



Tarım Bilimleri Dergisi
Tar. Bil. Der.

Dergi web sayfası:
www.agri.ankara.edu.tr/dergi

Journal of Agricultural Sciences

Journal homepage:
www.agri.ankara.edu.tr/journal

Farklı Paketleme Yöntemlerinin Tirsi (*Alosa immaculata* Bennett, 1838) Marinatlarındaki Mikrobiyolojik ve Biyojenik Amin Değişimlerine Etkisi

Mehmet Emin ERDEM^a, Serkan KORAL^b, Sedef İŞİDAN^c

^aSinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, 57000, Sinop, TÜRKİYE

^bRecep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Rize, TÜRKİYE

^cGıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Sivas İl Müdürlüğü, 58000, Sivas, TÜRKİYE

ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Sorumlu Yazar: Mehmet Emin ERDEM, E-posta: eminerdem68@hotmail.com, Tel: +90 (368) 287 62 65

Geliş Tarihi: 12 Ocak 2015, Düzeltmelerin Gelişi: 08 Mart 2016, Kabul: 17 Mart 2016

ÖZET

Bu çalışmada, marine edildikten sonra farklı şekillerde paketlenip 4±1 °C'de muhafaza edilen tirsisi (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838) filetolarında biyojenik aminlerin ve mikrobiyolojik değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Marine örneklerde mikrobiyolojik kriter olarak toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, maya-küf, koliform ve toplam histamin üreten bakteri sayıları ve türleri belirlenmiştir. Ayrıca bakterilerin moleküler ve biyokimyasal identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Depolama sonunda salamura, yağda ve vakum paketlenen marine tirsidede histamin miktarı sırasıyla 2.19, 2.09 ve 2.41 mg kg⁻¹, TAMB sayıları; 2.49, 2.75 ve 2.68 log kob g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Histamin üreten bakterilerden *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* tanımlanmıştır. Salamura ve yağda paketlenen marine tirsinin histamin ve mikrobiyolojik kriterler açısından 7 ay, vakum paketlenen marine tirsinin ise 6 ay 4±1 °C'de depolanabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tirsisi; Marinat; Mikrobiyoloji; Biyojen amin; Histamin

The Effect of Different Packaging Methods on Microbiological Quality Criteria and Changes in Biogenic Amines of Marinated Shad (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838)

ARTICLE INFO

Research Article

Corresponding Author: Mehmet Emin ERDEM, E-mail: eminerdem68@hotmail.com, Tel: +90 (368) 287 62 65

Received: 12 January 2015, Received in Revised Form: 08 March 2016, Accepted: 17 March 2016

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the biogenic amines and microbiological changes of shad (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838) filets, which were marinated, differently packaged and stored at 4±1 °C. Total aerobic count, psychophilic

flora count, mould-yeast, coliform and histamine forming bacteria count as microbiological criteria of marinated fish were investigated. In addition to that biochemical and molecular identification of isolated bacteria were performed. At the end of storage period, for marinated shad of different packed with brine, oil and vacuum packed were determined histamine values as 2.19, 2.09 and 2.41 mg kg⁻¹, and TAC values as 2.49, 2.75 and 2.68 log kob g⁻¹, respectively. *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida* and *Acinetobacter calcoaceticus* were identified as histamine producing bacteria. For histamine and microbiological criteria; It was determined that brine and oil recipe shad marinade can be stored at 4±1 °C for 7 months, while vacuum packed ones can be stored in the same conditions for 6 months.

Keywords: Shad; Marinade; Microbiology; Biogenic amines; Histamine

© Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi

1. Giriş

Geleneksel gıdalar, üretildiği yörelerin kültürünün çok önemli bir parçası olup, binlerce yıllık yaşam biçiminden günümüze ulaşan kendine özgü niteliklere sahip ürünlerdir. Su ürünlerinin işlenmesinde geleneksel olarak kullanılan yöntemlerin başında tuzlama, kurutma, dumanlama ve marinasyon gelmektedir. Marinasyon tekniği asit (asetik asit, genellikle sirke) ve tuz eklenmesi ile yapılan bir işleme yöntemidir (Koral 2012). Özden & Baygar (2003), ürünü bozan bakterilerin pH 4.0-4.5 arasında inhibe edildiklerini bildirmişlerdir. Bu yüzden marine ürünlerin pH değerinin 4.0-4.5 aralığında olması gereklidir. Ancak bu pH derecesi amin oluşumu için en uygun pH aralığı olan 4.5 ile 5.0 arasındadır (Teodorovic et al 1994). Ayrıca 3.8-4.3 pH aralığı proteaz enzimleri, özellikle katepsin için optimumdur ve bu enzimlerin marinata özgü aromanın ve kendine özgü tadın oluşumundaki etkileri fazladır (Huss 1995; Kılınç & Çaklı 2004; Olgunoğlu 2007). Böylece özellikle biyojenik aminler (BA) açısından tehlikeli olarak bildirilen tirsü türü balıklardan yapılan marinatlarda kalite sorunu yaratabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Biyojenik aminler, uçucu olamayan düşük molekül ağırlığına sahip alifatik (metilamin, etilamin, putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin, 2-feniletilamin) ve heterosiklik (histamin, triptamin) organik bazlardır. Bu aminler biyolojik olarak aktif bileşikler olup, genelde gıdalardaki serbest amino asitlerin mikrobiyolojik dekarboksilasyonu ve aldehit ve ketonların transaminasyonu sonucu oluşurlar (Ababouch et al

1991; Lehane & Olley 2000). Biyojenik amin dekarboksilaz aktivitesine sahip *Enterobacteriaceae* familyasına ait pek çok bakteri türünün (*Morganella morganii*, *K. pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alvei* ile *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* ve *Photobacterium* 'a ait türler), çeşitli gıdalarda yüksek oranda biyojenik amin ürettiğini kanıtlayan pek çok çalışma mevcuttur (Lehane & Olley 2000; Marino et al 2000; Flick et al 2001). *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alvei* gibi balık ve balık ürünlerinden histamin üreten bakteri türleri sıklıkla izole edilmiştir (Lehane & Olley 2000; Huss et al 2003). *Vibrio*, *Pseudomonas* ve *Photobacterium* bakteri türlerinin doğal deniz ortamında ve balıklarda bulunabileceği, ancak mezofilik *Enterobacteriaceae* ve *C. perfringens* 'in tipik olarak daha sonradan bu ürünlere bulaşabilecekleri belirtilmiştir.

Clupeidae familyasından olan tirsü (*Alosa immaculata*, Bennett 1838) pelajik bir tür olup denizlerde yaşasalar da bazı formları akarsulara ve tatlısu göllerine uyum göstermişlerdir. Tirsü balığı ülkemizde 2004 yılında 1.172 ton, 2006-2009 yıllarında artan bir grafik göstererek sırasıyla 2.574 ve 3.070 ton avlanmış, 2013 yılında ise tirsü av miktarı 1,541 ton gerçekleşmiştir (TÜİK 2014).

Bu çalışma ile ülkemizde özellikle Karadeniz'de avcılığı yapılan tirsü balığından yapılan marinatın farklı paketleme yöntemleri uygulanarak, mikrobiyolojik ve biyojenik aminler açısından kalite değişimlerinin araştırılması ve elde edilen ürünlerin bu kriterler açısından raf ömürlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Örneklerin hazırlanması

Araştırmada, Trabzon balık halinden alınan 36.5 kg tirsi balıkları (*Alosa immaculata*) strafor kutularda buzlanarak laboratuvara getirilmiş, boy-ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra, parazit riskinin ortadan kaldırılması amacıyla 24 saat süre ile -27 ± 2 °C’de dondurulmuştur (EC 2004). Dondurucudan çıkarılan balıklar buzdolabı koşullarında çözündürülerek fileto haline getirilmiş ve tartımları yapılmıştır.

2.2. Marinasyon işlemi

Balıkların baş ve iç organları temizlendikten sonra fileto haline getirilmiş ve yıkandıktan sonra süzülerek marinasyon işlemi uygulanmıştır. Bir kısmı, ham materyal (taze balık) analizleri için ayrılmış, kalan filetolar % 4.5’lik alkol sirkesi, % 10 tuz ve % 0.2 sitrik asit ile hazırlanmış salamurada 48 saat süreyle buzdolabında olgunlaştırmaya bırakılmıştır. İki gün buzdolabında bekletildikten sonra salamura suyundan çıkarılan balıkların suları süzülerek 3 gruba ayrılmıştır: I. grup 150 g fileto, 50 mL salamura sıvısı ile, II. grup 150 g fileto, 50 mL ayçiçek yağı kullanılarak 3 birim balık 1 birim sıvı yağ olacak şekilde hazırlanmış, I. ve II. gruplar 250 g’lık şeffaf plastik kutularda ambalajlanmıştır. III. grupta ise 150 g tirsli filetoları, polietilen (PE) ve polyamid (PA) içerikli, 5 katlı, % 30 oranında sıkıştırılabilen, 42 mikron kalınlığında vakum poşet ile ambalajlanmış ve tüm gruplar çalışma süresi boyunca 4 ± 1 °C’de 7 ay süreyle depolanmıştır.

2.3. Biyojenik aminler

Biyojenik aminlerin analizi Köse et al (2011) metodunda göre yapılmıştır. Yöntem, örnek ekstraksiyonu, türevlendirme ve HPLC cihazına enjekte etme aşamalarından oluşmaktadır.

2.4. Toplam aerob mezofilik ve toplam psikrofil bakteri sayımı

Toplam aerob mezofilik ve psikrofil bakterilerin sayımı için PCA (plate count agar) besi yeri kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine uygun dilüsyonlarda 0.1 mL alınarak yayma yöntemiyle 2 paralel olacak şekilde ekim yapılmıştır (Harrigan & McCance 1976).

2.5. Histamin üreten bakterilerin aranması

Histamin üreten bakterilerin izolasyonu için Niven’s besi yeri kullanılmış uygun dilüsyonlarda 0.1 mL yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Histamin üreten mezofilik bakterilerin sayımı için 37 °C’de 24 saat, histamin üreten psikrofilik bakteri sayımı için ise 8 °C’de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Niven et al 1981).

2.6. Bakterilerin identifikasyonu

Niven’s agarda üreyen tüm koloniler tek kolonilerden preparat hazırlanarak kristal violet ile basit boyama yapılmış. 1 dakika bekleme periyodundan sonra preparat yıkanarak kurutulmuştur. Daha sonra mikroskopta immersiyon objektifi ile incelenerek morfolojik özellikleri ortaya konulmuştur (Arda 2000).

2.7. DNA ekstraksiyonu

Niven’s agarda üreyen tüm koloniler TSA’da subkültüre alınarak saflaştırılmıştır. Moleküler identifikasyon için saf kültürden alınan bakteriler steril serum fizyolojik içeren 1.5 mL’lik ependorf tüplerine konulmuş ve 10,000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Bakteri peleti 180 µL enzimatik lizis buffer içerisinde 37 °C’de 1.5 saat inkübe edilmiş, daha sonra DNA ekstraksiyonu, Qiagene DNA easy mini kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DNA ekstraktları dizi analizi için 16S rDNA universal bakteri primerleri (27F ve 1492R) kullanılarak, Histamin üreten bakterilerin tespiti içinse gram negatif bakteriler için (Hdc-F ve Hdc-R) ve gram pozitif bakteriler için (Hdc-1 ve Hdc-2) HDC geni spesifik primerleri kullanılarak çalışılmıştır (Işidan 2011).

2.8. DNA dizi analizi

PZR ürünleri herhangi bir klonlama yapılmadan doğrudan dizi analizi için MacroGen laboratuvarına gönderilmiştir. Bakteri izolatlarına ait 16S rDNA geninin 1465 bazlık korunmuş bir bölgesini hedef alan 27-F ve 1492-R primerleri ve gram negatif bakteriler için histidin dekarboksilaz geninin 709 bazlık korunmuş bir bölgesini hedef alan Hdc-F ve Hdc-R ve gram pozitif bakterilerin histidin dekarboksilaz geninin 174 bazlık bir bölgesini hedef alan Hdc-1 ve Hdc-2 primerleri kullanılarak Makrogen

laboratuvarlarında (World Meridian Venture Center 10F, 60-24, Gasan-dong, Geumcheon-gu, Seoul, Korea) çift yönlü olarak diziletilmiştir. Elde edilen DNA dizileri GenBank, NCBI (National Center for Biotechnology Information) üzerinden BLAST programı kullanılarak analiz edilmiştir (Işidan 2011).

2.9. Verilerin analizi

Elde edilen verilere göre depolama süresinin artışına bağlı ve gruplar arası farkı saptamak amacı ile tek yönlü Anova ve Tukey testi uygulanmış, önem derecesi $P < 0.05$ olarak kullanılmıştır. İstatistikî analizde JMP 5.0.1. SAS (SAS Institute Inc, NC, ABD) paket programı kullanılmıştır (Sümbüloğlu & Sümbüloğlu 2000).

3. Bulgular ve Tartışma

Tirsi balıklarında deneme başlangıçta yapılan ölçümler sonucunda toplam 186 adet (36 kg) tirsi balığının ortalama boyu 28.71 ± 1.58 cm, ortalama ağırlığı ise 191.53 ± 33.63 g olarak ölçülmüştür. Fileto çıkarma işleminden sonra 50 g'lık 372 adet fileto toplam 18.6 kg olarak tartılmıştır ve bu işlem sonucunda net et verimi % 52 olarak hesaplanmıştır.

3.1. Biyojen amin miktarları

Marine edilerek salamura, yağ ve vakum pakette saklanan tirsi filetoalarının biyojenik amin değerlerinde meydana gelen değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Araştırmada ham materyaldeki putresin, kadaverin ve histamin değerinin sırasıyla,

Çizelge 1- Ham ve marine edilen tirsi balığında 4 °C'de depolama süresince biyojenik amin değişimleri

Depolama süresi	Feniletilamin	Putresin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	Spermidin	Spermin	
Ham materyal	24.46±0.29 ^a	0.85±0.00 ^a	1.95±0.06 ^a	0.52±0.02 ^b	23.51±0.24 ^a	17.26±0.13 ^a	4.37±0.17 ^a	
Dondurulmuş ürün	20.82±0.25 ^b	0.42±0.04 ^b	1.90±0.0 ^a	1.24±0.04 ^a	24.77±0.33 ^a	16.98±0.03 ^a	2.64±0.16 ^b	
0. gün	11.40±0.24 ^c	0.42±0.04 ^b	1.54±0.05 ^b	1.30±0.08 ^a	9.60±0.28 ^b	6.40±0.21 ^b	1.42±0.04 ^c	
15. gün	S	5.20±0.11 ^{ab} _{C*}	0.37±0.03 ^c _C	0.92±0.04 ^{ab} _B	2.29±0.01 ^{cd} _A	7.61±0.22 ^f _C	3.02±0.01 ^{cd} _C	0.93±0.02 ^e _B
	Y	14.86±0.07 ^a _A	1.76±0.01 ^{cd} _B	0.83±0.02 ^d _B	2.29±0.00 ^a _A	16.19±0.14 ^f _B	8.38±0.14 ^b _B	2.72±0.05 ^d _A
	VP	13.54±0.20 ^a _B	2.06±0.06 ^{bc} _A	1.42±0.05 ^c _A	2.29±0.11 ^a _A	18.17±0.11 ^e _A	10.95±0.08 ^a _A	2.56±0.06 ^c _A
1. ay	S	5.75±0.14 ^a _C	0.50±0.04 ^e _C	0.96±0.01 ^a _B	2.69±0.05 ^a _A	8.59±0.19 ^e _C	3.09±0.08 ^{bcd} _C	1.14±0.04 ^d _C
	Y	12.50±0.09 ^b _A	2.09±0.07 ^b _B	1.78±0.09 ^{bc} _A	2.12±0.14 ^a _B	17.59±0.14 ^e _A	9.35±0.07 ^a _A	3.13±0.10 ^{cd} _A
	VP	10.99±0.11 ^b _B	2.80±0.19 ^a _A	1.57±0.10 ^c _A	2.21±0.13 ^a _B	13.26±0.29 ^f _B	8.44±0.18 ^b _B	2.74±0.14 ^b _B
2. ay	S	5.70±0.37 ^{ab} _C	0.68±0.04 ^d _B	0.94±0.01 ^c _B	2.39±0.02 ^{bc} _A	9.77±0.15 ^d _C	3.13±0.02 ^{bcd} _C	1.24±0.04 ^c _B
	Y	12.84±0.08 ^b _A	2.65±0.12 ^a _A	1.95±0.07 ^{dc} _A	2.34±0.07 ^a _A	19.32±0.14 ^d _B	8.33±0.07 ^b _A	3.49±0.11 ^{ab} _A
	VP	7.72±0.09 ^c _B	2.70±0.07 ^a _A	2.16±0.09 ^a _A	2.21±0.11 ^a _A	21.48±0.32 ^{ab} _A	7.44±0.14 ^c _B	3.64±0.00 ^a _A
3. ay	S	5.16±0.08 ^{ab} _B	0.93±0.04 ^c _C	0.74±0.05 ^c _C	2.51±0.06 ^{ab} _A	10.92±0.08 ^c _C	2.98±0.03 ^{cd} _C	1.31±0.04 ^{bc} _B
	Y	8.55±0.12 ^c _A	2.48±0.10 ^a _B	1.87±0.08 ^{bc} _B	2.25±0.14 ^a _A	21.91±0.11 ^b _C	7.41±0.14 ^c _A	3.44±0.14 ^{ab} _A
	VP	7.32±0.13 ^d _C	2.83±0.04 ^{ab} _A	2.62±0.08 ^a _A	2.14±0.06 ^a _A	11.75±0.11 ^d _B	5.45±0.09 ^e _B	3.32±0.21 ^{ab} _A
4. ay	S	5.03±0.04 ^b _C	0.90±0.01 ^c _B	0.95±0.05 ^a _C	2.14±0.06 ^d _A	11.43±0.17 ^c _C	2.77±0.14 ^d _C	1.34±0.01 ^{bc} _B
	Y	7.95±0.08 ^d _A	2.10±0.12 ^b _A	1.68±0.04 ^c _B	2.11±0.07 ^a _A	18.07±0.07 ^c _B	5.18±0.07 ^f _A	3.17±0.07 ^{bc} _A
	VP	7.00±0.08 ^d _B	2.36±0.01 ^{abc} _A	2.73±0.08 ^a _A	2.07±0.08 ^a _A	20.90±0.13 ^{bc} _A	6.18±0.14 ^d _B	3.45±0.14 ^{ab} _A
5. ay	S	5.39±0.04 ^{ab} _B	1.13±0.04 ^b _B	0.84±0.06 ^{abc} _C	2.32±0.05 ^{bcd} _A	13.79±0.15 ^b _C	3.47±0.12 ^{bc} _C	1.36±0.01 ^{ab} _B
	Y	7.78±0.14 ^{de} _A	1.88±0.08 ^{bc} _A	2.36±0.08 ^a _A	2.39±0.07 ^a _A	21.20±0.21 ^c _B	6.01±0.11 ^e _A	3.74±0.14 ^a _A
	VP	5.67±0.08 ^e _B	1.90±0.11 ^{cd} _A	2.06±0.07 ^b _B	2.09±0.08 ^a _A	20.70±0.13 ^c _A	5.30±0.14 ^e _B	3.56±0.08 ^{ab} _A
6. ay	S	5.42±0.03 ^{ab} _B	1.19±0.06 ^b _B	0.79±0.04 ^{bc} _C	2.22±0.06 ^{cd} _A	14.21±0.08 ^b _C	3.62±0.11 ^b _C	1.40±0.01 ^{ab} _B
	Y	7.32±0.16 ^e _A	1.71±0.08 ^{cd} _A	2.46±0.06 ^a _A	2.34±0.14 ^a _A	22.00±0.07 ^f _A	6.68±0.14 ^d _A	3.34±0.14 ^{ab} _A
	VP	4.07±0.07 ^f _C	1.49±0.05 ^d _A	1.94±0.01 ^b _B	2.05±0.06 ^a _A	21.15±0.08 ^{bc} _A	5.50±0.14 ^e _B	3.34±0.18 ^{ab} _A
7. ay	S	5.74±0.09 ^a _B	1.50±0.07 ^a _A	0.98±0.04 ^a _C	2.19±0.07 ^{bc} _A	16.41±0.04 ^a _B	4.34±0.32 ^a _C	1.45±0.00 ^a _B
	Y	7.73±0.23 ^{de} _A	1.51±0.08 ^d _A	2.28±0.04 ^a _A	2.09±0.08 ^a _A	22.55±0.14 ^b _A	6.23±0.07 ^e _A	3.09±0.07 ^{bcd} _A
	VP	3.76±0.08 ^f _C	1.43±0.18 ^d _A	1.89±0.03 ^b _B	2.41±0.08 ^a _A	22.10±0.13 ^a _A	5.11±0.14 ^e _B	3.13±0.11 ^b _A

*, aynı sütunda farklı küçük harfler aynı gruplarda aylar arası farkın önemli olduğunu, aynı sütunda farklı büyük harfler farklı gruplarda aynı zamandaki farkının önemli olduğunu ($P < 0.05$) gösterir; S, salamura; Y, yağda; VP, vakum paket

0.85±0.00, 1.95±0.06, 0.52±0.02 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüş, depolama sonunda putresin değerleri artış göstererek salamurada, yağda ve vakum pakette sırasıyla 1.50±0.07, 1.51±0.08 ve 1.43±0.18 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüştür. Kadaverin, salamura, yağda ve vakum pakette aylar içinde değişkenlik gösterse de depolama sonunda sırasıyla 0.98±0.04, 2.28±0.04 ve 1.89±0.03 mg kg⁻¹ değerlerine ulaşmıştır.

Histamin değeri depolama sonunda salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla 2.19±0.07, 2.09±0.08 ve 2.41±0.08 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüştür. Marine edildikten sonra farklı paketlenen tirsi balığında biyojenik amin yönünden grup içi ve gruplar arasında, depolama boyunca istatistiksel fark anlamlı (P<0.05) olarak saptanmıştır (Çizelge 1).

Biyogen amin oluşumunda; gıdanın mikrobiyolojik kalitesi ve kontaminasyon düzeyi, ortamda bulunan dekarboksilaz pozitif mikroorganizma miktarı, dekarboksilatif enzimler için gerekli olan kofaktörlerin varlığı, serbest amino asit miktarı ile ortamın pH değeri gibi faktörlerin dışında depolama sıcaklığının ve süresinin önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Masson et al 1997; Erdem et al 2005; Auerswald et al 2006).

Buzda ve buzsuz ortamda iç organları çıkarılmış bir şekilde soğuk ortamda muhafaza edilen ringalarda yapılan denemede (Özoğul et al 2002) histamin içeriği depolama süresince artış göstererek 16 günlük depolama sonunda sırasıyla 27.14 mg 100 g⁻¹ ve 39.64 mg 100 g⁻¹ bulunmuştur. -18 ve -25 °C'de 3 ay dondurularak depolanan beyaz ton balığında histamin içeriği ile ilgili çalışmada ise histamin değerleri sırasıyla 1.17 ve 1.62 mg L⁻¹ olarak belirlenmiştir (Ben-Gigirey et al 1998). Mackie et al (1997), buzda ve 10 °C'lik serin koşullarda depolanan ringa ve uskumrudaki biyojenik amin formasyonunu araştırmışlardır. Depolama sonunda (13 gün) uskumru ve ringadaki histamin miktarının EEC (European Economic Community) histamin seviyesi olan 10 mg 100 g⁻¹'dan daha düşük olduğunu bulmuşlardır (Özoğul et al 2004).

Olgunoğlu (2007) marine edilmiş hamside, olgunlaştırma sonrası putresin, kadaverin ve

histamin değerlerini sırasıyla 8.4±0.19, 13.4±0.41 ve 13.4±0.41 mg kg⁻¹, 7 aylık depolama sonunda ise artış göstererek 17.0±0.19, 25.6±0.12 ve 34.5±2.00 mg kg⁻¹ olarak ölçüldüğünü belirtmiştir. Histamin konsantrasyonunun FDA (Food and Drug Administration) tarafından toksik olarak bildirilen 50 mg kg⁻¹'in altında kaldığı ve marine edilmiş hamside kaliteyi belirlemede iyi bir indikatör olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte olgunlaştırma tamamlandıktan sonra spermin (8.4±0.74 mg kg⁻¹) ve spermidin (8.1±0.93 mg kg⁻¹) değerlerinde depolama sonuna kadar başlangıç değerlerini aşmadıkları kaydedilmiştir.

Özoğul et al (2002), ringanın bütün olarak depolama koşulları altında (2±2 °C'de buzda, buzsuz ortamda ve modifiye atmosfer pakette), kaslarındaki spermin ve spermidin içeriğinin 10 mg kg⁻¹'dan düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmada analiz edilen biyojenik amin değerlerinin ham materyalden 7. aya uzanan periyotta önemli ölçüde değişim göstermediği ortaya konulmuştur. Ham materyaldeki putresin, kadaverin ve histamin değerinin sırasıyla, 0.85±0.00, 1.95±0.06 ve 0.52±0.02 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüş, olgunlaştırma sonrası 0. günde putresin ve kadaverin değerleri düşüş göstermiş fakat histamin değeri yükselmiştir. Depolama sonuna ise kadar putresin değerleri artış göstererek salamurada, yağda ve vakum pakette sırasıyla 1.50±0.07, 1.51±0.08 ve 1.43±0.18 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüştür. Kadaverin, salamura yağda ve vakum pakette aylar içinde değişkenlik gösterse de depolama sonunda sırasıyla 0.98±0.04, 2.28±0.04 ve 1.89±0.03 mg kg⁻¹ değerlerine yükselmiştir. Histamin değeri depolama sonunda salamura yağ ve vakum pakette sırasıyla 2.19±0.07, 2.09±0.08 ve 2.41±0.08 mg kg⁻¹ olarak ölçülmüştür. Depolama sonunda her üç paketleme yönteminde de histamin düzeyinin 3 mg kg⁻¹ değerini aşmadığı ortaya konmuştur. Elde edilen bu histamin değerlerinin, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün, 1380 sayılı Su Ürünleri Kanuna göre belirlenen düzeyin (100 mg kg⁻¹) ve FDA tarafından kabul edilen toksik değerin (50 mg kg⁻¹) oldukça altında kaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Gökoğlu (2003), marine edilmiş sardalya da (*Sardina pilchardus*) biyojenik amin değişimini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, sardalya filetoalarını % 15 tuz ve % 2 ile % 4'lük asetik asit içerisinde oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) 24 saat süreyle olgunlaşması için bekletmiş ve olgunlaşma süresi boyunca başlangıçta ve dört saat aralıklarla biyojenik aminleri tespit etmiştir. Taze sardalyadaki tyramin, putresin, kadaverin ve histamin değerlerini sırasıyla 82.37, 127.21, 20.14 ve 14.23 mg kg⁻¹ olarak bildirmiştir. Yapılan çalışmada zaman ve paketleme yöntemine bağlı olarak biyojenik amin miktarlarında yükselmeler olduğu belirlenmiştir.

3.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları

Marine edilerek farklı paketleme yöntemleri ile paketlenen tirsilerde toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında meydana gelen değişimler Çizelge 2'de verilmiştir. Ham materyalde TAMB sayısı 5.14 ± 0.03 log kob g⁻¹ olurken, dondurulan ve marinasyon sıvısında olgunlaştırılan tirsilerde, TAMB değeri sırasıyla 3.11 ± 0.01 ve 2.91 ± 0.03 log kob g⁻¹ olarak kaydedilmiştir. Salamura, yağ ve vakumla paketlenen marinatların marinasyon sonrası TAMB sayısı 2.91 ± 0.03 log kob g⁻¹ olurken depolama sonuna kadar tüm paketleme şeklinde

farklılık gözlenmemiş ve bu değerler sırasıyla 2.49 ± 0.02 , 2.75 ± 0.02 ve 2.68 ± 0.02 log kob g⁻¹ olarak belirtilmiştir (Çizelge 2).

Ham materyalde dondurulduktan sonra marinasyon sonrası toplam psikofilik bakteri açısından 4.36 ± 0.02 , 2.97 ± 0.01 ve 2.27 ± 0.03 log kob g⁻¹ olarak ölçülmüştür. Yağda ölçülen TPB sayılarının depolamanın ilk 3 aylık periyodunda azalırken, 7. ayda artarak 2.62 ± 0.04 log kob g⁻¹ değerine ulaştığı hesaplanmıştır. Ham materyalde mezofil ve psikofilik değerleri yüksek iken, marinasyon süresince bu değerlerin düştüğü kaydedilmiştir ($P < 0.05$), paketleme yöntemlerinde değişime rastlanmamıştır. Ayrıca depolama süresince toplam aerobik bakteri sayısı tüketilebilirlik sınır değeri olan 10^5 - 10^6 kob g⁻¹ değeri aşılmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Sen & Temelli (2003), soslu ve sebze marine hamside, marinasyondan sonra mikroorganizma sayılarında düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Aksu et al (1997), yaptıkları çalışmada, marinasyon işleminin ilk gününde, 10^6 kob g⁻¹ mezofilik bakteri sayısının 10^4 kob g⁻¹ değerine gerilediğini rapor etmişlerdir. Poligne & Collignan (2000), asetik asit, glukonik asit ve her iki asit çözeltilerinin birlikte

Çizelge 2- Marina tirsilerdeki toplam mezofilik aerobik bakteri (TAMB) ve toplam psikofilik bakteri (TPB) (log kob g⁻¹) sayılarındaki değişimler

Depolama süresi	Paketleme şekli					
	Salamura*		Yağ*		Vakum paket*	
	Mezofilik	Psikofilik	Mezofilik	Psikofilik	Mezofilik	Psikofilik
Ham materyal	5.14 ± 0.03 a ^x	4.36 ± 0.02 a	5.14 ± 0.03 a	4.36 ± 0.02 a	5.14 ± 0.03 a	4.36 ± 0.02 a
Dondurulmuş ürün	3.11 ± 0.01 b	2.97 ± 0.01 b	3.11 ± 0.01 b	2.97 ± 0.01 b	3.11 ± 0.01 b	2.97 ± 0.01 b
0. gün	2.91 ± 0.03 b	2.27 ± 0.03 c	2.91 ± 0.03 b	2.27 ± 0.03 c	2.91 ± 0.01 b	2.27 ± 0.03 c
15. gün	2.88 ± 0.01 b	2.55 ± 0.01 c	2.49 ± 0.27 c	2.21 ± 0.03 c	2.87 ± 0.01 b	2.37 ± 0.03 c
1. ay	2.30 ± 0.09 c	2.49 ± 0.01 c	2.41 ± 0.10 c	2.30 ± 0.06 c	2.51 ± 0.03 c	2.37 ± 0.13 c
2. ay	2.24 ± 0.09 c	2.33 ± 0.01 c	2.57 ± 0.04 c	2.39 ± 0.01 c	2.34 ± 0.04 c	2.31 ± 0.9 c
3. ay	2.25 ± 0.03 c	2.29 ± 0.03 c	2.16 ± 0.17 c	2.45 ± 0.03 c	2.65 ± 0.01 c	2.55 ± 0.15 c
4. ay	2.50 ± 0.12 c	2.27 ± 0.03 c	2.45 ± 0.04 c	2.49 ± 0.01 c	2.66 ± 0.04 c	2.57 ± 0.13 c
5. ay	2.52 ± 0.06 c	2.28 ± 0.02 c	2.58 ± 0.10 c	2.52 ± 0.02 c	2.74 ± 0.02 bc	2.53 ± 0.16 c
6. ay	2.59 ± 0.01 c	2.24 ± 0.04 c	2.68 ± 0.04 c	2.59 ± 0.03 c	2.66 ± 0.04 c	2.57 ± 0.19 c
7. ay	2.49 ± 0.02 c	2.24 ± 0.06 c	2.75 ± 0.02 c	2.62 ± 0.04 c	2.68 ± 0.02 c	2.58 ± 0.12 c

^x, aynı sütunda farklı küçük harfler grup içi ortalama farklarının önemli olduğunu belirtir ($P < 0.05$); *, sütunlarda farklı grupları arası fark önemsizdir ($P > 0.05$)

kullanıldığı hızlı marinasyon tekniği ile hamside (*Engraulis engrasicolus*) yaptığı çalışmada, taze materyaldeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısını 1.5×10^3 kob g^{-1} olarak bildirmişlerdir. Özoğul et al (2007), kafadan bacaklılar, kabuklular ve eklem bacaklılardan elde edilen marinanatın bakteriyolojik değerlendirilmesi için yaptıkları araştırmada, TAMB sayısının 3 ayın sonunda $4 \log$ kob g^{-1} , depolamanın sonunda ise $3 \log$ kob g^{-1} değerinin altında kaldığını bildirmişlerdir. Fuselli et al (2003), soğuk marine edilmiş hamsideki (*Engraulis anchoita*) tipik mikroorganizmaları saptamak için yaptıkları çalışmada ham maddede TAMB sayısını 2.2×10^4 kob g^{-1} ve TPB sayısını 1.9×10^4 kob g^{-1} olarak belirlemesine karşılık marinasyonun tamamlandığı safhada mikroorganizma yüküne rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Olgunoğlu (2007), marine edilmiş hamsi balığında, ham materyalde TAMB sayısını $4.81 \log$ kob g^{-1} olarak kaydederken depolama sonunda ise $4.66 \log$ kob g^{-1} olarak rapor etmiştir. Yapılan çalışmalarda aerob bakteri değerleri, hammadde türü depolama şekli ve zamana bağlı olarak bizim çalışmamızdaki değerlerden yüksek bulunmuştur.

3.3. Bakterilerin identifikasyonu

Biyokimyasal ve moleküler identifikasyon çalışmaları sonucunda Nivan's agarda üreyen ve saf olarak izole edilen toplam 68 adet farklı koloninin 37 farklı bakteri türüne ait olduğu ortaya konulmuştur. İdentifikasyonu tamamlanan bakterilerin depolama süresi boyunca farklı paketlerden izole edilen mezofilik ve psikrofilik bakterileri türleri Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3 incelendiği zaman, ham materyalde 23 adet mezofil, 17 adet psikrofil bakteri türü tespit edildiği görülmektedir, depolama sonunda ise birer tür bakteriye rastlanmıştır. Çalışmada kullanılan ürün üzerinde, paketleme yöntemi ve marinasyonun işleminin mikrobiyolojik kalite açısından önemi ortaya konmuştur.

Nivens agarda üreyen bakterilerin identifikasyonu, 16S rDNA üniversal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR çalışmasından elde edilen ürünlerin dizi analizi yaptırılarak gen bankasında

BLAST fonksiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. BLAST sonuçlarının biyokimyasal verilerle de örtüştüğü gözlenirken sonuç olarak 37 farklı bakteri türünün varlığı ortaya konulmuştur. Buna ilaveten HDC (histidin dekarboksilaz) geni spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR çalışmalarına göre 5 farklı türün HDC genine sahip olduğu, dolayısıyla histidin amino asidini histamine dönüştürebildiğini ortaya koydu. Bu bakterilerin *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve bir adette kültür alınarak tanımlanmamış bir bakteri (uncultured bacterium) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan identifikasyon çalışmaları ve HDC spesifik PZR çalışmaları, Niven's agarda üreyen tüm bakterilerin histamin üretmediğini ortaya koymuştur. Bu nedenle kültürde yapılan bakteri sayımının doğrudan histamin üreten bakteri olarak değerlendirilmesinin çok gerçekçi olmadığı düşünülmektedir.

İşlenmiş gıdalarda zehirlenmelere sebep olan en önemli faktörlerden birisi olan histamin, pek çok işlenmiş balık ürününde önemli bir bozulma kriteridir. Bu amaçla araştırmacılar işlenmiş gıdalarda histamin oluşumuna sebep olan bakteri türleri üzerinde özellikle durmuşlar ve bazı türleri tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında izole edilen türlerinde daha önceki yapılan bilimsel makalelerde işlenmiş balıklarda histamin oluşumuna sebep olduğu ortaya konmuştur (Taylor et al 1979; Rodriguez-Jerez et al 1994). Bununla beraber sıklıkla karşılaşılan *Morganella morganii*, *Hafnia alvei* gibi bazı histamin üreten bakterilere bu çalışmada rastlanmamıştır. Kim et al (2003)'ün yaptıkları bir çalışmada işlem görmeyen kolyoz balıklarına 15 ve 25 °C'de depoladıkları balıkları özellikle *Morganella morganii* bakterisinin baskın tür olduğu fakat 4 °C'de ise *Actinobacillus ureae* ve *Pseudomonas putida* türlerinin daha baskın oldukları ortaya konmuştur. Tez çalışmasında yapılan izolasyon çalışmaları bu açıdan değerlendirildiğinde başlangıçta mevcut olsa bile tüm işleme aşamaları ve devamındaki bekletme süresinin 4 °C'de gerçekleştirilmesi, *Morganella*

Çizelge 3- Marine tirsi balığından 4 °C’de depolama süresince izole edilen bakteriler

<i>Depolama süresi</i>	<i>Mezofil</i>	<i>Psikrofil</i>
Ham materyal	<i>Acinetobacter venetianus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Uncultured bacterium*</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Uncultured Firmicutes bacterium</i>
	<i>Pantoea agglomerans*</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus*</i>
	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
	<i>Corynebacterium medionlanum</i>	<i>Brevundimonas diminuta*</i>
	<i>Bacillus pseudofirmus</i>	<i>Acinetobacter xiamenensis</i>
	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
	<i>Uncultured bacterium</i>	<i>Bacteroides fragilis*</i>
	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Brevundimonas diminuta*</i>	<i>Pantoea agglomerans*</i>
Dondurulmuş balık	<i>Citrobacter freundii</i>	
	<i>Psychrobacter luti</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Vibrio ichthyenteri, Rothia mucilaginosa</i>	
	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
Marinasyon sonrası	<i>Brevundimonas diminuta*</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Streptosporangium roseum</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Methanocorpusculum labreanum</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
	<i>Chitinophaga pinensis</i>	<i>Acinetobacter xiamenensis</i>
	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>	<i>Brevundimonas diminuta*</i>
	<i>Myxococcales bacteria</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Mycobacterium sp.</i>	
	<i>Shewanella baltica</i>	
	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	
<i>Marine snow associated bacterium</i>		
<i>Pseudomonas putida*</i>		
15. gün salamura	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>	<i>Bacteroides fragilis*</i>
	<i>Myxococcales bacteria</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	
15. gün vakum paket	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
	<i>Mycobacterium sp.</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
	<i>Shewanella baltica*</i>	
	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	
15. gün yağda	<i>Marine snow associated bacterium</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Pantoea agglomerans*</i>	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
	<i>Psychrobacter sp.</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
30. gün salamura	<i>Myxococcales bacteria</i>	-
	<i>Enterobacter hormaechei</i>	
30. gün vakum paket	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	
30. gün yağda	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Pantoea agglomerans*</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Pseudomonas putida*</i>	
90. gün salamura	-	-
90. gün vakum paket	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
90. gün yağda	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
		<i>Citrobacter freundii</i>
150. gün salamura	<i>Enterobacter hormaechei</i>	-
150. gün vakum paket	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
150. gün yağda	-	<i>Psychrobacter sp.</i>
210. gün salamura	-	-
210. gün vakum paket	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>
210. gün yağda	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>

*, histamin üreten bakteriler; -, üreme yok

morganii bakterisinin izole edilememesinin sebebi olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte *Pseudomonas putida* yedinci aya geldiğinde bile yağda ambalajlanan grupta izole edilebilmiştir.

Amerika’da, ton balığı konservelerinde yapılan bir çalışmada *Acinetobacter calcoaceticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *H. alvei*, *K. pneumoniae*, *Proteus rettgeri* ve *Proteus vulgaris* bakterilerini histamin ürettiği ortay konmuştur (Taylor et al 1979). Bu bakterilerden *Acinetobacter calcoaceticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans* ve *Enterobacter cloacae* çalışmada izole edilmekle birlikte *Citrobacter freundii* HDC spesifik PCR çalışmasında negatif olarak bulunmuştur.

Çalışmada izole edilen ve HDC pozitif olduğu belirlenen *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida* ve *Acinetobacter calcoaceticus* bakterileri çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmış ve zayıf HDC aktivitesine sahip oldukları ortaya konmuştur (Rodriguez-Jerez et al 1994). Elde edilen histamin değerleri göz önüne alınarak değerlendirildiğinde histamin düzeyindeki çok zayıf artışın depolama sıcaklığının yanı sıra izole edilen HDC pozitif bakterilerin bu etkilerinin *Morganella morganii*, *Hafnia alvei* gibi bakterilere oranla oldukça düşük olmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

4. Sonuçlar

Marine edilerek farklı paketlenen tirsı filetoalarının yağda ve salamurada paketlenme sonucunda 7 aylık raf ömrünün olduğu, vakum paketin ise 6 ay süre ile tüketilebileceği belirlenmiştir. Depolama sonunda her üç paketlenme yönteminde de histamin düzeyinin 3 mg kg⁻¹ aşmadığı ortaya konmuştur. Elde edilen bu histamin değerlerinin, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından belirlenen düzeyi (100 mg kg⁻¹) ve FDA tarafından kabul edilen toksik değeri (50 mg kg⁻¹) aşmadığı tespit edilmiştir. Tirsı marinatinın ham materyaldeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, psikrofil bakteri sayısı ve histamin üreten bakteriler üzerine azaltıcı etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada izole edilen ve HDC (histidin dekarboksilaz) genine sahip bakterilerin, HDC aktivitesine sahip olan türler oldukları görülmektedir. Bakteriyolojik bulgular biyojenik amin değerlerinin ölçümüyle de desteklenmektedir. Yapılan çalışmada zayıf HDC aktivitesine sahip *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve bir adette kültür alınarak tanımlanmamış bir bakteri izole edilmiştir. Bu yönüyle ülkemizde yapılan ilk çalışma niteliğindedir.

Farklı bir tat ve uzun süreli bozulmadan dayandığı için tirsı marinatları iyi bir ürün olarak işleme sektöründe kullanılabilir. Çalışmada denenen metotların dışında, marinasyon oranlarının değiştirilmesinin kalite üzerindeki farklı etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte tirsı marinatlarında farklı sos ve sebzeler kullanılarak kalite değişimleri ve raf ömrü çalışmaları da yapılabilir.

Teşekkür

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (Rize-Türkiye) “Bilimsel Araştırma Birimi” tarafından desteklenmiştir (Proje Numarası: RÜBAP 2008.103.03).

Kaynaklar

- Ababouch L, Afilal M E, Benabdeljelil H & Busta F F (1991). Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardine pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28 °C) and in ice. *International Journal of Food Science & Technology* **26**: 297-306
- Aksu H, Erkan N, Çolak H, Varlık C, Gökoğlu N & Uğur M (1997). Farklı asit tuz konsantrasyonlarıyla hamsi marinatu üretimi esnasında oluşan bazı değişiklikler ve raf ömrünün belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* **8**: 83-87
- Arda M (2000). Temel Mikrobiyoloji; Genişletilmiş İkinci Baskı. Medisan Yayın Serisi No: 46, Ankara
- Auerswald L, Morren C & Lopata A L (2006). Histamine levels in seventeen species of fresh and processed South African Seafood. *Food Chemistry* **98**: 231-239

- Ben-Gigirey B, Vieites B, De Sousa J M, Villa T G & Barros-Velazquez J (1998). Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *Journal of Food Protection* **61**(5): 608-615
- EC (2004). Corrigendum to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004. Laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Section VIII. L226/67
- Erdem M E, Bilgin S & Çağlak E (2005). Tuzlama ve marinyasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığının (*Trachurus mediterraneus*) muhafazası sırasındaki kalite değişimleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* **20**: 1-6
- Flick G J, Oria P & Douglas L (2001). Potential hazards in cold-smoked fish: biogenic amines. *Journal of Food Science* **66**: 1088-1099
- Fuselli S R, Casales M R, Fritz R & Yeannes M I (2003). Typical microorganisms in cold marinated anchovies (*Engraulis anchoita*) fillet with corn oil and spices. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **12**: 55-64
- Gökoğlu N (2003). Changes in biogenic amines during maturation of sardine (*Sardina pilchardus*) marinade. *Fisheries Science* **69**: 823-829
- Harrigan W F & McCance M E (1976). Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press Inc., London, pp. 464
- Huss H H (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Technical paper: 348, Rome: Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, pp. 132
- Huss H H, Ababouch L & Gram L (2003). Assessment and management of seafood safety and quality. FAO, Rome, pp. 230
- İşıdan S (2011). Farklı paketleme yöntemlerinin tirsi (*Alosa Immaculata*, Bennett, 1838) marinatinin kimyasal mikrobiyolojik ve duyuşsal kalite değişimlerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Trabzon
- Kılınç B & Çaklı S (2004). Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. *Food Chemistry* **88**: 275-280
- Kim S H, Barros-Velazquez J, Ben-Gigirey B, Eun J B, Jun S H, Wei C & An H (2003). Identification of the main bacteria contributing to histamine formation in seafood to ensure product safety. *Food Science and Biotechnology* **12**: 451-460
- Koral S (2012). Türkiye’de geleneksel yöntemlerle işlenmiş balık ürünlerinde biyojenik amin miktarlarının tespiti ve oluşumuna neden olan faktörlerin incelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Trabzon
- Köse S, Kaklıkkaya N, Koral S, Tufan B, Buruk K C & Aydın F (2011). Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method. *Food Chemistry* **125**: 1490-1497
- Lehane L & Olley J (2000). Histamine (*Scombroid*) fish poisoning. A review in a risk-assessment framework. National Office of Animal and Plant Health, Canberra
- Mackie I M, Pirie L, Ritchie A H & Yamanaka H (1997). The formation of non-volatile amines in relation to concentration of free basic amino acid during postmortem storage of the muscle of scallop (*Pecten maximus*), herring (*Clupea harengus*) and mackerel (*Scomber scombrus*). *Food Chemistry* **60**(3): 291-295
- Marino M, Maifreni M, Moret S & Rondinini G (2000). The capacity of enterobacteriaceae species to produce biogenic amines in cheese. *Letters in Applied Microbiology* **31**: 169-173
- Masson F, Lebert A, Talon R & Montel M C (1997). Effects of physico-chemical factors influencing tyramine production by *Carnobacterium divergens*. *Journal of Applied Microbiology* **83**: 36-42
- Niven C F Jr, Jeffrey M B & Corlett D A Jr (1981). Different plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied Environmental Microbiology* **41**: 321-322
- Olgunoğlu I (2007). Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) duyuşsal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Adana
- Özden Ö & Baygar T (2003). The effect of different packaging methods on some quality criteria of marinated fish. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science* **27**: 899-906
- Özoğul F, Taylor K D A, Quantick P & Özoğul Y (2002). Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. *Journal of Food Science* **67**: 2497-2501
- Özoğul F, Küley E & Özoğul Y (2004). Balık ve balık ürünlerinde oluşan biyojenik aminler. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* **21**(3-4): 375-381

- Özoğul Y, Özoğul F, Olgunoğlu İ & Esmeray K (2007). Bacteriological and biochemical assessment of marinating cephalopods, crustaceans and gastropoda during 24 week of storage. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **59**: 465-476
- Poligne I & Collignan A (2000). Quick marination of anchovies (*Engraulis encrasicolus*) using acetic and gluconic acids: Quality and stability of the product. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **33**: 202-209
- Rodriguez-Jerez J J, Lopez-Sabater E I, Roig-Sagues A X & Mora-Ventura, M T (1994). Histamine, cadaverine and putrescine forming bacteria from ripened Spanish semi-preserved anchovies. *Journal of Food Science* **59**: 998-1000
- Sen M K C & Temelli S (2003). Microbiological and chemical qualities of marinated anchovy prepared with different vegetable additives and sauce. *Revue de Médecine Vétérinaire* **154**: 703-707
- Sümbüloğlu K & Sümbüloğlu V (2000). Biyoistatistik, Hatiboğlu Yayınları: 53, 9. Baskı, Ankara
- Taylor S L, Guthertz L S, Leatherwood M & Lieber E (1979). Histamine production by *Klebsiella pneumoniae* and an incident of scombroid fish poisoning. *Applied and Environmental Microbiology* **37**: 274-278
- Teodorovic V, Buncic S & Smiljanic D (1994). A study off actor sinfluencing histamine productionin. *Fleischwirtschaft* **74**: 170-172
- TÜİK (2014). Türkiye İstatistik Kurumu, 2013 yılı Su Ürünleri İstatistikleri, Ankara