004; Kordiovska ve ark., 2006).

Gıdalarda mikrobiyal kalitenin ortaya konulmasında TAM sayısının belirlenmesi, fermente ürünler ve doğal olarak olgunlaştırmaya bırakılan ürünler dışında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda işletmelerinin hijyen ve sanitasyon kurallarına tam riayet etmesiyle birlikte ham madde temininden itibaren gıdaların taşınması, işleme prosesleri ve muhafazası sırasında termal işlemlerin yetersiz veya eksik uygulanmasına bağlı oluşan bozulmalarda toplam mikroorganizma yükünün belirlenmesi önemli parametrelerden biridir. Ayrıca bozulmanın başlangıcının belirlenmesi, gıda maddesine göre muhtemel raf ömrünün tespiti ve üretim proseslerinde kontaminasyon seviyesi hakkında bilgi vermesi açısından önemli veriler sunmaktadır (Temiz, 2003).

İstatistiksel analizler açısından her iki gruba ait örneklerin TAM sayıları ile diğer mikroorganizma grupları arasında pozitif ve farklı düzeylerde ilişki bulunması, diğer mikroorganizma gruplarının TAM sayısının yapıldığı besiyerinde ve şartlarda bile üreyebilme yeteneğinde olabilmelerinin yanı sıra ürünün genel hijyenin iyi olmadığı durumlarda sayılarının TAM sayısı ile birlikte artmasına bağlanabilir. Mikrobiyal yükün belirlenmesinde kullanılan aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının yüksek olması durumunda diğer mikroorganizma gruplarına ait değerlerin de yüksek olması beklenen bir durumdur.

Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'nde dondurulmuş ve işlenmiş balıklarda toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı ile ilgili olarak kriterler belirlenmesine rağmen, taze ve soğutulmuş balıklarla ilgili herhangi bir limit değer belirlenmemiştir.

Dondurarak muhafaza yöntemi balık ve balık ürünlerinin raf ömrünün uzatılması için en iyi metotlardan biridir. Bu yöntem gıdalardaki besleyici öğelerin kaybının önüne geçilmesi ve herhangi bir katkı maddesi eklenmeden ve kolaylıkla uygulanan bir muhafaza yöntemi olması nedeniyle gıdaların uzun süreli saklanması tercih edilen yöntemlerdendir (Kietzmann ve ark., 1969; Pavlov ve ark., 2008).



Çalışmada -18 °C’de dondurularak muhafaza edilen DBB örneklerinde muhafazanın 1. gününde TAM sayısı  $1.75 \pm 0.21 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş ve muhafazanın 120. gününde  $2.12 \pm 0.31 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8).

DTB örneklerinde muhafazanın başlangıcında  $3.20 \pm 0.20 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenen TAM sayısı muhafaza sonunda azalmış ve  $2.51 \pm 0.04 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiştir. Her iki uygulama şeklinde de muhafazanın ilerleyen günlerinde TAM sayılarının azaldığı, muhafazanın sonlarına doğru ise tekrar artış gösterdiği tespit edilmiştir. Su ürünlerinin gıda güvenliğinde avlanma/hasat ve ilgili prosesler gibi farklı gıda üretim safhalarının yanı sıra aquatik çevrenin de ürünün hijyenik kalitesiyle çok yakın bir ilişki içerisinde olduğu bilinmektedir (Huss, 1988). Bu çalışmada tespit edilen DTB örneklerine ait TAM sayıları DBB örneklerine göre yüksek bulunmuştur. Her ne kadar DTB örneklerinin hazırlanması aşamasında tekrarlı yıkanmaları sağlanmış olsa da, bu durumun iç organların temizlenmesi esnasında oluşan kan pıhtıları ve diğer artıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Balık etlerinde mikrobiyal kalite, avlanma/hasat yapılan suyun özelliğine ve balıkhaneler ile satış noktalarındaki sanitasyon şartlarına bağlı olarak değişebilmektedir. Balık temizlendiği zaman temizlik prosesleri esnasında solungaçlardaki ve özellikle iç organlardan kaynaklanan mikroorganizmalar nedeniyle yenilebilir kas kısımları kontamine olabilmektedir (Krizek ve ark., 2004).

Ehsani ve Jasour (2012a) bütün olarak 90 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen sazan balıklarında yaptıkları çalışmada, bu araştırma bulgularına benzer şekilde TAM sayılarının muhafazanın ilk dönemlerinde azaldığını ve bu durumun soğuk şok etkisinden kaynaklanabileceğini, muhafazanın ilerleyen dönemlerinde ise tekrar artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Emire ve Gebremariam (2010), -18 °C’de 90 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen ve her 15 günde bir analizi yapılan Nil tilapia (bir tür tatlı su balığı) balıklarında bu araştırmanın bulgularına benzer şekilde, muhafazanın 60. günlerine kadar toplam mikroorganizma yükünün azaldığını ve ilerleyen günlerden sonra artmaya başladığını, dondurularak muhafaza işlemlerinin mikroorganizmaların gelişmeleri üzerine önemli inhibe edici etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Yine araştırma sonuçlarına benzer bulguları Basavaraj ve ark. (2015) tilapia balıklarında yapmış oldukları bir çalışmada da elde etmişler ve TAM sayısında muhafazanın ilk

dönemlerinde azalmaların olduğunu, 90 günlük muhafaza sonrasında ise artışın başladığını bildirmişlerdir. Dondurularak muhafaza işleminin neden olduğu soğuk şok etkisinin (cold shock) muhafazanın ilk dönemlerinde TAM sayısında azalmalara neden olduğu bildirilmektedir (Thailambal, 2007).

Bu araştırmada TAM sayısının muhafaza süresi sonunda her iki uygulama şekline ait örneklerde  $3 \log_{10}$  kob/g değerinin altında kaldığı, muhafaza süresince TAM için izin verilen limit olan  $7 \log_{10}$  kob/g (ICMSF, 1986; Wang ve ark., 2014) değerini aşmadığı tespit edilmiştir. Örnekler 120 günlük muhafaza süresince duyuşal değerdendirmeler yönünden “iyi” kalite sınıfında yer almaktadır. Her iki uygulama şeklinde de  $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen örneklerin TAM sayılarına ait bulgular,  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen SBB ve STB örneklerine ait TAM sayıları ile karşılaştırıldığında 1/2'den daha fazla oranda düşük olduğu ve bu düşük değerin muhafaza ısısının mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkisinden kaynaklandığını göstermektedir. Kaale ve ark. (2011)'nın bildirdikleri gibi muhafaza ısısı mikrobiyal gelişmeyi etkileyen en önemli parametrelerden biridir.

Dondurularak muhafaza edilen her iki uygulama şekline ait örneklerde TAM sayılarının Su Ürünleri Yönetmeliğı (2008)'ne göre mezofil aerobik mikroorganizma sayısı (n: 5, c: 2, minimum:  $6 \log_{10}$  kob/g ve maksimum:  $7 \log_{10}$  kob/g) için limit değerdolan  $7 \log_{10}$  kob/g'ı aşmadığı görülmüştür. ICMSF (1986), birçok su ürününde avlanma/hasat sonrası mikrobiyal yükün  $10^2$  ile  $10^5 \log_{10}$  kob/g arasında olması gerektiğı bildirilmiş olup incelenen örneklere ait muhafaza başlangıcındaki mikrobiyal yükün belirtilen değerdere yakın düzeyde olduğu görülmüştür.

DBB örneklerinde TAM sayısı yönünden muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli değerişimler gözlenmemiştir. Bütün haldeki balıklarda TAM değerdlerinin, temizlenmiş haldeki balıklara oranla daha düşük olduğu ancak 1. ve 15. günler ( $p < 0.05$ ) dışında bütün ve temizlenmiş haldeki balıkların TAM sayısı yönünden istatistiksel yönden önemli farkın bulunmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 22).

DBB örneklerinde TAM sayısı ile TAP ve PS arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde TAM sayısı muhafaza süresince azalma eğilimi göstermiş olup muhafaza sonlarına doğru artış olduğu görülmüştür. 60. günden itibaren görülen değişimlerin ise istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 23).

DTB örneklerinde TAM ile MK arasında  $p<0.05$  ve putresin ile  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

SBB ve STB örneklerinde 4 °C’de muhafazada TAP sayısı, muhafaza süresince artmış ve muhafaza sonunda sırasıyla  $8.24\pm 0.33$  ve  $8.58\pm 0.10$   $\log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

Krizek ve ark. (2004), vakumlanmadan paketlenen sazan filetolarının 3 °C’de 14 günlük muhafaza sonrası TAM sayısını  $9.25 \log_{10}$  kob/g olarak belirlerken TAP sayısını  $8.75 \log_{10}$  kob/g olarak tespit etmişler ve biyojen amin oluşumunda mezofilik mikroorganizma aktivitesinin psikrotrofik mikroorganizmalara kıyasla daha fazla etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kordiovskaya ve ark. (2006), 3 °C’de 7 gün süreyle muhafaza edilen 4 farklı hibrid sazan balığında muhafaza süresince mezofil mikroorganizma sayısının psikrotrofik mikroorganizma sayısından fazla olduğunu ve biyojen amin formasyonundan mezofil mikroorganizmaların sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Bu araştırmacılar farklı olarak, yapılan çalışmada her iki uygulama şeklinde de TAP sayıları TAM sayılarından yüksek bulunmuştur ve örneklerdeki biyojen amin oluşumundan en fazla psikrofil mikroorganizmaların sorumlu olduğu değerlendirilmiştir. Nitekim yapılan istatistiksel analizde SBB örneklerinde TAP sayısı ile putresin, kadaverin, tiramin, spermidin ve triptamin arasında, STB örneklerinde ise  $\beta$ -feniletilamin haricinde triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında pozitif yönlü bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Bu durumun örneklerle ait başlangıç mikroflorasındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği, ayrıca çalışmada kullanılan örneklerin kış mevsiminde (şubat ayında) avlanan balıklar olması nedeniyle mikroflorada psikrofilik mikroorganizmaların hakim olmasının diğer etkili bir faktör olabileceği değerlendirilmektedir. TAP sayısının TAM sayısından ortalama 2  $\log_{10}$  kob/g fazla olduğu görülmüş olup, duyusal analiz sonuçları ve oluşan biyojen aminler ile TAP arasında yüksek korelasyon bulunmaktadır. Çalışma sonuçlarından farklı olarak Hudecova ve ark. (2010),  $4\pm 0.5$  °C’de 10 gün süreyle muhafaza edilen ve

farklı muhafaza teknikleri kullanılarak hazırlanan sazan balığı örneklerinde muhafaza başlangıcında örneklerde psikrotrofik mikroorganizma sayısının  $3.60 \pm 0.30 \log_{10}$  kob/g olduğunu, normal atmosfer basıncı altında paketlenen örneklerde dereceli olarak artış gösterdiğini ve 10 günlük muhafaza sonrasında  $11.40 \pm 1.70 \log_{10}$  kob/g olduğunu tespit etmişlerdir. Başlangıç TAP sayısı ile ilgili olarak farklı sonuçların elde edilmesinin balıkların avlandığı suyun mikrobiyal yüküne, örneklerin hazırlık proseslerinde (öldürme şekli, iç organların temizlenmesi ve filetolama işlemleri) oluşabilecek kontaminasyonlara bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Balıklarda avlanma/hasat işlemini takiben deri, solungaç ve sindirim organlarında bulunan özellikle psikrofil mikroorganizmaların sayıları artarak tüm kaslara yayılırlar. Muhafaza süresince Gram (-) psikrofil mikroorganizmalar balıklarda bozulmada önemli etkindir. Bu mikroorganizmaların büyük bir kısmı proteolitik olup, dokulara çok çabuk yayılır ve sonuçta kokuşmaya neden olurlar (Kietzmann ve ark., 1969; Öksüztepe ve ark., 2011).

Dünya biyosferinin %85'ten daha fazla bir kısmı, yılın büyük bir bölümünde 5 °C'den daha düşük sıcaklığa sahip olup, %75'ten daha büyük kısmı ise sürekli soğuktur (yıl boyunca sıcaklık 5 °C'den daha düşük) (Baross ve Morita, 1978). Bu yüzden psikrofil ve psikrotolerant mikroorganizmalar, mikrobiyal çeşitliliğin önemli bir bölümünü oluştururlar. Bunlar zor iklimsel koşullarda yaşayabilme yeteneklerinden dolayı soğuğa karşı adaptasyon kazanmanın moleküler mekanizmasının anlaşılmasında model organizmalar olarak kullanılmaktadırlar (Nakagawa ve ark., 2002).

SBB örneklerinde TAP sayısı 0. günde  $5.85 \pm 0.25 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş, muhafaza süresince TAP sayısında istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiş ve muhafazanın sonunda TAP sayısı  $8.24 \pm 0.33 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir. SBB ve STB örneklerinde TAP sayılarının birbirine yakın olduğu, ancak muhafazanın 2. ve 10. günlerinde her iki uygulama şekli arasında TAP değerleri açısından farkın önemli olduğu ( $p < 0.05$ ) görülmüştür (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde TAP sayısı ile PS, FS, EB, LB, putresin, kadaverin, tiramin ve spermidin arasında  $p < 0.01$  ve MK, KG ve triptamin arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde TAP sayısı muhafazanın 0. gününde  $5.63 \pm 0.04 \log_{10}$  kob/g olup 4. günden itibaren muhafaza süreci sonuna kadar istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p < 0.05$ ) görülmüştür. Muhafaza sürecinin sonunda TAP sayısı  $8.58 \pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olmuştur (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde TAP sayısı ile PS, MK, KG, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de TAP sayısında muhafaza süresince artma ve azalmalar olduğu görülmüş, TAP sayısı muhafaza sonunda azalarak sırasıyla  $5.20 \pm 0.23$  ve  $5.11 \pm 0.24 \log_{10}$  kob/g olmuştur (Tablo 8).

Bu araştırmanın sonuçlarına benzer olarak Ehsani ve Jasour (2012b)  $-24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 90 gün süreyle muhafaza edilen bir tatlı su türü olan bütün haldeki sudak balıklarında (uzun levrek) yapmış oldukları çalışmada, psikrotrofik mikroorganizma sayısının örneklerin dondurulmadan muhafazanın 0. gününde  $3.99 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve muhafaza başlangıcında örneklerde psikrotrofik mikroorganizmaların baskın mikroorganizma grubunu oluşturduğunu, mezofilik mikroorganizmaların bundan daha sonra geldiğini bildirmişlerdir.

Benzer bulgular Mahmoudzadeh ve ark. (2010) tarafından lokum balığı ve flounder balıklarında  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 5 aylık muhafaza süresi boyunca yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Muhafazanın başlangıcında dondurulmuş balıklardan elde edilen balık burgerlerde TAP sayısı  $3.99 \pm 0.05$  ile  $4.30 \pm 0.24 \log_{10}$  kob/g ve sürülebilir balık pastalarında  $4.78 \pm 0.16$  ile  $4.59 \pm 0.23 \log_{10}$  kob/g olarak bulunmuştur. İlerleyen dönemlerde TAP sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına benzer şekilde Ekici ve ark. (2011), bütün ve temiz olarak hazırlanmış iki farklı uygulama şeklinde 120 gün süreyle  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza ettikleri inci kefalı örneklerinde TAP sayısını muhafaza başlangıcında bütün ve temiz örnekler için  $4.56 \pm 0.36$  ve  $4.63 \pm 0.38 \log_{10}$  kob/g olarak tespit etmişler ve muhafaza süresince fazla artış göstermediğini bildirmişlerdir. Yine benzer şekilde Ehsani ve Jasour (2012b)  $-24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 90 gün süreyle muhafaza edilen bütün haldeki sudak balıklarında yapmış oldukları çalışmada,

psikrotrofik mikroorganizma sayısının muhafaza sonlarına doğru azaldığını bildirmişlerdir. Araştırma sonuçlarından farklı olarak Kordiovska ve ark. (2006), -18 °C’de 90 gün süreyle muhafaza edilen farklı sazan balığı örneklerinde psikrotrof mikroorganizma sayısının muhafaza süresince arttığını, muhafaza esnasında görülen artışın, örneklerin avlanmadan itibaren tüm hazırlık proseslerinde oluşan kontaminasyonların yanında muhafaza ısı ve süresine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Huss (1995) ile Gram ve Dalgaard (2002), su ürünlerinin raf ömrünün belirlenmesinde; balık türleri, muhafaza öncesi dokuların kompozisyonu, ürünün mikrobiyal florası, avlanma/hasat yapılan bölgenin mikrobiyal yükü, avlanma dönemleri (mevsimsel ve üreme), muhafaza şartları (ısı-zaman), pH ve tüm süreçlerdeki hijyen uygulamalarının etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada DBB örneklerinde TAP sayısı yönünden muhafaza süresince artış/azalışların olduğu ve 60. güne kadar olan bu değişimlerin istatistiksel açıdan önemli olduğu ( $p<0.05$ ) gözlenmiştir. Muhafaza süresince DBB örneklerinde TAP sayısının temizlenmiş balıklara oranla genel olarak düşük olduğu ancak yine de her iki uygulama açısından istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmüştür (Tablo 8, Şekil 22).

DBB örneklerinde TAP sayısı ile LB arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde TAP sayısı açısından muhafaza süresince istatistiksel olarak önemli olmayan değişimler görülmüştür. En yüksek sayı  $5.53\pm 0.18 \log_{10}$  kob/g ile 60. günde olurken ilerleyen günlerde TAP sayısı azalma eğilimi göstermiş ve muhafaza sonunda  $5.11\pm 0.24 \log_{10}$  kob/g olduğu görülmüştür (Tablo 8, Şekil 23).

DTB örneklerinde TAP sayısı ile MK arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

SBB ve STB örneklerinde 4 °C’de muhafaza süresince *Pseudomonas* spp. sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Muhafaza başlangıcında *Pseudomonas* spp. sayısı SBB örneklerinde  $3.09\pm 0.13 \log_{10}$  kob/g ve STB örneklerinde  $2.98\pm 0.09 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilirken, sayının muhafaza süresince artarak muhafazanın sonunda SBB

ve STB örneklerinde sırasıyla  $6.15 \pm 0.11 \log_{10}$  kob/g ve  $6.46 \pm 0.06 \log_{10}$  kob/g olduğu görülmüştür (Tablo 7).

*Pseudomonas* spp. sayılarındaki artış düzeyi TAM sayısındaki artışa benzemektedir ve *Pseudomonas* türlerinin örneklerde mikrobiyal yükün çoğunluğunu oluşturduğu görülmüştür. *Pseudomonas* türlerinin oksijen varlığında ve soğukta muhafaza edilen deniz mahsülleri ile bazı tatlı su ürünlerinde de sıklıkla hakim florayı oluşturduğu tespit edilmiştir (Gram ve Huss, 1996; Broekaert ve ark., 2013). Bu mikroorganizmaların sayısında muhafaza süresince görülen artış ve azalışların mikroorganizmalar arasında rekabete bağlı olarak gelişen inhibisyon nedeniyle olduğu düşünülebilir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Fan ve ark. (2016), 4 °C’de 21 gün süreyle muhafaza edilen siyah sazan balıklarında muhafazanın başlangıcında *Pseudomonas* spp. sayısının  $3.71 \pm 0.36 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve bu sayının muhafaza süresince artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Paloelogos ve ark. (2004) Akdeniz levrekleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, *Pseudomonas* türlerinin bozulmaya neden olan mikroorganizma grubu içerisinde olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Zhang ve ark. (2015b), normal atmosfer basıncı altında paketlenmiş sazan filetolarında 4 °C’de 8 günlük muhafaza süresi sonunda *Pseudomonas* spp. sayılarını muhafaza başlangıcında  $2.96 \log_{10}$  kob/g olarak tespit ederlerken muhafazanın 8. gününde bu sayının  $8.77 \log_{10}$  kob/g seviyesine ulaştığını tespit etmişlerdir. Khidhir ve ark. (2014) ise ot sazanı, gümüş sazanı, aynalı sazan ve diğer iki tür üzerinde yaptıkları bir çalışmada; örneklerde başlangıç *Pseudomonas* spp. sayısını ot sazanları, gümüş ve aynalı sazanlarda sırasıyla 3.69, 3.77 ve  $3.74 \log_{10}$  kob/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırmalarda farklı sonuçların elde edilmesi, çalışmada kullanılan balıkların avlanma bölgelerindeki suyun mikroflorasının ve kontaminasyon kaynaklarının farklı olmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

*Pseudomonas* spp. gıda ürünlerinde bozulmuş meyve kokusuna benzer bir koku meydana getirmekte olup, buzlanmış balık ve balık ürünlerinde bozulma indikatörü olarak kullanılmaktadır (Stamatis ve Arkoudelos, 2007). *Pseudomonas* türleri farklı organik bileşikleri kullanabilme mekanizmalarına sahiptirler. Bazı türler proteolitik ve

lipolitik aktivite gösterebilmektedir. Psikrotrof, psikrofilik ve mezofilik türleri bulunmaktadır. Isıya dayanıklı olmayıp soğukta muhafaza edilen gıda maddelerinde çoğalabilirler (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Genellikle çoğalmaları için yüksek su aktivitesine (0.95 veya daha yüksek) ihtiyaç duyarlar ve 5.4'den daha düşük pH değerlerinde gelişmeleri inhibe olur. Gıdalarda başlıca 4 türün (*P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. lundensis* ve *P. viridiflava*) bozulmaya neden olduğu bildirilmektedir. Salgıladıkları lipazlar ve proteazlar nedeniyle gıda yüzeyinde bir biofilm ile trimetilamin ve sülfidlerin oluşmasına neden olurlar (Doyle, 2007). Buz içerisinde muhafaza edilen somon balığı üzerinde yapılan bir çalışmada muhafaza süresince dominant mikroorganizma olduğu bildirilmiştir (Hozbor ve ark., 2006).

Taze şekilde muhafaza edilen balıklarda mikrofloranın oldukça heterojen olduğu, muhafaza sürecinde psikrotrofik mikroorganizmalar ve özellikle *Pseudomonas* spp., *Moraxella* ve *Acinetobacter* cinslerine ait türlerin doğal rekabete bağlı olarak dominant hale geldiği, 1-2 haftalık muhafaza sonrası mikroflorada değişiklikler görülmeye başlandığı ve soğuk muhafazada psikrotrofik *Pseudomonas* ve *Shewanella* türlerinin dominant hale geçtiği bilinmektedir (Gram, 1992). Bu çalışmada da SBB ve STB örneklerinde *Pseudomonas* cinsi mikroorganizmaların baskın mikroflora olduğu görülmektedir.

Aerobik şartlar altında 4 °C'de muhafaza süresince *Pseudomonas alteromonas*, *Shewanella* ve *Flavobacterium* gibi Gram (-) psikrofilik mikroorganizmalar balıklarda mikrobiyolojik bozulmalara neden olmaktadır (Hubbs, 1991).

Muhafaza süresince SBB örneklerinde *Pseudomonas* spp. sayısında istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiş ve muhafaza sürecinin sonunda PS sayısı  $6.15 \pm 0.11 \log_{10}$  kob/g'a ulaşmıştır. Bütün balıklarda PS sayısının temizlenmiş balıklara oranla genel olarak daha yüksek olduğu ancak muhafaza sürecinin 8. gününden itibaren temizlenmiş balıklarda PS sayısının daha fazla artış gösterdiği görülmektedir (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde PS sayısı ile EB, putresin, kadaverin ve spermidin arasında  $p < 0.01$  ve KG, FS, LB, tiramin ve spermin arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).



STB örneklerinde *Pseudomonas* spp. sayısı muhafazanın 4. gününden itibaren muhafaza süreci sonuna kadar istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p<0.05$ ) göstermiş ve  $6.46\pm 0.06 \log_{10}$  kob/g'a ulaşmıştır (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde PS sayısı ile KG, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p<0.01$  ve MK arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p<0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

*Pseudomonas* spp. sayısı  $-18$  °C'de muhafaza edilen DBB örneklerinde muhafazanın 1. gününde  $1.59\pm 0.16 \log_{10}$  kob/g olup muhafaza süresince artış göstermiş ve muhafaza sonunda  $3.33\pm 0.02 \log_{10}$  kob/g olmuştur. *Pseudomonas* spp. sayısı bakımından DTB örnekleri de aynı şekilde artış göstermiş ve muhafaza sonunda  $3.26\pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 8).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde; Popelka ve ark. (2016)  $-18$  °C'de 180 günlük süreyle muhafaza edilen bütün ve fileto şekline getirilmiş alabalık örneklerinde mikrobiyolojik ve kimyasal değişimleri belirledikleri çalışmalarında; *Pseudomonas* spp. sayısının muhafaza süresince arttığını, fileto örneklerinde 90 günlük muhafaza sonrası  $2.73\pm 0.38 \log_{10}$  kob/g ve 180. günde  $2.85\pm 0.57 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve dondurularak muhafaza yönteminde *Pseudomonas* spp. sayısının daha düşük düzeyde kaldığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar balık ve ürünlerinin gerek soğuk gerekse de dondurularak muhafazaları esnasında kontaminasyon oranının yüksek olabileceğini, bu nedenle de pişirilmeden tüketilen balıkların insan sağlığı açısından tehlikeli olabileceğini bildirmişlerdir. Ülkemizde balıklarda *Pseudomonas* spp. için belirlenmiş bir limit bulunmamaktadır. Hasan ve ark. (2013), dondurulmuş halde muhafaza edilen ticari gümüş sazan filetolarının mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları bir araştırmada örneklerde *Pseudomonas* spp. sayısını ortalama  $5.90 \log_{10}$  kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Bu araştırmanın sonuçlarından farklı olarak  $-24\pm 1$  °C'de 90 gün süreyle muhafaza edilen bütün haldeki sudak balıklarında muhafaza başlangıcında *Pseudomonas* spp. tespit edilemediği ve muhafazanın sonlarında  $1.89 \log_{10}$  kob/g olarak belirlendiği bildirilmiştir (Ehsani ve Jasour, 2012b). Çalışma bulguları ile

karşılaştırıldığında, muhafaza başlangıcında *Pseudomonas* spp.'nin tespit edilememesi ve muhafaza sonlarında daha az sayıda olmasının; örneklerin mikrobiyal kalitesinin iyi düzeyde olması, balıkların avlandıkları suyun mikroflorasının farklılığı veya muhafaza ısısının düşüklüğünden kaylanabileceği değerlendirilmektedir.

DBB örneklerinde *Pseudomonas* spp. sayısında 30. güne kadar istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p<0.05$ ) gözlenmiş, daha sonra istatistiksel olarak önemsiz bir düşme eğilimi görülmüştür. 120. günde tekrar artarak  $3.33\pm 0.02 \log_{10}$  kob/g olmuştur. DBB örneklerinde PS sayısının DTB örneklerine göre genel olarak daha yüksek olduğu ancak sadece muhafaza sürecinin 1. gününde her iki uygulama arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 22).

DTB örneklerinde muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) gözlenmiştir. DBB örneklerinde muhafazanın 15. gününden itibaren, DTB örneklerinde ise muhafaza süresinin 30. gününden itibaren PS sayısı TAM sayısından yüksek çıkmıştır (Tablo 8, Şekil 23).

*Pseudomonas*'ların bazı türlerinin psikrofilik özellik gösterdiği, *Pseudomonas* Agar'da 25°C'de Plate Count Agar'dan daha iyi üreyebilme yeteneğine sahip oldukları ve besi yerinin selektif olmasından dolayı rekabetçi floradan daha az etkilendikleri bildirilmektedir (Ünlütürk, 1998).

DBB örneklerinde PS sayısı ile duyuşsal analiz puanları arasında  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon bulunurken, TAM sayısı ile arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde PS sayısı ile duyuşsal analiz puanları arasında  $p<0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon bulunurken, TVB-N ile  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Mayalar mantar olarak adlandırılan geniş bir grup organizmanın alt grubudur. Genellikle miselyum oluşturmeyen tek hücreli organizmalar olup toksik ikincil metabolitler üretmezler ve fakültatif olarak da gelişebilirler (Rawat, 2015). Bozulmaya neden olan mayalar 4 ana grup altında olmak üzere *Zygosaccharomyces* (yüksek şeker ve tuz içeren gıdalar), *Debaryomyces* (salamura ürünler), *Saccharomyces* spp. ve

*Dekkera/Brettanomyces* (volatil fenolik ürün üretimi) olarak adlandırılmaktadır (Couto ve ark., 2005; Mandrell ve ark., 2006).

Küfler miselyum oluşturmaları ve çok hücreli olmaları ile mayalardan ayrılırlar ve metabolik aktiviteleri için oksijene ihtiyaç duyarlar. Çoğu küfler düşük su aktivitesine sahip kurutulmuş gıdalarda (0.7-0.8) ve pH 3-8 aralığında gelişebilmektedir ve genellikle spor üretmektedir (Rawat, 2015). Sporlar sert çevre koşullarına dayanıklıdır ancak çoğu sıcak uygulamalara duyarlıdır (*Byssochlammys* hariç). Hava, su ve insektlerle taşınabilirler. Farklı küf türleri farklı ısı derecelerinde çoğalabilmekte, bazı türler soğuk şartlarda gelişebilmektedir. Farklı ikincil bir metabolizmaya sahiptirler ve değişik oranlarda toksik ve karsinojenik mikotoksinler üretirler. Bazı küfler bozulmaya neden olurken bazıları neden olmazlar (Pitt ve Hocking, 1977). Bozulmaya neden olan küfler *Zygomycetes*, *Penicillium* spp., *Byssochlammys* ve *Aspergillus* (mikotoksin) olmak üzere 4 ana grup altında bulunmaktadır (Rawat, 2015).

SBB ve STB örneklerinde MK sayısında 4 °C'de muhafaza süresince önemli artışlar ve azalmalar görülmüş ve MK sayısının muhafaza sonunda SBB ve STB örneklerinde sırasıyla 3.28±0.32 ve 3.57±0.13 log<sub>10</sub> kob/g olduğu tespit edilmiştir. Her iki uygulama şeklinde de genel olarak MK değerlerinin yakın olduğu tespit edilmiştir (Tablo 7).

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Kaba ve ark. (2013)'nin tütsülenmiş ve marine edilmiş palamut balıklarında yaptıkları bir çalışmada; MK sayısını örneklerde başlangıçta 3.85 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit etmişler ve 150 günlük muhafaza süresi sonunda artış göstererek 4.98 log<sub>10</sub> kob/g'a ulaştığını bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Can ve Çoban (2012) sazan balığından hazırladıkları köfteler üzerine yaptıkları çalışmada; 4 °C'de 12 gün süreyle muhafaza edilen kontrol grubuna ait örneklerde muhafazanın başlangıcında 3.13 log<sub>10</sub> kob/g olan MK sayısının muhafaza süresince artış gösterdiğini ve muhafazanın 9. gününde 5.46 log<sub>10</sub> kob/g'a ulaştığını tespit etmişlerdir.

Benzer bir durum Kaba ve ark. (2012)'nin 4 °C'de 8 gün süreyle muhafaza edilen hamsi burgerlerinde yapmış oldukları çalışmada görülmüş ve taze hamsi

örneklerinde MK sayısı 4.18 log<sub>10</sub> kob/g tespit edilirken, muhafaza başlangıcında 4.51 log<sub>10</sub> kob/g ve muhafazanın sonunda 6.56 log<sub>10</sub> kob/g olarak belirlenmiştir.

Can (2012) additiv madde eklenerek hazırlanan aynalı sazan balıklarından elde edilen köftelerin 4 °C'de 21 gün süreyle muhafaza edildiği bir araştırmada; muhafaza başlangıcında kontrol grubu örneklerinde küf sayısını 3.48 log<sub>10</sub> kob/g ve maya sayısını 4.23 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit etmiş ve muhafaza süresince maya ve küf sayısının arttığını bildirmiştir.

MK sayısında başlangıçtaki yüksek değerin ve muhafazanın ilerleyen dönemlerdeki artışın, avlanma bölgesi ve şekli veya örneklerin taşınması aşamasından itibaren tüm hazırlık aşamalarında MK kontaminasyonu nedeniyle olabileceği değerlendirilmektedir.

Maya ve küfler, balıklarda normal flora içerisinde bulunmazlar. Bunlar genellikle toprak orijinli olup, balıklara avlandıkları anda sudan veya avlanma sonrası kullanılan alet ve malzemelerden bulaşmaktadırlar (Can, 2012).

Araştırma bulgularına benzer şekilde Milijasevic ve ark. (2016), 3 °C'de 16 gün süreyle soğuk tütsülenmiş ve vakum paketlenerek muhafaza edilen aynalı sazan örneklerinde MK sayısının muhafazanın 12. gününe kadar artarak 3.33±0.27 log<sub>10</sub> kob/g değerine yükseldiğini ancak muhafaza sonunda azaldığını, iri başlı sazanalarda bu artışın 1. ve 7. günler arasında ve 10 ile 12. günler arasında olduğunu, muhafaza sonunda ise 3.67±0.11 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit edildiğini ve muhafaza sonunda her iki sazan türüne ait sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğunu bildirmişlerdir.

SBB örneklerinde MK sayısı 0. günde 1.85±0.21 log<sub>10</sub> kob/g olup muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artışlar (p<0.05) gözlenmiş ve muhafaza süreci MK sayısı 3.28±0.32 log<sub>10</sub> kob/g olmuştur. Muhafaza sürecinin 8. gününe kadar bütün balıklarda MK sayısının temizlenmiş balıklara oranla genel olarak daha yüksek olduğu, ancak 8. günden itibaren muhafazanın sonuna kadar temizlenmiş balıklarda MK sayısının bütün balıklara oranla daha fazla arttığı, iki uygulama şekli arasında muhafazanın 2., 8. ve 10. günlerinde MK sayısı açısından önemli (p<0.05) farklar olduğu belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde MK sayısı ile KG ve EB arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde MK sayısı muhafazanın 0. gününde  $1.47\pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olup muhafaza sürecinin sonuna kadar istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p<0.05$ ) görülmüş ve muhafaza sonunda  $3.57\pm 0.13 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde MK sayısı ile KG, FS, EB, LB arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve triptamin, tiramin ve spermin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde MK sayısının  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazanın başlangıcında  $1.84\pm 0.08$  ve  $2.16\pm 0.06 \log_{10}$  kob/g olduğu, muhafaza süresince artış gösterdiği ve DTB örneklerinde muhafazanın 120. gününde azalma olduğu görülmüştür (Tablo 8).

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Khanipour ve ark. (2014),  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 120 gün süreyle muhafaza edilen kilka balıklarında tüm muhafaza süresince MK tespit edilmediğini saptamışlar, Javadian ve ark. (2013) ise  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün süreyle muhafaza edilen alabalıklar üzerinde yapmış oldukları çalışmada muhafaza başlangıcında örneklerde MK sayısını  $4.62 \log_{10}$  kob/g olarak tespit ederlerken 30 günlük muhafaza sonrası azalma olduğunu ve bu azalmanın soğuk şok etkisinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. 90 günlük muhafaza süresi sonrasında  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat içerisinde çözündürülen örneklerde MK sayısının  $3.53 \log_{10}$  kob/g olduğunu belirlemişlerdir.

Balık ve diğer su ürünleri dondurulduğu zaman dokularda bulunan mikroorganizmalar genel olarak inaktive olurlar. Ancak bu mikroorganizmalar dondurularak muhafaza süresince canlılıklarını sürdürürler ve donmuş ürünlerin çözündürme/çözülme süreçleri başladığı zaman tekrar üremeye başlayabilirler. Bu durum çözündürülmüş ürünlerde mikrobiyal bozulmaya neden olabilir. Çözündürme sonrası balıklarda ve ürünlerindeki mikrobiyal aktivite, muhafazaya alınan taze ürünlerdeki mikrobiyal yüke, balık türüne bağlı olarak dokularda bulunan natural

mikroflora ve aynı zamanda kullanılan çözündürme tekniklerine bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir (Hui ve ark., 2004).

DBB örneklerinde MK sayısında muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) gözlenmiş, 60. günde analizlerde bütün ve temiz balıklarda MK değerleri arasındaki fark önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 22).

DBB örneklerine ait MK sayısı ile analizi yapılan diğer parametreler arasında önem derecesi yüksek korelasyon bulunmamaktadır (Tablo 11).

DTB örneklerinde MK sayısı muhafazanın 1. gününde  $2.16\pm 0.06 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş, ilerleyen günlerde istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiş ve muhafaza sürecinin 90. gününden itibaren istatistiksel açıdan önemli azalmalar ( $p<0.05$ ) görülmüştür (Tablo 8, Şekil 23).

DTB örneklerine ait MK sayısı ile putresin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, spermidin ile  $p<0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Koliform grubu mikroorganizmalar uzun zamandır fekal kontaminasyonun belirlenmesi ve ölçülmesinde indikatör mikroorganizmalar olarak değerlendirilmiştir. Koliform grubu mikroorganizmalar *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* ve *E. coli* olarak sınıflandırılmakta olup bazı koliformlar insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlarda intestinal kanallarda bulunmasına rağmen çoğunluğu doğada bulunmaktadır ve sanitasyon yönünden kısmi bir öneme sahiptirler (Greenberg and Hunt, 1985). Fekal kontaminasyonun belirlenmesinde *E. Coli*, halk sağlığı açısından bir indikatör olarak kullanılmasına rağmen pratik uygulamalarda laktozu fermente edebilen ve *E. coli*'ye ait fenotipik karakterlere benzemelerinden dolayı *Citrobacter*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* gibi diğer enterik mikroorganizmaların birarada bulunması gibi kompleks durumların varlığı nedeniyle ayırım yapılması zorlaşmaktadır. Koliform grubu mikroorganizmalar fekal kontaminasyonun belirlenmesinde tek başına değerlendirilmemektedir (Feng ve ark., 2002).

Gıdalarda çok yüksek oranda koliform grubu mikroorganizma bulunması arzu edilen bir durum değildir. Ancak bütün koliformların elimine edilmesi her zaman mümkün olmamaktadır (Jay, 1978). Koliformların ısı uygulamalarında kolayca elimine edilmelerinden dolayı, ısı işlem uygulanmış balık ve ürünlerinde sonradan oluşan kontaminasyonların belirlenmesinde faydalı olmaktadır (Greenberg and Hunt, 1985).

SBB ve STB örneklerinde koliform grubu mikroorganizma sayısı 4 °C'de muhafaza başlangıcında sırasıyla 1.82±0.16 ve 1.64±0.14 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit edilmiştir. Her iki uygulama şekline ait örnekte de koliform grubu mikroorganizma sayısının muhafaza süresince arttığı görülmüştür (Tablo 7).

Fekal kontaminasyon indikatörü olarak balık türlerine göre değişebilmekle birlikte genel olarak koliform grubu mikroorganizmalar için kabul edilebilir minimum, maksimum ve ortalama değerler sırasıyla 2.30 log<sub>10</sub> kob/g, 3.20 log<sub>10</sub> kob/g ve 2.40 log<sub>10</sub> kob/g olarak bildirilmektedir (Shewan, 1971; Jay, 1996; Pamuk ve ark., 2011). Bu değerlere göre koliform grubu mikroorganizma sayısının SBB örneklerinde 2. günden itibaren, STB örneklerinde ise 8. günden sonra bu değerleri aştığı görülmektedir. Fekal koliformlar gerek balıkların avlandığı/hasat yapıldığı suyun kontamine halde olması gerekse de avlanma/hasat sürecini izleyen taşıma ve diğer tüm prosesler boyunca meydana gelen kontaminasyonlara bağlı olarak bulunabildiği için, indikatör olarak değerlendirilen bu mikroorganizmaların tespitinde iki süreç birlikte değerlendirilmelidir (Patır ve İnanlı, 2005).

Lukasova ve ark. (2003)'nın 3 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetoları ve Krizek ve ark. (2004)'nin 3 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetolarında; muhafaza başlangıcında bu çalışmada tespit edilen başlangıç değerlerinden yüksek olarak koliform grubu mikroorganizma sayısını sırasıyla 3.17 log<sub>10</sub> kob/g ve 3.18 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit etmişler ve muhafaza süresince artış göstererek 5.08 log<sub>10</sub> kob/g ve 7.60 log<sub>10</sub> kob/g'a ulaştığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar tarafından tespit edilen başlangıç değerlerinin bu araştırmanın sonuçlarından farklı olması, örneklerin elde edilmesi ve temizlenmesi sürecindeki farklılıklar ile filetoların hazırlık aşamalarında kontaminasyonların olabileceğini düşündürmektedir. Ancak muhafaza süresince koliform grubu mikroorganizma sayısının artış göstermesi araştırmacıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

SBB örneklerinde 4 °C'de muhafazada KG mikroorganizma sayısı 0. günde  $1.82 \pm 0.16 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş, muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) göstermiş ve muhafaza sonunda  $4.01 \pm 0.11 \log_{10}$  kob/g'a ulaştığı saptanmıştır. Muhafazanın 10. ve 12. günlerinde STB örneklerine ait KG mikroorganizma sayısının SBB örneklerine oranla yüksek olduğu, ancak muhafaza sürecinin genelinde SBB örneklerine ait değerlerin STB örneklerine ait değerlere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine her iki uygulama şekli arasında muhafazanın 2., 4. ve 6. günlerinde KG mikroorganizma sayısı açısından fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde KG ile FS ve EB arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde KG mikroorganizma sayısı muhafazanın 0. gününde  $1.64 \pm 0.14 \log_{10}$  kob/g olmuş, muhafaza sürecinin 10. gününe kadar dalgalı bir seyir izlemiş ve bu günden itibaren istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p < 0.05$ ) görülmüştür. Muhafaza sürecinin sonunda ise  $3.81 \pm 0.11 \log_{10}$  kob/g olmuştur (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde KG ile FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde ve spermin ile  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde koliform grubu mikroorganizma sayısı -18 °C'de muhafazanın 1. gününde  $< 1 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş ve muhafazanın 120. gününe kadar koliform grubu mikroorganizma sayısında herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8).

Bu araştırma sonuçlarından farklı olarak, Kordiovskaya ve ark. (2006) -18 °C'de 3 ay süreyle muhafaza edilen farklı sazan balığı türleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada; koliform grubu mikroorganizma sayısının muhafaza sonunda örneklerin ilk analizinin yapıldığı 0. gün değerlerine göre 10 kat artış gösterdiğini, Emire ve Gebremariam (2010) ise -18 $\pm$ 2 °C'de 90 gün süreyle muhafaza edilen tilapia balıklarında muhafazanın 60. gününe kadar koliform grubu mikroorganizma sayısında azalmaların olduğunu



ancak 75. günden sonra tekrar artmaya başladığını bildirmişlerdir. Farklı sonuçların, araştırmalarda kullanılan balık türlerinin ve uygulama şekillerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yapılan bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Tokur ve ark. (2006) -18 °C'de 150 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan balığı filetoalarının bazı kimyasal ve mikrobiyolojik parametrelerini inceledikleri çalışmada, muhafazanın başlangıcında koliform grubu mikroorganizma tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Her iki uygulama şeklinde de tüm muhafaza süresince KG mikroorganizma sayıları  $<1 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edildiği için istatistiksel yönden değerlendirilememiştir.

Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre dondurulmuş balıklarda koliform grubu mikroorganizma sayısı için yasal sınırlar minimum 160 ( $2.20 \log_{10}$  kob/g) ve maksimum 210 ( $2.32 \log_{10}$  kob/g) (n:5, c:2) ve *E. coli* için ise minimum 9 ( $0.95 \log_{10}$  kob/g) ve maksimum 12 ( $1.08 \log_{10}$  kob/g) (n:5, c:2) olarak belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre sazan balıklarının 120 gün süreyle dondurularak muhafaza sürecinde tespit edilen koliform grubu mikroorganizma değerlerinin, Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre tüketilebilir sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir.

*Enterococcus* cinsinin tanımlanması 19. yüzyılın sonlarına doğru olmuştur (Lebreton ve ark., 2014). *Enterococcus*'lar 1984'e kadar D grup *Streptococcus*'lar olarak sınıflandırılmış, daha sonra *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olarak adlandırılmışlardır (Schleifer ve Kilpper-Balz, 1984). Enterokoklar insan ve hayvanlarda gastrointestinal kanalda, böceklerin bağırsaklarında, geleneksel fermente gıdalar ile süt ürünlerinde ve bitkilerde, toprak ve su gibi çevrelerde geniş bir dağılım göstermekte olup, 1992 ile 2012 yılları arasında 30 *Enterococcus* türü tanımlanmıştır (Lebreton ve ark., 2014). Geniş bir dağılım göstermelerinden ve gıdaları kontamine edebilme potansiyellerinin yüksek olmasından dolayı fekal kontaminasyonun bir indikatörü olarak tek başlarına yeterli olmayacakları, toplam aerobik mezofilik mikroorganizmalar ve koliform grubu

mikroorganizmalar ile birarada değerlendirilmeleri gerektiği bildirilmektedir (Temiz, 2003). Enterokoklar fonksiyonel özelliklerinden yani asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizması, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıda endüstrisinde önemli yer tutan laktik asit bakterilerindedir. Deniz ve tatlı su örneklerinde enterokoklar önemli mikrobiyal indikatörler olarak analiz edilirler. İnsan ve hayvanların sindirim sisteminde ya da doğada yaygın olarak görülebilirler. Karbonhidratları fermente ederler ve esas ürün olarak laktik asit oluştururlar (Bucak, 2011).

Balıklarda *Enterococcus* spp. nadiren bulunmakta olup tespit edilen durumların büyük çoğunluğu avlanma/hasat sonrası kontaminasyonlardan kaynaklanmaktadır (Gram ve Huss, 1996).

SBB ve STB örneklerinde 4 °C’de muhafazada fekal streptokok (*Enterococcus* spp.) mikroorganizma sayısı muhafazanın başlangıcında  $<1 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Her iki uygulama şekline ait örneklerde muhafazanın ilerleyen dönemlerinde artışlar olduğu görülmüş, muhafazanın sonunda SBB örneklerinde  $2.52 \pm 0.10 \log_{10}$  kob/g ve STB örneklerinde ise  $2.82 \pm 0.01 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 7).

Bu araştırmanın sonuçlarından farklı olarak Lukasova ve ark. (2003), 4 °C’de 14 gün süreyle polietilen plastik kutularda paketlenmiş olarak ve paketlenmeden muhafaza edilen sazan filetolarında *Enterococcus* spp. sayısının, muhafaza başlangıcında  $3 \log_{10}$  kob/g olarak yüksek sayıda tespit edildiğini, muhafazanın ilerleyen dönemlerinde artış göstererek ortalama değerlerin paketlenen ve paketlenmeden muhafaza edilen örneklerde sırasıyla  $3.90$  ve  $5.60 \log_{10}$  kob/g olarak belirlendiğini bildirmişlerdir.

SBB örneklerinde FS sayısı 0. günde  $<1 \log_{10}$  kob/g olup muhafaza sürecinin 4. gününden itibaren istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiş ve muhafaza süresi sonunda  $2.52 \pm 0.10 \log_{10}$  kob/g’a ulaştığı saptanmıştır. Her iki uygulama şekli arasında muhafazanın 4., 6., 8. ve 10. günlerinde FS sayısı açısından fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Muhafaza sürecinin 10. gününde temizlemiş haldeki balıklarda FS sayısında bütün haldeki balıklara oranla önemli artış ( $p < 0.05$ ) olduğu ve bu artışın muhafaza süreci sonuna kadar devam ettiği tespit edilmiştir. Temizlenmiş örneklerde

yüksek FS sayısının hazırlık süreçlerinde iç organların bütünlüğünün bozulmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde FS ile EB, LB ve spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde, kadaverin ve tiramin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde FS sayısı yönünden muhafaza sürecinin 6. gününden itibaren istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p<0.05$ ) gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde FS ile EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve spermin ile  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde fekal streptokok sayısı  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazanın 1. gününde  $<1\text{ log}_{10}\text{ kob/g}$  olarak belirlenmiş ve muhafazanın 120. gününe kadar fekal streptokok sayısında herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8).

Bu araştırma bulgularına benzer şekilde, Bhosale ve Patange (2002) bir tür tatlı su balığı olan ve 6 ay boyunca  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen hint sazani (catla catla) örneklerinde muhafaza süresince fekal streptokok tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Her iki uygulama şeklinde de tüm muhafaza süresince FS sayıları  $<1\text{ log}_{10}\text{ kob/g}$  olduğu için istatistiksel yönden değerlendirilememiştir.

SBB ve STB örneklerinde  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazanın başlangıcında *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla  $2.10\pm 0.11$  ve  $2.34\pm 0.06\text{ log}_{10}\text{ kob/g}$  olarak tespit edilmiş, her iki uygulama şeklinde de *Enterobacteriaceae* sayısının muhafaza süresince arttığı görülmüştür (Tablo 7).

Bu araştırma bulgularına benzer olarak Can ve Çoban (2012), additiv madde ekleyerek hazırladıkları aynalı sazan balıklarından elde ettikleri köftelerin  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 21 gün süreyle muhafaza sürecinde; muhafaza başlangıcında kontrol grubu örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayısını  $2.71\text{ log}_{10}\text{ kob/g}$  olarak tespit ettiklerini, muhafaza

süresince artış gösterdiğini ve muhafazanın 9. gününde 4.06 log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Fan ve ark. (2016) 4 °C'de 21 gün süreyle muhafaza edilen siyah sazan balıkları üzerine yaptıkları bir araştırmada; *Enterobacteriaceae* sayısının muhafazanın başlangıcında 3.97 log<sub>10</sub> kob/g olduğunu, muhafaza süresince artış gösterdiğini, muhafazanın 15. gününde ise 8.59 log<sub>10</sub> kob/g'a ulaştığını tespit etmişler ve muhafaza süresince *Enterobacteriaceae* sayısının yüksek olmasının sebebinin bu mikroorganizmaların siyah sazanların doğal mikrofloralarının bir parçası olmasına bağlı olabileceğini ve bu nedenle sayılarının yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırma bulgularına benzer şekilde Can (2012), 4 °C'de 21 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetolarından elde edilen köfte örneklerinde 9 günlük muhafaza süresince *Enterobacteriaceae* sayısının arttığını bildirmişlerdir.

*Enterobacteriaceae* familyasında yer alan türlerin bir bölümü fekal orijinli ve patojen özelliklere sahipken bir bölümü de saprofit özelliktedir. Bu familya fekal kontaminasyonların bir indikatörü olmaktan daha çok bir hijyen ve sanitasyon indikatörü olarak kabul görmektedir. Yüksek *Enterobacteriaceae* sayısı tüm üretim süreçleri boyunca kontaminasyonların varlığına işaret olarak yorumlanabilir (Temiz, 2003).

*Enterobacteriaceae* türleri, balığın kirli/kontamine sulardan elde edilmesi durumunda ya da balık yakalandıktan sonra soğutma işlemlerindeki olası gecikmelere bağlı olarak mevcut mikroflora içerisinde yoğun olarak bulunmaktadır. Ayrıca filetolama işlemleri gibi post proses sürecinde de kros kontaminasyonlara bağlı olarak görülebilmektedirler. Bu saptamalara bağlı olarak aquakültür yolu ile üretimi yapılan balıklarda; çevresel faktörler, hasat ve/veya sonrasında uygulanan öldürme ve diğer işlemler esnasında kullanılan teknolojik uygulamalara bağlı olarak hijyenik kalitenin daha iyi olduğu görülmektedir. Ek olarak bu tip yetiştiricilikte avlama/hasat işlemleri, dağıtım ve muhafaza şartları doğal yollarla elde edilen balıklara nazaran daha kontrollü olmaktadır (Guzman ve ark., 2015).

*Enterobacteriaceae* sayısı balıkların iç organlarının temizlenmesi, yıkanması ve buz yardımı ile soğutulması sürecinde farklı bir pencereden kalite indeksi olarak değerlendirilmektedir (Zambuchini ve ark., 2008; Popovic ve ark., 2010). Balık kalitesinin değerlendirilmesinde bu mikroorganizmaların izlenmesi önerilmekte olup, risk değerlendirmelerinde karar verilirken üretimden tüketime kadar olan tüm gıda zincirinde *Enterobacteriaceae* sayısı dikkate alınmaktadır. Böylelikle gıda güvenliğinde yeni uygulamalar ve düzenlemelerin oluşturulmasında, gıdaların takibi ve izlenebilirlik sistemlerinin kurulmasında bu grup mikroorganizma sayısı değerlendirilmektedir. Yine balıklarda tüm proseslerde belirlenen risk yönetim zinciri için, öncelikli olarak ilk üretim aşamalarından itibaren teknolojik olarak ürün işleme süreçleri, taşıma ve muhafaza, satış ve tüketime arz noktası dahil tüm basamaklarda tehlikenin daha iyi anlaşılması ve belirlenmesinde bu tür mikroorganizmalar vasıtasıyla net bilgilerin elde edilmesi gerekmektedir (Reilly, 2006; Popovic ve ark., 2010).

SBB örneklerinde EB sayısı 0. günde  $2.10 \pm 0.11 \log_{10}$  kob/g olup muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiş ve muhafaza sonunda  $5.79 \pm 0.24 \log_{10}$  kob/g'a ulaştığı saptanmıştır. Her iki uygulama şekli arasında muhafazanın 2., 4., 10., 12. ve 14. günlerinde EB sayısı açısından fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde EB ile LB, putresin, kadaverin, spermidin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde ve tiramin ile  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde EB sayısı muhafazanın 0. gününde  $2.34 \pm 0.06 \log_{10}$  kob/g olup muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenmiş ve muhafaza sonunda  $6.63 \pm 0.06 \log_{10}$  kob/g'a ulaştığı saptanmıştır. Ayrıca muhafazanın 8. gününden itibaren temizlenmiş balıklardaki EB sayısı bütün haldeki balıklara oranla önemli düzeyde artış ( $p < 0.05$ ) göstermiştir (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde EB ile LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde -18 °C'de muhafazanın 1. gününde *Enterobacteriaceae* sayısı sırasıyla  $2.34 \pm 0.27$  ve  $3.36 \pm 0.18$  log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8).

Her iki uygulama şekline ait örneklerde de *Enterobacteriaceae* sayısında muhafaza süresince artma ve azalmaların olduğu, muhafazanın sonunda DBB ile DTB örneklerinde sırasıyla  $2.37 \pm 0.02$  ve  $2.75 \pm 0.19$  log<sub>10</sub> kob/g olduğu tespit edilmiştir. Temizlenmiş haldeki örneklere ait *Enterobacteriaceae* sayısının muhafazanın ilk dönemlerinde bütün haldeki örneklerden biraz yüksek olduğu, ilerleyen dönemlerde ise yakın seyrettiği saptanmış olup ilk dönemlerdeki farkın temizleme işlemi sırasında iç organlardaki bütünlüğün bozulmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak, Cai ve ark. (2014) -18 °C'de 90 gün süreyle muhafaza edilen levrek balığı filetolarında *Enterobacteriaceae* sayısının, muhafazanın başlangıcında  $1.33$  log<sub>10</sub> kob/g olarak tespit edildiğini ve muhafaza süresince düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Düşük *Enterobacteriaceae* sayısının beklenen bir durum olduğunu, bu mikroorganizmaların düşük sıcaklıklarda yavaş gelişim eğiliminde olmaları ve rekabetçi floradan olmamaları ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacıların örneklerde tespit ettikleri düşük *Enterobacteriaceae* sayısının balık türünün ve avlamanın yapıldığı suyun farklılığı ile hazırlama tekniklerinden kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.

DBB örneklerinde EB sayısında muhafazanın 15. ve 30. günleri arasında istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlenirken, 60. günde istatistiksel açıdan önemli azalmalar ( $p < 0.05$ ) ve 60. günden 120. güne kadar istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p < 0.05$ ) görülmüştür. Muhafazanın 120. gününde ise istatistiksel açıdan önemli azalmalar ( $p < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Muhafazanın 1. ve 60. gününde her iki uygulama şekli arasındaki fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 22).

DBB örneklerinde EB ile putresin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, triptamin ile arasında  $p < 0.05$  düzeyinde ve  $\beta$ -feniletilamin ile arasında  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde EB sayısı muhafaza başlangıcında  $3.36 \pm 0.18 \log_{10}$  kob/g iken muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0.05$ ) dalgalı bir seyir izleyerek, muhafaza sürecinin sonunda  $2.75 \pm 0.19 \log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 23).

DTB örneklerinde EB ile  $\beta$ -feniletilamin, tiramin ve spermin arasında  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

SBB ve STB örneklerinde  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen örneklerde laktobasil (*Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*) sayısı muhafaza başlangıcında sırasıyla  $1.59 \pm 0.16$  ve  $2.13 \pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olarak bulunurken, SBB örneklerinde laktobasil sayısında muhafazanın 10. gününe kadar, STB örneklerinde ise 12. gününe kadar artış olduğu, ancak muhafazanın sonraki günlerinde ise kısmi azalmaların olduğu tespit edilmiştir (Tablo 7).

Milijasevic ve ark. (2016)  $3 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 16 gün süreyle soğuk tütsülenmiş ve vakum paketlenerek muhafaza edilen sazan örneklerinde laktobasil sayısının, aynalı sazan örneklerinde  $0.85 \pm 0.25 \log_{10}$  kob/g ve iri başlı sazanlarda  $1.25 \pm 0.23 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve muhafazanın sonuna kadar artış gösterdiğini, muhafaza sonunda aynalı sazan örneklerinde  $3.40 \pm 0.32 \log_{10}$  kob/g ve iri başlı sazanlarda  $5.30 \pm 0.37 \log_{10}$  kob/g olduğunu tespit etmişlerdir. Aynalı sazan örneklerine ait değerler bu araştırmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında SBB ve STB örneklerine ait değerlerin ilgili araştırmacıların tespit ettikleri değerlerden yüksek olduğu görülmekte, farklı sonuçların numunelerin elde edildiği bölgenin ve örneklere uygulanan işlemlerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Araştırma sonuçlarına benzer olarak Zhang ve ark. (2015b), normal atmosfer basıncı altında paketlenmiş sazan filetoalarında  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 8 gün muhafaza edilen örneklerde muhafaza başlangıcında laktobasil sayısının  $2.08 \pm 0.15 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve muhafaza süresince artış gösterdiğini, muhafazanın 8. gününde ise  $6.46 \pm 0.15 \log_{10}$  kob/g olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre muhafazanın 8. gününe kadar her iki uygulama şeklinde de artış olduğu tespit edilmiştir. İlgili araştırmacıların yapmış oldukları çalışmada; 8 günlük muhafaza süresi sonunda bu araştırma sonuçlarına göre daha yüksek laktobasil sayısı belirlenmesinin, numunelerin elde

edildiği aquatik bölgenin farklılığından ve hazırlık süreçlerinden kaynaklanabileceğini akla getirmektedir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Yu ve ark. (2016)  $4\pm 1$  °C'de 20 gün süreyle soğukta muhafaza edilen ot sazan balığı filetolarında fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşal değişimlerin belirlenmesine yönelik yaptıkları bir çalışmada; laktobasil sayısının muhafaza başlangıcında  $2.8 \log_{10}$  kob/g olduğunu ve 20 günlük muhafaza sonunda  $6.6 \log_{10}$  kob/g'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Başlangıçtaki yüksek laktobasil yükünün balık türünden ve/veya örneklerin hazırlanmasına bağlı farklılıklardan kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Mikroorganizmaların çoğalmaları birbirinden farklı çevresel faktörlerden etkilenebilmektedir. Laktobasil'ler laktik asit ve bakteriosinler üretebilirler ve bu durum bozulma süreçleri içerisinde bu mikroorganizmaların seçici bir şekilde ortamda gelişmelerine katkı sağlayabilmektedir (Li ve ark., 2011).

SBB örneklerinde LB sayısı muhafazanın başlangıcında  $1.59\pm 0.16 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş ve muhafazanın 10. güne kadar istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiştir. Muhafaza süresince genel olarak temizlenmiş balıklarda LB sayısının daha az olduğu ve her iki uygulama şekli arasında muhafazanın 0. ve 14. günleri hariç LB sayısı açısından önemli fark olduğu ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 20).

SBB örneklerinde LB ile putresin, kadaverin, tiramin ve spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde, triptamin ve histamin ile arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde LB sayısı muhafazanın 0. gününde  $2.13\pm 0.10 \log_{10}$  kob/g olarak belirlenmiş, muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artışlar ( $p<0.05$ ) gözlenmiş ve muhafaza süreci sonunda  $4.68\pm 0.16 \log_{10}$  kob/g'a ulaştığı tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 21).

STB örneklerinde LB ile triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve spermin arasında  $p<0.05$  pozitif yönlü bir



korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin ile  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

Araştırma sonuçlarına göre  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen DBB ve DTB örneklerinde LB sayılarının her iki uygulama şekli için de 120 günlük muhafaza süresince dalgalı bir seyir izlediği, DBB örneklerinde muhafazanın 1. gününde  $<1\text{ log}_{10}$  kob/g ve DTB örneklerinde  $1.45\pm 0.21\text{ log}_{10}$  kob/g olurken, muhafaza sonunda DBB örneklerinde  $<1\text{ log}_{10}$  kob/g ve DTB örneklerinde ise  $1.25\pm 0.07\text{ log}_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8).

Bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Ekici ve ark. (2011) bütün ve temiz olarak hazırlanmış iki farklı uygulama şeklinde 120 gün süreyle  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen inci kefalı örneklerinde tüm muhafaza süresince laktobasil sayısının dalgalı bir seyir izlediğini, muhafaza başlangıcında laktobasil sayısının bütün ve temiz örnekler için  $<1\text{ log}_{10}$  kob/g olurken, 120. günde sırasıyla  $0.50\pm 0.71$  ve  $1.69\pm 0.00\text{ log}_{10}$  kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

DBB örneklerinde LB sayısı 1. günde  $<1\text{ log}_{10}$  kob/g olup, muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiş, ancak muhafaza sonunda yine başlangıçtaki gibi  $<1\text{ log}_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Muhafazanın 120. gününde bütün ve temiz uygulamalar arasındaki fark önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 22).

DTB örneklerinde LB sayısı muhafazanın 1. gününde  $1.45\pm 0.21\text{ log}_{10}$  kob/g olup, muhafaza süresince istatistiksel açıdan önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) gözlenmiş, muhafaza sonunda  $1.25\pm 0.07\text{ log}_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 23).

DBB örneklerinde LB ile TAP arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir. DTB örneklerinde LB ile diğer parametreler arasında önemli korelasyon bulunmamaktadır (Tablo 11-12).

Laktobasil'ler balıkların bağırsak florasında normal olarak bulunabilmekte ve birçok bağırsak patojenine karşı balıklarda koruyucu bir rol oynamaktadır. Diğer

tarafından bazı laktobasil türleri -20 °C'ye varan dondurma işlemlerinde bile soğuk şok proteinleri sayesinde canlı kalabilmektedirler (Ekici ve ark., 2011).

Muhafaza sürecinin ilerleyen günlerinde laktobasil izole edilmesi, bunların başlangıçta uygulanan şoklamadan sonra üreyemezken, daha sonra donma ısısına adapte olarak üreyebilmelerine bağlanabilir.

SBB ve STB örneklerinde 4 °C'de muhafazada pH değerleri muhafazanın başlangıcında sırasıyla en düşük 6.38 ve 6.48 olarak tespit edilmiştir. Balık ve ürünlerinde pH değeri tazeliğin belirlenmesinde önemli parametrelerden biri olarak görülmektedir. Mevsim ve türlere bağlı olarak balıklarda pH değerleri 5.5 ile 7.1 arasında değişebilmektedir (Özoğul, 2010).

Muhafaza sürecinde her iki uygulama şeklinde de pH değerleri yönünden dalgalanmaların olduğu, ilerleyen dönemlerde artış olduğu ve muhafazanın sonunda SBB ve STB örneklerinde sırasıyla  $6.89 \pm 0.01$  ve  $6.95 \pm 0.02$  seviyesine ulaştığı tespit edilmiştir.

Araştırma sonuçlarına benzer olarak, Yu ve ark. (2016)  $4 \pm 1$  °C'de 20 gün süreyle soğukta muhafaza edilen ot sazan balığı filetolarında, fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşal değışimlerin belirlenmesine yönelik yaptıkları bir çalışmada; pH değerinin muhafazanın başlangıcında azaldığını, azalmaya anaerobik glikolizis yoluyla enerji üretilmesi süresince laktik asit birikiminin veya ATP yıkımlanması sonucu açığa çıkan inorganik fosfat birikiminin neden olabileceğini bildirmişler, ancak muhafazanın ilerleyen dönemlerinde ise pH değerinin arttığını tespit etmişlerdir. Muhafazanın ilerleyen dönemlerdeki artışa ise endojen enzimler ve mikroorganizmaların faaliyetine bağlı olarak NH<sub>3</sub> ile biyojen aminler gibi alkali nitelikteki ürünlerin birikiminin katkısının olabileceğini belirtmişlerdir.

Manju ve ark. (2007), etlerde karbondioksitin çözünmesiyle de pH değerlerinin azalabileceğini bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde gümüş sazan balıklarında yapılan benzer bir çalışmada; pH değerlerinin muhafazanın ilk dönemlerinde azaldığı, bu azalmanın örneklerdeki çözünmüş CO<sub>2</sub> miktarındaki artıştan kaynaklanabileceği, muhafazanın

ilerleyen günlerinde ise arttığı ve bu artışın da endojen veya mikrobiyal enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlar sonucunda NH<sub>3</sub> ve TMA gibi volatil bazların artışına bağlı olarak gelişebileceği bildirilmiştir. Aynı çalışmada; muhafazanın başlangıcında pH değerinin 6.0 olduğu ve araştırma sonuçlarından düşük olduğu görülmektedir. Bu düşük pH'nın balıkların fiziksel aktiviteleri ve avlama/hasat süreçleri içerisinde yapılan uygulama ve öldürme tekniklerinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Fan ve ark., 2009). Hasat ve/veya avlama sonrası ilk dönemlerde balıklarda görülen hızlı pH düşüşü öncelikli olarak ölüm sürecinde oluşan stres faktörlerinden kaynaklanmaktadır. Stres altında anaerobik yolla glikojen rezervlerinin hızlı bir şekilde tüketilmesi sonucu laktik asit birikimine bağlı olarak pH değerlerinde düşme meydana gelmektedir (Ochrem ve ark., 2014; Sikorski, 2004).

Farklı sazan türlerinde raf ömrünün belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, muhafazanın başlangıcında pH değerlerinde görülen düşüşün ATP'nin yıkılmasından dolayı inorganik fosfat miktarlarındaki değişim veya anaerobik glikolizis nedeniyle laktik asit birikiminden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Liu ve ark., 2013b; Abdollahi ve ark., 2014).

Bu araştırmanın sonuçlarından farklı olarak Ochrem ve ark., (2014) yaptıkları bir çalışmada; bütün olarak ve temizlenerek hazırlanan ve 4 °C'de 10 gün süreyle soğukta muhafaza edilen sazan balıklarında pH değerini bütün ve temiz örneklerde muhafazanın başlangıcında 7.22 olarak bulurlarken, 24 saat sonra değerlerde azalma başladığını, ilerleyen günlerde artma olduğunu ve artışın 7. güne kadar devam ettiğini daha sonra tekrar azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada bütün ve temiz olarak muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresince günler arasında her iki grupta da pH değerleri açısından istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmadığı görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer olarak, Liu ve ark. (2013b) 0 °C'de 21 gün süreyle muhafaza edilen sazanlarda yaptıkları bir çalışmada; örnekler için pH değerlerinde muhafazanın başlangıcından itibaren ilk 3 gün içerisinde azalmalar olduğunu, daha sonra muhafazanın ilerleyen günlerinde önemli artışların görüldüğünü bildirmişlerdir.

Taze balıklarda pH 6.0-6.5 arasında değişirken (Fennema, 2000), muhafaza süresince görülen pH değişiklikleri tür farklılığına, avlanma/hasat yapılan sezona, balık büyüklüğüne, avlama yapılan suyun coğrafik lokasyonuna, kas tipine, su kompozisyonuna, beslenme şekline, açlık/tokluk haline, ölüm/öldürölme öncesi stres durumuna, stres yoğunluğuna ve muhafaza şartları gibi nedenlere bağlanmaktadır (Ocano-Higuera ve ark., 2009; Cai ve ark., 2014; Guzman ve ark., 2015). pH değeri balıklarda bozulmanın değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilmekte olup, 0.1 birim veya daha az düzeyde görülen bir değişiklik birinci derece kalitenin göstergesi, 0.1-0.2 birim değişiklik kabul edilebilir kalitenin göstergesi ve 0.2 birimden daha fazla görülen değişiklikler ise bozulmanın başlamasının işareti şeklinde değerlendirilmektedir (Mazorra-Manzano ve ark., 2000; Liu ve ark., 2013b).

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Wang ve ark. (2014) 4 °C'de 12 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanlarında pH değerlerinin muhafazanın ilk 8 gününde dalgalı bir durum izlediğini, muhafazanın sonuna doğru artış gösterdiğini, önemli artışların mikroorganizmalar tarafından aminler ve amonyak gibi temel volatil komponentlerin üretilmesine bağli olabileceğini bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarına göre, TVB-N ve bazı biyojen aminler ile pH arasında bulunan pozitif yönlü korelasyonların bu durumu desteklediği görölmüştür.

Erkan ve Özden (2008), Zhu ve ark. (2012) ve Ochrem ve ark. (2014), balık etlerinde pH değerlerinin tazeliğin doğrulanmasında tek başına yeterli bir kriter olmadığını, diğer kimyasal parametreler ve duyuşal analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Balık etlerinde pH değeri yönünden tüketilebilirlik sınırı 6.80-7.00 olarak bildirilmektedir (Ekici ve ark., 2011), Bu araştırmada incelenen örneklerin duyuşal olarak reddedildiği muhafazanın 8. gününde STB örneklerine ait pH değerlerinin bu sınırları aştığı, SBB örneklerinde ise muhafazanın 10. gününde bu sınıra ulaştığı görölmüştür.

SBB örneklerinde muhafazanın 0. gününde pH değeri  $6.54 \pm 0.23$  iken muhafazanın 8. gününe kadar bozulmaya bağli olarak dalgalı bir seyir izleyerek

istatistiksel açıdan önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) olduğu, 10. günden itibaren istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p<0.05$ ) göstererek  $6.81\pm 0.01$ 'e yükseldiği ve muhafazanın sonunda ise  $6.89\pm 0.01$  değerine ulaştığı tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 14).

SBB örneklerinde pH ile TVB-N, TAM ve PS arasında  $p<0.01$ , TAP, putresin, kadaverin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, duyu analizi puanları arasında  $p<0.05$  negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde muhafazanın 0. gününde ve sonunda pH sırasıyla  $6.52\pm 0.06$  ve  $6.95\pm 0.02$  olarak tespit edilmiş ve muhafaza süresince artış istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Muhafazanın 6., 8., 10. ve 12. günlerinde pH değerleri açısından bütün ve temizlenmiş balıklar arasındaki fark önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. pH değerleri muhafaza sürecinde STB örneklerinde daha yüksek bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 14).

STB örneklerinde pH ile TAP, PS, MK, KG, EB ve spermin arasında  $p<0.01$ , TAM, FS, LB, triptamin, kadaverin, histamin ve spermidin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, duyu analizi puanları arasında  $p<0.01$  negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazada pH değerlerinin muhafazanın 1. gününde sırasıyla  $6.63\pm 0.18$  ve  $6.75\pm 0.06$  olduğu tespit edilmiştir. Muhafaza sürecinde her iki uygulama şeklinde pH değerleri yönünden dalgalanmaların olduğu, muhafazanın ilerleyen dönemlerinde azalmalar görüldüğü ve muhafaza sonunda ise DBB ve DTB örneklerinde sırasıyla  $6.41\pm 0.01$  ve  $6.52\pm 0.00$  olduğu tespit edilmiştir.

Teknolojik olarak herhangi bir işleme tabi tutulmayacak olan taze avlanan/hasat edilen balıkların; görünüş ve tekstürün, kokusunun ve lezzetin korunması ile süresinin uzatılması için uygulanacak olan dondurularak muhafaza yöntemi tüketicilere avantajlar sağlamaktadır (Popelka ve ark., 2016).

Araştırma sonuçlarına benzer sonuçlar, Ekici ve ark. (2011) tarafından bütün ve temiz olarak hazırlanmış iki farklı uygulama şeklinde 120 gün süreyle  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de

muhafaza edilen inci kefali örneklerinde elde edilmiş, muhafaza süresince örneklerin pH değerlerinin dalgalanmalar gösterdiği ve muhafaza süresinin sonunda her iki uygulama şeklinde de azalmaların olduğu bildirilmiştir. Benzer bulgular Arannilewa ve ark. (2005) tarafından dondurulmuş halde 60 gün süreyle muhafaza edilen tilapia balıklarında belirlenmiş ve örneklerin pH değerlerinin muhafazanın 60. gününe kadar artış gösterdiği bildirilmiştir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak; -18 °C'de 6 ay boyunca muhafaza edilen sazan kıymasında pH değeri 0. günde 6.1 olarak tespit edilirken, muhafazanın ilerleyen dönemlerinde arttığı ve 120. gününde ise azalarak 6.3'e düştüğü bildirilmiştir (Yanar ve Fenercioğlu, 1999).

Araştırma sonuçlarına göre farklı bulgular Emire ve Gebremariam (2010) tarafından 90 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen tatlisu çipurası olarak da bilinen tilapia balıklarında yapılan bir çalışmada da tespit edilmiş ve pH değerinin muhafaza süresince arttığı bildirilmiştir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Popelka ve ark. (2016), -18 °C'de 180 gün süreyle muhafaza edilen bütün ve fileto şekline getirilmiş alabalık örneklerinde pH değerinin muhafazanın 1. ayında ve 3. ayında sırasıyla  $6.79 \pm 0.01$  ve  $6.78 \pm 0.05$ , muhafaza sürecinin sonunda ise  $6.75 \pm 0.02$  olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir.

pH değerleri ile ilgili farklı sonuçların balık türlerinin farklı olması, su kompozisyonundaki farklılıklar veya örneklerin temini ve hazırlık aşamalarında uygulanan metodlardan kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir.

Çalışma sonuçlarına göre DBB ve DTB örneklerine ait pH değerleri 120 günlük depolama süresince 6.34-6.79 arasında değişmiş olup, muhafaza süresince tüketilebilirlik sınır değeri olarak bildirilen 6.8-7.0'ın (Varlık ve ark., 1993) altında kaldığı görülmüştür

DBB örneklerinde muhafazanın 1. gününde  $6.63 \pm 0.18$  olarak belirlenen pH değerinde muhafaza süresince istatistiksel yönden önemli ( $p < 0.05$ ) artma ve azalmaların olduğu, 120. günde ise pH değerinin  $6.41 \pm 0.01$  olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 16).

DBB örneklerinde pH ile TVB-N arasında  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon bulunurken, duyusal analiz puanları ile triptamin miktarı arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde pH değeri muhafazanın 1. gününde  $6.75\pm 0.06$  iken, ilk 60 günlük muhafaza süresince dalgalı bir seyir izleyerek istatistiksel olarak önemsiz azalmalar görülmüş olup, ilerleyen günlerde önemli azalmalar ( $p<0.05$ ) görülmüş ve en düşük pH  $6.44\pm 0.01$  ile 90. günde tespit edilmiştir.

120 günlük muhafaza süresince pH değerinin her iki uygulama şekli içinde tüketilebilirlik sınırı olan 6.80-7.00 değerlerini aşmadığı görülmüştür. Temizlenmiş balıklarda pH değerlerinin bütün haldeki balıklardan daha yüksek olduğu ve 30., 60. ve 120. günlerde her iki uygulama şekli arasında istatistiksel açıdan önemli fark ( $p<0.05$ ) bulunduğu görülmüştür (Tablo 8, Şekil 16).

DTB örneklerinde pH ile duyusal analiz puanları arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve TAM ile  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, tiramin miktarı arasında  $p<0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

SBB ve STB örneklerinde 4 °C'de muhafaza şeklinde TVB-N değerlerinin muhafazanın başlangıcında sırasıyla  $11.34\pm 0.20$  ve  $11.76\pm 0.20$  mg/100 g olduğu tespit edilmiştir. Muhafaza süresince her iki uygulama şeklinde de TVB-N değerlerinin arttığı görülmüş ve muhafaza sonunda SBB ve STB örneklerinde sırasıyla  $30.80\pm 1.98$  ve  $26.61\pm 1.57$  mg/100 g olduğu belirlenmiştir.

Balık ve ürünlerinin tazeliğinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal yöntemlerden biri olan TVB-N miktarındaki artışlar, başlıca serbest amino asitlerin deaminasyonu, nükleotidlerin yıkımlanması ve amino asitlerin oksidasyonu gibi reaksiyonların oluştuğu enzimatik ve mikrobiyal faaliyetlere bağlı olarak gerçekleşmektedir (Gill, 1990; Song ve ark., 2011). Balıklarda bir bozulma indikatörü olan TVB-N başlıca primer, sekonder ve tersiyer aminler ile proteinlerin ve NPN komponentlerinin (volatil amin TMA ve amonyak gibi) yıkımlanmasıyla oluşmakta olup daha çok mikroorganizmaların faaliyeti ile ilgilidir (Huss, 1995; Ruiz-Capillas ve Moral, 2005; Xu ve ark., 2009; Shi ve ark., 2012; Cai ve ark., 2014). Bu araştırmada

bütün ve temizlenmiş haldeki örneklerdeki biyogen aminlerde görülen artışlar ile TVB-N miktarında görülen artışların birbiriyle uyumlu olduğu görülmektedir.

Yeni yakalanmış taze balıklarda TVB-N miktarı genel olarak 5 mg/100 g ile 20 mg/100 g arasında değişmektedir (Egan ve ark., 1981).

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Scherer ve ark. (2006), farklı öldürme teknikleri uygulanarak ve 20 gün süreyle soğukta (1 °C) muhafaza ettikleri ot sazanlarında TVB-N değerinin muhafaza başlangıcında düşük olduğunu ve muhafaza süresince TVB-N miktarında artışların olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde 3 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan filetolarında kalite değişikliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, TVB-N miktarının muhafaza süresince arttığı ve muhafaza sonunda 30.43 mg/100 g olduğu tespit edilmiştir (Bao ve ark., 2013).

SBB örneklerinde muhafaza başlangıcında TVB-N değerleri için bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde, ot sazanlarında 10.01 mg/100 g (Zhang ve ark., 2011), kolyoz balığı filetolarında 11.06 mg/100 g (Erkan ve Bilen, 2010), çipura filetolarında 11.46-13.21 mg/100 g (Tsironi ve ark., 2009) ve tütsülenmiş aynalı sazan filetolarında ortalama 12.50 mg/100 g (Duman ve Patır, 2007) olarak elde edilmiştir. Düşük ısı derecelerinde muhafaza mikroorganizmaların kapasitesinde veya sayısında azalmalara ve böylece belirli NPN komponentleri üzerine olan mikrobiyal kaynaklı oksidatif etkinin düşük düzeylerde kalmasına neden olmakta, sonuç olarak da daha düşük düzeylerde TVB-N oluşmaktadır (Zhang ve ark., 2011).

Araştırmanın bulgularına benzer şekilde, Li ve ark. (2012) 4 °C’de temizlenmiş şekilde 36 gün muhafaza edilen Çin sazan balığında TVB-N değerinin başlangıçta 10.03 mg/100 g olduğunu, muhafaza süresince arttığını ve bu araştırmanın sonuçlarından farklı olarak 12. günde tazeliğin bir göstergesi olarak gösterilen <20 mg/kg değerini geçtiğini tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise örneklerde 10. günde Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)’ne göre TVB-N için verilen limit değerinin (<20 mg/100 g) üstüne çıktığı görülmektedir. Muhafaza başlangıcında örneklere ait TVB-N değerlerinin diğer araştırma sonuçlarından daha yüksek olduğu ve bu durumun çalışmada kullanılan örneklerin tür farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



Yapılan bu araştırmada belirlenen sonuçlara benzer şekilde Shi ve ark. (2012), 3 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı filetolarında TVB-N miktarını 80.5 ile 309.5 mg kg<sup>-1</sup> olarak tespit etmişlerdir. Araştırma bulgularına göre fileto örneklerinde başlangıçta tespit edilen düşük TVB-N miktarının, çalışmada kullanılan örneklerin farklı olmasından ve filetoların hazırlık süreçlerinde uygulanan işlemlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

SBB rneklerinde TVB-N miktarında muhafaza sürecinin ilk başlarında önemli artışlar bulunmazken, muhafazanın 6. gününden itibaren görülen artışlar istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olup, muhafazanın 10. gününde 26.95±0.50 mg/100 g seviyesine ulaştığı ve tktilebilirlik eşik değer olan >28 mg/100 g düzeyine çok yaklaştığı belirlenmiştir. Muhafazanın sonlarına doğru ise 30.80±1.98 mg/100 g ile kabul edilemez seviyeye yükseldiği tespit edilmiştir. Her iki uygulama şeklinde de örneklerin duysal olarak reddedildiği 8. güne kadar TVB-N miktarının Su rnleri Yönetmeliği (2008)’ne göre (<20 mg/100 g) uygun olduğu görülmektedir (Tablo 7, şekil 15).

SBB rneklerinde TVB-N miktarı ile TAM, TAP, PS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin değerleri arasında p<0.01 ve spermin ile p<0.05 düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, duysal analiz puanları ile p<0.01 düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

Her iki uygulama şekli açısından duysal bozulmanın başladığı 8. günde bütün ve temizlenmiş balıklarda TVB-N değerleri sırasıyla 16.45±0.50 mg/100 g ve 13.51±0.30 mg/100 g olarak belirlenmiş olup, taze ve soğutulmuş balıklar için izin verilen limit değerin altında olduğu görülmektedir. TVB-N değerlerine göre her iki uygulama şeklinde de balıkların 10 günlük bir raf ömrüne sahip olduğu görülmektedir.

Fan ve ark. (2016) siyah sazanlarda yaptıkları bir çalışmada, 4 °C’de 21 gün süreyle muhafaza edilen örneklerde TVB-N miktarının bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde 9. güne kadar 25 mg/100 g olduğunu ve tktilebilirlik sınırını geçmediğini bildirmişlerdir.

STB rneklerinde TVB-N değeri muhafaza sürecinin 0. gününde 11.76±0.20 mg/100 g olarak tespit edilmiş, muhafazanın 4. gününden itibaren muhafaza süresince

elde edilen değerler arasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) gözlenmiştir. TVB-N miktarının muhafazanın 12. gününde  $30.45\pm 0.50$  mg/100 g seviyesine ulaşarak tüketilebilirlik eşik değer olan  $>28$  mg/100 g'ı aştığı tespit edilmiştir. Bütün ve temizlenmiş balıklarda TVB-N değerleri açısından önemli fark olduğu ( $p<0.05$ ) belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 15).

STB örneklerinde TVB-N miktarı ile TAM, TAP, PS, KG, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin ve spermidin değerleri arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, duyu analizi puanları ve  $\beta$ -feniletilamin arasında  $p<0.01$  negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

DBB ve DTB örneklerinde  $-18$  °C'de muhafazada TVB-N değerleri muhafazanın 1. gününde sırasıyla  $12.60\pm 0.99$  ve  $12.39\pm 0.30$  mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Muhafaza süresince her iki uygulama şeklinde de TVB-N değerlerinin arttığı görülmüş ve muhafaza sonunda DBB ve DTB örneklerinde sırasıyla  $14.35\pm 0.50$  ve  $14.14\pm 0.20$  mg/100 g olduğu görülmüştür.

TVB-N miktarı balıkların büyüklüğüne, mikroflorada bulunan mikroorganizma türlerine ve mevsimsel döneme bağlı olarak değişebilmektedir. TVB-N miktarındaki artış endojen bileşiklerin yıkımlanması ve NPN komponentlerinin açığa çıkmasının bir sonucu olarak meydana gelmektedir (Orban ve ark., 2011; Jezek ve Buchtova, 2012; Majumdar ve ark., 2013).

Araştırma bulgularına benzer şekilde Asgharzadeh ve ark. (2010),  $-18$  °C'de 180 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı kıymalarında TVB-N miktarını muhafaza başlangıcında  $12.70$  mg/100 g olarak tespit ederlerken, TVB-N miktarının muhafaza süresince artış gösterdiğini ve muhafazanın 120. gününde  $15.0$  mg/100 g seviyelerine ulaştığını bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak,  $-20$  °C'de 135 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı kıymalarından içilebilir nitelikteki soğuk su ile yıkanarak ve yıkanmadan hazırlanan, aynı zamanda kriyoprotektan eklenen ve eklenmemiş örnekler üzerinde kimyasal parametrelerin araştırıldığı bir çalışmada elde edilmiş olup; muhafaza başlangıcında yıkama işleminden önce örneklerdeki TVB-N miktarının  $13.56$  mg/100 g

olarak tespit edildiği, ancak TVB-N miktarının dondurularak muhafaza işlemlerinde kalite kaybının belirlenmesinde bir indikatör olarak çok güvenilir bir parametre olamayabileceği bildirilmiştir (Majumdar ve ark., 2013).

Moral-Rama (1987), TVB-N için dondurularak muhafaza süresince TVB-N değerlerinde beklenen değişikliklerin olamayabileceğini ve dondurma işlemi basamaklarından önce balığın kalitesinin belirlenmesinde bir indikatör olarak dondurulmuş balıklar için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Popelka ve ark. (2016), -18 °C'de 180 gün süreyle muhafaza edilen bütün ve fileto şekline getirilmiş alabalık örneklerinde TVB-N miktarını taze örneklerde  $12.75 \pm 0.52$  mg/100 g olarak tespit etmişler ve 180 günlük muhafaza süresince artış gösterdiğini bildirmişlerdir. İlgili çalışmada dondurularak muhafaza edilen örneklerdeki TVB-N miktarı, bu araştırma sonuçlarından farklı olarak muhafazanın 1. ve 3. ayında sırasıyla  $17.03 \pm 0.1$  ve  $17.03 \pm 0.21$  mg/100 g olarak tespit edilirken muhafazanın 6. ayında artış gösterdiği ve  $18.74 \pm 1.71$  olduğu bildirilmiştir. Elde edilen farklı sonuçlar, avlama/hasat sonrası ilk andan itibaren örneklere uygulanan soğuk muhafaza işlemlerindeki ve hijyen şartlarındaki farklılıklara bağlı olabilir.

TVB-N değerleri için elde edilen farklı sonuçlar; örneklerdeki mikrobiyal yükün durumuna, avlama/hasat yapılan su kaynağının mikrobiyolojik özelliğine, balık türüne ve büyüklüğüne, avlama/hasat sezonuna ve bölgesine, balıkların yaş ve cinsiyetine, örneklerin hazırlanmasında kullanılan teknikler ile şartlarına ve muhafaza şekillerinin farklılığına bağlı olarak ortaya çıkan değişiklikler ile açıklanabilir (Sadok ve ark., 1996; Emire ve Gebremariam, 2010; Orban ve ark., 2011).

Balıklar, tüm işleme proseslerinde oluşan protein denatürasyonu, mikrobiyal kontaminasyon, kontaminasyondaki tür farklılıkları, dondurma işlemi sürecinde oluşan buz kristalleri ve buna bağlı olarak hücre yapısının yıkıma uğraması gibi olaylardan değişik düzeylerde etkilenebilmekte ve bütün bunlara bağlı olarak her balıkta farklı yoğunlukta NPN bileşikleri ve biyojen aminler gibi parçalanma ürünleri oluşabilmektedir (Jezek ve Buchtova, 2012).

DBB örneklerindeki TVB-N miktarı muhafaza sürecinin ilk gününde  $12.60 \pm 0.99$  mg/100 g olarak belirlenmiş, 60. güne kadar önemli bir artış tespit edilemezken ilerleyen günlerdeki artışların istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 8, Şekil 17).

DBB örneklerinde TVB-N miktarı ile duyusal analiz puanları arasında  $p < 0.01$  negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde TVB-N değeri muhafazanın 1. günü için  $12.39 \pm 0.30$  mg/100 g olarak tespit edilmiş, muhafaza sürecinin 60. gününden sonra önemli düzeyde ( $p < 0.05$ ) artış ve azalışlar olduğu, bütün ve temizlenmiş olarak muhafaza edilen örnekler arasında muhafaza süresince TVB-N miktarları açısından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 17). Ülkemizde Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre dondurulmuş balıklarda TVB-N için limit değerler belirlenmemiştir.

DTB örneklerinde TVB-N ile duyusal analiz puanları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon bulunurken, PS ve tiramin miktarı arasında ise  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Tüketiciler tarafından balıklarda raf ömrünün ve tazeliğin değerlendirilmesinde ve daha iyi anlaşılmasında organoleptik özellikler önemli bir parametre olarak görülmektedir (Bahmani ve ark., 2011; Bao ve ark., 2013).

Soğukta muhafaza edilen SBB ve STB örneklerine ait duyusal değerlendirmeler sonucunda örneklerin muhafazanın 8. gününde bozulmuş olduğu görülmüştür.

Bu araştırmada elde edilen bulgulara benzer sonuçlar,  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan filetolarında kalite değişikliklerinin araştırıldığı bir çalışmada da tespit edilmiş; örneklerin panelistler tarafından duyusal olarak değerlendirilmesi neticesinde tazeliğin ilk 6 gün süresince yüksek olduğu belirlenmiştir (Bao ve ark., 2013). Bütün olarak ve temizlenerek iki farklı şekilde hazırlanan ve  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün boyunca soğukta muhafaza edilen sazan balıklarında ise, örneklerin 8. günden itibaren kötü kokmaya başladığı ve 10. günden itibaren ise artık kabul edilemez olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (Ochrem ve ark., 2014).

Benzer bulgular Erkan ve Özden (2008) tarafından yapılan bir araştırmada; bütün ve temizlenmiş halde soğukta muhafaza edilen sardalya balıklarında saptanmış, her iki uygulama şeklinde de duyuşal değerlendirmeler yönünden bakıldığında raf ömrünün 7 gün olduğu ve duyuşal analiz puanları yönünden istatistiksel olarak bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Hasani ve Hasani (2014) 4 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetolarında duyuşal analiz puanlarının muhafaza süresince azaldığını ve kontrol grubunda 9. günde kokuşma olduğunu bildirmişler, Yu ve ark. (2016) 4±1 °C de 20 gün süreyle soğukta muhafaza ettikleri ot sazan balığı filetolarında muhafaza süresince duyuşal puanların azaldığını, 7. güne kadar kabul edilebilirlik düzeyinde iken 11. günde kabul edilebilirlik düzeyinin düştüğünü ve raf ömrünün en fazla 10 gün civarında olabileceğini belirlemişlerdir. Yine Zhang ve ark. (2015b) normal atmosfer basıncı altında paketlenmiş sazan filetolarında 8 gün süreyle 4 °C’de muhafaza sonrasında örneklerin panalistler tarafından 8. günde tktilemez olarak değerlendirildiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar örnekler e ait TAM mikroorganizma sayısının 6. günde izin verilen limiti (7 log<sub>10</sub> kob/g) aştığını ve 8.67 log<sub>10</sub> kob/g olduğunu, ancak duyuşal yönden reddin 8. günde olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir bulgu Wang ve ark. (2014) tarafından 4 °C’de 12 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanlarında yapılan bir çalışmada da bildirilmiş olup, örneklerin TAM sayısının izin verilen limit değerlerini 8. günde aşmasına rağmen örnekler için duyuşal olarak bozulmanın 12. günde gerçekleştiği şeklinde dir.

Bu araştırma sonuçlarına göre örneklerin duyuşal analiz puanlarına göre “bozulmuş” olarak belirlendiği 8. günde TAM sayısının izin verilen limit değerin altında olduğu görülmüştür. Benzer bir durum da Li ve ark. (2012) tarafından 4 °C’de 36 gün süreyle muhafaza edilen Çin sazan balıklarında saptanmış, örneklerin 16. günde reddedilmesine rağmen muhafaza sonuna kadar limit mikrobiyal yükün aşılmadığı tespit edilmiştir.

SBB ve STB örneklerinde muhafazanın 0. gününde elde edilen duyuşal analiz puanlarına göre 9.00±0.00 ile “ok iyi” olarak değerlendirilirken, her iki grupta da muhafaza süresince önemli azalmalar (p<0.05) bulunmuştur. Duyuşal analiz puanları bakımından bütün olarak ve temizlenerek muhafaza edilen örnekler arasındaki farkın

önemsiz olduğu tespit edilmiş, her iki uygulama şeklinde de örneklerin muhafazanın 4. ve 6. günlerinde “iyi” kalitede olduğu belirlenmiştir (Tablo 7). Muhafazanın 8. gününde bütün balık örnekleri  $1.87 \pm 0.42$  ve temiz balık örnekleri ise  $2.08 \pm 0.29$  puan olarak hedonik skalaya göre 3.90-1.00 puan aralığında oldukları için “bozulmuş” olarak değerlendirilmiştir. Duyusal analiz puanlarına göre; bütün ve temizlenmiş balıkların 8. güne kadar “tüketilebilir” özelliklerini koruduğu belirlenmiştir. Soğukta muhafaza yöntemi balıkların taze olarak muhafaza edilmesinde sıkça tercih edilen yöntemlerdendir. Buz, deniz suyunun soğutularak kullanılması, su-buz karışımı ve kuru buz soğukta muhafazada kullanılmakta olup; soğukta muhafaza işleminin etkinliğinin sağlanmasında muhafaza süresi ve diğer muhafaza koşulları önemli bir yer tutmaktadır (Göğüş ve Kolsarıcı, 1992). Balıkların avlanma/hasat sonrası buz içerisinde muhafazaya alınması sonucunda tazeliklerini 12 gün boyunca koruyabildikleri, muhafazada buz kullanılmaması durumunda ise bu sürenin türlere ve diğer faktörlere göre değişmekle birlikte 4-6 gün arasında azaldığı bildirilmiştir (İnal, 1992). Balıkların 0 °C’de 9 gün, 3 °C’de 4-6 gün ve 5 °C’de 3 gün süreyle tazeliklerini koruyabildikleri, muhafaza ısısının düşürülmesi ile daha uzun raf ömrünün sağlanabileceği bildirilmektedir (Alperden, 1993).

SBB örneklerinde belirlenen duyusal analiz puanları ile TVB-N, TAM, TAP, PS, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin ve spermidin değerleri arasında  $p < 0.01$  ve pH, spermin miktarı arasında ise  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon bulunurken (Tablo 9), STB örneklerinde duyusal analiz puanları ile pH, TVB-N, TAM, TAP, PS, MK, KG, FS, EB, LB, triptamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü ve  $\beta$ -feniletilamin değeri arasında da  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

Her iki uygulama şeklinde de duyusal analiz puanlarında azalma görülürken TVB-N miktarları, pH değeri ve mikroorganizma sayıları ile biyojen amin seviyelerinde önemli artışlar olduğu görülmektedir.

Araştırmada -18 °C’de muhafaza edilen DBB ve DTB örneklerine ait duyusal değerlendirmeler neticesinde, örneklerin 120 günlük muhafaza süresi sonunda “iyi” kategorisinde yer aldığı görülmüştür.

Bu araştırmanın sonuçlarına benzer şekilde, Tokur ve ark. (2006)'nın -18 °C'de 150 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan balığı filetolarında renk, koku, lezzet ve genel kabul edilebilirlik yönünden duyu analizler yaptıkları çalışmada, örneklerde duyu analiz puanlarında muhafaza süresince azalmaların olduğu, dondurarak muhafaza süreci boyunca balık ve balıkçılık ürünlerinde kabul edilebilirliğin duyu değerlendirilmelere dayandırılması gerektiği bildirmiştir.

Bu çalışmada incelenen diğer kimyasal parametrelere ait değerler de duyu analiz sonuçlarını desteklemekte olup, duyu ve kimyasal parametreler birarada değerlendirildiğinde aynalı sazan balıklarının 120 gün süreyle dondurularak muhafaza edilebilmesinin mümkün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde Siddaiah ve ark. (2001), -18 °C'de 180 gün boyunca muhafaza edilen gümüş sazan balığı kıymalarında 30 gün aralıklarla yapılan analizlerde hedonik skalaya göre duyu değerlendirilme sonuçlarının azalma gösterdiğini, örneklerin 180 günlük muhafaza süreci içerisinde tüketilebilir özelliklerini koruduklarını bildirmişlerdir.

DBB ve DTB örneklerinde muhafaza süresince duyu analiz puanlarında  $9.00 \pm 0.00$  ile  $5.16 \pm 0.36$  arasında, yavaş olmakla birlikte istatistiksel olarak önemli azalmalar ( $p < 0.05$ ) görülmüştür. Muhafazanın 15., 30. ve 60. günlerinde her iki uygulama şekli için elde edilen değerlendirme puanları arasında önemli fark ( $p < 0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. Örneklerde belirlenen duyu değerlendirme puanlarına göre; her iki uygulama şeklinde de 30. günde örneklerin “çok iyi” kalite sınıfında ve muhafaza süreci sonuna kadar olan değerlendirmelerde ise “iyi” kalite sınıfında olduğu görülmektedir. Duyu analiz puanlarına göre; bütün ve temizlenmiş balıkların 120. güne kadar bozulmadığı ve “tüketilebilir” özelliklerini koruduğu belirlenmiştir (Tablo 8).

DBB örneklerinde duyu analiz puanları ile TAP arasında  $p < 0.05$  düzeyinde ve TVB-N, PS arasında  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü, pH ile ise  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11). DTB örneklerinde ise duyu analiz puanları ile TAM ve pH arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon

bulunurken, PS ve putresin ile arasında  $p < 0.05$  düzeyinde, TVB-N ve tiramin ile arasında  $p < 0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Biyoaktif aminler bitkilerin, hayvanların ve mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu oluşan düşük molekül ağırlığına sahip organik bazlardır (ten Brink ve ark., 1990; Halasz ve ark., 1994).

Bu aminler taze ve işlenmiş gıdalarda serbest amino asiterin dekarboksilasyonu, termal dekompozisyon, nitrojenli komponentlerin hidrolizi ve aldehitlerin veya ketonların transaminasyonu ile meydana gelmektedir (Silla Santos, 1996; Saaid ve ark., 2009; Park ve ark., 2010).

Aminler; vücut ısısının düzenlenmesi ve kan basıncının kontrol edilmesinde rol oynamaları, hormonların sentezlenmesinde öncül maddeler olmaları, alkaloidlerin, nükleik asitlerin ve proteinlerin sentezinde azot kaynağı olarak kullanılmaları (Bouchereau ve ark., 2000; Jansen ve ark., 2003), gıdalarda aroma verici maddelerin yapısında bulunmaları, mide hacminin ve mide asit salgısının düzenlenmesinde görev yapmaları, vücut sıcaklığının dengelenmesi ve beyin fonksiyonlarının devamlılığında etkili olmaları açısından son derece önemlidirler (Ölmez, 2000; Allen, 2004).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu için iki biyokimyasal yol olduğu düşünülmektedir. Dekarboksilasyon ya gıdalarda doğal olarak bulunan enzimler (endojen dekarboksilaz enzimleri) ya da mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler (eksojen dekarboksilaz enzimleri) vasıtasıyla gerçekleştirilmektedir (Silla Santos, 1996; Flick ve Granata, 2005).

Amino asitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen amin oluşumu, ilgili amino asitin yapısında bulunan  $\alpha$ -karboksil grubun uzaklaştırılması ile gerçekleşmektedir ve bu olay mikrobiyal dekarboksilazlar tarafından gerçekleştirildiğinde oluşan ürün biyojen amin adını almaktadır (Shalaby, 1996).

Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu, dekarboksilaz pozitif spesifik mikroorganizma türlerinin varlığına, dekarboksilaz aktivitesinin düzeyine ve substrat olarak ortamda serbest amino asit bulunuşuna bağlıdır (Suzzi ve Gardini, 2003; Rivas ve ark., 2008).



Farklı tipte ve konsantrasyonlarda biyojen amin oluşumu direkt olarak gıdanın kendi yapısıyla veya o gıdada bulunan mikroorganizmaların sayısı, cinsi ve türleri ile ilişkilidir (den Brinker ve ark., 2002; Innocente ve ark., 2007).

Bozulmanın indikatörü olarak kullanılan bir diğer enzimatik bozulma ürünü olan biyojen aminler; özellikle balık ve ürünlerinde hem kalite indikatörü ve mikrobiyal bozulma indeksi olarak değerlendirilmeleri hem de toksik etkilerinden dolayı halk sağlığı açısından ayrı bir öneme sahiptirler (Gökoğlu ve Varlık, 1995; Krizek ve ark., 2002).

Muhafaza süresince gıdalarda oluşan biyojen aminlerin tipi ve miktarında; ortamda prekursor amino asitler ve dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların bulunması gibi intrinsik faktörler ile (Önal, 2007), yine ortamda bulunan fermente olabilen karbonhidratlar, serbest amino asitler, enzimler, vitaminler, karbon kaynakları, oksijenin varlığı ve miktarı ile  $a_w$ , pH düzeyi, muhafaza ısısı, muhafaza teknikleri ve antimikrobiyal ajanların kullanılması gibi ekstrinsik parametreler de önemli rol oynamaktadır (Masson ve ark., 1997; Greif ve ark., 2006; Bover-cid ve ark., 2008; Park ve ark., 2010).

Balıklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkili olan en önemli faktörlerden birisinin muhafaza ısısı olduğu bilinmekte olup, bir çok araştırmacı tarafından düşük ısılarda muhafazanın biyojen aminlerin oluşmasını yavaşlattığı bildirilmiştir. Veciana-Nogues ve ark. (1990), biyojen amin oluşumunun 4-6 °C'lik muhafaza ısısında 18-22 °C'ye oranla daha uzun ve yavaş şekillendiğini, ancak buzdolabında saklamanın amino asit dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların gelişimini engelleyemediğini bildirmişlerdir. Yine psikrofil karakterli ve dekarbosilaz pozitif mikroorganizmaların soğuk muhafaza koşullarında (0-4 °C) histamin üretebilme yeteneklerini koruyabildikleri bildirilmektedir (Emborg ve ark., 2005; Dalgaard ve ark., 2006; Emborg ve Dalgaard, 2008).

SBB örneklerinde 4 °C'de muhafazada triptamin miktarında tüm muhafaza süresince dalgalanmaların olduğu; STB örneklerinde ise muhafaza süresince artışlar olduğu görülmüştür.

Tespit edilen sonuçlara benzer şekilde Li ve ark. (2016), 4 °C'de muhafaza edilen aynalı sazan fileto örneklerinde triptamin miktarında dalgalanmaların görüldüğünü ve muhafaza süresi içerisinde artma/azalmaların olduğunu, başlangıçta triptamin miktarının farklı kas tiplerine ait örneklerde 1.79 ve 1.88 ppm arasında belirlenirken, muhafazanın 8. gününden itibaren tespit limiti altında kaldığını ve bu nedenle tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Yu ve ark. (2016), 4 °C'de 20 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanı filetolarında muhafaza süresince triptamin konsantrasyonunda dalgalanmaların olduğunu, ancak bu dalgalanmaların önemsiz olduğunu ve dikkate alınmayabileceğini bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Bakar ve ark. (2010), 4 °C'de 15 gün süreyle muhafaza ettikleri ırmak balığı filetolarında triptamin konsantrasyonun muhafazanın 12. gününe kadar artış gösterdiğini ve sonra azaldığını bildirmişlerdir.

Belirlenen sonuçlardan farklı olarak, Li ve ark. (2012) 0 °C ve 4 °C'de temizlenmiş olarak 36 gün süreyle muhafaza ettikleri Çin sazan balığında; 4 °C'de muhafaza edilen örneklerde muhafaza başlangıcında triptaminin tespit limiti altında olduğu için belirlenemediğini, örneklere ait triptamin miktarının muhafaza süresince yavaş bir şekilde artış gösterdiğini ve muhafazanın 16. gününde  $11.99 \pm 2.15$  ppm olduğunu bildirmişlerdir. Çin sazanlarında triptamin ve  $\beta$ -feniletilamin miktarının tazeliğin değerlendirilmesinde iyi birer indikatör olamayabileceğini,  $\beta$ -feniletilamin için toksik dozun (30 mg/kg) ancak muhafazanın 24. gününde ve sadece 4 °C'de muhafaza edilen örneklerde tespit edildiğini ortaya koymuşlardır.

Shi ve ark. (2012) ise 3 °C'de 15 gün süreyle muhafaza ettikleri gümüş sazan balığı filetolarında triptamin miktarını, muhafaza başlangıcında tespit edemezken, muhafazanın ilerleyen dönemlerinde arttığını ve muhafaza sonunda 58.56 mg/kg düzeyine çıktığını bildirmişlerdir.

SBB örneklerinde triptamin seviyesi muhafaza süreci başlangıcında  $1.25 \pm 0.06$  ppm iken daha sonra dalgalı bir seyir izlemiş ve önemli bir artış ( $p < 0.05$ ) göstererek en yüksek  $2.90 \pm 0.05$  ppm seviyelerine 12. günde ulaşmıştır. Her iki uygulama şekli arasındaki triptamin seviyeleri açısından 2. ve 8. günler dışında muhafaza süresince fark istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerine ait triptamin miktarı ile  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Tablo 9). Bunun nedeni triptamin sentezinde rol alan endojen ve eksojen enzimlerin diğer biyojen aminlerin sentezinde de görev yapmaları olabilir (Bover-cid ve ark., 2008; Park ve ark., 2010).

STB örneklerinde triptamin miktarı ise muhafaza sürecinin 0. ve 4. günlerinde sırasıyla  $0.92\pm 0.07$  ppm ve  $1.26\pm 0.15$  ppm seviyelerinde olurken muhafaza süresince artış göstererek 14. günde  $5.67\pm 0.20$  ppm olduğu tespit edilmiştir. Bütün muhafaza süresince belirlenen artışlar önemlidir ( $p<0.05$ ). Duyusal yönden örneklerin “bozulmuş” olarak değerlendirildiği 8. günde triptamin miktarı bütün ve temizlenmiş örneklerde sırasıyla  $1.47\pm 0.09$  ppm ve  $1.53\pm 0.04$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde triptamin miktarı ile putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken,  $\beta$ -feniletilamin miktarı ile  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

SBB ve STB örneklerinde muhafaza süresince  $\beta$ -feniletilamin miktarında en düşük 0.08 ve en yüksek 2.90 ppm arasında değişen artış ve azalışların olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Li ve ark. (2016), 4 °C’de muhafaza edilen beyaz ve koyu renkli kas kısımlarının kullanıldığı aynalı sazan fileto örneklerinde muhafaza süresince  $\beta$ -feniletilamin miktarlarında dalgalanmaların olduğunu, Yu ve ark. (2016) 4 °C’de 20 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanı filetolarında muhafaza süresince  $\beta$ -feniletilamin konsantrasyonunun 0.48 ile 2.53 ppm arasında değiştiğini, görülen değişikliklerin önemsiz olduğunu ve gözardı edilebileceğini, Bakar ve ark. (2010) 0 °C ve 4 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen ırmak balığı filetolarında  $\beta$ -feniletilamin, spermidin, spermin ve tiramin miktarında muhafaza süresince dalgalanmaların olduğunu bildirmişlerdir.

$\beta$ -feniletilamin için gıdalarda toksik doz 30 mg/kg olarak bildirilmektedir (Silla Santos, 1996). Tüm muhafaza süresince bütün örneklerde  $\beta$ -feniletilamin

konsantrasyonu 3 mg/kg'dan düşük olup, sazan balığı örneklerinin  $\beta$ -feniletilamin yönünden insan tüketimi için güvenli sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir.

Bu araştırma bulgularından farklı olarak Shi ve ark. (2012), 3 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı filetolarında  $\beta$ -feniletilamin düzeyinin tüm muhafaza süresince tespit limitinin altı ve 53.19 mg/kg arasında olduğunu bildirmişlerdir. Farklı sonuçların araştırmada kullanılan balık türlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

SBB örneklerinde  $\beta$ -feniletilamin seviyesi muhafaza süreci başlangıcında  $1.36 \pm 0.09$  ppm iken daha sonra dalgalı bir seyir izlemiş ve muhafazanın 14. gününde  $0.12 \pm 0.04$  ppm seviyelerine düşmüş olup, muhafaza süresince görülen değişimler istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekli için  $\beta$ -feniletilamin seviyeleri bakımından farkın önemli olduğu ( $p < 0.05$ ) tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerinde  $\beta$ -feniletilamin miktarı ile histamin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde, tiramin ve spermidin miktarları arasında  $p < 0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde ise  $\beta$ -feniletilamin miktarının muhafaza sürecinin 0. ve 2. günlerinde istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edilemezken 4. günde  $2.06 \pm 0.10$  ppm bulunmuş olup muhafazanın ilerleyen günlerinde azalma eğilimi göstererek 14. günde  $0.45 \pm 0.04$  ppm olduğu belirlenmiştir. 4. günden sonra görülen değişimler istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde  $\beta$ -feniletilamin miktarı ile putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde ve spermin miktarı ile  $p < 0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

SBB ve STB örneklerinde muhafaza süresince putresin miktarı sırasıyla en düşük 1.58 ve 0.85 ppm, en yüksek 16.37 ve 25.46 ppm olarak tespit edilmiştir.

Putresin canlı organizmalarda bulunan bir substanstır (Krizek ve ark., 2011). Bu araştırmanın sonuçlarına benzer şekilde Li ve ark. (2016), 4 °C'de muhafaza edilen

beyaz ve koyu renkli kas kısımlarının kullanıldığı aynalı sazan fileto örneklerinde putresin ve kadaverin miktarlarında muhafaza süresince dalgalanmaların olduğunu, 12. günden itibaren ise önemli artışların olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar başlangıçta koyu kas kısımlarında putresin miktarı 1.19 ppm olurken kadaverin miktarının tespit limiti altında bulunduğunu ve bu durumun numunelerin çok taze olması ile açıklanabileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, bu araştırmanın bulgularına benzer şekilde tatlı su balıklarında bozulma süreci boyunca sıklıkla putresin ve kadaverin miktarında artışın olabildiğini ve yapmış oldukları çalışmada her iki kas tipinde de putresin ve kadaverin miktarında devam eden bir artışın tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Belirlenen değerlere benzer şekilde, Bakar ve ark. (2010) 4 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen ırmak balığı filetolarında putresin ve kadaverin miktarında artışların görüldüğünü, yüksek ısılarda muhafazanın fazla miktarda putresin ve kadaverin şekillenmesine neden olduğunu bildirmişler, Yu ve ark. (2016) da putresin miktarının muhafaza başlangıcında düşük olduğunu (1.33 mg/kg) ancak muhafaza süresince artış gösterdiğini ve 20 günlük muhafaza sonrasında 143 mg/kg olarak tespit edildiğini belirtmişlerdir.

Krizek ve ark. (2002) tarafından bu çalışmada elde edilen bulgular ile benzer şekilde; fileto ve kıyım haline getirilmiş aynalı sazan örneklerinin 3 °C’de 13 gün süreyle muhafaza edilmesi neticesinde oluşan biyojen aminler içerisinde putresin ve kadaverin miktarları toplamı ile bozulma süreçleri arasındaki uygunluğun örneklere ait duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre çok daha karakteristik olduğu, en iyi korelasyonun örneklerin bozulması ile putresin arasında olduğu (duyuşal değerlendirme ile biyojen aminler arasındaki korelasyon katsayıları putresin: 0.939, kadaverin: 0.911, histamin: 0.699, tiramin: 0.416, spermidin: 0.356 ve spermin: 0.272 bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar; duyuşal değerlendirmeye göre 1. kalite (iyi kalite) örneklerin 10 mg/kg’a kadar putresin içerebileceğini, 2. kalite (kabul edilebilir) örneklerde bu değerin 10-20 mg/kg olarak önerilebileceğini ve örneklerde 20 mg/kg’ın üzerinde putresin bulunmasının ise ürünün bariz bir şekilde bozulduğu (3. kalite) şeklinde değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar 3 °C’de muhafazada filetolarda raf ömrünün yaklaşık 6 gün ve kıyılmış sazan etlerinde ise 4 gün olduğunu, 15 °C’de

muhafazada ise her iki deneme grubunda da dekompozisyonun çok hızlı gerçekleştiğini ve kritik putresin konsantrasyonlarına 5-7 saatte ulaşıldığını tespit etmişlerdir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Li ve ark. (2012) 4 °C'de 36 gün süreyle muhafaza edilen Çin sazan balıklarında yaptıkları bir çalışmada, putresin miktarının başlangıçta 1.09 ppm olarak tespit edildiğini ve muhafaza süresinin 12. gününe kadar miktarında önemli bir değişiklik olmadığını, muhafazanın 16. gününde 8.54 ppm'e ve 24. gününde ise 61.80'e yükseldiğini, kadaverin miktarının muhafazanın 12. gününe kadar tespit edilemediğini, 16. ve 24. günlerde ise sırasıyla 0.56 ve 3.87 ppm düzeyine çıktığını bildirmişlerdir. Özoğul ve Özoğul (2006) 4 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen sardalyalar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, putresin konsantrasyonlarının 3.9 ile 100.4 mg/kg arasında değiştiğini aktarmışlardır. Muhafazanın başlangıcında belirlenen bu putresin konsantrasyonları bu çalışmada tespit edilen putresin miktarından yüksek olduğu bildirmişlerdir. Yüksek putresin konsantrasyonunun varlığı, balık türleri arasındaki farklılığa bağlı olarak kaslarda bulunan lizin amino asitinin türlerde değişen oranlarda bulunması ile açıklanmaktadır (Ruiz-Capillas ve Moral, 2001).

Bu çalışmada elde edilen bulgulardan farklı olarak Shi ve ark. (2012), 3 °C'de 15 gün süreyle muhafaza ettikleri gümüş sazan balığı filetolarında kadaverin düzeyinin muhafazanın 15. gününe kadar tespit limiti altında olduğunu ve 15. günde ise 8.65 mg/kg olarak belirlendiğini, düşük kadaverin düzeyinin fileto haline getirilmiş balıklardaki proteolitik enzim aktivitesinin bütün haldeki balıklara oranla daha düşük olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar putresin ve kadaverinin insan sağlığı üzerinde direkt etkilerinin bulunmadığını ancak histamin için potentiatör etkileri ile bu komponentlerin metil enzimlerini (HNMT) sınırlandırıcı rolleri nedeniyle histamin alerjilerini arttırdıklarını ve böylece gıda zehirlenmelerine neden olabildiklerini aktarmışlardır. Farklı olarak Yu ve ark. (2016), 4 °C'de 20 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanı filetolarında kadaverin miktarının muhafaza başlangıcında tespit edilemediğini, ancak muhafazanın 7. gününden itibaren tespit edilmeye başlandığını ve muhafaza sonunda 3.94 mg/kg olduğunu bildirmişlerdir.

Değişik çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar balık türlerinin farklılığı, balığın yaşadığı su ortamının özellikleri, hazırlık prosesleri ve muhafaza şartları (Yu ve ark., 2016) gibi nedenlere bağlı olabilir.

Sazan etlerindeki kritik putresin ve kadaverin içeriğinin sırasıyla <10 mg/kg iyi kalite, 10-20 ve 25 mg/kg kabul edilebilir ve >20 ve 25 mg/kg kötü kalite şeklinde tanımlanması gerektiği, putresin ve kadaverin toplam miktarının sazan etlerinde bozulmanın belirlenmesinde bir kriter olarak kullanılmasının çok umut verici olduğu, çünkü bu aminlerin her ikisinin de benzer şekilde düz bir kinetiğe sahip olmalarından dolayı yavaş bir şekilde önceden duyuşsal belirtilere yol açtıkları, sazan balıklarında histamin ve tiramin konsantrasyonlarındaki yükselmenin matriksin dekompozisyonu safhasında açığa çıktığı ve bu iki aminin sazan balıklarının tazeliğinin değerlendirilmesinde kalite indikatörü olarak dahil edilmesinin gerekli olmadığı bildirilmektedir. Ayrıca kalitenin değerlendirilmesinde putresin ve kadaverin miktarının birlikte değerlendirilmesinin mümkün olabileceği ve putresin+kadaverin için <20 mg/kg iyi kalite, 20-45 mg/kg kabul edilebilir ve >45 mg/kg kötü kalite şeklinde tanımlanması gerektiği (Krizek ve ark., 2002; Krizek ve ark., 2004) bildirilmektedir.

Bu değerlendirmeye göre örneklerin duyuşsal olarak reddedildiği 8. günde SBB ve STB örneklerinde putresin ve kadaverin miktarının sırasıyla 7.34 ile 2.57 ppm ve 41.81 ile 5.39 ppm olduğu görülürken, muhafazanın 6. gününde SBB ve STB örneklerinde putresin+kadaverin miktarının sırasıyla 22.95 ppm ve 2.66 ppm olduğu, STB örneklerinin 6. günde hala kalite özelliklerini korudukları, SBB örneklerinin de kabul edilebilir seviyede olduğu görülmektedir. Her iki uygulama şeklinde de örneklerin duyuşsal olarak reddedildiği 8. günde putresin+kadaverin miktarının SBB örneklerinde 49.15 ppm ile kötü kalitede ve STB örneklerinde 7.96 ppm ile iyi kalitede olduğu, STB örneklerinin muhafazanın 10. gününde 33.44 ppm ile kötü kalitede olduğu görülmektedir.

Genel olarak putresin ve kadaverinin sağlık açısından yan etkileri olmamakla beraber, insanlarda histamin oksidasyonunu baskılayarak histamin toksisitesini artırıcı yönde etki göstermektedirler (Silla Santos, 1996; Saaid ve ark., 2009; Prester, 2011).

Krizek ve ark. (2004), 3 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan filetolarında muhafaza süresince kadaverin değerlerinin putresin değerlerinden sonra artmaya başladığını, ancak muhafazanın sonunda kadaverin konsantrasyonunun genellikle daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonuçlarına benzer şekilde ilgili araştırmada putresin ve kadaverinin bütün örneklerde en yoğun olarak bulunan amin oldukları ve konsantrasyonlarının diğer aminlere oranla 5 ila 10 kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. STB örneklerine benzer şekilde putresin miktarını muhafazanın 8. gününe kadar ortalama 3.4 mg/kg tespit ederlerken, muhafazanın 9-12. günlerinde ortalama 22.9 mg/kg olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Yine putresin ile en iyi korelasyonun kadaverin, histamin, tiramin ve triptamin arasında görüldüğünü, putresin ile kadaverinin birbirleri arasında önem derecesi yüksek korelasyon gösterdiklerini ifade etmişlerdir.

Kadaverin ve putresinin balık ve ürünlerinde mikrobiyal bozulmayla birlikte sürekli arttığı, özellikle kadaverinin kalitenin değerlendirilmesinde bir indikatör olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Al Bulushi ve ark., 2009).

Zhang ve ark. (2015a), 0 °C'de 18 gün süreyle muhafaza ettikleri pullu sazan filetolarında muhafaza süresince putresin ve kadaverinin dominant amin olduklarını, muhafaza süresince artış gösterdiklerini ve pullu sazan filetolarında kalite değişikliklerinin ölçülmesinde uygun olacaklarını bildirmişlerdir. Kordiovska ve ark. (2006), örneklerdeki mikroorganizma sayıları ile en iyi korelasyon gösteren aminlerin putresin ve kadaverin olduğunu ve sazan balıklarında kalitenin değerlendirilmesinde bu iki aminin en objektif indikatör olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir.

SBB örneklerinde putresin seviyesi muhafaza süresince önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) artış göstererek 12. günde  $16.24\pm 0.11$  ppm ile en yüksek seviyeye çıkmış, daha sonra düşme eğilimi gösterip 14. günde  $10.85\pm 0.41$  ppm seviyesine gelmiştir. Muhafazanın 2. gününden itibaren her iki uygulama şekli arasında putresin seviyeleri bakımından belirlenen farkın önemli ( $p<0.05$ ) olduğu görülmüştür (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerinde putresin miktarı ile kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).



STB örneklerinde ise tüm muhafaza süresince günler arası putresin seviyesindeki değişimler önemli ( $p<0.05$ ) bulunurken, 10. günden itibaren hızlı bir yükseliş göstererek muhafazanın sonunda  $24.61\pm 0.09$  ppm olduğu görülmüştür (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde putresin miktarı ile kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

SBB örneklerindeki kadaverin miktarının 6. günden itibaren hızlı bir artış gösterdiği ve duyuşal bozulmanın olduğu 8. günde  $41.81\pm 1.22$  ppm ile en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. İlerleyen günlerde istatistiksel açıdan önemli kısmi azalmalar ( $p<0.05$ ) olmuş ve muhafaza sürecinin sonunda  $38.67\pm 0.33$  ppm seviyelerine inmiştir. Muhafaza süresince günlük değişimler ve her iki uygulama şeklinde tespit edilen miktarlar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerinde kadaverin miktarı ile histamin, tiramin ve spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve spermin arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerindeki kadaverin miktarında küçük artışlarla beraber muhafazanın 6. gününe kadar olan değişimlerin önemli olmadığı görülmüş, 6. günden itibaren muhafaza süreci sonuna kadar olan artışlar ise istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Duyusal bozulmanın başladığı 8. günden itibaren kadaverin miktarında hızlı bir yükselişin başladığı ve muhafaza sonunda  $38.99\pm 0.76$  ppm seviyelerine ulaştığı tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde kadaverin miktarı ile histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

Bu araştırmanın sonuçlarına bakıldığında; literatür verileriyle uyumlu olarak tüm muhafaza süresince her iki uygulama şeklinde de mikroorganizmaların artışına uygun şekilde putresin ve kadaverin miktarında yükselme olduğu tespit edilmiş olup muhafaza

süresince putresin ve kadaverinin dominant aminler olduğu, elde edilen amin miktarı ile duyusal analiz sonuçları ve TVB-N miktarındaki değişimlerin paralellik arzettiği görülmüştür. Bu iki biyojen aminin 4 °C’de muhafaza edilen aynalı sazanlarda kalite değişikliklerinin değerlendirilmesinde uygun birer kalite indikatörü (indeks) olarak kullanılmalarının mümkün olabileceği görülmektedir.

SBB ve STB örneklerinde 4 °C’de muhafazada histamin miktarının tüm muhafaza süresince sırasıyla ND (<LOD) ile 5.03 ppm ve ND (<LOD) ile 2.57 ppm olduğu tespit edilmiştir. Histamin zehirlenmesi; güç solunum, kusma, ciltte kaşıntı ve kızarıklık, ateş ve hipertansiyon gibi alerjik reaksiyonlarla karakterizedir (Hernandez-Jover ve ark., 1997; Emborg ve Dalgaard, 2008).

İnsanlarda 8-40 ppm histaminin hafif, 70-1000 ppm histaminin orta, 1500-4000 ppm histaminin ağır zehirlenmelere neden olduğu belirtilirken (Sinell, 1978; Würziger ve Dickhaut, 1978; Schulze ve ark., 1979), 50-100 ppm histaminin duyarlı bireylerde hafif, 100-1000 ppm konsantrasyonun ise şiddetli toksik etki gösterdiği, genel olarak 80-100 ppm histamin konsantrasyonunun insanlar için toksik olarak kabul edildiği bildirilmektedir (Würziger ve Dickhaut, 1978).

Benzer bulgular Zhang ve ark. (2015a) tarafından 0 °C’de 18 gün süreyle muhafaza edilen pullu sazan filetoalarında tespit edilmiş, örneklerde muhafaza süresince histamin konsantrasyonlarının 0.52 ile 1.29 mg/kg arasında dalgalı bir seyir izlediği, analize alınan örneklerde muhafaza süresince histamin düzeylerinin bu şekilde düşük olmasının histidin amino asitinin dekarboksilasyona uğramasından ziyade deaminasyona uğraması (Ruiz-Capillas ve Moral, 2002) ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen bulgularla benzer şekilde Wang ve ark. (2014) tarafından 4 °C’de 12 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanlarında histamin düzeyinin tüm muhafaza süresince nispeten düşük ve dalgalı bir seyir izlediği ve tüm muhafaza süresince 0.52 ile 0.82 mg/kg aralığında olduğu bildirilmiştir.

Fan ve ark. (2016), araştırma sonuçlarına benzer olarak 4 °C’de 21 gün süreyle muhafaza edilen siyah sazan balıklarında yaptıkları çalışmada, örneklerde histamin

düzeyinde artış ve azalmaların olduğunu, en yüksek histamin seviyesinin 3.28 mg/kg olarak tespit edildiğini ve insan tüketimi için tehlikeli konsantrasyonlara ulaşmadığını bildirmişlerdir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Bakar ve ark. (2010), 4 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen ırmak balığı filetolarında histamin konsantrasyonunun muhafaza süresince artış gösterdiğini ve muhafazanın 6. gününden itibaren FDA tarafından izin verilen 50 mg/kg limitini aştığını bildirirken, Li ve ark. (2012) ) 4 °C'de 36 gün süreyle muhafaza edilen Çin sazan balıklarında histamin miktarının dalgalı bir seyir izlediğini ancak muhafaza süresince FDA tarafından belirtilen limit değeri aşmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışma ile diğer çalışmalar arasındaki farklı sonuçlar, araştırmada kullanılan balık türlerinin farklı olmasına, örneklerin temin edildiği suyun ve balığın mikrobiyal florasındaki farklılıklara, muhafaza süresince mikrobiyal artışın çok fazla olmasına ve izin verilen limit değerlerin muhafaza sürecinin ilk dönemlerinde aşılmasına bağlanabilir. Bu çalışmadan farklı olarak Krizek ve ark. (2002), örneklerde histamin oluşumunun her ne kadar putresin kadar düzenli bir şekilde artış göstermese de yine de benzer durumda olduğunu ve histamin içeriğindeki artışın, kötü kaliteli (3) sayılan örneklerde açıkça görüldüğünü bildirmişlerdir.

Yine bu çalışmadan farklı olarak Kordiovskaya ve ark. (2006) tarafından yapılan araştırmada 3 °C'de 7 gün süreyle muhafaza edilen 4 farklı hibrid sazan balığında muhafaza süresince histamin tespit edilemediği, Krizek ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada ise 3 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen sazan filetolarında histamin düzeyinin tespit limiti altı ile 1.1 mg/kg arasında artma ve azalmalar gösterdiği bildirilmiştir.

Bulgulardan farklı olarak Yu ve ark. (2016), 4 °C'de 20 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanı filetolarında muhafaza süresince histamin içeriğinin artış gösterdiğini, histaminin muhafazanın 11. gününden itibaren dominant aminlerden biri olduğunu ve muhafaza sonunda 228 ppm ile en yüksek oranda tespit edilen amin olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmada örneklerin mikrobiyolojik kalitelerine göre raf ömürlerinin 11 günden az olduğu bildirilmektedir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak, 3 °C’de 15 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı filetolarında histamin düzeyinin en yüksek 29.21 mg/kg olarak belirlendiği bildirilmiş, muhafaza süresince dalgalanmaların olduğu, bu sonuçlara göre histaminin gümüş sazan balıklarında iyi bir kalite indikatörü olmadığı tespit edilmiştir (Shi ve ark., 2012). Yüksek histamin konsantrasyonlarının araştırma sürecinde örneklere uygulanan farklı hazırlama tekniklerinden kaynaklanan mikrobiyal kontaminasyona bağlı olarak ve/veya balıkların doğal mikroflorasından dolayı ortaya çıkabileceği bildirilmektedir (Paleologos ve ark., 2004).

Balıklarda histamin düzeyi ile mikroorganizma yükü arasında bir ilişkinin olup olmadığını ortaya koymak için yapılan çalışmalarda, oda sıcaklığında muhafaza edilen balıklarda mezofilik mikroorganizma sayısı ile histamin düzeyi arasında yüksek oranda bir ilişkinin bulunduğu saptanmıştır (Du ve ark., 2002; Kim ve ark., 2012).

Histamin ve tiramin gibi toksikolojik olarak en önemli aminler olarak bildirilen bileşiklerin toksik düzeylerde oluşumundan önce üründe duyuusal bozulmalar gelişmektedir. Bu durum sazan balığı etleri ile skombroid balıkların etleri arasındaki en büyük farklılıktır. Bunun sebebi muhtemelen skombroid balık etlerinin önemli miktarda serbest histidin içermesidir (Slorach, 1991). Histidin kokusu özellikle biyojen amin içeriği ile ilgili olmayabilir. Dekompozisyon sürecinde tipik balıksı kokunun başlaması bir çok farklı substansın kokularından oluşan kompleks bir durumdur (Krizek ve ark., 2002).

Araştırma sonuçlarına göre örneklerde histamin ve tiramin konsantrasyonlarının genellikle düşük olduğu görülmüştür. Histamin ve tiramin düzeylerinde muhafaza süresince fazla artış görülmemiş ve genellikle 10 mg/kg altında olmuştur. Her iki uygulama şeklinde de örneklerde duyuusal bozulmanın görüldüğü 8. günde SBB ve STB örneklerinde histamin ve tiramin değerleri sırasıyla 2.49 ve 0.23 ppm ile 2.41 ve 1.36 ppm olarak belirlenmiştir. Tespit edilen değerler histamin ve tiramin düzeylerinin dekompozisyonun başlamasının bir işareti olamayabileceğini düşündürmektedir.

SBB örneklerindeki histamin miktarında; muhafaza süresinin ilk günlerinde istatistiksel yönden önemli ( $p < 0.05$ ) azalmalar olduğu görülürken, histamin düzeyinin 4. günde tespit limiti altında ( $< 0.03$  ppm) olduğu belirlenmiştir. Histamin düzeyinin 6.

günden itibaren arttığı ve 10. günde  $4.89 \pm 0.08$  ppm seviyelerinde olduğu ancak daha sonra azalarak muhafaza sürecinin sonunda  $1.25 \pm 0.03$  ppm'e kadar düştüğü tespit edilmiştir. Muhafaza süresince her iki uygulama şekli arasında histamin seviyeleri bakımından farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerinde histamin miktarı ile tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde histamin miktarı muhafazanın 4. gününe kadar tespit limiti altındayken ( $< 0.03$  ppm), sonraki günlerde önemli olmayan kısmi artışlar olduğu görülmüş, 10. günden itibaren görülen artışlar istatistiksel yönden önemli bulunmuş ( $p < 0.05$ ) ve en yüksek seviye 12. günde  $2.25 \pm 0.28$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde histamin miktarı ile tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunmuştur (Tablo 10).

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011)'ne ve Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre histamin için yasal sınırlar minimum 100 mg/kg ve maksimum 200 mg/kg (100-200 ppm) (n: 9 ve c: 2) şeklindedir. Muhafaza süresince her iki uygulama şeklinde de histamin düzeyinin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011), Su Ürünleri Yönetmeliği (2008), FDA ve EC tarafından izin verilen limitlerin çok altında olduğu görülmüştür.

SBB ve STB örneklerinde tiramin miktarının muhafaza süresince dalgalanma gösterdiği ve her iki uygulama şekli içinde 0.93 ile 3.76 mg/kg arasında olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak gıda ürünleriyle birlikte 100 mg/kg'dan daha fazla düzeylerde alınmasının migrene, 100-800 mg/kg miktarının toksik etkiye, 1080 mg/kg tiramin düzeyinin ise toksik ödeme neden olabileceği bildirilmektedir (Shalaby, 1996; Kim ve ark., 2009). Yüksek tiramin alımı hipertansiyona neden olmakta, bunun yanında asidik ortamların varlığında nitritle reaksiyona girerek 3-diazotiramin gibi mutajenik bileşenlere dönüşebilmektedir (Prester, 2011).

Tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekli içinde en yüksek tiramin miktarının 3.76 ppm olduğu tespit edilmiştir. Örneklerde belirlenen bu tiramin düzeyinin izin verilen limitlerin oldukça altında olduğu görülmüştür.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde Yu ve ark. (2016), 4 °C'de 20 gün süreyle muhafaza edilen ot sazani filetolarında tiramin miktarında dalgalanmaların olduğunu ve tiramin düzeyinin 1.24 ile 10.93 mg/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmadaki yüksek tiramin miktarının muhafaza süresinin fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Vinci ve Antonelli (2002), tiramin konsantrasyonlarının kırmızı etler için kalitenin değerlendirilmesinde bir indeks olarak kullanılmasının daha faydalı olacağını bildirmişlerdir.

Benzer sonuçları Shi ve ark. (2012), 3 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı filetolarında elde etmişler ve örneklerdeki tiramin düzeyinin 15. günde 18.21 mg/kg olduğunu ve izin verilen limitlerin (100-800 mg/kg) altında kaldığını, tiramin düzeyinin gümüş sazan filetolarında anahtar bir indikatör olmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmadan farklı olarak Zhang ve ark. (2015a), pullu sazan filetolarında yapmış oldukları çalışmada, tiramin miktarının örneklerde en yüksek oranda tespit edilen biyojen amin olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek tiramin düzeyinin (0 °C'de muhafaza edilen örneklerde 40.71 ile 55.08 mg/kg) çalışmada kullanılan örneklerin mikrobiyal yükünün fazla olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmektedir. Araştırmacılar örneklerde 9 günlük muhafaza süresi sonrasında izin verilen limit değerini ( $7 \log_{10}$  kob/g) aştığını bildirmişlerdir. Yine Hosseini ve ark. (2013), 16 gün süreyle soğukta buzda muhafaza edilen aynalı sazan örneklerinde tiramini muhafaza süresinin 12. gününe kadar tespit edemezken, muhafaza sonunda 1.12 ppm'e yükseldiğini bildirmişlerdir.

Silla Santos (1996), tiramin için belirlenmiş yasal bir limit bulunmamasına rağmen tüketilebilirlik sınırı olarak 100 mg/kg aşılmamasını önermekte olup, bu araştırmanın sonuçlarına göre tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekli içinde örneklerin tiramin konsantrasyonu yönünden güvenli olduğu görülmüştür.

Her iki uygulama şeklinde tüm muhafaza süresince tiramin miktarının literatür verilerde belirtilen limit değerlerin çok altında olduğu belirlenmiştir.

SBB örneklerinde tiramin miktarı muhafazanın başlangıcında  $1.25 \pm 0.01$  ppm iken, 2. ve 4. günler dışında istatistiksel yönden önemli değişimler ( $p < 0.05$ ) görülmüş, 10. günde  $3.32 \pm 0.19$  ppm ile en yüksek miktar tespit edilmiş, daha sonra istatistiksel olarak önemli bir azalma ( $p < 0.05$ ) olmuştur. Muhafaza süresince her iki uygulama şekli arasında 10. gün dışında tiramin seviyeleri bakımından farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğu belirlenmiştir (Tablo 7, Şekil 24).

SBB örneklerinde tiramin miktarı ile spermidin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9).

STB örneklerinde tiramin düzeyi muhafaza sürecinin 6. ve 8. günleri dışında istatistiksel açıdan önemli düzeyde ( $p < 0.05$ ) dalgalı bir seyir izlerken en yüksek seviye 12. günde  $3.52 \pm 0.02$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 7, Şekil 25).

STB örneklerinde tiramin miktarı ile spermidin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 10).

Poliaminlerden olan spermidin ve spermin, putresinden meydana gelmektedir (Miyazaki ve Yang, 1987) ve balık kas hücrelerinde çoğalma ve büyüme ile ilgili işlevleri vardır (Kalac ve Krausova, 2005). Bu iki aminin konsantrasyonlarının normal olarak 10 mg/kg değerlerinin altında olduğu, ancak bu miktarın balık türlerine, kaslarda bulunan serbest amino asit yoğunluğuna ve mikrobiyal flora ile kontaminasyonun derecesine bağlı olarak değişiklik gösterebileceği bildirilmektedir (Mackie ve ark., 1997).

SBB örneklerinde spermidin ve spermin miktarı sırasıyla 1.11 ile 1.79 ppm ve 1.10 ile 1.69 ppm arasında olurken, STB örneklerinde ise 1.00 ile 1.98 ppm ve 1.02 ile 1.79 olup her iki uygulama şekline ait değerlerin birbirine yakın olduğu görülmektedir.

Araştırma sonuçlarına benzer şekilde, Bakar ve ark. (2010) 4 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen ırmak balığı filetolarında spermidin ve sperminin gıdalarda doğal olarak buldukları için bütün örneklerde tespit edildiğini, Li ve ark. (2012)

spermidin ve sperminin bütün örneklerde tespit edildiğini ve muhafaza süresince dalgalı bir seyir izlediğini, Yu ve ark. (2016)'da spermidin ve sperminin balık kasında doğal olarak bulunan poliaminler olduğunu ve miktarında muhafaza süresince daha çok azalma yönünde dalgalanmaların olduğunu bildirmişlerdir.

Benzer şekilde Krizek ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, örneklerde spermidin ve spermin miktarının açık bir şekilde düşük konsantrasyonda bulunduğunu ve dalgalanmaların olduğunu, spermidin miktarında zamanla yavaş bir şekilde azalma eğilimi görüldüğünü, spermidin ve spermin konsantrasyonlarının düşük ve dalgalı seyretmesinin dekompozisyon sürecinin tanımlanmasında bu aminlerle ilişki kurulmasını zorlaştırdığını aktarmışlardır.

Krizek ve ark. (2004) 3 °C'de 14 gün süreyle muhafaza edilen aynalı sazan filetolarında; bu iki aminin toksikolojik olarak önemsiz düzeyde olduğunu, diğer parametrelerle düşük oranda korelasyona sahip olduğunu ve sazan filetolarında bir kalite indikatörü olarak kullanılamayacağını bildirmişlerdir.

Spermidin ve spermin düzeyleri muhafaza süresince dalgalı bir seyir izlediğinden dolayı bu iki aminin aynalı sazanlarda iyi birer kalite indikatörü olmayabileceği düşünülmektedir. Zhang ve ark. (2015a), pullu sazan filetolarında muhafaza süresince farklı ısı derecelerinin spermidin ve spermin konsantrasyonları üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir.

Shi ve ark. (2012), 3 °C'de 15 gün süreyle muhafaza edilen gümüş sazan balığı filetolarında spermidin ve spermin düzeyinin muhafaza başlangıcında yüksek olduğunu ve bu durumun örneklerdeki herhangi bir bozulma ile ilgili olmadığını, muhafaza süresince spermidin ve spermin miktarlarında artma ve azalmalar şeklinde dalgalanmaların olduğunu tespit etmişlerdir.

Wang ve ark. (2014), 4 °C'de 12 gün süreyle muhafaza edilen ot sazanlarında hem spermidin hem de spermin düzeylerinin muhafaza süresince dalgalı bir seyir izlediğini, spermidin miktarının 1.07 ile 3.82 mg/kg ve spermin miktarının da 10.46 ile 12.71 mg/kg arasında artış ve azalış gösterdiğini bildirmişlerdir.



Farklı ısı derecelerinde muhafaza edilen farklı balık türlerine ait araştırmalarda spermidin ve spermin konsantrasyonları için artış trendinde olması gerektiği (Özyurt ve ark., 2009), bazı araştırmalarda bir değişiklik olmadığı (Özoğul ve Özoğul, 2006) veya azalmaların olduğu (Paleologos ve ark., 2004), bu iki aminin oluşumunun mikrobiyal bozulmayla ilişkili olmadığı (Özoğul ve ark., 2002b) şeklinde bildirimler bulunmaktadır.

SBB örneklerinde muhafazanın başlangıcında spermidin ve spermin miktarları sırasıyla  $1.24 \pm 0.00$  ppm ve  $1.28 \pm 0.02$  ppm olarak bulunmuş, muhafaza süresince benzer şekilde istatistiksel açıdan önemli artış ve azalışlar ( $p < 0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. Spermidin ve spermin için en yüksek değerler 10. günde  $1.76 \pm 0.02$  ppm ve  $1.67 \pm 0.01$  ppm olarak tespit edilmiştir. Muhafaza süresince spermidin için 4. gün hariç tüm günlerde ve spermin için tüm günlerde her iki uygulama şekli arasında farkın önemli olduğu ( $p < 0.05$ ) görölmüştür (Tablo 7, şekil 24).

STB örneklerinde spermidin ve spermin miktarları istatistiksel açıdan önemli artış ve azalışlar ( $p < 0.05$ ) göstermiş olup spermidin en yüksek 12. günde  $1.96 \pm 0.01$  ppm ve spermin en yüksek 14. günde  $1.77 \pm 0.02$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 7, şekil 25).

SBB ve STB örneklerinde spermidin ve spermin miktarları arasında  $p < 0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 9-10).

Dondurma işlemi balık ve balık ürünlerinin doğal yapılarının korunması amacıyla geniş bir şekilde kullanılan ve kabul edilen bir teknolojidir. Tüm muhafaza ve satış süresince  $-10$  °C ve daha düşük ısıda olan bir gıda ürünü dondurulmuş gıda olarak tanımlanmakta olup bu şartlar altında gıda maddesindeki suyun yaklaşık olarak %80'i buza dönüşmektedir. Dondurulmuş balık,  $-18$  °C'den daha düşük ısılarda derin dondurulmuş (deep frozen) ürün olarak nitelendirilmektedir. Dondurulmuş balıklarda muhafaza süresince sıcaklık genel olarak  $-18.0$  °C ve  $-30.0$  °C'ler arasındadır (Tolstorebrov ve ark., 2016).

DBB örneklerinde 120 günlük muhafaza süresi sonunda triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin

konsantrasyonları en yüksek sırasıyla 1.27, 1.64, 1.04, 1.56, 0.87, 1.85, 1.78 ve 1.90 ppm olurken DTB örneklerinde 1.34, 1.80, 0.86, 1.00, ND (<LOD), 1.47, 1.40 ve 1.47 ppm olarak tespit edilmiştir. Her iki uygulama şeklinde de spermidin ve spermin konsantrasyonlarının diğer biyojen aminlerden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm muhafaza süresince analizi gerçekleştirilen biyojen aminlerin tüketilebilirlik için izin verilen limit değerlerin çok altında olduğu tespit edilmiştir.

Mohan ve ark. (2009), balıklarda biyojen amin düzeyinin türe, serbest amino asit miktarına, ölüm anında sindirim sistemi içeriğine ve hasat sezonuna bağlı olarak değişebileceğini bildirmişlerdir.

Balığın yakalanması esnasındaki genel durumu, avlama/hasat süreçlerinde uygulanan işlemler ve muhafaza boyunca varolan hijyenik şartlar, bot-tekne gibi araçların hijyenik durumu ve sahip oldukları soğutma sistemlerinin düzeyi, taşıma sistemlerinin sahip oldukları soğutma ünitelerinin kapasitesi ve hijyenik özellikleri çeşitli balık türlerinde farklı biyojen aminlerin değişik düzeylerde meydana gelmesini etkileyebilmektedir (Silva ve ark., 2011; Ehsani ve Jasour, 2012a).

Hong ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, büyük baş sazan balıklarının kafa kısımlarının -18 °C'de 90 gün süreyle muhafazası sonunda örneklerde triptamin,  $\beta$ -fenilettilamin ve putresin konsantrasyonları ND (<LOD) olarak tespit edilirken, kadaverin 0.94 ppm, histamin 0.52 ppm, tiramin 2.2 ppm, spermidin 14.7 ppm ve spermin 74.1 ppm olarak belirlenmiştir. Triptamin,  $\beta$ -fenilettilamin ve putresin miktarları tespit limiti altında olurken, histamin, tiramin, spermidin ve spermin konsantrasyonlarının bu araştırma sonuçlarından farklı olduğu, kadaverin konsantrasyonunun ise yakın olduğu görülmektedir. Aynı araştırmacılar, muhafaza süresi sonunda spermidin ve sperminin majör aminler olduğunu ve bu durumun iki aminin canlı hücrenin doğal yapısında bulunmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Biyojen amin konsantrasyonlarındaki farklılıkların araştırmada kullanılan balık türleri ile ve numunelerin farklı olmasından ve muhafaza süresinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bütün haldeki sudak balıklarında -24±1 °C'de muhafazanın 30., 60. ve 90. günlerinde tiramin, histamin, kadaverin ve putresin konsantrasyonlarının belirlendiği bir

araştırmada (Ehsani ve Jasour, 2012b), bu araştırmanın sonuçlarından farklı olarak 30 günlük muhafaza sonrasında biyojen amin miktarının 3.01 ile 7.61 µg/g arasında olduğu, yüksek biyojen amin konsantrasyonlarının muhafazanın 60. gününde de tespit edildiği, muhafaza sonunda 7.12 ile 56.95 µg/g arasında değiştiği, en yüksek düzeyde bulunan biyojen aminin putresin olduğu ve bunu kadaverinin izlediği bildirilmiştir.

DBB örneklerinde triptamin seviyesinin muhafaza süreci başlangıcında 1.10±0.04 ppm iken daha sonra dalgalı bir seyir izlediği ve muhafaza günleri arasında önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) göstererek muhafazanın sonunda 1.05±0.07 ppm olduğu tespit edilmiştir. Her iki uygulama şekli arasında triptamin miktarı açısından 15., 30. ve 60. günler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekli arasında triptamin seviyeleri ortalamasının birbirine yakın olduğu görülmektedir (Tablo 8, şekil 26).

DBB örneklerinde triptamin miktarı ile β-feniletılamin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde ise triptamin miktarı muhafaza süresince dalgalı bir seyir izlediği ve muhafaza günleri arasında önemli artış ve azalışlar ( $p<0.05$ ) olmasına rağmen muhafazanın sonunda 0.99±0.05 ppm seviyelerinde kaldığı tespit edilmiştir (Tablo 8, şekil 27).

DTB örneklerinde triptamin miktarı ile β-feniletılamin ve spermidin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve spermin arasında  $p<0.05$  pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, kadaverin ile arasında  $p<0.05$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

DBB örneklerinde β-feniletılamin seviyesi muhafaza süresince önemli artma ve azalmalar ( $p<0.05$ ) göstermiş ve en yüksek olarak 60. günde 1.57±0.05 ppm olarak tespit edilmiştir. Her iki uygulama şekli için 90. gün dışında β-feniletılamin seviyeleri bakımından farkın önemli ( $p<0.05$ ) olduğu grlmştir. Tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekli arasında β-feniletılamin seviyeleri ortalaması birbirine yakın olduğu görülmektedir (Tablo 8, şekil 26).

DBB örneklerinde  $\beta$ -feniletilamin miktarı ile histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p<0.01$  düzeyinde ve kadaverin ile arasında  $p<0.05$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon bulunurken, putresin ile arasında  $p<0.05$  düzeyinde negatif bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde ise  $\beta$ -feniletilamin miktarı en yüksek 15. günde  $1.74\pm 0.07$  ppm olarak bulunurken ilerleyen günlerde önemli azalmalar ( $p<0.05$ ) olduğu görülmüş ve 90. günde en düşük seviye  $0.65\pm 0.06$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 27).

DTB örneklerinde  $\beta$ -feniletilamin miktarı ile tiramin miktarı arasında  $p<0.05$  düzeyinde ve spermin miktarı ile  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

DBB örneklerinde putresin seviyesinde muhafaza süresince önemli dalgalanmalar ( $p<0.05$ ) görülmüş ve putresin düzeyi 1. günde  $0.70\pm 0.08$  ppm iken 120. günde  $0.75\pm 0.03$  ppm olarak tespit edilmiştir. 120. gün dışında her iki uygulama şekli arasında putresin değerleri yönünden fark önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. DBB örneklerinde putresin seviyesinin temizlenmiş balıklardan yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 8, Şekil 26).

DTB örneklerinde ise putresin miktarı muhafazanın başlangıcında  $0.46\pm 0.06$  ppm iken muhafazanın 15. gününde istatistiksel açıdan önemli bir artış ( $p<0.05$ ) göstererek  $0.67\pm 0.11$  ppm seviyelerine yükselmiş, ancak ilerleyen günlerde önemli olmayan değişimler tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 27).

DBB ve DTB örneklerinde putresin miktarı ile analizi yapılan diğer biyojen aminler arasında istatistiksel yönden önemli bir korelasyon olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 11-12).

DBB örneklerinde kadaverin miktarı muhafazanın başlangıcında  $0.36\pm 0.33$  ppm olup daha sonra 90. güne kadar önemli dalgalanmalar ( $p<0.05$ ) tespit edilmiş ve 120. günde tespit limitinin altında olduğu görülmüştür. Muhafaza sürecinin 1., 30., 60. ve 90. günlerinde her iki uygulama şeklinde elde edilen miktarlar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. DBB örneklerinde kadaverin seviyesinin temizlenmiş balıklardan yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 8, Şekil 26).

DBB örneklerinde kadaverin miktarı ile histamin, tiramin, spermidin ve spermin arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo11).

DTB örneklerinde kadaverin miktarı muhafazanın ilk dönemlerinde yatay bir seyir izlemiş ve en yüksek 60. günde  $0.93\pm 0.04$  ppm olarak tespit edilmiş olup değişimler istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Kadaverin miktarının muhafazanın diğer günlerinde tespit limitinin altında olduğu görülmüştür (Tablo 8, Şekil 27).

DTB örneklerinde kadaverin miktarı ile tiramin arasında  $p<0.05$  düzeyinde ve spermidin arasında  $p<0.01$  düzeyinde negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Muhafaza süresince DTB örneklerinde histamin miktarının tespit limiti altında olduğu görülmüştür. DBB örneklerinde ise muhafazanın sadece 30. ve 60. günlerinde tespit edilirken, tüm muhafaza süresince en yüksek  $0.87$  ppm düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011) ve Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre dondurulmuş balıklarda histamin için yasal sınırlar minimum  $100$  mg/kg ve maksimum  $200$  mg/kg ( $100-200$  ppm) (n: 9 ve c: 2) şeklindedir. Her iki uygulama şeklinde de örneklere ait histamin miktarlarının tüm muhafaza süresince ülkemiz yasal limitlerinin çok altında olduğu belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarından farklı olarak Ehsani ve Jasour (2012a), 90 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen gümüş sazan balıklarında muhafazanın sonunda histamin miktarını  $27$  ppm olarak tespit ettiklerini ve bu değer EU yasal limitlerinin altında olduğunu bildirmişlerdir.

Bu araştırmanın bulgularından farklı olarak Ekici ve ark. (2011), 120 gün süreyle dondurularak muhafaza edilen bütün ve temizlenmiş haldeki inci kefali örneklerinde yapmış oldukları çalışmada, histamin ve tiraminin tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

DBB örneklerinde histamin miktarı muhafazanın 30. ve 60. günlerinde sırasıyla  $0.17\pm 0.01$  ppm ve  $0.84\pm 0.02$  ppm olarak tespit edilmiş olup bu günler arasındaki fark

istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Muhafazanın diğer günlerinde ise histamin miktarının tespit limitinin altında olduğu belirlenmiştir (Tablo 8, Şekil 26).

DBB örneklerinde histamin miktarı ile tiramin, spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde histamin miktarı muhafaza süresince tespit limiti altında olduğu için belirlenememiştir (Tablo 8, Şekil 27). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011)'ne ve Su Ürünleri Yönetmeliği (2008)'ne göre, DBB ve DTB örneklerinde tüm muhafaza süresince histamin miktarları yönünden risk bulunmamaktadır.

DBB örneklerinde tiramin miktarı muhafazanın 60. gününe kadar artış gösterirken daha sonra düştüğü tespit edilmiştir. Görülen bu değişimler istatistiksel yönden önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Bütün ve temizlenmiş haldeki balıklarda muhafaza süresince tespit edilen ortalama tiramin seviyeleri bakımından farkın önemli olduğu ( $p<0.05$ ) görülmüştür (Tablo 8, Şekil 26).

DBB örneklerinde tiramin miktarı ile spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11).

DTB örneklerinde belirlenen tiramin miktarında istatistiksel açıdan önemli artış ve azalışlar ( $p<0.05$ ) görülmüş, en yüksek seviye muhafazanın sonunda  $1.36\pm 0.08$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 27).

DTB örneklerinde tiramin miktarı ile spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 12).

Bardocz (1995), spermidin ve sperminin canlı hücrelerin doğal yapılarında varolan aminler olduğunu bildirmektedir.

DBB örneklerinde muhafazanın başlangıcında spermidin ve spermin miktarları sırasıyla  $0.99\pm 0.05$  ppm ve  $0.94\pm 0.04$  ppm olarak belirlenirken muhafaza süresince benzer şekilde istatistiksel açıdan önemli artış ve azalışlar ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Spermidin ve spermin için en yüksek değerler 60. günde sırasıyla  $1.77\pm 0.01$  ppm ve  $1.83\pm 0.08$  ppm olarak elde edilmiştir. Muhafaza süreci boyunca her iki

uygulama şekli arasında spermidin ve spermin miktarları açısından farkın önemli olduğu ( $p<0.05$ ) görülmüştür. Spermidin ve spermin  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen balıklarda en yüksek düzeyde tespit edilen aminler olmuşlardır (Tablo 8, Şekil 26).

DTB örneklerinde muhafaza süresince spermidin ve spermin miktarlarında istatistiksel açıdan önemli artış ve azalışlar ( $p<0.05$ ) belirlenmiş olup, en yüksek spermidin miktarı 120. günde  $1.36\pm 0.03$  ppm, spermin miktarı ise 15. günde  $1.46\pm 0.01$  ppm olarak tespit edilmiştir (Tablo 8, Şekil 27).

DBB ve DTB örneklerinde spermidin ve spermin miktarları arasında  $p<0.01$  düzeyinde pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 11-12).

İnsanların beslenme alışkanlıklarının zaman içerisinde değişiklik gösterdiği ve özellikle gelişmiş ülkelerde balık ile diğer su ürünleri tüketiminin gittikçe artan gıdalar arasında önemli yer tutmaya başladığı, aynı zamanda diyetlerde artan bir şekilde yer aldığı görülmektedir.

Karbonhidrat içeriklerinin düşük, kalsiyum, fosfor, iyot, selenyum gibi mineraller, protein, vitamin ve çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin olması ile besleyici ve kolay sindirilebilir olmaları balık ve diğer su ürünlerini sağlıklı beslenme açısından daha değerli kılmaktadır. Bunların yanında diğer birçok faydalı özelliklerinden dolayı dengeli ve sağlıklı bir diyet için haftada iki ya da üç kez balık veya diğer su ürünlerinin tüketilmesi önerilmektedir.

Lezzetli ve sağlıklı bir besin kaynağı olan balık ve diğer su ürünleri sahip oldukları kompozisyonundan dolayı çabuk bozulabilen gıdalar arasında yer almaktadır. Bu nedenle balık ve su ürünlerinin sağlık açısından risk parametrelerinin belirlenmesi ve buna yönelik önleyici tedbirlerin alınması gerekmektedir. Hasat ve/veya avlanma anından itibaren bu tedbirlerin uygulanması, ilgili parametrelerin belirlenmesi ve limit değerlerin ortaya konulması sağlık açısından balık ve diğer su ürünlerinin tüketimi için elzem uygulamalar olarak değerlendirilebilir.

Balıklarda bozulmanın belirlenmesinde kullanılan parametrelerden olan biyojen aminler, dekarboksilaz enzimi içeren mikroorganizmaların aktiviteleri ile serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır. Biyojen aminlerin sağlık açısından zararlı

etkileri insanlar tarafından gıdalar ile yoğun miktarda alındığında veya detoksifikasyon sisteminde çeşitli nedenlerden dolayı ortaya çıkan yetersizlik durumlarında görülmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre soğukta (4 °C) muhafaza edilen örneklere ait bulgular ışığında TAM, TAP ve *Pseudomonas* spp. sayılarının tüm muhafaza süresince artış gösterdiği ve dominant florayı oluşturduğu, diğer parametreler ve biyojen aminler ile bu mikroorganizmalar arasında pozitif yönlü korelasyonların olduğu saptanmıştır. Örneklerde tüm muhafaza süresince TAM sayıları yönünden izin verilen limit değerlerin aşılmadığı belirlenmiştir. Ancak örneklerin, panelistler tarafından yapılan duyuşal değerlendirilmeye göre daha önceden reddedildiği, yapılan puanlamaya göre örneklerin tüketilebilir niteliklerini ancak 8. güne kadar koruyabildikleri ve bu günden itibaren örneklerin duyuşal olarak reddedildiği görülmüştür.

pH değerlerinin temizlenmiş örneklerde muhafaza sürecinin 8. gününde bazı araştırmacılar tarafından önerilen değerleri aştığı, bütün haldeki örneklerde ise 10. gününde bu sınırdaki olduğu belirlenmiştir.

TVB-N miktarının bütün balık örneklerinde muhafaza sürecinin 10. gününde tüketilebilirlik eşik düzeyine çok yaklaştığı ve bu günden sonra limit değeri aştığı, temizlenmiş balık örneklerinde ise muhafaza sürecinin 12. gününde tüketilebilirlik eşik düzeyini aştığı tespit edilmiştir. TVB-N değerlerine göre sazan balığı örneklerinde her iki uygulama şeklinde de 10 günlük bir raf ömrüne sahip oldukları saptanmıştır.

Her iki uygulama şekline ait sazan balığı örneklerinde biyojen aminlerden putresin ve kadaverinin muhafaza süresince dominant aminler olduğu belirlenmiştir. Putresin ve kadaverin konsantrasyonları ile diğer parametreler arasında pozitif yönlü ve duyuşal değerlendirme puanları ile negatif yönlü yüksek korelasyonların olduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı, sazan balıklarında tazeliğın belirlenmesinde indikatör biyojen aminler olarak putresin ve kadaverinin kullanılmasının mümkün olabileceği kanaatine varılmıştır.

Ülkemizde taze ve soğutulmuş balıklarda ve diğer su ürünlerinde sadece histamin ve TVB-N için yasal limitler bulunmaktadır. Muhafaza süresince incelenen



örneklerin her iki uygulama şeklinde de histamin miktarının yasal limitlerin çok altında olduğu ve elde edilen sonuçların literatür verileriyle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu aminin araştırmada kullanılan sazan balığı örnekleri için risk teşkil etmeyebileceği ve indikatör olarak göz ardı edilebileceği düşünülmektedir. Tiramin,  $\beta$ -feniletilamin ve triptamin için belirlenen yasal bir limit değeri olmamasına rağmen, bazı araştırmacılar tarafından önerilen tiramin ve  $\beta$ -feniletilamin için sırasıyla 100-800 mg/kg ile 30 mg/kg olan limit değerlerin tüm muhafaza süresince her iki uygulama şekline ait örneklerde de aşılmadığı tespit edilmiştir.

Dondurularak (-18 °C) muhafaza edilen örneklere ait bulgulara bakıldığında, dominant florayı TAP mikroorganizmaların oluşturduğu, TAM sayıları yönünden ülkemizde dondurulmuş balıklarda mikrobiyolojik kalite açısından izin verilen limit değerlerin tüm muhafaza süresince aşılmadığı, limit değerlerin çok altında kaldığı ve iyi kalite özelliklerini korudukları tespit edilmiştir. Dondurularak muhafaza yönteminde *Pseudomonas* spp. sayısının daha düşük düzeyde kaldığı, fekal streptokoklar ve koliform grubu mikroorganizmalar yönünden 120 günlük muhafaza süresince üreme olmadığı belirlenmiştir.

Dondurularak muhafaza edilen her iki uygulama şekline ait sazan balığı örneklerinde tüm muhafaza süresince pH değerlerinin, araştırmacılar tarafından önerilen değerler aralığında olduğu saptanmıştır. TVB-N değerleri açısından sazan balığı örneklerinin 120 günlük muhafaza sonrasında, taze ve soğutulmuş balıklar için belirlenen TVB-N değerlerine göre uygun kategorisinde yer aldığı belirlenmiştir.

Analizi gerçekleştirilen biyojen amin miktarlarında muhafaza süresince dalgalanmalar olduğu, ancak araştırmacılar tarafından önerilen limit değerlerin altında olduğu tespit edilmiştir. Histamin miktarının bütün haldeki sazan balığı örneklerinde 30. ve 60. günler dışında temizlenmiş haldeki sazan balığı örneklerinde ise tüm muhafaza süresince tespit limiti altında olduğu görülmüştür.

Gerek sağlıklı gerekse de lezzetli olmaları nedeniyle beğenilerek ve istenerek tüketilen, aynı zamanda diyetlerde önemli bir gıda olarak sürekli tercih edilmesi gereken balık ve diğer su ürünlerinin; insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin

önlenmesi için gerekli muhafaza metodlarının ve kalite parametrelerinin belirlenmesinin halk sağlığı açısından faydalı olacağı bilinmektedir.

Sonuç olarak; gerçekleştirilen bu araştırmada elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, balık örneklerinin bütün ve temizlenmiş olarak muhafaza edilmesi arasında mikrobiyolojik açıdan önemli bir fark olmamakla birlikte, soğukta muhafaza edilen örneklerin duysal olarak reddedildiği 8. gündeki ve dondurularak muhafaza edilen örneklerin ise ortalama mikrobiyolojik değerleri baz alındığında sazan balıklarının bütün halde muhafaza edilmesinin temizlenerek muhafaza edilmesinden ve dondurularak muhafazanın soğukta muhafaza şeklinden daha güvenli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, sazan balıklarında tazeliğin belirlenmesinde indikatör biyojen aminler olarak putresin ve kadaverinin kullanılmasının mümkün olabileceği kanaatine varılmıştır.

## ÖZET

**Çakmak, T, Dondurulmuş ve 4 °C’de Muhafaza Edilen Sazan Balığında (*Cyprinus carpio* L., 1758) Biyojen Amin Oluşumu ve Mikrobiyolojik Değişimlerin Belirlenmesi, Van Yüzcü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2017.** Bu çalışmada 4 °C’de 0., 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 14. günlerde, -18 °C’de 1., 15., 30., 60., 90. ve 120. günlerde bütün ve temizlenmiş halde muhafaza edilen sazan balıklarında (*Cyprinus carpio* L., 1758), bütün olarak soğukta muhafaza edilen (SBB) ve dondurularak muhafaza edilen (DBB), temizlenerek soğukta muhafaza edilen (STB) ve dondurularak muhafaza edilen (DTB) örneklerde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı (TAM), toplam aerobik psikrofilik mikroorganizma sayısı (TAP), *Pseudomonas* spp. sayısı (PS), maya/küf sayısı (MK), koliform grubu mikroorganizma sayısı (KG), fekal streptokok sayısı (FS), *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizma sayısı (EB) ve *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* grubu mikroorganizma sayısı (LB) ile pH değerleri, TVB-N miktarları belirlenmiş, duyuşal analiz verileri hedonik skalaya göre değerlendirilmiş ve biyojen aminlerden triptamin (TRM), β-feniletülamın (PEA), putresin (PUT), kadaverin (CAD), histamin (HİM), tiramin (TYM), spermidin (SPD) ve spermin (SPM) miktarları Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak tespit edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre; soğukta muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresince psikrofil mikroorganizma ve *Pseudomonas* spp.’lerin hakim florayı oluşturdukları, TVB-N miktarları yönünden 10. güne kadar önerilen limit değerleri aşmadığı ve duyuşal özelliklerine göre 6. günden sonra tüketilebilir nitelikte olmadıkları tespit edilmiştir. Soğukta muhafaza edilen örneklerin her iki uygulama şeklinde de putresin ve kadaverinin dominant biyojen aminler olduğu, sazan balıklarında tazeliğin belirlenmesinde indikatör biyojen aminler olarak kullanılmasının mümkün olabileceği ve diğer biyojen aminlerin limit değerlerin çok altında olduğu saptanmıştır. Dondurularak muhafaza edilen örneklerde psikrofil mikroorganizmaların dominant mikroorganizma grubu oldukları, biyojen aminlerin tamamının tüm muhafaza süresince limit değerlerin altında kaldığı, mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özelliklerdeki değişimlere göre 120 günlük süre sonunda bu balıkların tüketilebilir özelliklerini koruduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyojen aminler, duyuşal özellikler, mikrobiyolojik ve kimyasal özellikler, sazan.

## SUMMARY

**Cakmak, T, Determination of Biogenic Amine Formation and Microbiological Changes in Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) Frozen and Preserved at 4 °C, University of Van Yuzuncu Yil, Institute of Health Sciences, Department of Food Hygiene and Technology, PhD Thesis, Van, 2017.** It has been identified that total number of aerobic mesophilic microorganisms (TAM), total number of aerobic psychrophilic microorganisms (TAP), number of *Pseudomonas* spp. (NP), number of yeast and molds (NYM), number of microorganisms in coliform group (CG), number of fecal streptococci (FS), number of microorganisms in *Enterobacteriaceae* group (EB) and number of microorganisms *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* group (LB) and values of pH, quantities of TVB-N have been determined, data of sensory analysis has been evaluated by hedonic scale of whole and gutted specimens of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) which were whole kept at cold and frozen kept, gutted and kept cold and frozen kept at 4 °C at 0th, 2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 12th days and also kept at -18 °C at 15th, 30th, 60th, 90th, 120th days and biogenic amines tryptamine (TRM), phenylethylamine (PEA), putrescine (PUT), cadaverine (CAD), histamine (HIM), tyramine (TYM), spermidine (SPD) and spermine (SPM) were assayed by high performance liquid chromatography (HPLC) method. According to the results of the research, it has been determined that psychrophil microorganisms and *Pseudomonas* spp. formed the dominant flora at the samples which stored in the cold, the samples which stored in the cold did not exceed the recommended limit values until the 10th day and sensory and the sensory properties of the samples were found not to be consumable after 6th day. It was identified that in both cases, putrescine and cadaverine are dominant biogenic amines in cold kept specimens and it may be possible for determining freshness of carp as indicator biogenic amines and other biogenic amines are well below the limit values. It has been determined that was found psychrophile microorganisms were the dominant microorganism group in the frozen-preserved samples, all of the biogenic amines remained below the limit values during the all storage period and microbiological, chemical and sensory characteristics of these fishes have been found to protect their consumable properties after a period of 120 days.

**Key Words:** Biogenic amines, carp fish, microbiological and chemical properties, sensory properties.

## KAYNAKLAR

- Abdollahi M, Rezaei M, Farzi G (2014). Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *Int J Food Sci and Tec*, 49, 811-818.
- Aguilar RP, Lugo-Sanchez ME, Burgueno MRR (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Food Chem and Toxicol*, 65, 1, 40-47.
- Akyol V, Kundakçı A, Ergönül B (2015). Gıdalarda biyojen aminler. *CBÜ Fen Bil Derg*, 11, 2, 294-305.
- Akyurt İ (1993). Fish Feeding Technology (in Turkish), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Erzurum, Yayın no: 156, 75,
- Alberto MR, Arena ME, Narda MM (2002). A comparative survey of two analytical methods for identification and quantification of biogenic amines. *Food Control*, 13, 2, 125-129.
- Al-Bulushi I, Poole S, Deeth HC, Dykes GA (2009). Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage and nitrosamine formation-a review, *Crit Rev In Food Sci and Nut*, 49, 369-377.
- Allen DG (2004). Regulatory control of histamine production in North Carolina harvested mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): A HACCP-Based Industry Survey a thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the Requirements for the *Degree of Master of Science* Department of Food Science, 91.
- Alpbaz A (1978). Kültür Balıkçılığı (Genel Bilgiler ve Sazan Balığı Üretimi). 256.
- Alperden İ (1993). Et ve Su Ürünleri Mikrobiyolojisi, Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Tübitak-Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknoloji Böl, No: 124, Gebze, Kocaeli, 114-115.
- Andrade SCS, Mársico ET, Godoy RLO, Franco RM, Conte Junior CA (2014). Chemical quality indices for freshness evaluation of fish. *J Food Studies*, 3, 1, 71-87.
- Anonymous (1984). Microorganisms in foods. Microbial Ecology of Food Commodities. Blackie Academic and Professional an Imprint of Thomson Science, 2-6. Boundary Row, London, UK, 160.
- Anonymous (1999). 1988-1997 Aquaculture Production Statistics. *FAO Fisheries Circular*, No:815.
- Anwar MA, Ford WR, Herbert AA, Broadley KJ (2013). Signal transduction and modulating pathways in tryptamine-evoked vasopressor responses of the rat isolated perfused mesenteric bed. *Vascular Pharmacol*, 58, 1-2, 140.
- Arannilewa ST, Salawu SO, Sorungbe AA, Ola-Salawu BB (2005). Effect of frozen period on chemical, microbiological and sensory quality of frozen Tilapia fish (*Sarotherodon galilaeus*). *African J Biotech*, 4, 8, 852-855.
- Arnold SH, Brown W (1978). Histamine toxicity from fish products. 24, *In Advances In Food Research*, eds. Chishester Co, EM, 113-154.

- Arnold SH, Price RJ, Brown WD (1980). Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, *Bul Japanese Soc Sci Fish*, 46, 8, 991-995.
- Asgharzadeh A, Shabanpour B, Aubourgb SP, Hosseini H (2010). Chemical changes in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) minced muscle during frozen storage: Effect of a previous washing process. *Grasas Y Aceites*, 61, 1, Enero-Marzo, 95-101.
- Ashie INA, Smith JP, Simpson BK (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Crit Rev Food Sci*, 36, 182, 87-121.
- Assisi A, Banzi R, Buonocore C, Capasso F, Di Muizo V, Michelacci F, Renzo D, Tafuri G, Trotta F, Vitocolonna M, Garattini S (2006). Fish oil and mental health: The role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cognitive development and neurological disorders. *Int Clin Psychopharmacol*, 21, 6, 319-336.
- Atar HH, Alçiçek Z (2009). Su ürünleri tüketimi ve sağlık. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8, 2, 173-176.
- Atay D (1987). İçsu Balıkları ve Üretim Tekniği. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 1035, Ders Kitabı: 300, 467.
- Atay D, Çelikkale MS (1983). Sazan Üretim Tekniği. *San Matbaası*, 185 s.
- Ayaz A (2012). Besinlerdeki Toksik Öğeler- 11. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727.
- Aydın F (1984). Sazan Üretimi. İç Sularda Balık Yetiştiriciliği ve Sorunları Semineri, 8-9 Aralık 1983, Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, No:303, 104-128.
- Azzaro AJ, Vandenberg CM, Blob LF, Kemper EM, Sharoky M, Oren DA, Campbell BJ (2006). Tyramine pressor sensitivity during treatment with the selegiline transdermal system 6 mg/24 h in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*, 46, 8, 933-44.
- Bahmani ZA, Rezai M, Hosseini SV (2011). Chilled storage of golden gray mullet (*Liza aurata*). *LWT-Food Sci and Technol*, 44, 1894-1900.
- Bakar J, Yassoralipour A, Abu Bakar F, Abdul Rahman R (2010). Biogenic amine changes in barramundi (*Lates calcarifer*) slices stored at 0 °C and 4 °C. *Food Chem*, 119, 467-470.
- Bakos J (1984). Technology For Fish Propagation. In: Inland Aquaculture Engineering, Edited by TVR Pillay, *Lectures Presented at the ADCP Inter-Regional Training Course in Inland Aquaculture Engineering*, Budapest, 6 June-3 September 1983, United Nations Development Programme, FAO, ADCP/REP84/21, 297-323.
- Balıkçılık Ürünlerine Ait Duyusal Özellikler ve Toplam Uçucu Bazik Azot Limitleri Tebliği (2012). 21.11.2012. Resmi Gazete Sayısı: 28474.
- Balogun AM, Talabi SO (1985). Proximate analysis of the flesh and anatomical weight composition of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Food Chem*, 17, 2, 117-123.
- Banks H, Nickelson R, Finne G (1980). Shelf-life studies on carbon dioxide packaged fin-fish from the gulf of Mexico. *J Food Sci*, 45, 157-162.
- Banwart GJ (1981). Basic Food Microbiology. *The AVI Publishing Company, Inc*, Westport, Connecticut.

- Bao Y, Zhou Z, Lu H, Luo Y, Shen H (2013). Modelling quality changes in Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio*) fillets stored at chilled temperatures: comparison between Arrhenius model and log-logistic model. *Int J Food Sci Technol*, 48, 387-393.
- Bardocz S (1995). Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Sci and Technol*, 6, 341-346.
- Barke KE, Hough LB (1993). Opiates, mast cells and histamine. *Life Sci*, 53, 1391-1399.
- Baross JA, Morita RY (1978). Microbial life at low temperatures ecological aspects. In *Microbiol Life in Extreme Environments*. Kushner, DJ (ed). *Acad Pres*, New York, pp. 9-71.
- Basavaraj S, Sharanagouda H, Devadattam DSK, Veerangouda M, Ramachandra CT, Nidoni U (2015). The physico-chemical and microbiological characteristics of mechanically deboned tilapia fish [*Oreochromis mossambicus* (Peters)] meat under frozen condition. *Karnataka J Agric Sci*, 28, 3, 385-388.
- Baygar T (2004). Balık ve Sağlığımız Açısından Önemi. *Aquaculture Derg*, 6, 21.
- Baygar T, Özden Ö, Üçok D (2004). The effect of the freezing-thawing process on the fish quality. *Turk J Vet Anim Sci*, 28, 173-178.
- Baysal A (2002). Beslenme. *Hatipoğlu Yayınevi*, Ankara.
- Baysal A (2007). Genel Beslenme, 12. Baskı, *Hatipoğlu Yayınevi*, Ankara.
- Behling AR, Taylor SL (1982). Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. *J Food Sci*, 47, 1311-1317.
- Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M (2004). Polyunsaturated fatty acids: Biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J Am Coll Nutr*, 23, 281-302.
- Ben-Gigirey B, Babtista de Sousa JMV, Villa TG, Barros-Velazquez J (1998). Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J Food Prot*, 61, 5, 608-615.
- Ben-Gigirey B, Baptista de Sousa JMV, Villa TG, Barros-Velazquez J (1999). Histamine and cadaverine production by bacteria isolated from fresh and frozen albacore. *J Food Protec*, 62, 933-939.
- Beri HK, James MA, Solanki KK (1989). Bacterial flora of some fishes of Maharashtra, Saurashtra Coast (India). *J Food Tech*, 26, 318-321.
- Besler T (2007). Balık Tüketimi ve Sağlık Etkileşimi. *Danone Enstitüsü Türkiye Derneği*.
- Bhosale BP, Patange SB (2002). Studies of frozen storage characteristics of a fresh water fish *Catla catla* (Bloch). *J M Agr Uni Coll of Agr*, 27, 2, 191-196.
- Binici A, Kurtkaya G (2014). Soğukta depolama yöntemlerinin su ürünleri kalitesine etkileri. *Bilim ve Gençlik Derg*, 2, 2, 23-40.
- Bjeldanes LF, Schutz DE, Morris MM (1978). On the aetiology of scombroid poisoning: Cadaverine potentiation of histamine toxicity in the guinea-pig. *Food Cosmetol Toxicol*, 16, 157-159.

- Bodmer S, Imark C, Kneubühl M (1999). Biogenic amines in foods: Histamine and food processing. *Inflamm Res*, 48, 296-300.
- Bolton GE, Bjornsdottir K, Nielsen D, Luna PF, Green DP (2009). Effect of high hydrostatic pressure on histamine forming bacteria in yellowfin tuna and mahi-mahi skinless portions. *Int Food Techno (IFT) Conference*, USA.
- Bouchereau A, Guenot P, Larher F (2000). Analysis of amines in plant materials. *J Chromatogr, B*, 747, 49-67.
- Bover-Cid S, Hugas M, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC (2000). Reduction of biogenic amine formation using a negative amino acid decarboxylase starter culture for fermentation of fuet sausages. *J Food Protect*, 63, 237-243.
- Bover-Cid S, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC (2001). Effect of the interaction between a low tyramine-producing *Lactobacillus* and proteolytic *Staphylococci* on biogenic amine production during ripening and storage of dry sausages. *Int J Food Microbiol*, 65, 1-2, 113-123.
- Bover-Cid S, Miguelez-Arrizado MJ, Backer B, Holzapfel WH, Vidal-Carou MC (2008). Amino acid decarboxylation by *Lactobacillus curvatus* CTC273 affected by the pH and glucose availability. *Food Microbiol*, 25, 2, 269-277.
- Bover-Cid S, Miguelez-Arrizado MJ, Moratalla LLL, Vidal-Carou MCV (2006). Freezing of meat raw materials affects tyramine and diamine accumulation in spontaneously fermented sausages. *Meat Sci*, 72, 1, 62-8.
- Bremer PJ, Osborne CM, Kemp RA, Veghel PV, Fletcher GC (1998). Thermal death times of *Hafnia alvei* cells in a model suspension and in artificially contaminated hot-smoked kahawai (*Arripis trutta*). *J Food Prot*, 61, 8, 1047-1051.
- Brinker C, Kerr M, Rayner C (2002). Investigation of biogenic amines in fish and fish products. Victorian government department of human services, *Public Health Division*, Australia, 17.
- Broadley KH (2010). The vascular effects of trace amines and amphetamines. *Pharmacology and Therapeutics*, 125, 363-375.
- Broekaert K, Heyndrickx M, Herman L, Devlieghere F, Vlaemynck G (2013). Molecular identification of the microbiota of peeled and unpeeled brown shrimp (*Crangon crangon*) during storage on ice and at 7.5 °C. *Food Microbiol*, 36, 123-134.
- Brown A (2000). Understanding Food. Fish and Shellfish. *Wadsworth/Thomson Learning*.
- Bucak Ö (2011). Laktik Asit Bakterilerinde Bazı Biyojen Amin Üretim Potansiyellerinin Moleküler Olarak Belirlenmesi. *Kahramanmaraş SİÜ Fen Bil Enst*, Yüksek Lisans Tezi.
- Bunkova L, Adamcova G, Hudcova K, Velichova H, Pachlova V, Lorencova E, Bunka F (2013). Monitoring of biogenic amines in cheeses manufactured at small-scale farms and in fermented dairy products in the Czech Republic. *Food Chem*, 141, 548-551.
- Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF (1989). Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: Diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*, 2, 757-61.



- Cai L, Wu X, Li X, Zhong K, Li Y, Li J (2014). Effects of different freezing treatments on physicochemical responses and microbial characteristics of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets during refrigerated storage. *LWT Food Sci and Tech*, 59, 122-129.
- Calabrese JP (1999). Fish oil and dipolar disorder. *Archives of General Psychiatry*, 56, 413-414.
- Can ÖP (2012). Eugenol katkılı aynalı sazan balığı köftelerinin raf ömrünün belirlenmesi. *SDÜ, Fen Bil Ens Derg*, 16-1, 6-12.
- Can ÖP, Çoban ÖE (2012). Aynalı sazan balığı (*Cyprinus carpio* L., 1758) kıymasından hazırlanan köftelerin raf ömrü üzerine timol'ün etkisi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 23, 9-14.
- Capozzi V, Russo P, Ladero V, Fernandez M, Fiocco D, Alvarez MA, Grieco F, Spano G (2012). Biogenic amines degradation by *Lactobacillus plantarum*: Toward a potential application in wine. *Frontier Microbiol*, 3-122.
- Cashin CH (1972). Effect of sympathomimetic drugs in eliciting hypertensive responses to reserpine in the rat, after pretreatment with monoamineoxidase inhibitors. *Br J Pharmacol*, 44, 203-209.
- Chen HC, Chai T (1982). Micro flora of drainage from ice in fishing vessel fish holds. *Applied Environ Microbiol*, 43, 1360-1365.
- Chytiri S, Paleologos E, Savvaidis I, Kontominas MG (2004). Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored on ice. *J Food Protect*, 67, 960-965.
- Coisson JD, Cerutti C, Travaglia F, Arlorio M (2004). Production of biogenic amines in salami italiani allacciaciatore PDO. *Meat Science*, 67, 2, 343-349.
- Couto JA, Neves F, Campos F, Hogg T (2005). Thermal inactivation of the winw spoilage yeasts *Dekkera/Brettanomyces*. *Int J Food Microbiol*, 104, 337-344.
- Craig WJ, Mangels AR (2009). Position of the american dietetic association: Vegetarian diets. *J Am Diet Assoc*, 109, 1266-1282.
- Crow V, Curry B, Hayes M (2001). The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their uses as adjuncts in New Zeland Cheddar. *Int Dairy J*, 11, 275-83.
- Çaklı Ş, Kışla D (2003). Su ürünlerinde mikrobiyal kökenli bozulmalar ve önleme yöntemleri. *EÜ Su Ürünleri Derg*, 20, 1-2, 239-245.
- Çelebi Ş, Karaca H (2006). Yumurthanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı n-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirmeye yönelik çalışmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak Derg*, 37, 2, 257-265.
- Çelik M, Küçükgülmez A(2007). Taze Balıkta Kalite ve Kalite Değişimleri. In: *H.H.Huss (Ed), 1st edition, Nobel Publishing, Ankara, 196.*
- Çelikkale MS (1988). İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği: cilt II, KTÜ, Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksek Okulu, Genel Yayın No:128, *Fakülte Yayın No: 3*, 460.
- Çolak H, Aksu H (2002). Gıdalarda biojen aminlerin varlığı ve amin oluşumunu etkileyen faktörler. *YYÜ Vet Fak Derg*, 13, 1-2, 35-40.

- Çopur G, Duru M, Şahin A (2004). Düşük kolesterolü yumurta üretimi yönündeyapılan çalışmalar. 4. *Ulusal Zootekni Bilim Kongresi*, 01-03 Eylül 2004, Isparta.
- Dadakova E, Krizek M, Pelikanova T (2009). Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, 116, 1, 365.
- Dalgaard P, Emborg J, Kjolby A, Sorensen N, Ballin N (2008). Histamine and biogenic amines - formation and importance in seafood. In: Improving seafood products for the consumer. *Borrensen T, ed. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK.*
- Dalgaard P, Madsen HL, Samieian N, Emborg J (2006). Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone belone*) effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *J Appl Microbiol*, 101, 1, 80-95.
- Dean LM (1990). Nutrition and preparation. In R.E. Martin, GJ Flick (eds.), *The seafood industry. Chap.16. Published Van Nostrand Rainhold, New York, 55-267.*
- den Brinker C, Kerr M, Rayner C (2002). Investigation of biogenic amines in fish and fish products. Victorian Government Department of Human Services: *Public Health Division, Australia, 17.*
- Diler Ö, Altun S, Çalığışu F, Diler A (2000). Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yaşadığı ortam ile ilişkili kalitatif ve kantitatif bakteriyel florası üzerine bir araştırma. *Turk J Vet Anim Sci*, 24, 251-259.
- Doyle EM (2007). FRI BRIEFINGS: Microbial food spoilage: Losses and control strategies. A brief review of the literature. *Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison.*
- Dökmeci HO (1995). *Aeromonas Hydrophila*'nın Gıdalarda Rastlanma Sıklığı Ve Besiyeri-Gıda Sistemlerinde Üremesine Çeşitli Antimikrobiyal Faktörlerin Etkisi. *EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, İzmir.*
- Dölekoğlu CÖ, Gün S, Giray H (2014). Yoksulluk ve Gıda İsrافی Sarmalı. 3-5 Eylül 11. *Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, Samsun, Türkiye, 1, 172-181.*
- Du WX, Lin CM, Phu AT, Cornell JA, Marshall MR, Wei CI (2002). Development of biogenic amines in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): effect of storage and correlation with decarboxylase-positive bacterial flora. *J Food Sci*, 67, 1, 292-301.
- Duflos G (2009). Histamine risk in fishery products. *Bull Acad Vet Fr*, 162, 3, 241-246.
- Duman M, Patır B (2007). Tütsülenmiş aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) filetolarının bazı kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi. *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg*, 19, 4, 463-472.
- Durlu Özkaya F, Cömert M (2008). Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biy Derg*, 65, 3, 149-158.
- Düz M, Fidan AF (2016). Biyojen aminler ve etkileri. *Kocatepe Vet J*, 9, 2, 114-121.
- Edmunds WJ, Eitenmiller RR (1975). Effects of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species. *J Food Sci*, 40, 516-519.

- Eerola S, Hinkkanen R, Lindfors E, Hirvi T (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *JAOAC Int*, 76, 575-577.
- Eerola S, Majjala R (2004). Biogenic amines: Overview of food safety. In: DML Morgan, T Hirvi, G Dandrifosse, P Deloyer and A White, eds, *Health Implications of Dietary Amines: Review of Current Status*, Belgium.
- Eerola S, Sagues AXR, Lilleberg L, Aalto H (1997). Biogenic amines in dry sausages during shelf-life storage. *Zeitung Lebensmittel For Untersuchung und Forschung A*, 205, 351-355.
- Egan H, Kirk RS, Sawyer R (1981). *Pearson's Chemical Analysis of Foods*, 8th ed, Churchill Livingstone, London, UK, 345-389
- Ehsani A, Jasour MS (2012a). Determination of short-term icing and frozen storage characteristics of ungutted silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *J Food Pro and Pre*, 38, 713-720.
- Ehsani A, Jasour MS (2012b). Microbiological properties and biogenic amines of whole pike-perch (*Sander Lucioperca*, Linnaeus 1758): A perspective on fish safety during postharvest handling practices and frozen storage. *J Food Sci*, 77, 12.
- Eitenmiller RR, De Souza S (1984). Enzymatic Mechanisms for Amine Formation in Fish, In: ER Ragelis (ed.). *Seafood Toxins*, American Chemical Society, Washington, DC.
- Ekici K, Sağun E, Sancak YC, Sancak H, Yörük İH, İşleyici Ö (2011). Dondurulmuş olarak muhafaza edilen inci kefalinde (*Chalcalburnus tarichi*, pallas 1811) biyojen amin oluşumu ve mikrobiyolojik değişimlerin belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 22, 2, 93-99.
- El-Sayed MM (1996). Biogenic amines in processed cheese available in Egypt. *Int Dairy J*, 6, 1079-1086.
- Embarek PKB (1994). Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *Int J Food Microbiol*, 23, 17-34.
- Emborg J, Dalgaard P (2006). Formation of histamine and biogenic amines in cold-smoked tuna: an investigation of psychrotolerant bacteria from samples implicated in cases of histamine fish poisoning. *J Food Prot*, 69, 897-906.
- Emborg J, Dalgaard P (2008). Modelling the Effect of temperature, carbon dioxide, water activity and pH on growth and histamine formation by *Morganella psychrotolerans*. *Int J Food Microbiol*, 128, 2, 226-233.
- Emborg J, Dalgaard P, Ahrens P (2006). *Morganella psychrotolerans* spp. nov., a histamine producing bacterium isolated from various seafoods. *Int J System Evolut Microbiol*, 56, 2473-2479.
- Emborg J, Laursen BG, Dalgaard P (2005). Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacares*) at 2 °C effect of vacuum and modified atmosphere packaging on psychrotolerant bacteria. *Int J Food Microbiol*, 101, 3, 263-79.
- Emire SA, Gebremariam MM (2010). Influence of frozen period on the proximate composition and microbiological quality of Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). *J Food Process and Preserv*, 34, 743-757.

- Erbaş M, Arslan S (2015). Açlığın önlenmesi ve gıda güvencesinin sağlanması. *Gıda Müh Derg*, 36.
- Erdem ME, Bilgin S, Çağlak E (2005). Tuzlama ve marinasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığının (*Trachurus mediterraneus*) muhafazası sırasındaki kalite değişimleri. *OMÜ Zir Fak Derg*, 20, 3, 1-6.
- Erdem Z, Çelik M (2003). Su ürünleri yağlarının yapısı ve insan sağlığı açısından önemi. *1. Bölgesel Öğrenci Sem*, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, 99-103.
- Erkan N, Bilen G (2010). Effect of essential oils treatment on the frozen storage stability of *Chub mackerel* fillets. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. J Consumer Protec and Food Safety*, 5, 101-110.
- Erkan N, Özden Ö (2008). Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Int J Food Sci Technol*, 43, 1549-1559.
- Erkan T (2011). Ergenlerde beslenme. *Türk Ped Arş*, 46. Özel Sayı, 49-53.
- Erkoyuncu İ (2000). Technology of chill and freze lesson notes (in Turkish), *OMÜ Su Ürünleri Fak*, Sinop.
- Ersoy E, Bayşu N (1986). Biyokimya Ders Kitabı, *AÜ Vet Fak*, Yayın No: 408, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 989.
- Ertaş AH (1981). Balık mikroflorası ve kutu konserve balıklarda bozulmaya neden olan bakteriler, *Gıda Derg*, 6, 4, 7-9.
- EU Directive (2007). Commission Regulation (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007. *Amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs Official Journal the European Union*.
- Fan H, Liu X, Hong H, Shen S, Xu Q, Feng L, Luo Y (2016). Quality changes and biogenic amines accumulation of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fillets stored at different temperatures. *J Food Protec*, 79, 4, 635-645.
- Fan WJ, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chem*, 115, 66-70.
- FAO (2005). The state of food insecurity in the world 2005: Eradicating world hunger – key to achieving the Millennium Development Goals. Available: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/a0200e/a0200e.pdf>.
- FAO (2010). The state of food insecurity in the world-addressing food insecurity in protracted crises. Available: <http://www.fao.org/docrep/013/i1683e/i1683e.pdf>.
- FAO (2012). The State of World Fisheries and Aquaculture, FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.
- FAO (2015). The State of Food Insecurity in the World. Available: <http://www.fao.org/3/a-i4646e.pdf>.
- FDA (2001). Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance. 3rd Edition. Food and Drug Administration, *Center for Food Safety and Applied Nutrition*, Washington, DC, USA.

- Feng P, Weagant SD (ret.), Grant MA (dec.), Burkhardt W (2002). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological Analytical Manual*. 4th ed, Chapter 4. Shellfish analysis method revised to be consistent with the APHA Examination of seawater and shellfish.
- Fennema OR (2000). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Ed, Acribia, 1258
- Fernandez M, Linares DM, Del Rio B, Ladero V, Alvarez MA (2007). HPLC quantification of iogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganism. *J Dairy Res*, 74, 276-282.
- Fernandez-Salguero J, Mackie IM (1987). Technical note: Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of Spanish canned fish. *Int J Food Sci Technol*, 22, 409-412.
- Fey MS, Regenstein JM (1982). Extending shelf-life of fresh wet redhake and salmon using CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> modified atmosphere and potassium sorbate ice 1 °C. *J Food Sci*, 47, 1048-1054.
- Figueiredo TC, Viegas RP, Lara LJ, Baiao NC, Souza MR, Heneine LG, Cancado SV (2013). Bioactive amines and internal quality of commercial eggs. *Poult Sci*, 92, 1376-1384.
- Fletcher RH, Kathleen M, Fairfield MD (2002). Vitamins for chronic disease prevention in adults. *The J American Medical Assoc*, 287, 3127-3129.
- Flick GJ, Granata LA (2005). Biogenic Amines in Foods. In: W. M. Dabrowski and Z. E. Sikorski, Eds, *Toxins in Food (Chemical and Functional Properties of Food Components)*, CRC Press, Boca Raton, 121-154.
- Foegeding EA, Lanier TC, Hultin HO (1996). Characteristics of Edible Muscle Tissues. 879-942. *Food Chemistry*. Fennema, OR, (Ed); Marcel Dekker Inc, New York.
- Foster JW (2004). *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. *Nat Rev Microbiol*, 2, 898-907.
- Frank HA, Baranowski JD, Chongsiriwatana M, Brust PA, Premaratne RJ (1985). Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi mahi after incubation at 0 and 32 °C. *Int J Food Microbiol*, 2, 331-340.
- Fraser OP, Sumar S (1998). Compositional changes and spoilage in fish (part II) microbiological induced deterioration. *Nut and Food Sci*, 98, 6, 325-329.
- Frazier WC, Westhoff DC (1988). *Food Microbiology*. 4th ed. McGraw-Hill Book Company Inc, Singapore.
- Gardini F, Martuscelli M, Caruso CM, Galgano F, Crudele MA, Favati F, Guerzoni, ME, Suzzi G (2001). Effect of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *Int J Food Microbio*, 64, 105-117.
- Garthwaite GA (1992). *Chilling and Freezing of Fish*. Fish Processing Technology. Food Engineering and Biotechnology Group University of Technology Loughborough. VCH Publishers, Inc, New York.

- Gennari M, Tomaselli S, Catrona V (1999). The microflora of fresh and spoiled sordines (*Sordina pilchardus*) caught in Adriatic (*Mediterranean*) Sea and stored in ice. *Food Microbiol*, 16, 15-28.
- Ghazala S (1994). New Packaging Technology for Seafood Preservation-Shelf Life Extension and Pathogen Control. Fisheries Processing. *Biotechnological applications published by Chapman and Hall*, London, 96.
- Gill TA (1990). Objective analysis of seafood quality. *Food Rev Int*, 6, 681-714.
- Gonzaga VE, Lescano AG, Huaman AA, Salmn-Mulanovich G, Blazes DL (2009). Histamine levels in fish from markets in Lima, Peru. *J Food Prot*, 72, 1112-1115.
- Gordon DT, Ratliff V (1992). The Implications of Omega-3 Fatty Acids in Human Health, *Advances in Seafood Biochemistry Composition and Quality*, ed. By George L Flick, 406.
- Gorga C (1998). Quality Assurance of Seafood. *An avi Book Published by Van Nostrand Reinhold*, New York.
- Göğüş K, Kolsarıcı N (1992). Su Ürünleri Teknolojisi. *AÜ Ziraat Fak Yayın No:1243*. Ders Kitabı, 358, Ankara, 36.
- Gökoğlu N (2002). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. *Su Vakfı Yayınları*, İstanbul, 24.
- Gökoğlu N, Varlık C (1995). Sardalya konservelerinin histamin biyojen amini yönünden incelenmesi. *Gıda*, 5, 273-279.
- Göktan D (1990). Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi, cilt: I, Et Mikrobiyolojisi. *Ege Ü Müh. Fak. Yayınları No:21*, *Ege Ü Basımevi*, İzmir, 292.
- Graf W (1992). Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bildung von Histamin in Hartkäse. *Dissertation med Vet*, München.
- Gram L (1991). Inhibition of mesophilic spoilage *Aeromonas* spp. on fish by salt, potassium sorbate, liquid smoke and chilling. *J Food Prot*, 54, 6, 436-442.
- Gram L (1992). Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *Int J Food Microbiol*, 16, 25-39.
- Gram L, Dalgaard P (2002). Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Curr Opin Biotech*, 13, 262-266.
- Gram L, Huss HH (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int J Food Microbiol*, 33, 1, 121-137.
- Greenberg AE, Hunt DA (Eds.) (1985). Laboratory Procedures for the Examination Of Seawater and Shellfish, *5th ed. The American Public Health Association*, Washington, DC.
- Greif G, Greifova M, Karovicova J (2006). Effects of NaCl concentration and initial pH value on biogenic amine formation dynamics by *Enterobacter* spp. bacteria in model conditions. *J Food and Nut Res*, 45, 1, 21-29.
- GTHB (2017). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Su Ürünleri İstatistikleri 2017. <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>

- Gunstone F (1996). Fatty Acid and Lipid Chemistry. *Blackie Academics and Professional*. London, U.K.
- Güven KC, Percot A, Sezik E (2010). Alkaloids in marine algae. *Mar Drugs*, 8, 269-284.
- Guzman NG, Segovia IF, Lopez AF, Rico MR, Baviera JMB (2015). Physico-chemical and microbiological changes in commercial tilapia (*Oreochromis niloticus*) during cold storage. *Vitae, Revista De La Facultad De Ciencias Farmaceuticas Y Alimentarias*. 22, 2, 140-147.
- Gürlük S, Turan Ö (2008). Dünya Gıda Krizi: Nedenleri ve Etkileri. *UÜ Ziraat Fak Derg*, 22, 1, 63-74
- Halasz A, Barath A (2002). Toxicity of biogenic amines—the present knowledge. In *Food Sci and Tech COST 917*. Biogenically active amines in food, EC Publication, Luxembourg, 6, 131-141.
- Halasz A, Barath A, Holzapfel W (1999). The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation. *Z Lebensm Unters Forsch*, 208, 434-438.
- Halasz A, Barath A, Simon-Sarkadi L, Holzapfel W (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Sci and Tech*, 5, 42-49.
- Hard NF, Simpson BK (2000). Seafood Enzymes. *Marcel Dekker Inc*, New York, 689.
- Harrigan WF, Mc Cance ME (1976). Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. *Academic Press Inc Ltd*, London.
- Hasan R, Hassan M, Kumer SM, Akter K, Rahman M (2013). Microbiological risk assessment of frozen fishes in relation to their effects of different processing treatments. *Int J Biosci*, 3, 7, 169-176.
- Hasani S, Hasani M (2014). Antimicrobial properties of grape extract on common carp (*Cyprinus carpio*) fillet during storage in 4 °C. *Int J Fish Aquat Stud*, 1, 3, 130-136.
- Havelka B (1967). Role of the Hafnia bacteria in the rise of histamine in tuna fish meat. *Cesk. Hygiene*, 12, 343-352.
- Hebard C, Flick GJ, Martin RE (1982). Occurrence and Significance of Trimethylamine Oxide and its Derivatives in Fish and Shellfish. In *chemistry and biochemistry of marine food products* (ed. RE Martin, GJ Flick, CE, Hebard and Ward DR), Westport, CT: AVI Publishing Company, 149-304.
- Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC (1997). Biogenic amines and polyamine contents in meat and meat products. *J Agric Food Chem*, 45, 2098-2102.
- Hernandez-Jover T, Izquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC (1996). Ion-pair high-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *J Agric Food Chem*, 44, 9, 2710-2715.
- Hisar ŞA, Hisar O, Yanık T (2004). Balıklarda mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmalar. *Atatürk Ü Ziraat Fak Derg*, 35, 3-4, 261-265

- Hong H, Luo YK, Zhou ZY, Bao YL, Lu H, Shen HX (2013). Effects of different freezing treatments on the biogenic amine and quality changes of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) heads during ice storage. *Food Chem*, 138, 1476-1482.
- Hornero-Mendez D, Garrido-Fernandez A (1997). Rapid high-performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. *J Food Prot*, 60, 4, 414-419.
- Hosseini SV, Hamzeh A, Moslemi M, Lashkan AB, Iglesias A, Feas X (2013). Effect of delayed icing on biogenic amines formation and bacterial contribution of iced Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Molecules*, 18, 15464-15473.
- Hozbor MC, Saiz AI, Yeannes MI, Fritz R (2006). Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *LWT-Food Sci and Tech*, 39, 2, 99-104.
- Hu Y, Xia W, Liu X (2007). Changes in biogenic amines in fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter cultures. *Food Chem*, 104, 1, 188-95.
- Hubbs J (1991). Fish: Microbiological spoilage and safety. *Food Sci and Tech Today*, 5, 166-173.
- Hudecova K, Buchtova H, Steinhauerova I (2010). The effects of modified atmosphere packaging on the microbiological properties of fresh common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Vet Brno*, 79, 93-100.
- Hui YH, Cornillon P, Legarreta IG, Lim HM, Murrell KD, Nip WK (2004). Handbook of Frozen Foods. New York, NY: *Marcel Dekker, Inc.*
- Huis in't Veld JHJ (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: An overview. *In J Food Microbio*, Elsevier Science BV, 33, 1-18.
- Huss HH (1988). Fresh Fish Quality and Quality Changes. *FAO Fisheries Series, Technical Paper No, 29*, Rome, Italy, 132.
- Huss HH (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish, *FAO Fisheries Technical*, FAO. Rome, Italy, 348.
- Huss HH, Ababouch L, Gram L (2003). Assessment and management of seafood safety and quality. *In FAO Fisheries Technical*, (HH Huss, Ababouch L and Gram L, eds.) Food Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 444.
- Huss HH, Reilly A, Emarek P (2000). Prevention and control of hazard in seafood. *Microbio Risk Assessment in Food Proces*, 11, 2, 149-156.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) 1986. Sampling plans for fish and shellfish. In *Microorganisms in Foods. Sampling for Microbio. Analysis: Principles and Scientific App*, (ICMSF, ed.), *University of Toronto Press*, Toronto, Canada, 181-196.
- Innocente M, Biasutti M, Padovese M, Moret S (2007). Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. *Food Chem*, 101, 3, 1285-1289.
- İnal T (1992). Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. *Final Ofset*, İstanbul, 462.



- Jansen SC, van Dusseldorp M, Bottema KC, Dubois AEJ (2003). Intolerance to dietary biogenic amines: A review. *Ann. Allerg. Asthma Im*, 91, 233-241.
- Jarisch R (2004). Histamin-Intoleranz, Histamin und Seekrankheit. *2nd ed. Thieme, Stuttgart*.
- Javadian SR, Rezaei M, Soltani M, Kazemian M, Pourgholam R (2013). Effects of thawing methods on chemical, biochemical, and microbial quality of frozen whole rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Aquatic Food Product Tech*, 22, 168-177.
- Jay JM (1978). *Modern Food Microbiology, 2nd ed., D Van Nostrand Company, New York*.
- Jay JM (1992). *Modern Food Microbiology. Fourth Edition, Chapman & Hall, New York, London, 222*.
- Jay JM (1996). *Modern Food Microbiology. 5th ed, Chapman&Hall, New York, 679*.
- Jezek F, Buchtova H (2012). Shelf-life of freeze-thawed fillets of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* V.) packed under air. *Acta Agri Slovenica, Supplement, Ljubljana, 3, 275-279*.
- Joneja JM (1995). Tyramine sensitivity. Food Allergy and Intolerance. *Hall Publications, Vancouver, BC, 219-223*.
- Jones JM (1992). *Food safety. 2nd ed. Eagon press St. Paul, Minnesota, USA*.
- Joosten HMLJ (1988). The biogenic amine contents of dutch cheese and their toxicological significance. *Neth Milk Dairy J*, 41, 25-42.
- Joosten HMLJ, Stadhouders J (1987). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 1. Decarboxylative properties of starter bacteria. *Neth Milk Dairy J*, 41, 247-258.
- Jorgensen EA, Knigge U, Warberg J, Kjaer A (2007). Histamine and the regulation of body weight. *Neuroendocrinology*, 86, 210-214.
- Jung HPK, Bjeldanes LF (1979). Effects of cadaverine on histamine transport and metabolism in isolated gut sections of the guinea-pig. *Food Cosmetol Toxicol*, 17, 629-632.
- Kaale LD, Eikevik TM, Rustad T, Kolsaker K (2011). Superchilling of food: A review. *J Food Eng*, 107, 141-146.
- Kaba N, Çorapçı B, Yücel Ş, Eryaşar K (2013). Determining shelf life in refrigerator conditions of marinated meat ball produced with smoked bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793). *J New Results Sci*, 3, 10-18.
- Kaba N, Yücel Ş, Çorapçı B, Özer Ö, Eryaşar K (2012). Shelf life of anchovy (*Engraulis engrasicholus*, L.1758) patties stored at 4 °C. *Academic Food J*, 10, 4, 19-23.
- Kalac P, Dadakova E, Pelikanova T (2009). Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. *European Food Res Tech*, 230, 1, 163-171.
- Kalac P, Krausova P (2005). A review of dietary polyamines: formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chem*, 90, 219-230.

- Kang IJ, Park YH (1984). Effect of food additives on the histamine formation during processing and storage of mackerel. *Bull Korean Fisheries Soc*, 17, 383.
- Kanki M, Yoda T, Ishibashi M, Tsukamoto T (2004). *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *Int J Food Microbiol*, 92, 1, 79-87.
- Karahan AG (2003). Gıdalarda biyojen aminler. *Orlab On-Line Mikrobiyo Derg*, 1, 5, 21-32.
- Karapınar M, Gönül ŞA (1998). Gıda Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar. (Eds. Ünlütürk A, Turantaş F). Gıda Mikrobiyolojisi. *Mengi Tan Basımevi*, Çınarlı-İzmir.
- Katırcıoğlu H (2001). Gökkuşacağı Alabalığı ve Aynalı Sazandan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi*, Gazi Ün, Ankara.
- Kaya Y, Duyar HA, Erdem ME (2004). Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *EÜ Su Ü Derg*, 21, 3-4, 365-370.
- Khanipour AA, Jorjani S, Soltani M (2014). Chemical, sensory and microbial quality changes of breaded kilka (*Clupeonella cultriventris*) with tempura batter in production stage and during frozen storage. *In Food Research J*, 21, 6, 2421-2430.
- Khidhir ZK, Jaff BMA, Sale HH (2014). Assessment of the microbial quality of five types of Iraqi fresh fish in Sulaimania markets. *J Zankoy Sulaimani-Part A*, 16, 251-260.
- Kietzmann V, Priebe K, Rakov D, Rehstein K (1969). Seefisch als Lebensmittel, *Paul Parey Verlag*, Hamburg-Berlin, 243.
- Kim B, Byun BY, Mah JH (2012). Biogenic amine formation and bacterial contribution in Natto products. *Food Chem*, 1, 135, 2005-2011.
- Kim I-B, Jo JY, Choi JY (1975). Rearing experiment of *common carp* in brackish water. *Bull Korean Fish Soc*, 8, 181-184.
- Kim JH, Ahn HJ, Kim DH, Jo C, Yook HS, Park HJ, Byun MW (2003). Irradiation effects on biogenic amines in Korean fermented soybean paste during fermentation. *J Food Sci*, 68, 1, 80-84.
- Kim MK, Mah JH, Hwang HJ (2009). Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish, *Food Chem*, 116, 87-95.
- King I, Childs MT, Dorsett C, Ostrander JG, Monsen ER (1990). Shellfish: Proximate composition, minerals, fatty acids and sterols. *J Ame Diet Assoc*, 90, 677-685.
- Klausen NK, Lund E (1986). Formation of biogenic amines in herring and mackerel. *Zeitsch Leb Unter Forsch*, 182, 459-463.
- Koburger JA, Marth EH (1984). Yeasts and Molds. In Ed: Speck M.L. *Compendium of Methods for the Microbio Exam of Food*, Washington DC, 197-201.
- Komprda T, Neznalova J, Standara S, Bover-Cid S (2001). Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage polian. *Meat Sci*, 59, 3, 267-76.

- Konings WN, Lolkema JS, Bolhuis H, vanVeen HW, Poolman B, Driessen AJM (1997). The role of transport processes in survival of lactic acid bacteria. Energy transduction and multidrug resistance. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 71, 117-28.
- Kordiovska P, Vorlova L, Borkovcova I, Karpiskova R, Buchtova H, Svobodova Z, Krizek M, Vacha F (2006). The dynamics of biogenic amine formation in muscle tissue of carp (*Cyprinus carpio*). *Czech J Anim Sci*, 51, 6, 262-270.
- Koutsoumanis K, Nychas GJE (2000). Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *Int J Food Microbiol*, 60, 171-181.
- Köse S (2010). Evaluation of seafood safety health hazards for traditional fish products: Preventive measures and monitoring issues. *Turkish J Fisheries and Aquatic Sci*, 10, 139-160.
- Köse S, Erdem ME (2004). An investigation of quality changes in anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L 1758) stored at different temperatures. *Turkish J Vet and An Sci*, 28, 575-582.
- Krizek M, Pavlicek T, Vacha F (2002). Formation of selected biogenic amines in carp meat. *J Sci Food and Agri*, 82, 9, 1088-1093.
- Krizek M, Vacha F, Pelikanova T (2011). Biogenic amines in carp roe (*Cyprinus carpio*) preserved by four different methods. *Food Chem*, 126, 1493-1497.
- Krizek M, Vacha F, Vorlova L, Lukasova J, Cupakova S (2004). Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *Food Chem*, 88, 2, 185-191.
- Kulawik P, Özogul F, Glew RH (2013). Quality properties, fatty acids, and biogenic amines profile of fresh tilapia stored in ice. *J Food Sci*, 78, 1063-1068.
- Kundakçı A, Ergönül B (2009). Su ürünlerinde soğuk zincir etkinliğinin önemi ve ürün kalitesi ile olan ilişkisi. *Gıda Tek Elektronik Derg*, 4, 1, 21-28.
- Kuru M (2006). Omurgalı Hayvanlar. *Palme Yayınları*, Ankara, 841.
- Küçüköner E, Küçüköner Z (1990). Balık mikroflorası ve balıklarda meydana gelen mikrobiyal değişimler. *Gıda*, 15, 6, 339-341.
- Ladero V, Calles-Enriquez M, Fernandez M, Alvarez MA (2010). Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition Food Sci*, 6, 145-156.
- Lauritzen L, Hansen HS, Jorgensen MH, Michaelsen KF (2001). The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res*, 40, 1-94.
- Lavizzari T, Veciana-Nogues MT, Bover-Cid S, Marine-font A, Vidal-Carou MC (2006). Improved method for the determination of biogenic amines and polyamines in vegetable products by ion-pair High-Performance Liquid Chromatography. *J Chromatography A*, 1129, 1, 67-72.
- Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS (2014). Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. Boston: *Massachusetts Eye and Ear Infirmary*. Created: February 24.

- Lehane L, Olley J (2000). Histamine fish poisoning revisited. *Int J Food Microbiol*, 58, 1-2, 1-37.
- Lejonc JL, Gusmini D, Brochard P (1979). Isoniazid and reaction to cheese. *Ann Int Med*, 91, 793.
- Li K, Bao Y, Luo Y, Shen H, Shi C (2012). Formation of biogenic amines in Crucian Carp (*Carassius auratus*) during storage in ice and at 4 °C. *J Food Protec*, 75, 12, 2012, 2228-2233.
- Li Q, Li D, Qin N, Hong Hui, Luo Y (2016). Comparative studies of quality changes in white and dark muscles from common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated (4 °C) storage. *Int J Food Science Techn*, 51, 5, 1130-1139.
- Li X, Li J, Zhu J, Wang Y, Fu L, Xuan W (2011). Postmortem changes in yellow grouper (*Epinephelus awoara*) fillets stored under vacuum packaging at 0 °C. *Food Chem*, 126, 896-901.
- Linares DM, Martin MC, Ladero V, Alvarez MA, Fernandez M (2011). Biogenic amines in dairy products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51, 691–703.
- Liston J (1980). Microbiology in fishery science. In: Connell JJ ed, *Advances in Fishery Science and Technology. Fishing News Books*, Farnham, England, 138-157.
- Liu D, Liang L, XiaW, Regenstein JM, Zhou P (2013b). Biochemical and physical changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets stored at–3 and 0 °C. *Food Chem*, 140, 105-114.
- Liu F, DU L, Xu W, Wang D, Zhang M, Zhu Y, Xu W (2013a). Production of tyramine by *Enterococcus faecalis* strains in water-boiled salted duck. *J Food Prot*, 76, 854–859.
- Lonvaud-Funel A (2001). Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 199, 9-13.
- Lopez-Sabater EI, Rodriguez-Jerez JL, Hernandez-Herrero M, Mora-Ventura MT (1994). Evaluation of histamine decarboxylase activity of bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) by an enzymic method. *Letter App Microbiol*, 19, 70-75.
- Loser C, Eisel A, Harms D, Folsch U (1999). Dietary polyamines are essential luminal growth factors for small intestinal and colonic mucosal growth and development. *Gut*, 44, 1, 12-16.
- Love RM (1982). Basic facts about fish. In Aitken A, Mackie IM, Merritt JH & Windsor ML (eds), *Fish handling & Processing. Chap 2*. Ministry of Agriculture, Fisheries & Food. *Torry Research Station*, Edinburgh, 2-19.
- Love RM (1988). *The Food Fishes: Their Intrinsic Variation and Practical Implications*, Reinhold N, (ed), New York.
- Lovenberg W (1973). Some vaso- and psychoactive substances in food: Amines stimulates depressants and hallucinogens. *Nation. Academy Sci*, Washington, DC.
- Lucas P, Wolken WAM, Claisse O, Lolkema JS, Lonvaud-Funel A (2005). Histamine producing pathway encoded on an unstable plasmid in *Lactobacillus hilgardii* 0006. *Appl Environ Microbiol*, 71, 1417-1424.

- Lucas PM, Blancato VS, Claisse O, Magni C, Lolkema JS, Lonvaud-Funel A (2007). Agmatine deiminase pathway genes in *Lactobacillus brevis* are linked to the tyrosine decarboxylation operon in a putative acid resistance locus. *Microbiol*, 153, 2221-2230.
- Lukasova J, Cupakova S, Krizek M, Vacha F, Vorlova L (2003). The microbiology and shelf-life of carp fillets stored in different conditions. *Folia Vet*, 47, 74-79.
- Lunda R, Linhartova Z, Masilko J, Dvorak P, Mozina SS, Mraz J (2016). Effect of different types of descaling methods on shelf life of air/vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio* L.) fillets under refrigerated storage conditions. *Aquacult Int*, 24, 1555-1568.
- Mackie IM, Pirie L, Ritchie AH, Yamanaka H (1997). The formation of non-volatile amines in relation to concentrations of free basic amino acids during postmortem storage of the muscle of scallop (*Pecten maximus*), herring (*Clupea harengus*) and mackerel (*Scomber scombrus*). *Food Chem*, 60, 3, 291-295.
- Mah JH, Hwang HJ (2009). Effects of food additives on biogenic amine formation in Myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (*Engraulis japonicus*). *Food Chem*, 114, 1, 168-173.
- Mahmoudzadeh M, Motallebi AA, Hosseini H, Haratian P, Ahmadi H, Mohammadi M, Khaksar R (2010). Quality assessment of fish burgers from deep flounder (*Pseudorhombus elevatus*) and brushtooth lizardfish (*Saurida undosquamis*) during storage at -18 °C. *Iranian J Fisheries Sci*, 9, 1, 111-126.
- Maijala RL (1994). Histamine and tyramine production by a *Lactobacillus* strain subjected to external pH decrease. *J Food Protect*, 57, 3, 259-262.
- Maijala RL, Eerola S, Lievonon S, Hill P, Hirvi T (1995a). Formation of biogenic amines during ripening of dry sausages as affected by starter culture and thawing time of raw materials. *J Food Sci*, 60, 6, 1187-1190.
- Maijala RL, Eerola SH (1993). Contaminant Lactic Acid Bacteria of dry sausages produce histamine and tyramine. *Meat Sci*, 35, 387-395.
- Maijala RL, Eerola SH, Aho MA, Hirn JA (1993) The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J Food Protect*, 56, 2, 125-129.
- Maijala RL, Nurmi E, Fischer A (1995b). Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages. *Meat Sci*, 39,1, 9-22.
- Maintz L, Novak N (2007). Histamine and histamine intolerance. *American J Clin Nutrit*, 85, 5,1185-1196.
- Majumdar RK, Deb S, Dhar B, Priyadarshini BM (2013). Chemical changes in washed mince of silver carp (*hypophthalmichthys molitrix*) during frozen storage at -20 °C with or without cryoprotectants. *J Food Proces and Preser*, 37, 952-961.
- Malle P, Poumeyrol M (1989). A new chemical criterion for the quality of fish: dimethylamin/total volatile basic nitrogen. *J Food Protec*, 52, 6, 419-423.
- Mandrell RE, Gorski L, Brandl MT (2006). In: Microbiology of fresh fruits and vegetables (Eds. Sapers GM, Gorney JR, and Yousef AE). New York: *Taylor and Francis Group*, 33-73.

- Manju S, Jose L, Srinivasa Gopal TK, Ravishankar CN, Lalitha KV (2007). Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Food Chem*, 102, 27-35.
- Manthey M, Karnop G, Rehbein H (1988). Quality changes of European Catfish (*Silurus glanis*) from warmwater aquaculture during storage on ice. *Int J Food Sci Tech*, 23, 1-9.
- Marcobal A, de las Rivas B, Munoz R (2006). First genetic characterization of a bacterial  $\beta$ -phenylethylamine biosynthetic enzyme in *Enterococcus faecium* RM58. *FEMS Microbiol Lett*, 258, 144-149.
- Marine-Font A (1978). Alimentos y medicamentos: Interacciones (3a parte). *Circ Farm*, 258, 43-45.
- Marrakchi A, Benneur M, Bouchriti N, Hamema A, Tegafait H (1990). Sensory, chemical and microbiological assessments of moroccan sardines (*Sardine pilchardus*) stored in ice. *J Food Proctect*, 53, 7, 600-605.
- Martin RE, Rodney JH, Pierson MD (1978). Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. *Food Techn*, 188-192.
- Masson F, Lebert A, Talon R, Montel MC (1997). Effect of physico-chemical factors influencing tyramine production by carnobacterium divergens, *J Applied Microbio*, 83, 36-42.
- Mazorra-Manzano MA, Pacheco-Aguilar R, Diaz-Rojas EI, Lugo-Sanchez ME (2000). Postmortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. *J Food Sci*, 65, 774-779.
- Mbarki R, Miloud NB, Selmi S, Dhib S, Sadok S (2009). Effect of vacuum packaging and low-dose irradiation on the microbial, chemical and sensory characteristics of chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Food Microbiol*, 26, 8, 821-826.
- Middlebrooks BL, Toom PM, Donglas WL, Harrison RE, McDowell S (1988). Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*). *J Food Sci*, 53, 4, 1024-1029.
- Mietz JL, Karmas E (1977). Chemical index of canned tuna determined by high-pressure liquid chromatography. *J Food Sci*, 42, 155-158.
- Milijasevic MP, Babic JA, Vranic DV, Borovic BR, Moracanin SMV (2016). Quality attributes of chilled vacuum-packaged cold-smoked common carp (*Cyprinus carpio*) and cold-smoked bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) fillets. *Acta Vet Brno*, 85, 195-203.
- Miller-Fleming L, Olin-Sandoval V, Campbell K, Ralser M (2015). Remaining mysteries of molecular biology: The role of polyamines in the cell. *J Mol Biol*, 427, 3389-3406.
- Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F (2011). Polyamines in aging and disease. *Impact J Aging (Albany NY)*. Aug, 3, 8, 716-732.
- Miyazaki JH, Yang SF (1987). The methionine salvage pathway in relation to ethylene and polyamine biosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 69, 366-370.

- Mohan CO, Ravishankar CN, Srinivasa Gopal TK, Ashok Kumar K, Lalitha KV (2009). Biogenic amines formation in seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks packed with O<sub>2</sub> scavenger during chilled storage. *Food Res Int*, 42, 411-416.
- Mol S, Özden Ö, Erkan N, Baygar T (2004). The determination of the quality parameters of imported mackerels under different thawing conditions. *Turkish J Vet An Sci*, 28, 1071-1077.
- Moral-Rama A (1987). Physical and chemical methods for quality control in fish. *Alimentación: Equipos Y Tecnología*, 3, 115-122.
- Moreno-Arribas MV, Lonvaud-Funel A (2001). Purification and characterization of tyrosine decarboxylase of *Lactobacillus brevis*. *FEMS Microbiol Lett*, 195, 103-107.
- Moreno-Arribas MV, Polo MC (2008). Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines. *Food Microbiol*, 25, 875-81.
- Moret S, Smela D, Populin T, Conte LS (2005). A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. *Food Chem*, 89, 355-361.
- Nah SL, Chau CF (2010). Issues and challenges in defeating world hunger. *Trends in Food Sci and Tech*, 21, 544-557.
- Naila A, Flint S, Fletcher GC, Bremer BJ, Meerdink G, Morton RH (2012). Prediction of the amount and rate of histamine degradation by diamine oxidase (DAO). *Food Chem*, 135, 2650-2660.
- Naila A, Flint S, Fletcher GC, Bremer P, Meerdink G (2010). Control of biogenic amines in food-existing and emerging approaches. *J Food Sci*, Sep, 75, 7, 139-150.
- Nakagava T, Fujimoto Y, Uchino M, Miyaji M, Takano T, Tomizu N (2002). Isolation and characterization of psychrophiles producing cold-active beta-galactosidase. *Lett Appl Microbiol*, 37, 154-157.
- Nehir El S (2016). Gıda Bileşenlerinin Beslenme Açısından Önemi. *Beslenme Ders Notu*, Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir.
- Neumann D, Schneider EH, Seifert R (2014). Analysis of histamine receptor knockout mice in models of inflammation. *The J Pharma and Exper Therapeutic*, 348, 2-11.
- Norday A (2001). Fish Consumption and Cardiovascular Disease. *Eur Heart J Supplement*, 3, Suppl D, 4-7.
- Ocano-Higuera VM, Maeda-Martinez AN, Marquez-Rios E, Canizales-Rodriguez DF, Castillo-Yanez FJ, Ruiz-Bustos E, Plascencia-Jatomea M (2011). Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chem*, 125, 49-54.
- Ocano-Higuera VM, Marquez-Rios E, Canizales-Davila M, Castillo-Yanez FJ, Pacheco-Aguilar R, Lugo-Sanchez ME, Garcia-Orozco KD, Graciano-Verdugo AZ (2009). Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chem*, Oct, 116, 933-938.
- Ochrem AS, Zapletal P, Maj D, Gil Z, Buczek JZ (2014). Changes in physical and dielectrical properties of carp meat (*Cyprinus carpio*) during cold storage. *J Food Process Engin*, 37, 177-184.

- Oehlenschlager J (1989). Die gehalte an flüchtigen aminen und trimethylaminoxid in fangfrischen rotbarschen aus verschiedenen fanggebieten des nordatlantiks. *Arch. Lebensmittelhyg*, 40, 55-58.
- Oğuzhan P, Yangılar F (2014). Su ürünlerinin hazır yemek teknolojisindeki yeri ve önemi. *Fen Bil Ens Derg*, 7, 1, 65-76.
- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem*, 120, 193-198.
- Okuzumi M, Fukumoto I, Fujii T (1990). Changes in bacterial flora and polyamines contents during the storage of horse mackerel meat. *Bullet Japanese Soc Sci Fish*, 56, 8, 1307-1312.
- Olafsdottir G, Lauzon HL, Martinsdottir E, Kristbergsson K (2006). Evaluation of shelf-life of superchilled cod (*Gadus morhua*) fillets and influence of temperature fluctuations on microbial and chemical quality indicators. *J Food Sci*, 71, 2, 97-109.
- Olajos I (2015). Implementation and verification of an analytical method for the quantification of biogenic amines in seafood products. University of Iceland. Faculty of Food Science and Nutrition, School of Health Sciences, *Master thesis*.
- Orban E, Navigato T, Di Lena G, Masci M, Casini I, Caproni R, Rampacci M (2011). Total volatile basic nitrogen and trimethylamine nitrogen levels during ice storage of European hake (*Merluccius merluccius*): A seasonal and size differentiation. *Food Chem*, 128, 679-682.
- Ortolani C, Pastorello EA (2006). Food allergies and food intolerances. *Best Practice Res Clin Gastroenterolo*, 20, 3, 467-483.
- Öğretmen ÖY, Öğretmen N (2010). Su ürünleri işleme teknolojileri ve örnek bir su ürünleri işleme tesisine ait dondurulmuş hamsi iş akışı. 1. *Ulusal Hamsi Çalıştayı: Sürdürülebilir Balıkçılık-17-18 Haziran 2010*, Trabzon-Türkiye.
- Öksüztepe G, Şahan Güran H, Emir Çoban Ö (2011). Elazığ'da tüketime sunulan gökkuşağı alabalıklarının (*oncorhynchus mykiss walbaum*, 1792) mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *New World Sci Aca*, 6, 1.
- Ökten, B (2007). İthal Edilen Ton Balıklarının Histamin, Ağır Metal İçerikleri ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Trakya Üniversitesi, Fen Bil Enst*, Yüksek Lisans Tezi.
- Ölmez HK (2000). Biyojen Aminler. Dünya Yayınları. *Gıda Derg*, 6, 5, 51-57.
- Önal A (2007). Review: Current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chem*, 103, 1475-1486.
- Önal A, Tekkeli ŞEK, Önal C (2013). A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chem*, 138, 509-515.
- Özdamar K (2010). SPSS ile Biyoistatistik. *Kaan Kitabevi*, 8. Baskı. Eskişehir, ISBN: 9756787076.
- Özden Ö, Gökoğlu N (1996). Soğukta saklanan sardalya balığının *Sardina pilchardus* (w. 1792) raf ömrünün belirlenmesi. *Gıda Tekn*, 1, 6, 37-42.



- Özdehan Ö, Üren A (2012). Gıdalarda biyojen aminlerle ilgili yasal düzenlemeler. *Gıda ve Yem Bil Tekn Derg*, 12, 27-40.
- Özoğul F (2001). The effect packaging systems on quality and safety of herring. *PhD dissertation*. Lincoln, U.K: Univ of Lincoln.
- Özoğul F, A Polat, Y Özoğul (2004a). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem*, 85, 49-57.
- Özoğul F, Küley E, Özoğul Y (2004b). Balık ve balık ürünlerinde oluşan biyojen aminler. *EÜ Su Ürünleri Derg*, 21, 3-4, 375-381.
- Özoğul F, Özoğul Y (2006). Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging. *Food Chem*, 99, 574-578.
- Özoğul F, Taylor KDA, Quantick P, Özoğul Y (2002a). Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int J Food Sci Technol*, 37, 5, 515-528.
- Özoğul F, Taylor KDA, Quantick P, Özoğul Y (2002b). Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. *J Food Sci*, 67, 2497-2501.
- Özoğul Y (2010). Methods for freshness quality and deterioration. In *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis* (Nollet LML and Toldra F, eds.), Taylor & Francis Group, Boca Raton, 190-214.
- Özyurt G, Kuley E, Özkütük S, Özoğul F (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chem*, 114, 505-510.
- Paleologos EK, Savvaidis IN, Kontominas MG (2004). Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in iced stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiol*, 21, 549-557.
- Pamuk Ş, Gürler Z, Yildirim Y, Sırken B (2011). Detection of microbiological quality of common carp (*Cyprinus carpio*) sold in public bazaar in Afyonkarahisar. *J Anim and Vet Advan*, 10, 8, 1012-1018.
- Park JS, Lee CH, Kwon EY, Lee HJ, Kim JY, Kim SH (2010). Monitoring the contents of biogenic amines in fish and fish products consumed in Korea. *Food Cont*, 21, 9, 1219-1226.
- Patır B, Dinçoğlu AH, İnanlı AG (2002). Keban Baraj Gölü tatlı su istakozlarının (*Astacus leptodactylus*) mikrobiyolojik kalitesi ile mikrobiyal florası üzerine araştırmalar. *EÜ Su Ü Derg*, 19, 19-28.
- Patır B, İnanlı AG (2005). Microbiological quality and TMA-N levels of fresh horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*, S. 1868) marketed in Elazığ. *FÜ Fen ve Müh Bil Derg*, 17, 360-369.
- Patterson MF (2005). A review: Microbiology of pressure-treated foods. *J Appl Microbiol*, 98, 6, 1400-1409.

- Paulus K, Zacharias R, Robinson L, Geidel H (1979). Kritischebetrachtungen zur "bewertenden prüfung mit skale als einewesentlichen verfahren der sensorischen analyse. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 12, 1, 52-61.
- Pavlov A, Dimitrov D, Penchev G, Georgiev L (2008). Structural changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fish meat during freezing. *Bulg J Vet Med*, 11, 2, 131-136.
- Pedraso-Menabrito A, Regenstein JM (1990). Shelf life extension of fresh fish - A review. Part III - Fish quality and methods of assessment. *J Food Qual*, 13, 209-223.
- Pekşen E, Artık C (2005). Antibesinsel maddeler ve yemeklik tane baklagillerin besleyici değerleri. *OMÜ Zir Fak Derg*, 20, 2, 110-120.
- Petaja E, Eerola S, Petaja P (2000). Biogenic amines in cold-smoked fish fermented with lactic acid bacteria. *Eur Food Re Technol*, 210, 4, 280-285.
- Pichhardt K (1993). *Lebensmittelmikrobiologie, 3. Auflage parey*, Springer Verlag, Berlin.
- Pigott GM, Tucker BW (1990). Seafood effects of technology on nutrition. *Marcel Dekker, Inc*, New York.
- Pitt JI, Hocking AD (1977). Fungi and Food Spoilage. *2nd Edition, Blackie Academic & Professional*, London, United Kingdom.
- Popelka P, Jevinova P, Marcincak S (2016). Microbiological and chemical quality of fresh and frozen whole trout and trout fillets. *Potravinarstvo*, 10, 1, 431-436.
- Popovic NT, Skukan AB, Dzidara P, Coz-Rakovac R, Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M, Brlek-Gorski D (2010). Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina*, 55, 5, 233-241.
- Prester L (2011). Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: A review. *Food Addit Contam*, A28, 1547-1560.
- Prester L, Macan J, Varnai VM, Orct T, Vukusic J, Kipic D (2009). Endotoxin and biogenic amine levels in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*), sardine (*Sardina pilchardus*) and Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) stored at 22 degrees C. *Food Addit Contam-Part A Chem, Anal, Control, Expo Risk Assess*, 26, 3, 355-362.
- Proestos C, Loukatos P, Komaitis M (2008). Determination of biogenic amines in wines by hplc with precolumn dansylation and fluorimetric detection. *Food Chem*, 106, 3, 1218-1224.
- Pullin RSV (1986). Woldwide Status Of Carp Culture. In: *Aquaculture Of Cyprinids*, Eds. By R. *Buillard and J Marcel*, 21-34.
- Rawat S (2015). Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Asian J Plant Sci Re*, 5, 4, 47-56.
- Rawles DD, Flick GJ (1996). Biogenic amines in fish and shellfish. *Adv Food Nutrit Res*, 39, 329-365.
- Regenstein JM, Schlosser MA, Samson A, Fey M (1982). Chemical Changes of Trimethylamine Oxide During Fresh and Frozen Storage of Fish . *Chemistry and Biocemistry of Marine Food Products*; ed, Martin RE, Flick GJ, Ward DR, *AVI Publishing Com*, Westport, Connecticut, 137-145.

- Rehbein H, Oehlenschläger J (2009). Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity. *A John Wiley & Sons Ltd. Publication*, 19-20.
- Reilly A (2006). Managing Microbiological Risk in the Fish Processing Chain. *In: FAO-EUROFISH Workshop on Seafood Safety*, Copenhagen, 13-15 December 2006.
- Rezaei M, Jafari H, Sahari MA, Hosseini H, Montazeri N, Parviz M, Nazarinia A (2007). Relation of biogenic amines and bacterial changes in ice-stored southern caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*). *J Food Biochem*, 31, 4, 541-550.
- Rice SL, Eitenmiller RR, Kohler PE (1976). Biologically active amines in food. A review. *J Milk Food Techn*, 39, 5, 353-358.
- Ritchie AH, Mackie IM (1980). The formation of diamines and polyamines during the storage of mackerel (*Scomber scombrus*). *In: Connell JJ, ed. Advances in fish science and technology*. Farnham, UK: Fishing News (Books) Ltd, 489-494.
- Rivas B, Gonzalez R, Landete JM, Munoz R (2008). Characterization of a second ornithine decarboxylase isolated from *Morganella morganii*. *J Food Prot*, 71, 3, 657-661.
- Rodriguez MBR, Carneiro CS, Feijo MBS, Junior CAC, Mano SB (2014). Bioactive Amines: Aspects of quality and safety in food. *Food and Nutrition Sci*, 5, 138-146.
- Rodriguez-Jerez JJ, Mora-Ventura MT, Lopez-Sabater EI, Hernandez-Herrero M (1994). Histidine, lysine and ornithine decarboxylase bacteria in spanish salted semi-preserved anchovies. *J Food Prod*, 57, 9, 784-791.
- Rogers PL, Staruszkiewicz WF (2000). Histamine test kit comparison. *J Aquatic Food Product Techn*, 9, 2, 5-17.
- Rokka M, Eerola MS, Smolander M, Alakomi HL, Ahvenainen R (2004). Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. B. biogenic amines as quality-indicating metabolites. *Food Control*, 15, 8, 601-607.
- Rong C, Chang-hu X, Qi L, Bang-zhong Y (2009). Microbiological, chemical and sensory assessment of (I) whole ungutted, (II) whole gutted and (III) filleted tilapia (*Oreochromis niloticus*) during refrigerated storage. *Int J Food Sci and Techn*, 44, 2243-2248.
- Ruiz-Capillas C, Jimenez-Colmenero F (2004). Biogenic amines in meat and meat products. *Crit Rev in Food Sci and Nut*, 44, 489-499.
- Ruiz-Capillas C, Moral A (2001). Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L.) stored in ice. *J Food Sci*, 66, 1030-1032.
- Ruiz-Capillas C, Moral A (2002). Effect of controlled and modified atmospheres on the production of biogenic amines and free amino acids during storage of hake. *Eur Food Res Technol*, 214, 476-481.
- Ruiz-Capillas C, Moral A (2005). Sensory and biochemical aspects of quality of whole big eye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chem*, 89, 347-354.

- Ryder JM, Fletcher GC, Stec MG, Seelye RJ (1993). Sensory, microbiological and chemical changes in hoki stored in ice. *Int J Food Sci and Techn*, 28, 169-180.
- Saaïd M, Saad B, Hashim NH, Ali ASM, Saleh MI (2009). Determination of biogenic amines in selected Malaysian food. *Food Chem*, 113, 4, 1356-1362.
- Sadok S, Uglow R, Haswell SJ (1996). Determination of trimethylamine in fish by flow injection analysis. *Anal Chim Acta*, 321, 69-74.
- Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010 (2014). Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu. *Sağlık Bakanlığı Yayın No: 931*.
- Sargent JR, Toche DR, Bell JG (2002). The Lipids. In: Halver JE and Hardy RW (Eds.), *Fish Nutrition, 3rd ed, Academic Press, San Diego*, 182-257.
- Scherer R, Augusti PR, Bochi VC, Steffens C, Fries LLM, Daniel AP, Kubota EH, Neto JR, Emanuelli T (2006). Chemical and microbiological quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slaughtered by different methods. *Food Chem*, 99, 136-142.
- Schirmer BC, Heiberg R, Eie T, Moretro T, Maugesten T, Carlehog M, Langsrud S (2009). A novel packaging method with a dissolving CO<sub>2</sub> headspace combined with organic acids prolongs the shelf life of fresh salmon. *Int J Food Microbiol*, 133, 1-2, 154-160.
- Schleifer KH, Kilpper-Balz R (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. Nov. *Int J Systematic and Evolutionary Microbio*, 34, 1, 31-34.
- Schulze K, Reuse V, Tilljack J (1979). Lebensmittelvergiftung durch Histamin nach Genuss von Ölsardinen. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. 30, 56-59.
- Sen DP (2005). Advances in Fish Processing Technology. *Allied Publishers Pvt Ltd, New Delhi*, 1. Ed, 818.
- Serdaroğlu M, Deniz EE (2001). Balıklarda ve bazı su ürünlerinde trimetilamin (tma) ve dimetilamin (dma) oluşumunu etkileyen koşullar. *EÜ J Fisheries & Aquatic Sci*, 18, 3-4, 575-581.
- Serrar D, Brebant R, Bruneau S, Denayel GA (1995). The development of amonoclonal antibody-based ELISA for the determination of histamine in food: Application to fishery products and comparison with the HPLC assay. *Food Chem*, 54, 85-91.
- Sewell RA, Halpern JH, Pope HG Jr (2006). Response of cluster headache to psilocybin and LSD. *Neurology*, 66, 1920-1922.
- Shahidi F, Durnford E (1998). Flavor of fish meat. In Shahidi F ed, Flavor of meat, meat products and seafoods. *Blackie Academic & Professional, London*, 131-152.
- Shalaby AR (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research Int*, 29, 7, 675-690.

- Shalini R, Jasmine GI, Shanmugam SA, Ramkumar K (2001). Effect of potassium sorbate dip-treatment in vacuum packaged *Lethrinus lentjan* fillets under refrigerated storage. *J Food Sci Technol (India)*, 38, 12-6.
- Shannon HE, Cone EJ, Yousefnejad D (1982). Physiologic effects and plasma kinetics of  $\beta$ -phenylethylamine and its N-methyl homolog in the dog. *J Pharmacol Exp Ther*, 223, 190-196.
- Shewan JM (1961). The microbiology of sea-water fish in Borgstrom G, ed, Fish as Food, vol. 1, *Academic Press, Inc*, Orlando, Florida.
- Shewan JM (1971). The microbiology of fish and fishery products. *J Applied Bacteriol*, 34, 299-315.
- Shewan JM (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and biochemical changes induced by bacterial action in Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish, *Tropical Products Institute*, London, 51-66.
- Shi C, Cui J, Lu H, Shenb H, Luo Y (2012). Changes in biogenic amines of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets stored at different temperatures and their relation to total volatile base nitrogen, microbiological and sensory score. *J Sci Food Agric*, 92, 3079-3084.
- Siddaiah D, Vidya Sagar Reddy G, Raju CV, Chandrasekhar TC (2001). Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Res Int*, 34, 47-53.
- Sikorski ZE (2004). Wskazniki swiezosci ryb-W: Ryby i bezkregowce morskie. Warszawa. *Wydawnictwa Naukowo-Techniczne*, 124-136.
- Sikorski ZE, Kolakowska A (2003). Chemical and Functional Properties of Food Lipids, *CRS Press*, 1-60.
- Sikorski ZE, Kolakowska A, Burt JR (1990). Postharvest biochemical and microbial changes. Seafood: reseorces, nutritional composition and preservation. Boca Raton, Florida, *CRC Pres*.
- Silla Santos MH (1996). Biogenic amines: Their importance in foods. *Int J Food Microbiol*, 29, 213-231.
- Silva ML, Matte GR, Germano PML, Matte MH (2009). Occurrence of pathogenic microorganisms in fish sold in Sao Paulo, Brazil. *J Food Saf*, 30, 1, 94-110.
- Silva TM, Sabaini PS, EvangelistaWP, Gloria MBA (2011). Occurrence of histamine in Brazilian fresh and canned tuna. *Food Cont*, 22, 2, 323-327.
- Silva VLM, Lazaro de La Torre CA, Marsico ET, Mano SB, Conte-Junior CA (2013). Aminos biogenicas como indicadores de qualidade de salames e produtos carneos fermentados. *Enciclopedia Biosfera*, 9, 69-84.
- Simat V, Dalgaard P (2011). Use of small diameter column particles to enhance HPLC determination of histamine and other biogenic amines in seafood. *Food Sci and Techn*, 44, 399-406.
- Simopoulos PA, Leaf A, Salem N (1999). Workshop on the essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 8, 4, 300-301.

- Sims GG, Farn G, York RK (1992). Quality indices for canned skipjack tuna: Correlation of sensory attributes with chemical indices. *J Food Sci*, 57, 1112-1115.
- Sinell HJ (1978). Biogene amino als risikofaktoren in der fischhygiene. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. 29, 206-210.
- Slorach SA (1991). Histamine in food. In handbook of Experimental Pharmacology, ed by Uvnas B, *Springer*, Berlin, 511-519.
- Smith TA (1977). Phenethylamine and related compounds in plants. *Phytochemistry*. 16, 9-18.
- Smith TA (1980). Amines in food. *Food Chem*, 6, 169-200.
- Song Y, Liu L, Shen H, You J, Luo Y (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Cont*, 22, 608-615.
- Sousa JA, Silva-Souza AT (2001). Bacterial community associated with fish and water from Congonhas River, Sertaneja, Parana, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Techn*, 44, 4, 373-381.
- Soyer A (1999). Balıkta avlanma sonrası meydana gelen biyokimyasal değişimler. *Gıda I*, 33-39.
- Spanjer MC, Van Roode BASW (1991). Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese and sauerkraut. *De Ware (n)-Chem*, 21, 139-167.
- Spicka J, Kalac P, Bover-Cid S, Krizek M (2002). Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut. *Eur Food Res Technol*, 215, 6, 515-9.
- Stamatis N, Arkoudelos J (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*, 18, 292-300.
- Stammen K, Gerdes D, Caporos, F (1990). Modified atmosphere packaging of seafood. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, 29, 301-331.
- Stoll AL (1999). Omega-3 fatty acids in bipolar disorder, *Archives of General Psychiatry*, 56, 407-412.
- Stratton JE, Hutkins WR, Taylor SL (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods: A review. *J Food Protect*, 54, 6, 460-470.
- Su Ürünleri Yönetmeliği (2008). 10.03.1995 Resmi Gazete Sayısı: 22223, Değişik: RG-21/09/2008-27004).
- Sumner SS, Roche F, Taylor SL (1990). Histamine formation by enterococci in goat cheese. *Int J Food Microbiol*, 11, 225-230.
- Sumner SS, Taylor SL (1989). Detection method for histamine producing, dairy related bacteria using diamine oxidase leucocrystal violet. *J Food Protect*, 52, 2, 105-108.
- Suzuki H, Okazaki K, Hayakawa S, Wada S, Tamura S (1986). Influence of commercial dietary fatty acids on PUFA of cultured freshwater fish and comparison with those of wild fish of the same species, *J Agric Food Chem*, 34, 58-60.

- Suzzi G, Gardini F. (2003). Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. *Int J Food Microbiol*, 88, 1, 41-54.
- Sverstsvik M, Jeksrud WK, Rosnes MJT (2002). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products significance of microbial growth, activities and safety. *Int J Food Sci Tech*, 37, 107-127
- Şengör GF, Çelik U, Akkuş S (2000). Determinations of freshness and chemical composition of scad (*Trachurus trachurus*, L, 1758) stored in refrigerator. *Turkish J Vet Anim Sci*, 24, 3, 187-193.
- Tapingkae W, Tanasupawat S, Parkin KL, Benjakul S, Visessanguan W (2010). Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high salt-fermented fishery products. *Enzyme Microbial Technol*, 46, 2, 92-99.
- Tatar O (1995). Balığın gıda değeri ve su ürünleri açısından önemi. *Su Ürünleri Derg*, 12, 1-2, 169-170.
- Taylor SL (1985). Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. Report VPH/FOS/85.1. *WHO pres*, 1-48.
- Taylor SL (1986). Histamine Food Poisoning: Toxicology and clinical aspects. *CRC Crit Rev Toxicol*, 17, 91-117.
- Taylor SL, Guthertz LS, Leatherwood M, Lieber ER (1979). Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid fish poisoning. *App Envir Microbiol*, 37, 2, 274-278.
- Taylor SL, Lieber ER, Leatherwood M (1978). A simplified method for histamine analysis of food. *J Food Sci*, 43, 247-250.
- Temiz A (2003). Gıdalarda Mikrobiyolojik Gelişmeyi Etkileyen Faktörler. Bölüm 1, "Gıda Mikrobiyolojisi. Editör: Ünlütürk A, Turantaş F, 3. Baskı, *Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri*, İzmir.
- ten Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huis in't Veld JHJ (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbio*, 11, 11, 73-84.
- Thailambal AS (2007). Effect of processing on bacterial population of cattle fish and crab determination of bacterial spoilage and rancidity developing on frozen storage. *J Food Proces and Preser*, 31, 13-31.
- Thebault MT, Izem L, Leroy JP, Gobi, E, Charrier G, Raffin JP (2005). AMPdeaminase in elasmobranch fish: A comparative histochemical and enzymatic study. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: *Biochem and Mol Bio*, 141, 4, 472-479.
- Tipton KF, Boyce S, O'sullivan J, Davey GP, Healy J (2004). Monoamine oxidases: Certainties and uncertainties. *Curr Med Chem*, 11, 1965-1982.
- Tittarelli R, Mannocchi G, Pantano F, Saverio RF (2015). Recreational use, analysis and toxicity of tryptamines. *Current Neuropharmacology*, 13, 26-46.
- Tokur B, Özkütük S, Atıcı E, Özyurt G, Özyurt CE (2006). Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18 °C). *Food Chem*, 99, 335-341.

- Tolstorebrov I, Eikevik TM, Bantle M (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *Int J Refriger*, 63, 37-47.
- Tsironi T, Salapa I, Taoukis P (2009). Shelf life modelling of osmotically treated chilled gilthead seabream fillets. *Innov Food Sci and Emerging Techno*, 10, 23-31.
- Turan H, Kaya Y, Sönmez G (2006). Balık etinin besin değeri ve insan sağlığındaki yeri. *EÜ Su Ürünleri Derg*, 23, 1-3, 505-508.
- Turantaş F, Öksüz A (1998). Balık ve balık ürünlerinde biyojen aminler ve amin üretiminde rol oynayan bakteriler. *Gıda Teknol*, 3, 5, 58-65.
- Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (2011). 29 Aralık 2011/ Resmî Gazete Sayısı: 28157.
- Ünlütürk A (1998). Mikrobiyal Gelişmenin İnhibisyonu. Ünlütürk A, Turantaş F, ed, Gıda Mikrobiyolojisi. *Mengi Tan Basımevi*, İzmir, 173-228.
- Ünlütürk A, Turantaş F (1999). Gıda Mikrobiyolojisi. *Mengi Tan Basımevi*, Çınarlı, İzmir, 53.
- Ünlütürk A, Turantaş F (2003). Gıda Mikrobiyolojisi. *Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri*, İzmir.
- Varlık C, Gün H, Gökoğlu N (1992). Ton konservelerinde histamin düzeylerinin belirlenmesi. *Gıda*, 17, 4, 239-245.
- Varlık C, Uğur M, Gökoğlu N, Gün H (1993). Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri. *Gıda Tek Derg*, 17, İstanbul, 174.
- Varlık H, Berker A (2001). Gıda intoksikasyonlarında histamin ve tiraminin önemi. *J Fac Vet Med*, 20, 97-102.
- Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC (1997a). Biogenic amines in fresh and canned tuna. Effects of canning on biogenic amine contents. *J Agric Food Chem*, 45, 4324-4328.
- Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC (1997b). Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptik changes. *J Agric Food Chem*, 45, 2036-2041.
- Veciana-Nogues MT, Vidal Carou MC, Marina-Font A (1989). Histamine and tyramine in preserved and semi-preserved fish products. *J Food Sci*, 54, 6, 1653-1655.
- Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou M, Marine-font A (1990). Histamine and tyramine during storage and spoilage of anchovies, *Engraulis encrasicolus*: Relationships with other fish spoilage indicators, *J Food Sci*, 55, 1192-1193.
- Venugopal V (1990). Extra cellular proteases of contaminant bacteria in fish spoilage: A review. *J Food Prot*, 53, 341-50.
- Vidal-Carou MC, Lahoz-Portoles F, Bover-Cid S, Marine-font A (2003). Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatographic determination of biogenic amines and polyamines in wine and other alcoholic beverages. *J Chromatography A*, 998, 1-2, 235-241.



- Vidal-Carou MC, Latorre-Moratalla ML, Bover-Cid S, Veciana-Nogues MT (2009). Thin-Layer chromatography for the identification and semi-quantification of biogenic amines produced by bacteria. *J Chromatography A*, 1216, 18, 4128-4132.
- Vidal-Carou MC, Veciana-Nogues MT, Marine Font A (1990). Spectrofluorometric determination of histamine in fish and meat products, *J Assos Off and Chem*, 71, 4, 565-567.
- Vinci G, Antonelli ML (2002). Biogenic amines: Quality index of freshness in red and white meat. *Food Cont*, 13, 519-524.
- Wallace BJ, Guzewich JJ, Cambridge M, Altekruze S, Morse DL (1999). Seafood-associated disease outbreaks in New York, 1980–1994. *Am J Prev Med*, 17, 48-54.
- Wang H, Liceaga-Gesualdo AM, Li-Chan ECY (2003). Biochemical and physico-chemical characteristics of muscle and natural actomyosin isolated from young Atlantic salmon (*Salmo salar*) filets stored at 0 and 4 °C. *J Food Sci*, 68, 784-789.
- Wang H, Luo Y, Huang H, Xu Q (2014). Microbiological succession of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) filets during storage at 4 °C and its contribution to biogenic amines formation. *Int J Food Microbiol*, 190, 66-71.
- Ward DR, Baj NJ (1988). Factors affecting microbiological quality of seafoods. *Food Techn*, 42, 85-9.
- Watanabe E, Tamada Y, Hamada-Sato N (2005). Development of quality evaluation sensor for fish freshness control based on  $K_I$  value. *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 3, 534-538.
- Wei CI, Chen CM, Koburger JA, Otwell WS, Marshall MR (1990). Bacterial growth and histamine production on vacuum packaged tuna. *J Food Sci*, 47, 1386-1387.
- Weissbach H, King W, Sjoersdsma A, Udenfriend S (1959). Formation of indole-3-acetic acid and tryptamine in animals. *J Biol Chem*, 234, 81-86.
- Wendakoon CN, Murata M, Sakaguchi M (1990). Comparison of nonvolatile amine formation between the dark and white muscle of mackerel during storage. *Nippon Suis Gakk*, 56, 5, 809-818.
- Wendakoon CN, Sakaguchi M (1992). Effect of spices on growth of and biogenic amine formation by bacteria in fish muscle. In *Quality Assurance in the Fish Industry*, 305-313.
- Wheaton, FW, Lawsont B (1985). Processing Aquatic Food Products. A *Wiley-Interscience Publication*. John Wiley & Sons, New York, 518.
- WHO (2003). Diet, Nutrition and The Prevention of Chronic Diseases. Report Of a WHO/FAO Expert Consultation, *WHO Technical Report Series*: 916, Geneva.
- Wollman H, Nilsson E, Antonin KH, Bieck PR (1985). Tryptamine kinetics in human volunteers. In: Boulton AA, Maitre L, Beick PR, Reiderer P, editors. *Neuropsychopharmacology of Trace Amines*. Humana Press, Clifton, NJ, 361-378.
- Wood CS, Ghannudi SA (1985). Study of a shallow carp (*Cyprinus carpius* L.) pond and its relevance to inland fish farming in Libyan. *Aquaculture*, 44, 125-131.

- Wurziger J, Dickhaut G (1978). Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamin in fischen und fischerzubereitungen. *Fleischwirtschaft*, 6, 989-994.
- Xu Y, Xia W, Kim JM (2009) Biogenic and volatile amines in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) stored at different temperatures. *Int J Food Sci Technol*, 44, 1547-1552.
- Yanar Y, Fenercioğlu H (1999). Sazan (*Cyprinus carpio*) etinin balık köftesi olarak değerlendirilmesi. *Turkey J Vet and Anim Sci*, 23, 361-365.
- Yang HY, Neff NH (1973).  $\beta$ -phenylethylamine: A specific substrate for type B monoamine oxidase of brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 187, 365-371.
- Yatsunami K, Echigo T (1993). Studies on halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria. III. Changes in the number of halotolerant histamine-forming bacteria and contents of non-volatile amines in sardine meat with addition of NaCl. *Bull Japanese Soc Sci Fish*, 59, 1, 123-127.
- Yatsunami K, Takenaka T, Echigo T (1994). Changes in the number of halotolerant histamine-forming bacteria and contents of non-volatile amines in meat during processing of fermented sardine with rice-bran. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41, 11, 840-843.
- Yayla M, Avşar ÜZ, Cansever Z (2014). Güvenirlilik ve kullanım açısından yeni nesil H1 reseptör blokerleri. *J Clin Anal Med*, 5, 3, 260-268.
- Yeğin S, Üren A (2008). Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*. 21-23 Mayıs. Erzurum.
- Yerlikaya P, Gökoğlu N (2002). Gıdalarda biyojen aminler ve önemi. *Gıda Müh Derg*, 6, 12, 24-30.
- Yeşilsu AF, Polat A (2013). Su ürünlerinin bozulmasında enzimlerin rolü. *Gıda Tekno Elekt Derg*, 8, 3, 10-21.
- Yetim H (1993). Biochemical and Structural Alterations of Restructured Fish Muscle as Influenced by Egg White, Tumbling and Storage Time. *PhD Dissertation*. The Ohio State Uni. Columbus, OH, 222.
- Yetim H (1996). Sorbik asit ve taze balık muhafazasında kullanım imkanları. *Gıda*, 21, 3, 205-213.
- Yıldız PO, Kırım B (2015). Balık ve balık ürünlerinde biyojen aminlerin varlığı. *ADÜ Zir Fak Derg*, 12, 1, 139-145.
- Yoshida A, Nakamura A (1982). Quantitation of histamine in fish and fish products by high performance liquid chromatography. *J Food Hyg Soc Jap*, 23, 4, 339-343.
- Yu D, Xu Y, Jiang Q, Yang F, Xia W (2016). Freshness assessment of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 °C by physicochemical, microbiological and sensorial evaluations. *J Food Safety*. DOI 10.1111/jfs. 12305.
- Zambuchini B, Fiorini D, Verdenelli MC, Orpianesi C, Ballini R (2008). Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *Food Sci and Tech*, 41, 1733-1738.

Zampeli E ve Tiligada E (2009). The role of histamine H<sub>4</sub> receptor in immune and inflammatory disorders. *Br J Pharmacol*, May, 157, 1, 24-33.

Zhang L, Li X, Lu W, Shen H, Luo Y (2011). Quality predictive models of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) at different temperatures during storage. *Food Control*, 22, 8, 1197-1202.

Zhang Y, Qin N, Luo Y, Shen H (2015a). Changes in biogenic amines and ATP related compounds and their relation to other quality changes in common carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*) stored at 20 and 0 °C. *J Food Protec*, 78, 9, 1699-1707.

Zhang Y, Li Q, Li D, Liu X, Luo Y (2015b). Changes in the microbial communities of air-packaged and vacuum-packaged common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4 °C. *Food Mic*, 52, December, 197-204.

Zhu S, Luo Y, Hong H, Feng L, Shen H (2012). Correlation between electrical conductivity of the gutted fish body and the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) heads stored at 0 and 3 °C. *Food Bioprocess Technol*, 11, 1-8.

Zucchi R, Chiellini G, Scanlan TS, Grandy DK (2006). Trace amine-associated receptors and their ligands. *Br J Pharmacol*, 149, 967-978.

## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Yozgat'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini aynı yerde tamamladı. 1993 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde lisans öğrenimine başladı ve 1998 yılında mezun oldu. 1999 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. 2002 yılında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na muvafakaten geçiş yaptı. 2008 yılından itibaren Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumunda Uzman olarak görev yapmaktadır. Evli olup iki kızı vardır.



## EKLER

### EK-I. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 13/10/2017-E.71325



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 27552122-604.01.02-E.71325  
Konu : Prof. Dr. Yakup Can SANCAK'a ait  
Onay Gerektirmeyen Belge

13/10/2017

Sayın Prof. Dr. Yakup Can SANCAK

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumun 28.09.2017 tarih ve 09 sayılı kararı gereğince; Yürütücülüğünü yapmış olduğumuz, "Dondurulmuş ve +4 °C'de Muhafaza Edilen Sazan Bahığında (*Cyprinus Carpio L.*, 1758) Biyojen Amin Oluşumu ve Mikrobiyolojik Değişimlerin Belirlenmesi" adlı çalışma ile ilgili, 15 Şubat 2014 tarih ve 28914 sayı ile yayınladığı yönetmeliğin 2. Maddesi 2. Fıkrasının b bendinde yer alan "Bu Yönetmelik; Deneysel olmayan klinik veteriner hekimliği uygulamalarını kapsamaz." hükmü gereğince YUHADYEK'ten Çalışma ve Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgeleri alınmasına gerek olmadığına karar verilmiştir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

**e-İmzalıdır**  
Prof. Dr. Semiha DEDE  
Etik Kurulu Başkanı

Ek: Prof. Dr. Yakup Can SANCAK (1 sayfa)

13/10/2017 B.İşl.



Mehmet Şah OĞUZ

Adres: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Zevce  
Kampüsü 65080 Tuşba / Van  
Telefon: +90 432 2251701-04 / +90 4445065 Faks: +90 432 4865413  
e-Posta: yuhadyek@yyu.edu.tr Elektronik Ağ: http://www.yyu.edu.tr

Ayrıntılı bilgi için iribat: Mehmet Şah OĞUZ  
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni  
Dahili No: 22007

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

## EK-II. Tez Orijinallik Raporu

<b>VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORIJİNALLİK RAPORU</b>	
<b>Tarih: 30/11/2017</b>	
Tez Başlığı / Konusu: Dondurulmuş ve 4 °C'de Muhafaza Edilen Sazan Balığında ( <i>Cyprinus Carpio L.</i> , 1758) Biyojen Amin Oluşumu ve Mikrobiyolojik Değişimlerin Belirlenmesi	
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 158 sayfalık kısmına ilişkin, 30/11/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 11 (onbir) dir. Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)	
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.	
Gereğini bilgilerinize arz ederim.	
Tarih ve İmza 30/11/2017 	
Adı Soyadı: Tuncer ÇAKMAK Öğrenci No: 2006-D-166 (5930220003) Anabilim Dalı: Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Programı: Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Statüsü: Y. Lisans <input type="checkbox"/> Doktora <input checked="" type="checkbox"/>	
<b>DANIŞMAN ONAYI</b> UYGUNDUR  Prof. Dr. Yakup Can SANCAK  (Unvan, Ad Soyad, İmza)	<b>ENSTİTÜ ONAYI</b> UYGUNDUR   (Unvan, Ad Soyad, İmza)