

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

**PALAMUT (*Sarda sarda*) LAKERDASININ
OLGUNLAŞMASI SÜRESİNCE SERBEST AMİNO
ASİT VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMUNUN
ÜRÜN KALİTESİNE ETKİLERİ**

Hasan Basri ORMANCI

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 27/06/2013

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU

ÇANAKKALE

DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

HASAN BASRİ ORMANCI tarafından **PROF. DR. FATMA ARIK ÇOLAKOĞLU** yönetiminde hazırlanan “**PALAMUT (*Sarda sarda*) LAKERDASININ OLGUNLAŞMASI SÜRESİNCE SERBEST AMİNO ASİT VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMUNUN ÜRÜN KALİTESİNE ETKİLERİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU

Danışman

Prof. Dr. Uğur ÖZEKİNCİ

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Yonca YÜCEER

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Abdullah ÖKSÜZ

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Nermin BERİK

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2013

Doç. Dr. Zeki KARACA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Doktora tezi ÇOMÜ-BAP tarafından 2010/28 no'lu projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Hasan Basri ORMANCI

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam sayın Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU'na, tezimin tüm aşamalarını titizlikle takip eden tez izleme komitesi üyeleri sayın Doç. Dr. Nermin BERİK ve sayın Doç. Dr. Yonca YÜCEER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli olan maddi desteği sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığı'na, analizlerin yapılmasında katkılarından dolayı başta sayın Prof. Dr. İsmet KAYA, Yrd. Doç. Dr. Bayram KIZILKAYA ve Dr. Gülen TÜRKER olmak üzere ÇOMÜ Bilim ve Teknoloji Uygulama Merkezi çalışanlarına, yanı sıra Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvarı çalışanlarına, renk ve tekstür analizlerindeki katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. Cengiz CANER ve Yrd. Doç. Dr. M. Seçkin ADAY'a, istatistiksel analizlerdeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet MENDEŞ ve Arş. Gör. Ahmet MOLLAOĞULLARI'na, biyojen amin analizi konusundaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Hüseyin GENÇCELEP'e mikrobiyoloji laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Dr. Mine ÇARDAK, Arş. Gör. İ. Ender KÜNİLİ ve öğrenci arkadaşlara teşekkürü borç bilirim.

Hammadde temini konusunda yardımlarından ötürü Engin Balıkçılığa teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında bana göstermiş oldukları anlayış ve desteklerinden dolayı eşim Aslı ORMANCI'ya ve aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Hasan Basri ORMANCI

SİMGELER VE KISALTMALAR

FAO:	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
AlCl ₃ :	Alüminyum klorür
AgNO ₃ :	Gümüş nitrat
DPPH:	Serbest radikal giderme aktivitesi
HCl:	Hidroklorik asit
H ₂ SO ₄ :	Sülfirik asit
IC ₅₀ :	%50lik inhibisyon konsantrasyonu
kob/g:	Koloni oluşturan birim/gram
M:	Molar
mg/ml:	Miligram/mililitre
mg/kg	Miligram/kilogram
mg/100g	Miligram/yüz gram
mg/g:	Miligram/gram
mg MA/kg:	Miligram malonaldehid/kilogram
mm:	Milimetre
mmol O ₂ /kg:	Milimol oksijen/kilogram
NaOH:	Sodyum hidroksit
N:	Normalite
TBA:	Tiyobarbütirik asit
TMA-N:	Trimetilamin azotu
HPLC:	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
TAB:	Toplam mezofilik aerobik bakteri
HB:	Halofilik bakteri
TK:	Toplam koliform
FK:	Fekal koliform
<i>Ent.</i> :	<i>Enterococcus</i> spp.
<i>Staph.</i> :	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>Bac.</i> :	<i>Bacillus</i> spp.
<i>Clost.</i> :	<i>Clostridium</i> spp.
MK:	Maya ve Küf
<i>Lac.</i> :	<i>Lactobacillus</i> spp.
Psik.:	Psikrofilik bakteri.

ALA:	Alanin
GLY:	Glisin
VAL:	Valin
LEU:	Lösin
ILE:	Izolösin
THR:	Tironin
SER:	Serin
PRO:	Prolin
ASP:	Aspartik asit
ASN:	Asparjin
MET:	Metiyonin
HYP:	4-Hidroksiprolin
GLU:	Glutamik asit
GLN:	Glutamin
PHE:	Fenilalanin
LYS:	Lizin
HIS:	Histidin
TYR:	Tirosin
C-C:	Sistin
mm/s:	Milimetre/saniye
s:	Saniye
h/h:	Hacim/hacim
a/h:	Ağırlık/hacim
WPS:	Su fazında tuz
a _w :	Su aktivitesi
AÖF:	Azami önemli fark

ÖZET

PALAMUT (*Sarda sarda*) LAKERDASININ OLGUNLAŞMASI SÜRESİNCE SERBEST AMİNO ASİT VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMUNUN ÜRÜN KALİTESİNE ETKİLERİ

Hasan Basri ORMANCI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU

27/06/2013, 120

Bu çalışmada, palamut lakerdası üretiminde olgunlaşma sırasında meydana gelen amino asit değişimi ve biyojen amin oluşumunun tespiti hedeflenmiş, yanı sıra sarımsak ekstraktı ilavesinin ürün kalitesine etkileri incelenmiştir.

Bu amaçla kuru tuzlama yöntemi ile muamele edilen taze palamut balıkları, +4°C, 15°C ve 20°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşma sırasında biyojen amin oluşumunun inhibisyonu için; her gruba sarımsak ekstraktı ilave edilmiştir. Lakerda ürünlerin karakteristik özellikleri ise duyuşsal, mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerle belirlenmiştir.

Ürünlerin olgunlaşma süreci, +4°C'de 22 gün, 15°C'de 17 gün ve 20°C'de ise 15 günde tamamlanmış, duyuşsal ve fiziksel analizlerle lakerdanın tipik tuz aromasına sahip, mat pembe renkli sulu et dokusunda ürünler olduğu tespit edilmiştir. Besinsel açıdan ise +4°C'de olgunlaşan sarımsaksız lakerdanın %52,22 su, %14,64 ham protein, %17,39 ham yağ ve %15,14 oranında ham kül içerdiği belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, farklı sıcaklık uygulamalarının lakerdada amino asit oluşumunu hızlandırdığı ve biyojen amin üretimini etkilediği, kullanılan sarımsak ekstraktının ise üründe oksidasyonu ve biyojen amin oluşumunu baskıladığı tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca biyojen amin üretiminden sorumlu, toplam 46 bakteri izole edilmiştir. İzole edilen bu amin pozitif bakteri izolatlarının; histidinde; karboksilaz yeteneklerinin olmadığı, ancak putresin ve kadaverin oluşturabildikleri saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Sarda sarda*, Lakerda, Sarımsak Ekstraktı, Kalite Özellikleri, Amino Asit, Biyojen Amin

ABSTRACT

EFFECTS OF FREE AMINO ACID AND BIOGENIC AMINE FORMATION ON PRODUCT QUALITY OF BONITO LAKERDA DURING RIPENING

Hasan Basri ORMANCI

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Doctoral Dissertation in Fisheries Science

Advisor: Prof. Dr. Fatma ARIK ÇOLAKOĞLU

27/06/2013, 120

In this study, changes in amino acid concentration and biogenic amine formation of bonito lakerda were determined during production. In addition, the effects of garlic extract supplement on the product quality were investigated.

For this purpose, fresh bonitos handled with dry salting method were ripened at three different temperatures of +4°C, 15°C, and 20°C. During the ripening period, garlic extracts were added to all groups in order to inhibit biogenic amine formation. The characteristics of the lakerda product were determined via sensory, microbiological and chemical analysis.

Ripening periods were determined as 22, 17, and 15 days at +4°C, 15°C and 20°C, respectively. Sensory and physical analysis indicated that lakerda products had typically a salty taste, dull pinkish color and juicy texture. In terms of nutritional properties, results showed that lakerda samples that were processed with garlic at +4°C contained 52.22% water, 14.64% protein, 17.39% lipid, and 15.14% ash. Different temperature applications accelerated the amino acid formation and affected biogenic amine production, while supplementation with garlic extract prevented lipid oxidation and biogenic amine formation. A total of 46 bacterial strains responsible for biogenic amine formation was isolated from lakerda products. Isolated strains were not able to decarboxylate histidine to histamine, but were able to form putresin and cadaverine.

Keywords: *Sarda sarda*, Lakerda, Garlic Extract, Quality Characteristics, Amino Acid, Biogenic Amine

İÇERİK	Sayfa
DOKTORA TEZİ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
BÖLÜM 1–GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2–ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Su Ürünleri Etlerinin Yapısı	3
2.1.1. Su	3
2.1.2. Protein	4
2.1.3. Lipid	6
2.2. Tuzlama Teknolojisi.....	8
2.2.1. Tuzlama teknolojisinin tarihçesi	10
2.2.2. Tuzlanmış ürün biyokimyası	11
2.3. Biyojenik Aminler	12
2.3.1. Biyojen amin oluşumun etkileyen faktörler	14
2.3.1.1. Sıcaklık ve pH	16
2.3.1.2. Tuz konsantrasyonu	18
2.3.1.3. Starter kültür kullanımı.....	18
2.3.2. Biyojen amin üretiminden sorumlu mikroorganizmalar	19
2.3.3. Biyojenik aminlerin toksikolojik özellikleri	20
2.4. Gıdalarda Doğal Bitki Ekstraktlarının Kullanımı	21
2.5. Çalışmanın Amacı	22
BÖLÜM 3–MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Balık materyali	23
3.1.2. Tuz.....	24
3.1.3. Ambalaj materyali	24
3.1.4. Sarımsak	24
3.1.4. Araştırmada kullanılan alet ve malzemeler	25
3.2. Yöntem	25

3.2.1. Deneme planı	25
3.2.2. Sarımsak ekstraksiyonu	25
3.2.3. Hammaddenin hazırlanması	25
3.2.4. Lakerdanın üretimi	26
3.2.5. Sarımsak ekstraktına ait analizler	27
3.2.5.1. Antioksidan özelliklerin belirlenmesi	27
3.2.5.2. Antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesi	28
3.2.6. Fiziksel analizler	29
3.2.6.1. Tekstür profil analizi (TPA)	29
3.2.6.2. Renk analizi	29
3.2.7. Kimyasal analizler	30
3.2.7.1. Su analizi	30
3.2.7.2. Ham protein analizi	30
3.2.7.3. Yağ analizi	31
3.2.7.4. Ham kül analizi	31
3.2.7.5. pH analizi	32
3.2.7.6. Tuz miktarı analizi	32
3.2.7.7. Tiyobarbitürik asit (TBA) analizi	32
3.2.7.8. Peroksit analizi	33
3.2.7.9. Trimetilamin azot (TMA-N) analizi	33
3.2.7.10. Su fazında tuz tayini (WPS)	34
3.2.7.11. Su aktivitesi tayini	34
3.2.7.12. Total amino asit analizi	34
3.2.7.13. Serbest amino asit analizi	35
3.2.7.14. Biyojen amin analizi	35
3.2.8. Duyusal analizler	36
3.2.8.1. Sarımsak konsantrasyonunun belirlenmesi	36
3.2.8.2. Ürün profil analizi	36
3.2.9. Mikrobiyolojik analizler	38
3.2.9.1. Örneklerin mikrobiyolojik analizlere hazırlanması	38
3.2.9.2. Analizlerde kullanılan kültür ve sayım yöntemleri	38
3.2.9.3. Biyojen amin oluşturan mikroorganizmaların tespiti	40
3.2.9.4. İzole edilen suşlara uygulanan tanı testleri	41

3.2.9.5. Mikroorganizmaların oluşturdukları biyojen amin miktarlarının tespiti	42
3.2.10. Verilerin değerlendirilmesi	43
BÖLÜM 4–ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	44
4.1. Sarımsak Ektraktına Ait Bulgular	44
4.1.1. Antioksidan aktivite bulguları	44
4.1.2. Antimikrobiyal aktivite bulguları	46
4.2. Lakerdamın Karakteristik Özelliklerin Belirlenmesi	47
4.2.1. Fiziksel analiz bulguları	47
4.2.2. Kimyasal analiz bulguları	50
4.2.3. Duyusal analiz bulguları.....	57
4.2.4. Mikrobiyolojik analiz bulguları.....	62
4.3. Olgunlaşma Sürecinde Amino Asit Değişimi ve Biyojen Amin Oluşumu....	64
4.3.1. Farklı sıcaklık uygulamalarının amino asit değişimine etkisi	67
4.3.2. Sarımsak ekstraktının amino asit değişimine etkisi	70
4.3.3. Farklı olgunlaşma sıcaklıklarının ve sarımsak ekstraktının biyojen amin oluşumuna etkisi.....	73
4.4. Lakerdada Biyojen Amin Oluşturun Bakteriler	89
4.5. Bakterilerin Biyojen Amin Oluşturma Kapasiteleri.....	90
BÖLÜM 5–SONUÇ VE ÖNERİLER	93
KAYNAKLAR	98
Ekler	I
Çizelgeler	V
Şekiller	VII
Özgeçmiş	IX

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Su ürünleri, üç tarafı denizlerle çevrili olan ülkemizde ekonomiye küçümsenemez boyutlarda katkı vermektedir. Özellikle sürü oluşturan; hamsi, sardalya ve palamut gibi balıklar, yılın belli dönemlerinde yakalanmakta ve tüketime sunulmaktadır. Ancak, av mevsimi dâhilinde, çoğunluğu sonbahar-kış döneminde oldukça büyük miktarlarda yakalanan bu balıkların hepsinin taze olarak tüketilmesi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, balığa farklı aroma ve lezzet kazandırılarak her dönemde tüketilmesini sağlamak için işleme teknolojilerinden faydalanılması gerekmektedir. Nitekim dünya genelinde yoğun miktarda balık üretimi yapan ülkeler, işleme teknolojilerinden büyük ölçüde faydalanmaktadır. Bununla beraber günümüzde işleme tekniklerinin kullanımı, balık etinin dayanıklılığının sağlanması amacının da ötesinde, dengeli ve sağlıklı beslenmeyi destekler şekilde, balıkların farklı lezzet ve aromaya sahip olduğu yeni ürünlerin geliştirilmesi yolunda kullanılmakta ve uygulanmaktadır. Kolay uygulanabilirlik ve ucuz maliyet yönünden işleme teknolojileri arasında en yaygın teknoloji, tuzlamadır.

Tarihi MÖ 3000 yılına dayanan tuzlama teknolojisi ile ürünler, dünya genelinde işlenmiş su ürünlerinin %10 ununu oluşturmaktadır. Tuzlanmış balık üretiminin büyük çoğunluğu, Almanya, Hollanda, Norveç, İngiltere, İskoçya ve Rusya da gerçekleştirilmekte, bu ülkelerde en çok ringa türü balıkların tuzlanması yapılmaktadır. Ülkemizde bu teknolojinin en değerli ürün tipi ise lakerdadır.

Lakerda, tuzlu salamurada palamut balığının olgunlaştırılması ile elde edilen ve genellikle yağ içerisinde paketlenerek tüketime sunulan bir üründür. Hammadde olarak torik, palamut ve uskumru gibi yağlı ve kırmızı ete sahip balıkların kullanıldığı bu ürün, oldukça lezzetli ve değerlidir. Bununla beraber sadece kıyı bölgelerimizde üretilerek, tüketilen ve ekonomik değeri yüksek olmasına rağmen, ticari olarak küçük aile işletmelerinde üretimi yapılan bu ürünün, üretim payının artırılarak ülke geneline tanıtılması gerekmektedir. Bu girişimlerden önce ise lakerda ürün ile ilgili standart özelliklerin belirlenmesi üretim formülasyonları ve yanı sıra varsa tüketimde risk oluşturabilecek unsurların incelenerek kamuoyuna duyurulması gerekmektedir.

Lakerda ürün üretiminde kullanılan palamut balığı Uskumrugiller familyasına ait biyojen amin riski taşıyan balıklardır. Gıdalarda biyojen amin varlığı, etteki serbest amino asit içeriği ve mikrobiyal yapı ile bağlantılı oluşmakta, uygun çevresel koşulların varlığında kolaylıkla şekillenebilmektedir (Özoğul, 2001) .Diğer fermente gıdalarda

olduğu gibi, tuzlanmış balık etinde de proteolitik parçalanma sonucu biyojen amin bileşikleri meydana gelebilmektedir (Eitenmiller ve Desouza, 1984). Normal şartlarda insan ve hayvanların biyolojik fonksiyonlarında önemli role sahip olan biyojen aminlerin, gıdalarla fazla miktarda alındıklarında baş ağrıları, hipotansiyon veya hipertansiyon ile çeşitli alerjik reaksiyonlar gibi toksik etkiler gösterebildikleri bilinmektedir. Bu nedenle biyojen aminlerin her gıda tipinde hangi şartlarda oluştuğu, amino asit değişimleri ve biyojen amin oluşumunun önlenmesi ile ilgili bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu durum, hem gıda güvenliği ve halk sağlığı, hem de gıda kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu bağlamda yapılan bu çalışmada öncelikle palamut balığından tuzla olgunlaşması sonucu lakerda üretimi yapılarak ürüne ait karakteristik özellikler belirlenmiş, daha sonra farklı sıcaklık uygulamaları (4, 15, 20°C) ve sarımsak ekstraktı kullanılarak yapılan üretimlerde biyojenik amin oluşum düzeyi tespit edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca, biyojen amin oluşumuna katkı veren mikroorganizmalar da belirlenerek bunların biyojen amin oluşturma kapasiteleri araştırılmıştır.

BÖLÜM 2**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Su Ürünleri Etlerinin Yapısı**

Omurgalı canlılarda; iskelet, kalp ve düz olmak üzere 3 değişik tip kas bulunmaktadır. Balıklarda kas dokusu, sıcakkanlı hayvanlara göre oldukça farklı olup daha homojen dağılım göstermektedir (Bone, 1978). Balık kası, çok sayıda sıkı paketlenmiş miyomer ya da miyotom adı verilen kısımlardan oluşmaktadır. Miyomerler, omur sayısı kadar olup, bağ doku yapısında olan miyoseptaller (miyokommata) tarafından birbirinden ayrılırlar (Bremner ve Hallett, 1985) ve bu kısımlar pişirme sırasında çözülen kısımlardır.

Balığın kası, doku tipine göre açık renkli kas ve koyu renkli kas olmak üzere ikiye ayrılır. Mezgit ve morina gibi açık renkli kasa sahip balıklarda beyaz kas dokusu bütün vücutta bulunurken, kırmızı kas dokusu sadece yanal çizgi boyunca deri altında bulunur. Kırmızı kas dokusu, beyaz kas dokusundan daha az protein barındırmaktadır. Bunun yanı sıra ringa ve uskumru gibi balıklarda daha büyük oranlarda koyu renkli kas bulunmakta, bu kas demetleri yüksek konsantrasyonda yağ, myoglobin, yağın içerdiği vitaminleri ve kılcal damarları barındırmaktadır. Kırmızı kas hücrelerinde kimyasal olaylar aerob, beyaz kas hücrelerinde ise anaerob olarak gerçekleşir. Bu nedenle beyaz kaslar daha çabuk yorulur. Bu iki kasın balıklardaki miktarı türlere göre değişiklik göstermektedir (Dunajski, 1980).

Balığın tüketilen kısmını oluşturan kas dokusu, büyük oranda su, protein ve yağdan meydana gelmektedir. Bunların yanında balık eti; mineral madde, vitaminler ve protein yapıda olmayan azotlu bileşikler de içermektedir (Antonocopoulos, 1973; Tülsner, 1994). Besin kompozisyonunu oluşturan bileşenlerin miktarı; balık türü, aynı türün farklı bireyleri, balık vücudunun farklı kısımları, beslenme, üreme, büyüme, yaş ve çevreye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Tülsner, 1994). Bunların yanı sıra balık kasının yapısı ölümden sonra meydana gelen değişiklikler ve ete uygulanan işleme teknolojilerine göre de yeniden şekillenmektedir (Konagaya, 1990).

2.1.1. Su

Balık etinin ana bileşeni olan su; beyaz etli balıklarda vücut ağırlığının %80'ini oluşturmakta, yağlı balıkların etlerinde ise yaklaşık %60-70 oranında bulunmaktadır. Ette su oranı arttıkça yağ oranı düşmekte, bundan dolayı da ton, somon, uskumru ve yılan balığı gibi yağ oranı yüksek balıklarda su oranının düşük bulunmaktadır (Çizelge 1). Kalkan, pisi ve mezgit gibi yağ oranı düşük balıklarda ise, su oranının yüksek olduğu bildirilmektedir

(Tülsner, 1994). Bununla birlikte her balık türünde üreme mevsiminde balık etinde su içeriği artmakta buna karşılık protein içeriği ise azalmaktadır (Lauritzsen, 2004). Böylece örneğin morina balığında kastaki su içeriğinin belirlenmesi ile balığın hangi evrede olduğu tahmin edilebilmektedir.

Balık etinde su 3 şekilde bulunur;

1) Bağlı Su (Konjuge): Genellikle protein ve yağ moleküllerin bağlı olup, bu molekülleri kolloid taneciği halinde yüzdüren sudur. Isıtıldığı zaman eti terk etmesi zordur (Hamm, 1986).

2) Tutuklu Su (Kapılar Su): Genellikle gözeneklerde yoğunlaşmış halde bulunan ve içinde çeşitli maddelerin çözüldüğü serbest sudur (Varlık ve ark., 2004).

3) Aktif Su: Serbest su olarak da nitelendirilen bu su ısıtıldığı zaman eti kolayca terk eder. Dondurma teknolojisinde ilk önce donan sudur. Bazı balıklarda aktif su; balık vücudundaki mevcut suyun % 98'ini oluşturur (Tülsner, 1994).

2.1.2. Protein

Balık eti, diğer etlere benzer olarak yapısında %14–20 oranında protein bulunduran besinlerdir (Opstvedt, 1988).

Ette bulunan proteinler yapılarına göre üç gruba ayrılırlar.

A) *Stroma Proteinler*: Bağ doku proteini olarak da adlandırılır. Deri, iskelet, kemik, kıkırdak, pul gibi destek yapılarını oluşturur. Toplam proteinin %3-5'ini oluşturur. Su ürünleri etleri bağ doku proteinini kara hayvanları etlerine nazaran daha az miktarda içerirler. Kara hayvanları etleri yaklaşık %15 oranında bağ dokusu proteini ihtiva ederken, balıklar için bu oran sadece %3-5 civarındadır. Suda ve tuz solüsyonunda çözünmeyen bağ doku proteinleri yaklaşık %18 oranında azot içermektedirler. Sindirimi zor veya çok düşük olan bu tip proteinin beslenme açısından da değeri düşüktür. Bağ doku proteini esas itibariyle %90 oranında kollajenden oluşmaktadır. Özellikle uskumru gibi balıklarda kas dokusunda %0,4-0,6 oranında bulunmaktadır. Etteki kollagen içeriği etin sertliğini belirlemekte ve balık boyutu büyüdükçe miktarı artmaktadır (Tülsner, 1994).

B) *Miyofibril Protein*: Toplam proteinin %70–80'i miyofibril proteindir. Aktin ve miyosinden oluşur. Aktin; miyofibril proteinin %20'sini oluşturur ve ince filamentlerde bulunur (O'Brien ve Dickens, 1983). Miyosin ise; kalın filamentlerde bulunur ve toplam miyofibril proteinin %50-60'ını oluşturur (Chaijan ve ark., 2008). Kas dokuda jel formda bulunurlar suda çözünmeyen ancak tuzlu solüsyonlarda çözünebilen proteinlerdir. Balık

etin ısıtılması, soğutulması ve tuz solüsyonuna maruz bırakılması ile aktin ve miyosin jel oluşumunu sağlar (Suzuki, 1981).

C) *Sarkoplazmik Protein*: Toplam proteinin %15-25'ini oluşturan bu protein kas içinde çözülmüş halde bulunmaktadır. Çok çeşitli enzimlerin yapısını oluşturan bu protein kaslara renk verici madde olan miyoglobini de ihtiva eder. Yapısında çok çeşitli fraksiyonlar bulundurabildiği gibi tek tipte de olabilen sarkoplazmik protein, elektroforez ile ayrıştırılabilir. Dolayısıyla organizmaların elektroforez ile tanımlanmalarında bu protein etkilidir. Genellikle pelajik ve semipelajik balıklarda yüksek oranda bulunur (Okada, 1992). Dış etkilerle kolay denatüre olabilen protein ısıtma sonucu çökelek oluşturur.

Çizelge 1. Balık türlerine göre besin kompozisyonları (%) (Tülsner, 1994)

Balık Türü	Su	Protein	Yağ
Gökkuşuğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	67-78	17,7-21,9	2,7-10,6
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	78-80	17,5-18,9	2,0-2,2
Yılan Balığı (<i>Anguilla anguilla</i>)	60-71	14,4	8,0-31,0
Somon (<i>Salmo salar</i>)	67-77	21,5	0,3-14,0
Sardalya (<i>Sardina pilchardus</i>)	60-80	17,0-20,	2,0-18,0
Uskumru (<i>Scomber scombrus</i>)	60-74	16-20	1,0-23,5
Ringa (<i>Clupea harengus</i>)	60-80	16,0-19,0	0,4-22,0
Ton Balığı (<i>Thunnus thynnus</i>)	71	25,2	1-4
Vatoz (<i>Raja clavata</i>)	77-82	18,2-24,2	0,1-1,6
Köpek Balığı (<i>Mustelus mustelus</i>)	75	19,6	3,9-5,6

Peptidler ve serbest amino asitler:

Proteinlerin yıkımı veya yapımı sırasında önem taşıyan bileşikler; peptidler ve amino asitlerdir. Balıklarda bu bileşikler, kompozisyon ve miktar açısından familyalara ve beslenme çeşidine göre farklılıklar göstermektedirler (Barrett, 1989).

Balık eti proteinleri yapısında esansiyel aminoasitlerin tamamını içermektedir. Vücutta birçok önemli işleve sahip olan esansiyel aminoasitler (lösin, izolosin, lizin, valin, metiyonin, fenilalanin, tironin, triptofan) vücutta sentezlenemediklerinden dışarıdan alınmak zorundadır. Bu nedenle bünyesinde esansiyel amino asitlerin tamamını yeterli miktarda içeren balık eti kaliteli protein kaynağı olarak tanımlanmaktadır (Martinez-Valverde ve ark., 2000). Serbest amino asitlerin miktarı balık etinde oldukça azdır, taze

balıkta %1 civarında serbest amino asit bulunmaktadır. Bu değer enzimatik yıkım, mikrobiyal bozulma veya tuzlama, marinat ve kurutma gibi işleme teknolojileri ile yükselmektedir.

Amino asitler karakteristik aroma oluşumunda önemli rol oynarlar (Barrett, 1989). Serbest amino asitler de sinerjistik etki ile bu tat oluşumunun güçlü bir şekilde gerçekleşmesine katkı vermektedirler (Çizelge 2). Serbest amino asitler ve küçük molekülü peptidler, tatlıdan acıya kadar çeşitli tatlardan sorumlu olabilmektedirler. L- ve D- yapısına göre amino asitler, oldukça bariz tat farklılıkları oluşturabilmektedirler. Örneğin L-aminoasitler zayıf acı tadı, D-form aminoasitler ise tatlı tadı vermektedirler.

Çizelge 2. Aroma oluşumunda rol oynayan bazı amino asitler

Amino asit	Ürün
Sülfür içerikliler	
Sistin (C-C)	Et, Kanatlı
Metiyonin (MET)	Patates
Nötral	
Lösin (LEU)	Kakao ve çikolata aroması ve Fındık
Valin (VAL)	Kakao ve çikolata aroması
Fenilalanin (PHE), Glutamik Asit GLU)	Kakao ve çikolata aroması, Fındık, Et, Kanatlı
Temel	
Prolin (PRO)	Krema, Tereyağı, Ekmek, hamur işleri
Arjinin (ARG)	Ekmek, hamur işleri
Histidin (HIS)	Ekmek, hamur işleri
Aromatik	
Fenilalanin (PHE)	Kakao ve çikolata aroması, bal

2.1.3. Lipid

Fosfolipidler ve trigliseridler olmak üzere iki ana gruptan oluşan yağlar, balık etinde %0,1–25 arasında değişiklik göstermektedir (Love, 1970). Memelilerin aksine balıklarda yağlar kas ve karaciğerde depo edilmekte, dağılımları yaşam şekliyle ilintili olarak şekillenmektedir.

Balıklar, bulundukları yağ miktarına göre genel olarak 3 gruba ayrılır;

1- Yağsız Balıklar: Yapılarında %0–1,5 oranında yağ bulundurmaktadır. Örnek olarak; Dil, pisi, mezigit, sudak (Sikorski, 1990).

2- Orta Yağlı Balıklar: Yapılarında %1,5–10 oranında yağ bulunmaktadır. Örnek olarak; Alabalık, sardalya, sazan (Sikorski, 1990).

3- Yağlı Balıklar: Yapılarında %10 ve üzeri oranında yağ bulunduran balıklardır. Yılan balığı, uskumru bu gruba örnek olarak verilebilmektedir (Ackman, 1995).

Balıklar arasında bir genelleme yapılacak olursa, hızlı yüzebilen balıklar yağları genelde kas dokusunda; dip bölgelerde yavaş yüzen balıklar ise karaciğerde depolamaktadır (Ackman, 1990). Üreme mevsiminde, karaciğer ve kaslarda bulunan yağlar gonadların olgunlaşabilmesi için gonadlara taşınır ve yumurtlama ile yağ miktarında hızlı bir düşüş görülür (Pérez-Villarreal ve Pozo, 1990).

Balık yağları neredeyse tamamen trigliseritlerden oluşmaktadır. Fosfolipitler, mum ve steroidler (kolesterol) oldukça az oranlarda (%0,4-1) bulunmaktadır. Fosfolipitler daha çok lesitin ve sefalinden oluşmaktadır. Fosfolipitin yağ içindeki oranı yağ miktarı düştükçe artmaktadır. Örneğin morinalarda (yaklaşık %1) %50-70 oranında, çaça-tirsida ise (yaklaşık %15) %10-20 oranında bulunmaktadırlar.

Gliserin, fosfolipit ve mumlar yağ asitlerinin esterleridir. Bunların yağdaki miktarı yağın karakteristik özelliklerini belirlemektedir. Bu ester bileşikleri kolay hidrolize olmaktadır.

Balıketinde yağ asitleri sayılarla karakterize edilmektedir. İçeriğini temel olarak uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) oluşturur. Su ürünleri yağları, genel itibariyle %20 doymuş yağ asitleri, %80 oranında ise doymamış yağ asitlerinden oluşurlar. Bunun oranı çevrenin sıcaklığına bağlı olarak değişebilmektedir. Yağ asitlerin kompozisyonu biyolojik faktörlere bağlı olarak oluşmaktadır. Balığın beslenme şekli bunlardan en önemlisidir. Diğeri ise balığın yaşadığı çevrenin sıcaklığıdır. Suyun sıcaklığı ne kadar yüksekse doymuş yağ asitlerinin oranı da yüksek olmaktadır (Tülsner, 1994). Doymuş yağ asitlerinden başlıcaları; palmitik asit, miristik asit, stearik asittir. Doymamış yağ asitleri ise kendi içinde tekli doymamış (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) olmak üzere ikiye ayrılır. Tekli doymamış yağ asitleri içerisinde en bilineni oleik asit iken çoklu doymamış yağ asitlerine araşidonik, linoleik, linolenik, eikosapentoneik (EPA) ve dokosaheksanoik (DHA) asitler örnek olarak verilebilir. Çoklu doymamış yağ asitleri omega-3 ve omega-6 yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. (Borgstrom, 1965; Varlık ve ark., 2004).

Kas dokusu içindeki yağın bulunma şekli, balığın dokusal özellikleri ile birebir olarak ilişkilidir. Kas içindeki yağ miktarının, etin gevrekliği ve yumuşaklığına olumlu etki yaptığı bildirilmektedir (Ludorf ve Meyer, 1973; Kinsella, 1988)

2.2. Tuzlama Teknolojisi

Tuzlama teknolojisi bilinen en eski işleme yöntemlerdendir. Geleneksel olarak Kuzey ve Doğu Denizi ülkelerinde uygulanan bu teknolojide genellikle ringa türü balıkların tuzlanması yapılmakla birlikte sürü oluşturan diğer küçük balıklar da bu teknolojide yoğun olarak kullanılmaktadır. Dünyada işlenmiş su ürünlerinin %10'unu tuzlanmış balık oluşturmaktadır.

Tanım olarak tuzlanmış balık; “taze, donmuş balık ve balık parçalarının tuzlama işlemiyle tamamıyla ya da kısmen dayanıklı hale getirilmesi ile hazırlanan ürünler” olarak bilinmektedir. Kullanılan tuz miktarı ve ürüne bağlı olarak; hafif, orta ve sert tuzlama şeklinde üçe ayrılmaktadır (Tülsner, 1994). Aromatik ürünlerin yapılmasında, salamura içerisine baharat ve şeker de ilave edilebilmektedir. Tuzlanmış ürünlerin raf ömrü; tuz, yağ ve nem miktarına bağlı olarak, genellikle bir yıldan daha uzun sürmektedir.

Tuzlanmış ürünün dayanıklılığı, tuzun antimikrobiyal özelliği sayesinde mümkün olmaktadır. Tuz ürün içerisinde ozmotik basıncı yükselterek, ortamda bulunan oksijenin çözünürlüğünü ve bakteriyel proteolitik enzimlerin aktivitesini sınırlamakta ve mikroorganizmalar üzerinde bakterisit ve/veya bakteriyostatik etki yaparak dayanıklılığı sağlamaktadır.

Tuzlanmış üründe lezzet ve aroma kazanımı da yine tuz sayesinde olmakta, tuz ete gevrek bir yapı kazandırmaktadır. Aynı zamanda proteinlerin yapısında kısmen de olsa helikslerin açılmasına ve proteinlerin daha fazla suyu bağlamasına neden olarak etin su tutma kapasitesini ve proteinlerin çözünürlüklerini artırarak, lezzet bileşenlerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Varlık ve ark., 2004; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008). Tuzlanmış balık ürünü, neredeyse tüm balıklardan yapılabilmekte, tercihen yağlı veya orta yağlı, büyük miktarlarda avlanan balıklar materyal olarak kullanılmaktadır. Genellikle dünyada Ringa, Sardalya ve Somon balığından (Tülsner, 1994), ülkemizde ise hamsi, çinekop, istavrit, uskumru, palamut, torik, sardalya, gümüş, çaça, eğrez, inci kefalı gibi balıklardan yapılmaktadır (Yapar, 1989; Lülleci, 1991; Turan ve Erkoyuncu, 1997; Işıklı, 2000; Kılınççeker ve Küçüköner, 2003; Patır ve ark., 2006).

Tuzlama yöntemi; kuru tuzlama (*Kench curing*), kuru-salamura tuzlama (*Pickle salting*), salamura tuzlama ve karışık tuzlama olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır.

Bunların yanı sıra çabuk tuzlama denilen ve kullanımı pek yaygın olmayan, vakumla ve enjektörle tuzlama yöntemleri de bulunmaktadır.

Kuru Tuzlama (*Kench curing*); daha çok yağsız ve orta yağlı balıklarda uygulanan, bir kat balık bir kat tuz konmasıyla yapılan tuzlamadır. Kuru tuzlama adı altında, sert (%25-35), orta (%15-20) ve hafif (%4-13) tuzlama şeklinde üç değişik oranda tuzlama yapılır (Lauritzsen, 2004).

Kuru-Salamura Tuzlama (*Pickle salting*); bu yöntemde kuru tuzun ete girmesi ile çıkan doku suyu drene edilmez ve böylece balık tuz salamurası içerisinde olgunlaşır (Lauritzsen, 2004; Oliveira ve ark., 2012).

Salamura Tuzlama (*Brine salting*); uskumru palamut gibi yağlı balıklara uygulanan bu yöntemde ise balık hazır yapım bir salamuraya daldırılır. Et başlangıçta solüsyona daldırıldığında, dış kas daha yüksek konsantrasyondaki tuza maruz kalmakta ve solüsyon ile et arasındaki tuz dengesi daha uzun sürede gerçekleşmektedir. Salamura, içerisindeki tuz miktarına göre, hafif salamura (<%16 tuz), orta salamura (%17-20), kuvvetli salamura (%20-25) olarak ayrılmaktadır. Bu yöntemde balıkta su kaybı daha az olduğu için geleneksel kuru tuzlama yöntemlerine göre daha yüksek ağırlık verimi sağlanabilmektedir (Lauritzsen, 2004).

Karışık tuzlama: Hem kuru hem salamura yöntemlerinin birlikte kullanıldığı bir yöntemdir. Balıklar önce tek tek tuza bulanır ve fiçılara dizilir. Sonra üzerine salamura eklenir. Bu yöntemle salamuranın tuz konsantrasyonunun seyrelmesi önlenmiş olur (Tülsner, 1994; Hall, 1997).

Enjeksiyon tuzlama, otomatik iğnelerle enjeksiyon yöntemi ile tuzlama son on yılda, tuz giriş hızını artırmak ve ette homojen bir tuz konsantrasyonu dağılımını sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Lauritzsen, 2004; Oliveira ve ark., 2012). Vakum tuzlama ise balık eti yapısına göre daha gözenekli olan sebze ve meyve gibi gıdalarda uygulanmaktadır. Gözenekli gıdalar vakumlu koşullarda ozmotik bir sıvının içerisine yerleştirildiğinde hidrodinamik bir mekanizma oluşur ve tuzlama böyle gerçekleştirilir (Fito ve Pastor, 1994).

Tuzlama işleminin iki amacı; korumak ve olgunlaştırmaktır. Tuzlamada, tuz molekülleri salamuradan balıketine geçtiği sırada, balık etinden de salamuraya bazı bileşikler geçmektedir. Zamanla salamuranın tuz konsantrasyonu düşer, bu arada su oranı da düşer. Yüzeyde oluşan fazla kan ve protein maddelerinden oluşan tabaka ise balıktan salamuraya geçen bileşiklerin birikimi ile meydana gelir. Bu tabaka ürüne aroma kazandırır. Tuzlamada ürünün olgunlaşma süreci, balığın şekline, balık yüzeyinin

özelliğine ve kimyasal yapısına, tuzun konsantrasyonuna ve sıcaklığına, tuzlama yöntemine, tuzun saflık durumuna bağlı olarak değişim göstermektedir.

Tuz balık kasına girdikçe, balık etinde renk değişimleri olur. Olgunlaşma başladığında ise renk sarı-saman rengine doğru dönüşmeye başlar ve et katılaşır. Tuzlu balığın kalitesi dış görünüş, koku ve tadı ile ölçülmektedir. Balık sarı renkli olmalı, yağı kokmamalı, karın kısmı yumuşak olmamalıdır. Tuzlanmış balık teknolojisinde tuzlama işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen ara ürün, tekrar çeşitli işlemlerden geçirilerek son ürün halinde değerlendirilir. Ana salamurada bütün veya parçalanmış halde bulunan balıklar, küçük paketlere alınarak yağ, çeşitli içeriklere sahip soslar ve sebze katkılarıyla tüketime hazır ürün haline getirilir (Tülsner, 1994).

Tuzlanmış ürünlerde hamsi, sardalya palamut gibi balıklardan ançüez, balık ezmesi ve lakerda gibi ürünler üretilebildiği gibi tuzlanmış su ürünleri içerisinde tuzlanmış havyar, tuzlanmış deniz anası ve tuzlanmış deniz kestanesi gibi ürünlerde bulunmaktadır (Varlık ve ark., 2004). Bunlardan lakerda esasen torikten yapılan, günümüzde toriğin az bulunmasından dolayı palamutun takoz şeklinde dilimlenerek kuru ya da salamura tuzlanması ile elde edilen bir üründür. Ülkemizde ve Yunanistan'da çoğunlukla evsel olarak üretilmekte ve salamura ya da ayçiçeği yağı içerisinde muhafaza edilerek saklanmaktadır. Lakerda, uçuk pembe renge, kendine has kokuya ve çok hafif sertlikte dokuya sahip bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Varlık ve ark., 2004; Köse, 2008).

Tuzlanmış balığın raf ömrü genelde, tuz, yağ ve su miktarına, soğuk depolama ve işleme koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Raf ömrü sonlanana kadar, üründe bazı kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerle kalite kaybı gerçekleşmektedir. Ancak tuzlanmış balık etinde olgunlaşma sırasında meydana gelen proteolitik parçalanma sonucu biyojen aminler oluşabilmektedir (Eitenmiller ve Desouza, 1984).

2.2.1. Tuzlama teknolojisinin tarihçesi

Balıkların muhafazasında tuzun kullanımı Bronz çağına kadar uzanmaktadır. Bu çağda Mısır Uygarlığında “ukas” ismiyle anılan tuzlanmış balık, ekmek ile birlikte beslenmenin önemli bir parçası olmuştur (Pedro ve Nunes, 2007). Demir Çağı boyunca ise, Sicilya'dan İstanbul Boğazı'na uzanan Doğu Akdeniz bölgesinde “tarichos” ismiyle anılan tuzlanmış balık çok önemli bir ticari üründür. Eski Yunan ve Romalılarda mersin balığıyla hazırlanan kek “tursio”, balıktan yapılan bir çeşit sucuk veya sosis “garum” ve mayalanmış balık ürünü olan “alec” gibi tuzlanmış balığın birçok çeşidi yapılmıştır. Bu ürünler yoğun olarak kavanoz şeklindeki toprak kaplarda üretilmiş ve satılmıştır (Pedro ve Nunes, 2007).

Orta Çağda ise balıkçılık kuzey Avrupa'ya taşınmış ve burada çok miktarda avlanan ringa balıklarının fiçilerde tuzlanması ile ilgili belgelere rastlanmıştır. 13. Yüzyılda ise İngilizlerin tuzlanmış balığı (ringa, mersin, bakalyaro vb.) askerlere ve gemi mürettebatına yemek olarak verdiği bildirilmektedir (Tülsner, 1994). 15. yy. 'da Kanada'nın keşfi ile birlikte tuzlanmış ve kurutulmuş Morina balığı endüstri halini almış ve Fransız, İngiliz ve Portekizli balıkçıların hazırladığı çeşitli tuzlanmış ürünler farklı isimlerle satılmıştır. ("bacalao", "bacalhau", "baccala" ve "morue") (Pedro ve Nunes, 2007). Tuzlanmış balık endüstrisi 17. ve 18. yy' da iyice yaygınlaşmış olup; dumanlamayla ve şeker ve baharat kullanımı ile ilgili yağlı ringa balıklarının tuzlanmasında bazı yenilikler ortaya çıkmıştır (Pedro ve Nunes, 2007). 20 yy.'da sanayi devrimi ile birlikte tuzlama için makineler geliştirilmiştir. Lakerda ise ilk defa 1326 yılında İspanyol balıkçıları tarafından yapılmış olup ismi istenen anlamına gelen İspanyolca "la kerrida" kelimesinden gelmektedir (Erkan ve ark., 2009). Ülkemizde ise Rum'lardan gelen bir kültür olduğu balıkçıları tarafından bildirilmektedir. Tuzlama yöntemiyle hazırlanan lakerda, tuzun koruyucu etkisi ile uygun ambalaj ve depolama koşulları sağlandığında uzun süre dayandırılabilir.

2.2.2. Tuzlanmış ürün biyokimyası

Tuzlama teknolojisi balık etine, su aktivitesini ve pH'sını düşürerek olgunlaşma ve aynı zamanda koruma sağlayan bir uygulamadır. Tuzla muamelede, iki olay meydana gelmektedir. Bunlar, balığın içinden difüzyonla su çıkışı ve balığa yine difüzyon ile tuz girişi olaylarıdır. Tuz girdiği andan itibaren pozitif yüklü sodyum ve negatif yüklü klor iyonlarına ayrılmakta, bu ters yüklü iyonlar proteinlerin basit şekillerini bozarak, denatürasyonu gerçekleştirmektedirler (Sikorski ve Ruitter, 1995).

Tuzlama sırasında, etten su çıkışı işlemin başlaması ile beraber başlamaktadır. Tuzlama yavaş gerçekleşirse balık daha fazla su kaybetmekte, tekstür sertleşerek lezzet istenilen şekilde geliştirilememektedir. Bunun yanında etteki lipidler balığın yoğun tuzlanması sırasında, bir ölçüde okside olarak bozulmaktadırlar (Shewan, 1955). Tuzlanmış ürün üretiminde işleme sırasında kullanılan tuz, işleme ekipmanları ve/veya kullanılan suda bulunan, iz haldeki demir, bakır, kalsiyum ve magnezyum iyonları; hem lipid oksidasyonunu hem de protein denatürasyonunu hızlandırmaktadır. Tuzun içinde bulunan elementler, protein ve yağların yanı sıra pigment maddelerini de etkilemektedir. Örneğin yapılan bir çalışmada, tuzlanmış morina balıklarının yüzeyinde sarı ve kahverengi renk bozulmalar olabilmekte, bu durum tuzun, bakır ve demir içermesinden kaynaklanmaktadır (Beatty ve Fougère, 1957). Sonuç olarak tuzlama sırasında etteki

moleküler yapıda meydana gelen bu etkileşimler, son ürünün duyuşal özelliklerini değiştirerek negatif veya pozitif yönde şekillenmesini sağlamaktadır (Oliveira ve ark., 2012).

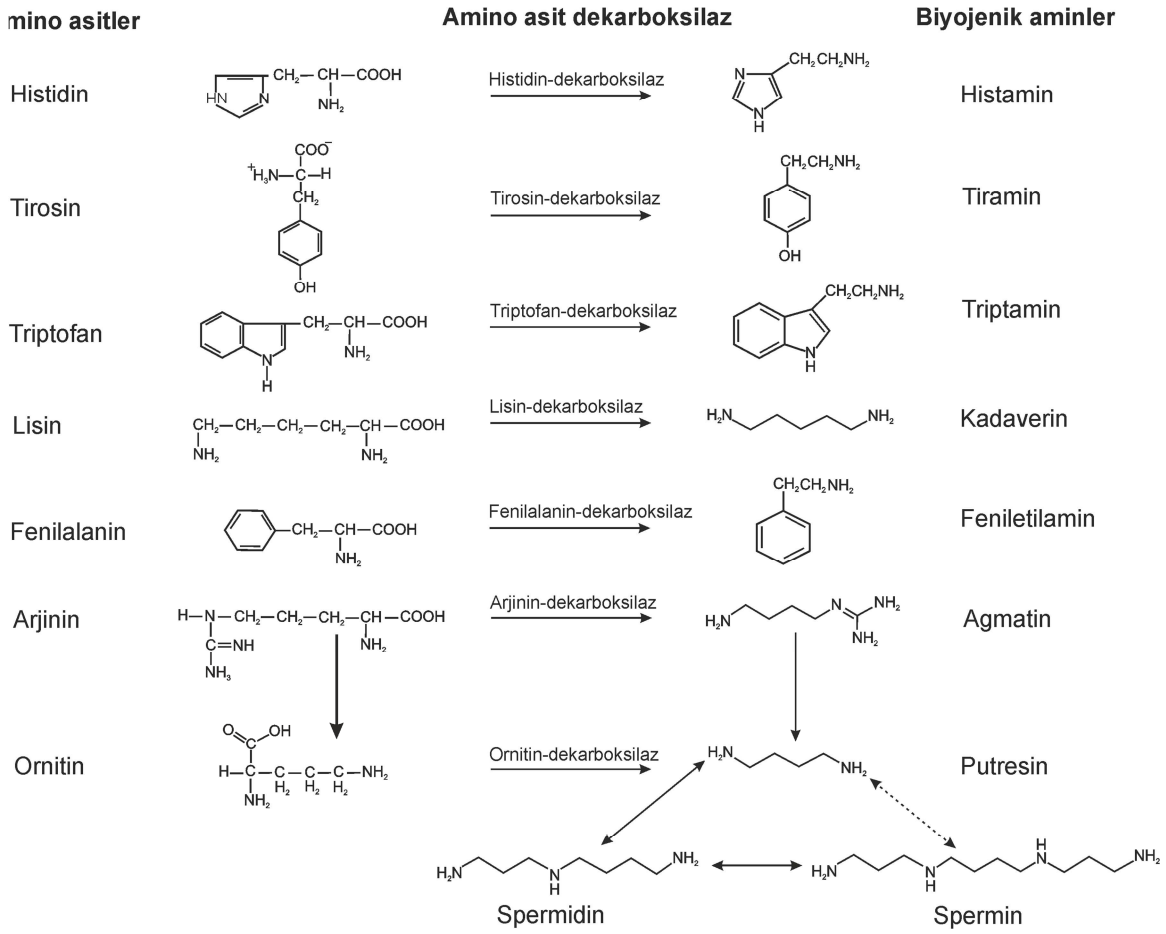
Kuru tuzlama yöntemi ile tuzlanmış balıkta genel olarak tuzun kalın taneli olması (2-4 mm) gerekmektedir. İnce taneli tuz, balık kas içi sıvılarını hızlı bir şekilde çözdürerek doku yüzeyinden suyun hızlı bir şekilde uzaklaşmasına neden olmakta, protein denatürasyonu ve koagülasyonunu hızlı gerçekleştirdiğinden istenmemektedir. Ayrıca bu durumda tuzun balık etinde daha ileriye nüfuz etmesi engellenir ve üründe kalite kaybına neden olan tuz yanığı oluşur (Hall, 1997).

Tuzlamada kullanılan saf sodyum klorür, genellikle balık etini daha yumuşak yapmaktadır. Tuzun yapısında bulunan kalsiyum ve magnezyum (%1 kadar), tuzlanmış balığın hem rengine hem de tekstürüne etki etmekte; kalsiyum tuzları özellikle %0,3 konsantrasyonundan daha yüksek olduğunda, eti haddinden fazla sıkı ve sert yaparak magnezyum içeriğı ile birlikte etin ekstra beyazlaşmasına katkıda bulunmaktadırlar (Wheaton ve Lawson, 1985). Ancak magnezyum tuzlarının ete acı bir tat kattığı da bildirilmektedir (Gillette, 1985; Arganosa ve Marriott, 1989). Bu nedenle çoğu zaman endüstride etin uygun sertliğe geçirilmesinde, kalsiyum içerikli tuz konsantrasyonları kullanılmaktadır (Beatty ve Fougère, 1957; Van Klaveren ve Legendre, 1965; Sikorski ve Ruiten, 1995). Kalsiyum magnezyum içerikli tuzların, bozulmaya katkıda bulunan enzimatik reaksiyonları inhibe etmeye yardımcı olarak bozulmayı geciktirdiğı de ifade edilmektedir (Wheaton ve Lawson, 1985). Genel olarak tuzun yapısındaki kalsiyum ve magnezyumun oranının %0,3-%0,6 (a/a) arasında olması gerektiğı bildirilmekte (Lauritzsen, 2004; Oliveira ve ark., 2012), her ikisinin de tuzda bulunmasının geleneksel tuzlanmış balıklarda güçlü kekremsi tat oluşumunu sağladığı bildirilmektedir (Borgstrom, 1968).

2.3. Biyojenik Aminler

Biyojenik aminler, amonyakta bulunan bir, iki veya üç hidrojen atomunun alkil ve aril grupları ile yer değiştirmesi sonucu oluşan düşük moleköl ağırlıklı bazik karakterli toksik bileşiklerdir (ten Brink ve ark., 1990; Shalaby, 1996; Hornero Mendez ve Garrido Fernandez, 1997; Arena ve Manca de Nadra, 2001). Bu bileşikler; insan, hayvan, bitki ve mikroorganizmaların normal metabolik aktiviteleri sonucu üretilmekte (Rice ve ark., 1976; Shalaby, 1996; Yerlikaya ve Gökoğlu, 2002), aminoasitlerin dekarboksilasyonu veya

aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu sonucu oluşmaktadır (Lapa-Guimaraes ve Pickova, 2004; Silla Santos, 1996; Tassoni ve ark., 2004) (Şekil 1).



Şekil 1. Biyojen aminlerin metabolik yolu (Ruiz-Capillas ve Jiménez-Colmenero, 2010).

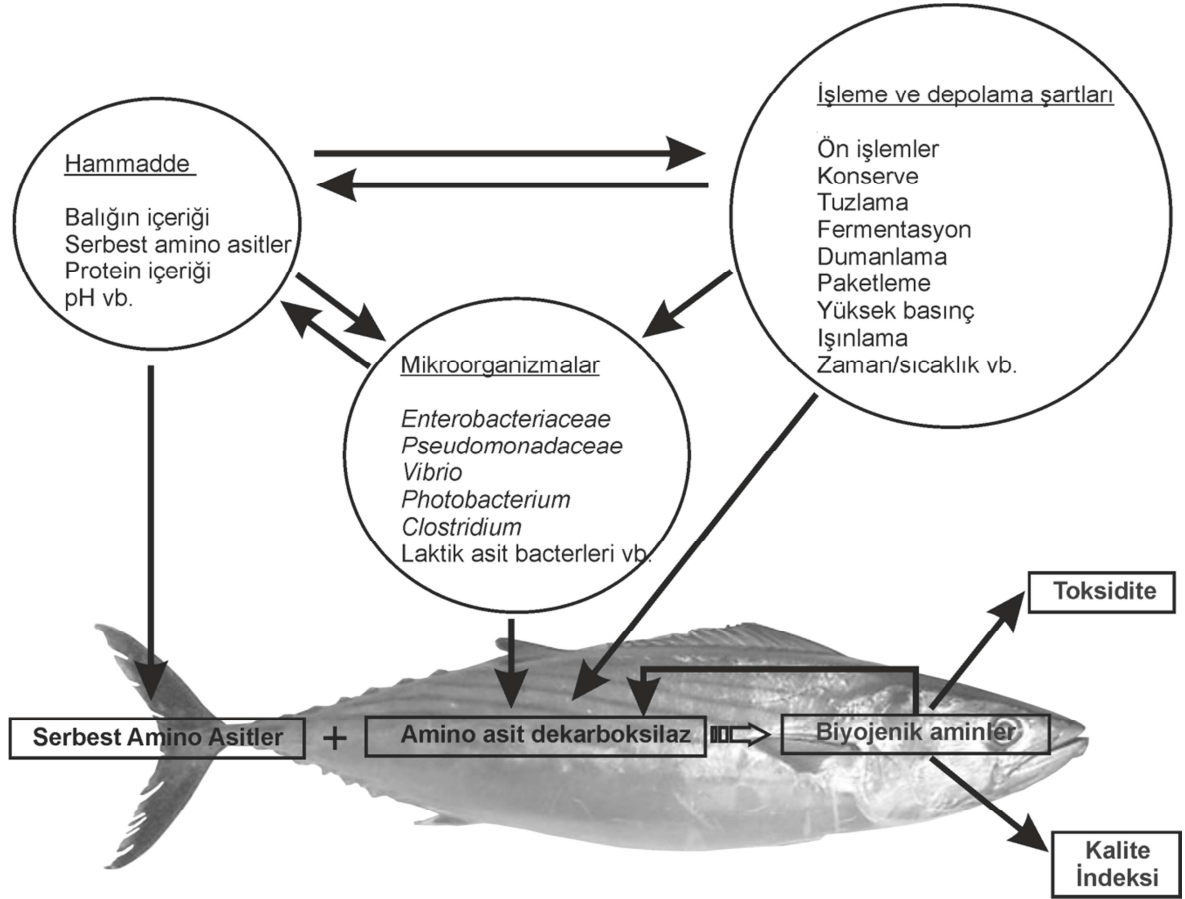
Biyojenik aminler kimyasal açıdan alifatik, aromatik ve heterosiklik (Eerola ve ark., 1993; Maijala ve ark., 1993; Maijala ve ark., 1995; Silla Santos, 1996; Kurt, 2006) yapıda sınıflandırıldıkları gibi içerdikleri azot sayısına göre monoamin, diamin ve poliamin olarak da gruplandırılırlar (Til ve ark., 1997) (Çizelge 3). Hormon, nükleik asit ve protein sentezinin hemen hemen bütün basamaklarında rol oynadıklarından dolayı; insan ve hayvanlarda, hücre büyüme ve çoğalması gibi fizyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde oldukça önemli görevleri bulunmaktadır (Maijala ve ark., 1993; Silla Santos, 1996; Hornero Mendez ve Garrido Fernandez, 1997). İnsan ve hayvan vücudunda kritik bir çok fonksiyonun yerine getirilmesinde önem taşıyan biyojenik aminler, gıdalarla yüksek miktarlarda vücuda alındıklarında ise toksik etki gösterebilmektedirler (Özdestan, 2009).

Çizelge 3. Biyojenik aminlerin sınıflandırılması

Kimyasal Yapılarına Göre		
Alifatik	Aromatik	Heterosiklik
Putresin	Tiramin	Histamin
Kadaverin	β -feniletilamin	Triptamin
Spermin		
Spermidin		
İçerdikleri Amin Grubuna Göre		
Monoaminler	Diaminler	Poliaminler
β -feniletilamin	Histamin	Spermin
	Putresin	Spermidin
	Kadaverin	

2.3.1. Biyojen amin oluşumun etkileyen faktörler

Biyojenik aminlerin bitki kökenli gıdalarda, normal yapıda bulunan maddeler, hayvansal kaynaklı gıdalarda ise genellikle üretim sürecinde ve sonrasında ya da fermente ürünlerde mikrobiyolojik faaliyetler sonucu meydana gelen ürünler oldukları kabul edilmektedir (Gençcelep, 2006). Dolayısıyla yüksek protein ve amino asit içeriğine sahip olan ve biyokimyasal aktiviteye imkan tanıyan tüm gıdalarda, biyojen amin oluşumu görülebilmektedir (Slomkowska ve Ambroziak, 2002; Stratton ve ark., 1991; Kamarı, 2007).



Şekil 2. Balık etinde biyojen amin oluşumuna etki eden faktörler (Ruiz-Capillas ve Jiménez-Colmenero, 2010).

Aminoasitler, bakteriyel faaliyetler veya proteolitik aktivite sonucunda proteinden ayrılarak serbest forma geçebilirler (ten Brink ve ark., 1990). Bakteriler tarafından üretilen dekarboksilaz enzimi aracılığı ile de aminoasitlerde bulunan α -karboksil grubu ayrılarak amino asit dekarboksilasyonu meydana gelmekte, bunun sonucunda ise biyojenik aminler oluşmaktadır (Shalaby, 1996). Bir gıda maddesinde biyojenik aminlerin oluşabilmesi için; 1) gıdanın serbest amino asitleri içermesi 2) gıdanın, amino asit dekarboksilasyonunu sağlayacak enzimlere sahip mikroorganizmaları barındırması 3) dekarboksilasyon pozitif mikroorganizmalarının gelişebileceği ve dekarboksilaz enziminin aktif olabileceği ortam koşullarının (sıcaklık, tuz konsantrasyonu, pH vb.) sağlanmış olması gerekmektedir (ten Brink ve ark., 1990; Silla Santos, 1996; Shalaby, 1996) (Şekil 2). Söz konusu şartlar sağlandığında gıdanın yapısında bulunan histidin, tirozin, triptofan, lizin, fenilalanin, arjinin, ve ornitin gibi amino asitler dekarboksilasyon sonucunda sırasıyla histamin, tiramin, triptamin, kadaverin, feniletilamin, agmatin ve putresine dönüşmektedirler (Halasz ve ark., 1994; Ruiz-Capillas ve Jiménez-Colmenero, 2010).

Aminler gıdalardaki enzimatik aktivite sonucu veya bakterilerin dekarboksilaz aktivitesi sonucu oluştuklarına göre, enzimatik aktivitenin kontrol edilmesi ve bakteriyel üremenin engellenmesi, gıdalardaki amin miktarının kontrol edilmesinde etkili olmaktadır. Örneğin üretim sırasında kullanılan katkı maddeleri, ürünün pH'sı, depolama ısısı, depolama süresi, pişirme şekilleri üretim şartları gibi uygulanan işlemler; tiramin, putresin ve kadaverin gibi amino asit konsantrasyonlarının düzeylerini belirleyen faktörlerdir (Silla Santos, 1996; Nassar ve Emam, 2002).

2.3.1.1. Sıcaklık ve pH

Decarboksilaz aktivitesini ve dolayısıyla biyojenik amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden birisi pH'dır (Şenman, 2007). Biyojenik amin oluşumu, asidik ortamlarda bakteri için koruyucu bir mekanizmadır (Maijala ve ark., 1993; Teodorovic ve ark., 1994; Masson ve ark., 1997). Asidik ortamlarda aminoasit dekarboksilaz aktivitesi daha güçlü olmaktadır. Amin oluşumunda pH'nın 4,0-5,5 arasında bulunması optimum olarak bildirilmektedir (Silla Santos, 1996).

Yapılan bir çalışmada asidik ortamda (pH 5,0) *Lactobacillus bulgaricus*'un, amino asit ilave edilerek kuvvetlendirilmiş MRS broth'da, daha fazla histamin, tiramin ve triptamin ürettiği tespit edilmiştir (Maijala, 1994). Glukoz gibi fermente olabilen karbonhidratların varlığı da, bakterilerin gelişmesini ve aminoasit dekarboksilaz aktivitesini artırmaktadır. Çünkü şekerin parçalanması ile laktik asit oluşumu gerçekleşmekte, böylece pH düşüşü sağlanmaktadır. Biyojen amin oluşumu için, glukoz konsantrasyonunun %0,5-2 olduğu durumlar optimal kabul edilirken (Masson ve ark., 1997), %3'ü aştığı durumlarda enzim oluşumu engellendiğinden biyojenik amin oluşumuna olumsuz etki yapmaktadır (Silla Santos, 1996). *Enterococcus faecalis* ile yapılan başka bir çalışmada ise, L-tirozin ve glukoz ilave edilmiş broth'ta pH 5,0-8,0 arasında yüksek miktarlarda tiramin üretildiği tespit edilmiştir (Beutling, 1996). Hızlı bir tirozin dekarboksilasyonu için optimum pH 7,0 olarak bulunmuştur. Glukozun, bakterinin üremesi ve tiramin oluşumuna olumlu etki ettiği, dekarboksilaz enzim aktivitesi üzerine etki etmediği belirtilmektedir. Sucuk üretiminde kullanılan GDL (Glucano-delta-lactone)'nin biyojenik amin oluşumuna etkisi ile ilgili yapılan çalışmada ise, suda glukonik aside hidroliz olan GDL nin hızlı bir pH düşüşü sağlayarak enzim aktivitesine katkı verdiği bildirilmiştir (Maijala, 1994). Kıyma örneklerine GDL ilave edilerek sağlanan pH azalmasının biyojenik aminlerden histamin ve putresin seviyelerinde de önemli bir azalma yarattığı belirlenmiştir (Maijala ve ark., 1993).

Sıcaklık da, bakterilerin amin üretimini büyük ölçüde etkilemektedir (Çolak, 2000). Biyojen amin oluşumuna katkı veren bakterilerin, sıcaklık toleransları farklılık göstermektedir (Masson ve ark., 1997; Çolak ve Aksu, 2002). Örneğin; *Enterobacter cloacae* laboratuvar koşullarında 20°C'de 24 saatlik bir inkübasyon sonrasında 2 mg/ml putresin üretirken, 10°C'de amin üretimini gerçekleştirememektedir. *Klebsiella pneumoniae*'de sıcaklığa karşı fazla duyarlı olmamakla birlikte 10°C'de 20°C'ye göre daha az oranda kadaverin üretimi gerçekleştirmektedir (Halasz ve ark., 1994). Biyojenik amin miktarlarının, depolama süresi ve sıcaklığı ile pozitif korelasyon içinde olduğu bildirilmektedir (Silla Santos, 1996). Ababouch ve arkadaşları (1991) üç *Proteus* türü tarafından histamin oluşumunu araştırdıkları çalışmalarında, bu türlerin pH 5,0'te pH 7,0'ye göre ve 25°C'de, 4°C'ye veya 35°C'ye göre daha aktif olduğunu bildirmektedir. Çolak ve Ugur (2002) tarafından yapılan bir çalışmada ise, oda sıcaklığında muhafaza edilen sucuk örneklerinde belirlenen putresin miktarının, buzdolabında depolanan örneklere göre artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Sıcaklığın, gıdalarda biyojen amin oluşumu üzerinde de belirgin bir etkisi olduğu çok iyi bilinmektedir (Shalaby, 1996; Gardini ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada Gouda peynirlerinde, histamin miktarının depolama sıcaklığı arttıkça artış gösterdiği tespit edilmiştir (Stratton ve ark., 1991). Klausen ve Lund (1986) tarafından yapılan bir çalışmada ise uskumru ve ringada 10°C'deki biyojen amin içeriğinin, 2°C'ye göre 20 kat daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Wendakoon ve arkadaşları (1990) tarafından yapılan başka bir çalışmada uskumrunun buzda depolanması sırasında hiçbir amin üretiminin olmadığı bildirilmiştir. Yoshida ve Nakamura (1982) taze balıkta hiçbir histamin içeriğine rastlamazken, oda sıcaklığında bekletilen balıklarda histamin oranının, 24 saat içinde 28,4 ppm'e ve 48 saatten sonra 1540 ppm'e ulaştığını tespit etmiştir.

Taze balığın yanı sıra marine ve tuzlanmış su ürünlerinde de biyojen amin oluşumundan bahsedilmektedir. Özellikle histamin riski olan balıklarla üretilen bu tür teknolojik ürünlerde ciddi bir risk bulunduğu birçok araştırmacı tarafından ifade edilmektedir (Koral, 2012). Tuzlanmış balıklarda kötü kaliteli hammadde, yetersiz işleme ve depolamaya bağlı olarak yüksek miktarlarda histamin oluştuğu ve bununda histamin zehirlenmesine neden olduğu bildirilmektedir (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994). İtalya'da 1990-1993 yıllarında incelemeye alınan örneklerden yüksek histamin içeriğine sahip olanların çok büyük bir kısmının hamsi ürünleri olduğuna değinilmektedir (Serpe ve ark., 1995). Kimata ve Kawai (1953), tombik balığında (*Auxis thazard thazard*) pH 6,2'de, pH 5,6 ve 6,7'den çok daha hızlı bir şekilde histamin gelişimi olduğunu vurgulamışlardır.

2.3.1.2. Tuz konsantrasyonu

Biyojenik amin oluşumunda, ortamın tuz konsantrasyonu önemli bir faktördür (Aydın, 2006). Tuz konsantrasyonunun %5'ten fazla olmasının, histamin oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (Beutling, 1996). Ababouch ve arkadaşları (1991) üç ayrı *Proteus* türü ile yaptıkları çalışmalarında, %8 NaCl ilavesinin etkili bir şekilde histidin dekarboksilaz aktivitesini azalttığını belirtmekte, diğer taraftan kuvvetli histamin oluşturma kabiliyetine sahip *Staphylococcus capitis*'in %10 NaCl içerikli besiyerinde yaklaşık 400 mg/ml histamin üretebildiği rapor edilmiştir (Hernandez-Herrero ve ark., 1999). *Carnobacterium divergens*'in tiramin üretiminin araştırıldığı bir çalışmada da, %10 NaCl'ün tiramin oluşumunu engellediği bildirilmektedir (Masson ve ark., 1997). Teodorovic ve arkadaşları (1994), %3,5 tuz veya %0,02 oranında sodyum nitrit katılan brotlarda kontrol grubuna kıyasla histamin değerlerinin benzer olduğunu bulmuşlardır.

Tuzlama, histidin dekarboksilaz aktivitesini inhibe etmektedir. Ancak halotolerant bakteriler için tuzlama pek bir önem taşımamaktadır. % 12 NaCl konsantrasyonuna sahip sardalya etinde halotolerant bakterilerin biyojen amin ürettiği tespit edilmiştir (Shalaby, 1996). Uskumru etinde ise histamin üretimi, tuz konsantrasyonu ne olursa olsun, tuzlama ile inhibe edilmiş ve hemen hemen hiç üretilmemiştir (Silla Santos, 1996). Chandler ve Mcmeekin (1989) tarafından yapılan bir çalışmada; ortamın tuz konsantrasyonunun 0'dan % 6'ya çıkarılmasıyla *Lactobacillus bulgaricus*'un ürettiği amin miktarının büyük ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Bu negatif etkinin nedeni, yüksek NaCl konsantrasyonu nedeniyle, hücre bölünmesinin azalması ve/veya mikrobiyal dekarboksilaz enzimi taşıyan membranlarda meydana gelen hasarlara bağlanmıştır (Gardini ve ark., 2001). Gardini ve arkadaşları (2001), tarafından yapılan aynı çalışmada, *E. feucelis* EF37 suşunun biyojen amin oluşturma aktivitesi; inkübasyon sıcaklığı, NaCl konsantrasyonu ve ortam pH'sı olmak üzere üç farklı değişkene göre belirlenmiştir. Araştırmacılar, söz konusu çalışmada biyojen amin üretiminin ortam sıcaklığından bağımsız olarak, yüksek tuz konsantrasyonunda azaldığını bulmuşlardır.

2.3.1.3. Starter kültür kullanımı

Fermente gıdaların üretiminde genellikle mikroorganizmalardan faydalanılmaktadır. Bir çok gıdanın hazırlığında önemli rol oynayan laktik asit bakterileri, gıdalarda putresin, kadaverin, histamin ve tiramin oluşumundan sorumlu tutulmaktadır (ten Brink ve ark., 1990; Silla Santos, 1996). Bununla beraber fermente et ürünlerinde, starter kültür kullanımının, doğal mikroflora kullanılarak elde edilen ürünlere oranla daha az miktarlarda

biyojen amin üretimine sebep olduğu da araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Silla Santos, 1996). Dolayısıyla bu tip ürünlerde starter kültür kullanımının biyojen amin üretiminin azaltılması açısından iyi bir çözüm yolu teşkil ettiği belirtilmektedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada, starter kültürlerinin gıdada, özellikle etkili bir biyojen amin üreticisi olan *Enterobacteriaceae* familyası üyelerini inhibe ettikleri ve dolayısıyla biyojen amin oluşumunu baskıladıkları bildirilmektedir (Hernandez Jover ve ark., 1997). Starter kültür ilavesi ile üretilen gıdalarda çeşitli biyojen aminlerin oluşumunun engellendiğinin tespit edildiği çalışmalar bulunmaktadır (Çolak ve Aksu, 2002). Diğer taraftan gıdalarda amin-negatif starterlerin de kullanıldığı ve bunların biyojen amin oluşturma kabiliyetine etki etmediği de bildirilmektedir (Eerola ve ark., 1996).

2.3.2. Biyojen amin üretiminden sorumlu mikroorganizmalar

Aminoasit dekarboksilazı bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* gibi türlerin yanı sıra *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptirler (ten Brink ve ark., 1990; Yeğın, 2006). Bununla beraber su ürünlerinden elde edilen gıdalarda, balığın türüne bağlı olarak da biyojen amin oluşumunda rol alan bakteriler değişiklik gösterebilmektedir. Örneğın, Scombroid zehirlenmesine dahil edilen balıklarda histamin oluşturan bakterilerin; *Morganella morganii* (Arnold ve Brown, 1978), *Klebsiella pneumoniae* (Taylor ve ark., 1979), *Hafnia alvei* (Havelka, 1967), *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio alginolytius* (Arnold ve ark., 1980; Frank ve ark., 1985) olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca araştırmacılar, kalite kaybına uğramış balıktan izole edilen ve dekarboksilaz aktivitesi gösteren bakterileri *Acinobacter iwoffi*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Aeromonas hydrophyla* (Middlebrooks ve ark., 1988) ve *Plesiomonas shigelloides* (Lopez-Sabater ve ark., 1994) olduğunu bildirmişlerdir.

Fermente balık ürünlerinde histamin üreten bakterileri ise araştırmacılar, tuza toleranslı *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp. ve *Pseudomonas* sp. olarak teşhis etmişlerdir (Lovenberg, 1973; Yatsunami ve Echigo, 1993). Aynı zamanda *Photobacterium* (Okuzumi ve ark., 1990; Rawles ve ark., 1996), *Morganella morganii*, *Bacillus* spp. ve *Staphylococcus xylosus* gibi bakterilerinde tuzlanmış ürünlerde biyojen amin üreticisi oldukları saptanmıştır (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994).

2.3.3. Biyojenik aminlerin toksikolojik özellikleri

Biyojenik aminlerin neden olduğu gıda kaynaklı intoksikasyonlardan en sık görüleni “scombroid balık zehirlenmesi” olarak adlandırılan histamin zehirlenmesidir. Söz konusu histamin zehirlenmesi, kaslarında yüksek oranda serbest histidin içeren Scomberesocidae (zurna balığı) ve Scombridae familyası (Ton, Uskumru, Palamut, İspanyol Uskumrusu), Clupeidae ve Engraulidae familyasına ait balık türlerinin tüketilmesiyle ortaya çıkmaktadır. Ancak insan vücudunda meydana getirdiği toksik etkiler ilk kez uskumru balıklarının tüketen kişilerde saptandığı için bu zehirlenmeye çok eskiden beri scombroid balık zehirlenmesi adı verilmiştir (Gökoglu ve Varlık, 1995; Turantaş ve Öksüz, 1998; Jeyasekaran ve Jeya-Shakila, 2003).

Histamin zehirlenmesindeki klasik semptomlar daha çok alerjik reaksiyonlara benzemektedir (Stratton ve ark., 1991). Tipik zehirlenme belirtileri; bulantı, kusma, ishal, karın ağrıları, çarpıntı, susama, tansiyon düşmesi ve şiddetli baş ağrısı olarak sıralanabilir (Erginkaya ve Var, 1989). İngiltere’de 1976-1986 yılları arasında histamin zehirlenmesi şüphesi görülen insanlarda en yaygın olarak belirtiler ise düşünme kaybı, ishal, kızarma, terleme ve baş ağrısı olmuştur (Stratton ve ark., 1991).

Biyojen aminlerin vücuttaki toksik düzeyleri, bireyin toleransı ve toplam aminlerin konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiği için tam olarak belirlenmemektedir (Halasz ve ark., 1994; Lehane ve Olley, 2000). Bununla beraber, gıdalarda bulunan >100 mg/kg histaminin, 100-800 mg/kg tiraminin ya da alkollü içeceklerde bulunan >2 mg/kg histaminin insan bünyesinde zehirlenmeye yol açabileceği rapor edilmektedir (Ijomah ve ark., 1991). Til ve arkadaşları (1997) farelerle yaptıkları çalışmada ise, oral olarak alınan bazı biyojen aminlerin neden oldukları akut toksisite dozunu putresin için >2000 mg/kg, spermin için 2000 mg/kg ve spermidin için ise 600 mg/kg olarak saptamışlardır. Balıklarda bulunan histamin sınır düzeyi ise 100 mg/kg olarak verilmektedir (Shalaby, 1996). Bunun yanında histaminin miktarı, genellikle pek çok gıda ürünüde bozulma indikatörü olarak da kullanılmaktadır. Ancak bazı araştırmacılar tarafından, histamin miktarının kaliteye özgü gerçeği her zaman yansıtmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle Mietz ve Karmas (1977), konserve ton balıklarında 5 biyojen amini ilişkilendirerek bir kalite indeksi (QI) oluşturmuştur. Bu indekse göre konserve edilmiş ton balıklarının iyi kalitede sayılması için kimyasal indeks değerinin 0-1 arasında olması gerektiği bildirilmiştir (Mietz ve Karmas, 1977).

$$QI = \left(\frac{\text{Histamin} + \text{Kadaverin} + \text{Putresin}}{1 + \text{Spermin} + \text{Spermidin}} \right) \quad (1)$$

QI= Biyojen amin kalite indeksi

2.4. Gıdalarda Doğal Bitki Ekstraktlarının Kullanımı

Gıda üretiminde, yağ oksidasyonu ve mikrobiyolojik yük, gıdada kalite kaybını ve raf ömrünü belirleyen en önemli faktörlerdir (Fernandez-Lopez ve ark., 2005). Bu nedenle gıda üreticileri, yağ oksidasyonunu geciktirmek ve mikrobiyolojik üremeyi önlemek gibi konular üzerine sürekli çalışmalar yapmaktadırlar. Et ürünlerinde, bakterilerin gelişmesi gıdanın bozulmasına ya da gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilirken, et ürünlerinin oksidasyona maruz kalması sonucu ise yağlarda ve proteinlerde meydana gelen yıkım ve bozulmalardan dolayı etin rengi, kokusu, dokusu ve tadı değişebilmektedir (Decker ve ark., 1995). Et endüstrisi başta olmak üzere gıda sanayisinde, gerek yağ oksidasyonun gerekse mikrobiyal gelişmeyi baskılamak amacıyla katkı maddeleri kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda, gerek kimyasal katkı maddelerinin insan sağlığı üzerine çeşitli zararlarının ortaya çıkması, gerekse bitkisel özütü ve baharat niteliğindeki maddelerin faydalarını ortaya koyan çeşitli çalışmalar, tahıllardan, tohumlardan, baharatlardan, meyvelerden ve sebzelerden elde edilen bileşiklerin katkı maddesi olarak da kullanılmasının önünü açmıştır (Üner ve ark., 2000; Altıok ve ark., 2006). Bitki özütleri ve baharatlar, koruyucu etkilerinin yanında sadece lezzet ve aromayı iyileştirmek ve gıdanın görünümünü zenginleştirmek amacı ile kullanılabilir (Aran, 1988; Üner ve ark., 2000). Su ürünlerinin pişirilmesi ve işlenmesinde; kekik, biberiye, fesleğen, defne yaprağı, zencefil, mercan kökü, hardal, muskat, nane, paprika, maydanoz, karabiber-beyaz karabiber (tane ve toz), kırmızıbiber (toz ve pul), adaçayı, tarhun, sarımsak gibi baharatlar lezzet ve aroma kazandırmak amacıyla kullanılabilir (Çakır, 2010). Bunlar içerisinde sarımsak, yapısında bulunan allisin, ajoen ve dialil-sülfür bileşikleri içermektedir (Arnault ve Auger, 2006). En önemli biyokimyasal özelliğinin antioksidan etkisi olduğu belirtilmektedir (Kim ve ark., 1997; Lampe, 1999; Nuutila ve ark., 2003). Bu etkinin sarımsağın reaktif oksijen türlerini tüketme ve lipid peroksit oluşumunu baskılama özelliklerine bağlı olduğu bildirilmiştir (Özkaynak ve Karakaya, 2009). Ayrıca yapılan çalışmalarda sarımsağın antibakteriyel aktivitesinin de olduğu rapor edilmiştir (Harris ve ark., 2001).

2.5. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada esas olarak, ülkemizde beğenilerek tüketilen lakerdanın, farklı sıcaklıklarda olgunlaşması sırasında ortaya çıkan serbest amino asitler ve bu amino asitlerden oluşan biyojenik aminlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ürüne sarımsak ekstraktı ilavesi yapılarak, sarımsağın ürünün kalite özellikleri ve biyojen amin oluşumuna etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Diğer taraftan, üründe biyojen aminlerin oluşumuna katkı veren bakteriler tanımlanarak, bakterilerin biyojen amin oluşturma kapasitelerinin de belirlenmesi hedeflenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

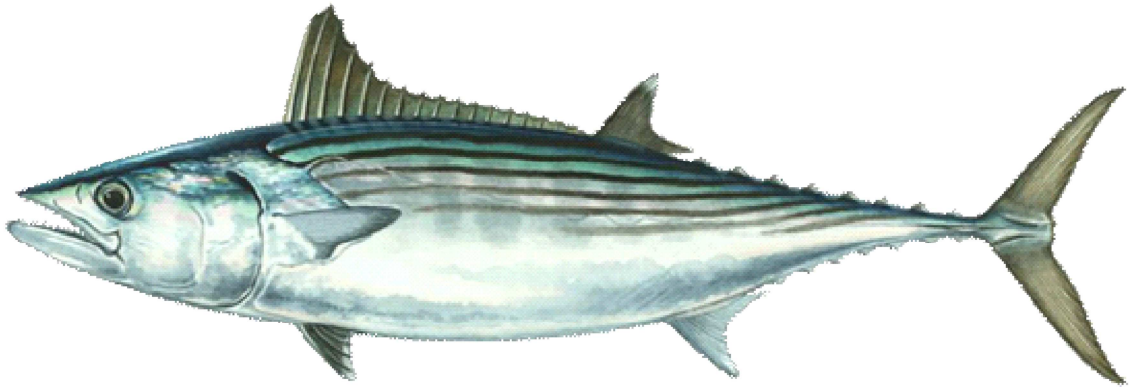
3.1.1. Balık materyali

Araştırmada materyal olarak Palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balığı kullanılmıştır (Şekil 3).

Çalışmada kullanılan palamut balıkları, Eylül 2010 ve Aralık 2011 tarihleri arasında Çanakkale Boğazı'ndan avlanmış ve buzlanmış olarak Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilmiştir. Araştırmada ortalama boyları $45,03\pm 0,51$ cm ve ortalama ağırlıkları $868,32\pm 0,24$ gr olan toplam 120 adet balık materyal olarak kullanılmıştır.

Sarda sarda:

Palamut balığı olarak bilinen *Sarda sarda* genellikle sıcak ve ılıman denizlerin hem açık hem de kıyı taraflarında yaşayan ekonomik öneme sahip bir balıktır. Oldukça büyük ve keskin dişlerle kaplı olan ağzı, torpil biçimindeki bedeninin ucundadır. Sırtı genellikle mavimsi renkte olan palamutun yanları ve karın kısmı gümüşü beyazdır. Büyük sürüler halinde yaşayan bu balık mevsimlik göçler yapar. Ülkemizde Akdeniz ve Karadeniz arasında göçler yapan palamutun avcılığı gırgır ve uzatma ağıları ile gerçekleştirilmektedir. Tüketimi taze, dondurulmuş ve tuzlanmış olarak yapılan bu balığın, tuzlanmış şekli “lakerda” olarak adlandırılmaktadır.



Şekil 3. Palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793).

3.1.2. Tuz

Çalışmada kullanılan tuz; ticari deniz tuzu olup Uyar Tuz San. ve Tic. A.Ş. firmasından temin edilmiştir. Kullanılan tuzu bileşimi Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan tuzun bileşimi

İhtiva eden bileşikler	Miktar (%)
NaCl (kuru)	99,07
NaCl	98,62
CaSO ₄	0,1702
CaCl ₂	-
MgSO ₄	0,1190
MgCl ₂	0,2154
Nem	0,45
Suda çözünmeyen madde	0,43

3.1.3. Ambalaj materyali

Araştırmada balıkların olgunlaştırılması Üçsan Plastik Kalıp Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. firmasından temin edilen, 215 x 290 x 200 mm ölçülerinde ve 10 lt kapasiteli silikon contalı sızdırmaz kilitli saklama kaplarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.4. Sarımsak

Araştırmada Kastamonu ili Taşköprü ilçesinde üretilen Taşköprü sarımsağı (*Allium sativum*) kullanılmıştır.

Allium sativum:

Sarımsak, antibakteriyel özelliği 1858’de Pasteur tarafından keşfedilen, Liliaceae (Zambakgiller) familyasına ait, kimyası oldukça karmaşık bir sebzedir. Bileşenleri yetiştiği toprağa ve depolama şartlarına bağlı olarak değişen sarımsak, ortalama %63 su, %23 karbonhidrat ve %4,4 oranında ise protein içermektedir (Atmaca, 2003). Mikrobiyal üremenin kontrol altına alınmasında doğal bir koruyucu olan sarımsak, yüzyıllardır çeşitli toplumlarda, parazitlere, funguslara, bakteri ve virüslere karşı tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2001).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yapısındaki kükürt içeren bileşenlerin, yanı sıra proteinler, saponinler ve fenolik bileşiklerin de antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu

göstermiştir (Jastrzebski ve ark., 2007). Sarımsak, antimikrobiyel özellik dışında antioksidan, antikanserojen, antimitojen şekilde oluşan fitokimyasal bileşenleri de içermektedir (Chung, 2006).

3.1.4. Araştırmada kullanılan alet ve malzemeler

Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler Ekler kısmında (Ek 1) verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme planı

Yapılan çalışmada palamut balıkları, 3 farklı sıcaklıkta (+4°C, 15°C ve 20°C) ve sarımsaksız ve sarımsaklı olmak üzere iki grupta bir deneme planına sahip olarak olgunlaştırılmış ve lakerda haline getirilmiştir. Böylece çalışmada 6 farklı örnek grubu oluşmuştur. Denemede analizler; taze balıkta, ön tuzlanmış balıkta ve olgunlaşma sürecinin çeşitli zaman aralıklarında (1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17 ve 22. günlerde) gerçekleştirilmiştir. Her analiz gününde, her örnek grubundan 5'er adet lakerda takozu (yaklaşık 650 g) rastgele olarak alınmış ve bir kısmı mikrobiyolojik analizler için ayrıldıktan sonra kalan kısmına öncelikle olgunlaşmanın belirlenebilmesi için renk, tekstür ve duyu analizler yapılmıştır. Söz konusu bu analizlerden artan örnekler kıyılarak homojenize edilmiş ve kimyasal ve fiziksel analizler için kullanılmıştır. Çalışmada renk ve tekstür analizleri 10 tekrerrü diğer analizler 3 tekrerrü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Sarımsak ekstraksiyonu

Sarımsak ekstraksiyonunda suda çözündürme yöntemi kullanılmıştır (Sermenli, 2006). Bunun için sarımsaklar öncelikle porselen havanda ezilmiş ve 1:1 oranında distile su ilave edildikten sonra blender ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım, 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 5 dakika süre ile 6000 rpm devirde santrifüjlenmiştir. Bu karışımın üst kısmında toplanan sıvı, sarımsak ekstraktı olarak steril şişeler içerisine alınarak +4°C'lik buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.

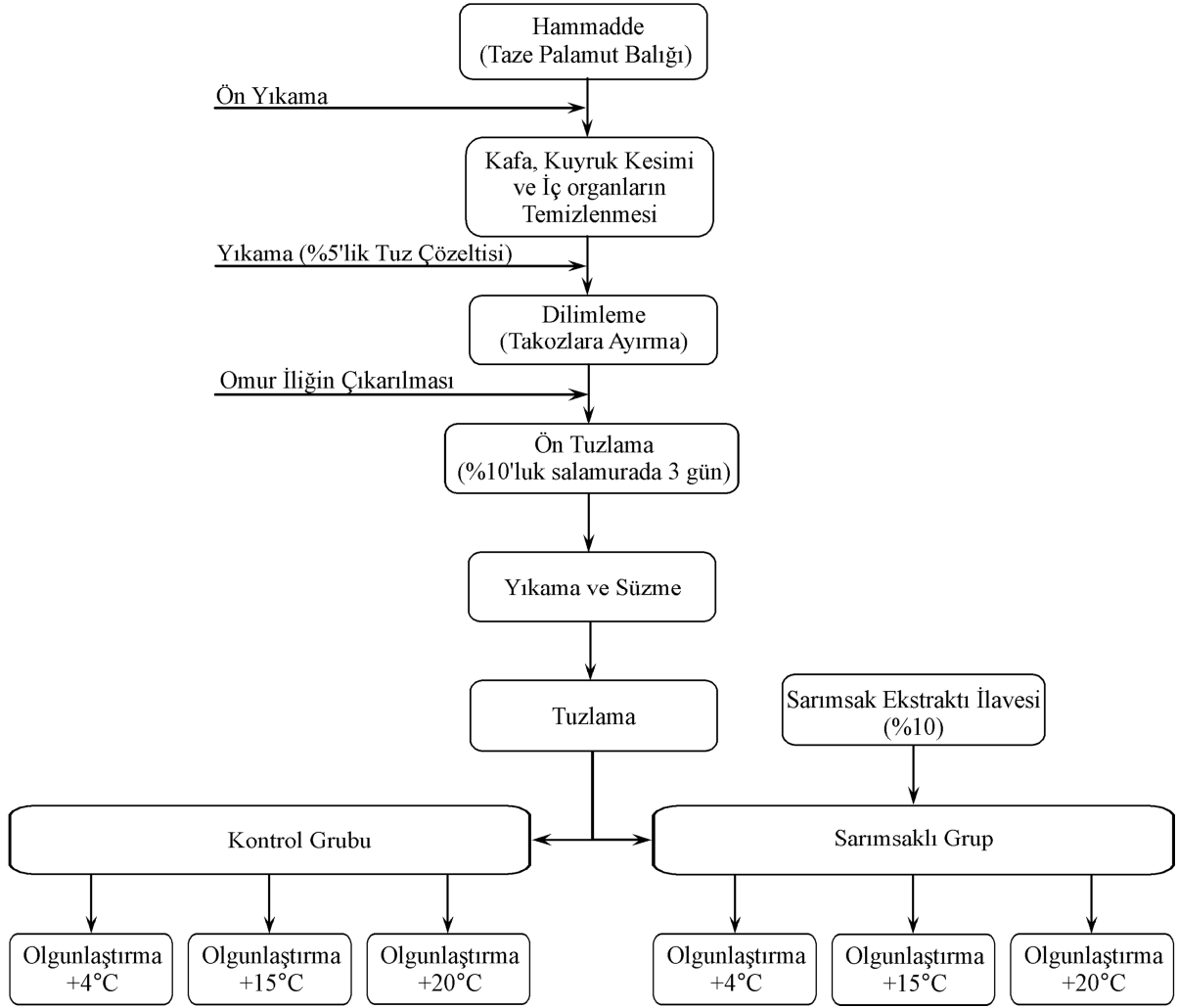
3.2.3. Hammaddenin hazırlanması

Laboratuvarda öncelikle palamut balıklarına ön yıkama işlemi uygulanmıştır. Daha sonra kafa, kuyruk, yüzgeç ve iç organlarından arındırılan balıklar %5 tuz içeren solüsyon ile tekrar yıkanarak 5'er cm genişliğinde kesilerek takozlar haline getirilmiştir. Son olarak

ise kürdan yardımıyla kemik içinde bulunan ilik ve kenarlardaki kan pıhtılarından arındırılmıştır (Şekil 4).

3.2.4. Lakerdanni üretimi

Balıklar temizlendikten sonra % 10 tuz içeren buzlu salamurada 3 gün süre ile her gün buzlu salamura değiştirilerek bekletilmiş ve salamuradan çıkartıldıktan sonra 1 saat süre ile suyunun süzülmesi sağlanmıştır. Palamut balıklarının esas tuzlaması için, balık parçaları derisiz-iç kısımları tuza bandırılarak kaplara sıkı bir şekilde dizilmiştir. Balığın oluşan salamurada yüzeye çıkmasını engellemek için ise üzerinden ağırlık ile bastırılmıştır. Araştırmada toplam 6 farklı örnek grubu oluşturulmuştur. Bu örnek gruplarının 3 adedi lakerdanni olgunlaştırılması sırasında ürün kalitesine etki eden olgunlaşma sıcaklığının (4, 15 ve 20°C) etkisinin tespiti amacıyla “kontrol grubu” olarak, diğer 3 adedi ise bu sıcaklıklarda sarımsağın etkisinin tespiti amacıyla “sarımsaklı grup” olarak hazırlanmıştır. (Şekil 4). Lakerdalara sarımsak ekstraktı, balıkların esas tuzlama aşamasından sonra su salması ile oluşan (yaklaşık 3 gün) salamuraya, duyusal analizlerle tespit edilen konsantrasyonda ilave edilmiştir. Lakerdanni olgunlaşma süreleri duyusal ve fiziksel (renk ve tekstür) analizler ile saptanmıştır.



Şekil 4. Lakerda akış şeması ve örnek grupları.

3.2.5. Sarımsak ekstraktına ait analizler

3.2.5.1. Antioksidan özelliklerin belirlenmesi

Radikal giderme aktivitesi tayini

Radikal giderme aktivitesi (DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)) tayini Brand-Williams ve arkadaşları (1995)'na göre yapılmıştır. Bu amaçla 1 g sarımsak ekstraktı ayrı ayrı olmak üzere, 50 ml'lik 3 farklı çözücü (aseton, metanol ve su) içerisinde çözüldürülmüş ve çözeltilerden 2,5 mg ile 160 mg arasında çeşitli derişimlerde çözeltiler hazırlanmıştır. Belirli konsantrasyondaki DPPH çözeltisi bu çözeltilere ilave edilerek karıştırılmıştır. Karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 15 dakika bekletilen örnekler 515 nm dalga boyunda metanolden oluşan kör örneğe karşı, UV/VIS spektrofotometrede (PG Instrument T80 Plus) okunmuştur (Brand-Williams ve ark., 1995). Elde edilen değerler, aşağıdaki formül kullanılarak sarımsak numunelerinin antioksidan aktivitesi olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH İnhibisyon Değeri} = A_{\text{DPPH}} - \frac{(A_S - A_K)}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (2)$$

A_{DPPH} : DPPH absorbansı

A_K : Kör örnek

A_S : Sarımsak ekstraktının absorbansı

Toplam fenol miktar tayini

Toplam fenolik tayini Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi (Ragazzi ve Veronese, 1973) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlar içerisindeki toplam fenol miktarı için standart olarak kullanılan gallik asit ve sarımsak ekstraktı, ayrı ayrı olmak üzere %70'lik aseton, metanol ve su içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan örneklerden 0,5 ml alınarak, 2,5 ml Folin Ciocaltaeu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 7,5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV/VIS spektrofotometrede (PG Instrument T80 Plus), 765 nm'de okutulmuş ve toplam fenol miktarları (mg gallik asit/g) kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır.

Sarımsak ekstraktının toplam flavonoid miktarı analizi

Ekstraktaki toplam flavonoid miktarı Djeridane ve arkadaşları (2006)'na göre yapılmıştır. Bu yöntemde, aseton, metanol ve su ile hazırlanan sarımsak ekstraktının üzerine %2'lik alüminyum klorür (AlCl_3) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiş ve 430 nm dalga boyuna ayarlanan UV/VIS spektrofotometrede (PG Instrument T80 Plus) ölçüm yapılmıştır. İçeriğinde flavonoid bulunduran rutin ile oluşturulmuş kalibrasyon eğrisinden ekstrakttaki flavonoid miktarı bulunmuştur. Flavonoid içeriği rutin ekivalentine göre mg/g olarak verilmiştir.

3.2.5.2. Antimikrobiyal özelliklerin belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Bu metoda göre, su, etanol+su ve etanol ile hazırlanan sarımsak ekstraktları 6 mm çapında hazırlanan kâğıt disklere aseptik koşullarda 2, 4, 6, 8, 10 µl emdirilmiştir. Antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde, Mueller Hinton Agar besiyerinden yararlanılmıştır. Denemede *Listeria monocytogenes* ATCC 6644, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 bakteri kültürleri kullanılmış ve kültürleri aktifleştirmeleri Brain Heart Infusion Broth ile yapılmıştır. Stok kültürlerden alınan bakteri suşları ayrı ayrı 4-5 ml Brain Heart Infusion Broth sıvı

besiyerinde süspansiyon edilerek, 2-5 saat etüvde inkübasyona bırakılmışlardır. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu MacFarland (0.5) standart tüpüne göre steril serum fizyolojik ile ayarlanmıştır. Daha sonra bakteri süspansiyonu içine steril bir eküvyon daldırılarak karıştırılmış ve bu eküvyon, petri yüzeyine sık aralıklarla taramak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek ekim yapılmıştır. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda petrilerin içlerine aseptik olarak farklı yağ ekstraktları emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. Bakterilerin inokule edildiği plaklar 35°C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları (6 mm disk dahil olmak üzere) ölçülmüştür (Collins ve Lyne, 1987; Anonim, 2002).

3.2.6. Fiziksel analizler

3.2.6.1. Tekstür profil analizi (TPA)

Lakerda etlerinin sertliklerinin tespit edilmesinde TA.XT2 Tekstür Analiz (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK) cihazı kullanılmıştır. Analize başlamadan önce cihaz 5 kg’lık kalibrasyon ağırlığı ile kalibre edilmiş ve P/2 alüminyum silindir prob (2 mm çapında) kullanılmıştır. Cihazın çalışma şartları: Test hızı 1 mm/s; ilk test hızı 5 mm/s; son test hızı 10 mm/s; baskılama %40; tutma zamanı, 5 s’dir. Lakerda takozları yatay olarak cihaza yerleştirilmiş ve yanal çizginin dorsal kısmından ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.2. Renk analizi

Renk tayini Minolta Chromometer cihazı kullanılarak yapılmış ve örneklerin rengi L^* , a^* ve b^* değerleri ile belirlenmiştir. L^* değerinin 100’den sıfıra doğru azalması rengin siyaha yaklaştığını (0= siyah; 100= beyaz), b^* değerindeki artış rengin sarılaştığını; azalış ise rengin maviye değişimini (+ değer=sarı; - değer = mavi), a^* değerindeki artış rengin kırmızılaştığını; azalışın ise rengin yeşillendiğini (+ değer= kırmızı; - değer= yeşil) göstermektedir. Analize başlamadan önce beyaz plakaya karşı standardizasyonu yapılmıştır. Beyaz plaka için standart değerler $L^*=91,97$; $a^*=-1,4$; $b^*=2,0$ (Standard C2-22326). Lakerdaların derisiz et kısımlarına cihazın probu bastırılmış ve analizler bütün denemelerde 5 tekerrürlü olarak yapılmıştır (Brimelow ve Groesbeck, 1993). Hunter lab renk skalasına göre $L=0$ (siyah), $L=100$ (beyaz); $-a$ (yeşillik), $+a$ (kırmızılık); $-b$ (mavilik), $+b$ (sarılık) değerleri ölçülmüştür.

3.2.7. Kimyasal analizler**3.2.7.1. Su analizi**

Su analizi için öncelikle cam petri kutuları etüvde (Fine Tech SFCN 302, Shin Saeng Co. Ltd.) 105°C’de 1 saat süreyle kurutulmuş ve desikatörde 30 dakika süreyle soğutulduktan sonra 0,0001 mg duyarlı hassas terazide (Kern ABJ 220-4M) darası alınmıştır. Daha sonra homojenize edilmiş örnekten darası alınan petrilere 5 g tartılarak sabit bir ağırlığa ulaşana kadar (16-18 saat) 105°C deki etüvde kurutulmuştur (Anonim, 2000). Bu işlemin ardından oda sıcaklığına kadar soğumaları için desikatöre yerleştirilmiş hassas terazide tekrar tartılarak sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Su Miktarı (\%)} = \frac{T_1 - T_0}{m} \times 100 \quad (3)$$

T₀: İlk Tartım (g)

T₁: Son Tartım (g)

m: Örnek Ağırlığı (g)

3.2.7.2. Ham protein analizi

Protein tayini Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır (Anonim, 2000). Bu yöntemine göre; Kjeldahl tüpleri içerisine homojenize edilmiş örnekten 0,5 g tartılmış ve 20 ml %96’lık H₂SO₄, 10 ml %35’lik H₂O₂ ve 1 adet kjeldahl tableti ilave edilmiştir. Tüpler yağ yakma bloğuna (InKjel M) yerleştirilmiş ve içerisindeki örnek yeşil sarı saydam bir renk oluşturuncaya kadar 420°C’de yaklaşık 2-3 saat yakma işlemi uygulanmıştır. Yakma işleminin ardından bu tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış, soğuma sağlandıktan sonra tüplere 50ml distile su ve 50 ml % 33’lük NaOH ilave edilmiştir. Distilasyon esnasında ortamda bulunan azotu ölçmek için bir tanede kör örnek hazırlanmıştır. Yakma işlemi sonrasında protein tüpleri ve içerisinde 25 ml doymuş borik asit çözeltisi ve 3-4 damla indikatör (metil kırmızısı; 0,1 g metil kırmızısı/100ml alkol) bulunan erlenmayer ile Kjeldahl destilasyon ünitesine (Behrotest WD20, Gerhardt) yerleştirilerek NaOH ile destilasyona tabi tutulmuş ve bu işlem yaklaşık erlen mayerde 100ml destilat toplanıncaya kadar devam edilmiştir. Elde edilen destilat 0,1 N’lik HCl ile titre edilerek sarfiyat belirlenmiş ve protein oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Protein (\%)} = \frac{(T_t - T_k) \times 0,014 \times N \times 6,25}{m} \times 100 \quad (4)$$

T_r: Titrasyonda Harcanan Miktar

T_k: Kör Örneğin Titrasyonunda Harcanan Miktar

N: HCl çözeltisinin derişimi

m: Örnek Ağırlığı

3.2.7.3. Yağ analizi

Yağ analizi Bligh ve Dyer (1959)'in uyguladığı yöntem esas alınarak yapılmıştır. Bu amaçla 20 g örnek alınmış ve 100 ml metanol/kloroform (1/2) ile birlikte homojenize edilmiştir. Homojenizat 20 ml metanol-kloroform ile yıkama yapılarak darası alınan balon joje içerisine filtre kâğıdı ile süzölmüştür. Süzöntüye 20 ml %4' lük CaCl₂ ilave edilerek balon jopenin kapağı kapatılmış ve 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu süre sonunda faz oluşumu gözlemlenmiş ve içerik ayırma hunisine alınarak alt faz balon jojeye alınmış üst faz ise atılmıştır. Alt fazın bulunduğu balon joje, 60°C'lik su banyosunda rotary evaporatör (IKA RV10 basic) kullanılarak çözücü uçurulmuştur. Balon jodede yağ ayırımı gerçekleştikten sonra düzenekten çıkartılarak 90°C'deki etüvde (Nüve FN500) 1 saat bekletilerek desikatöre alınmış, soğutulmuş ve son tartımı yapılmıştır. Belirlenen değerler aşağıdaki formülde yerine konularak hesaplanmıştır.

$$\text{Yağ (\%)} = \frac{T_1 - T_0}{m} \times 100 \quad (5)$$

T₀: İlk Tartım

T₁: Son Tartım

m: Örnek Ağırlığı

3.2.7.4. Ham kül analizi

Kül tayini için; analiz öncesinde yakma için kullanılan porselen krozeler 550°C'de 1 saat süre bekletilmiş ve desikatörde soğutulularak 0,0001 mg hassasiyetli terazide daraları alınmıştır. Darası alınan krozelere 2 g balık örneği konulmuştur. Hazırlanan krozeler kül fırınına (Elektromag M 1811) yerleştirilerek 550°C'de sigara külü rengine dönüşüncüye kadar yaklaşık 4-5 saat tutulmuştur. Yakma işlemi sonrasında krozeler kül fırınından alınarak soğutulmak üzere desikatöre yerleştirilmiş ve daha sonra hassas terazide tartımları yapılmış ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplamaları yapılmıştır (Anonim, 2000).

$$\text{Ham Kül (\%)} = \frac{T_1 - T_0}{m} \times 100 \quad (6)$$

T₀: İlk Tartım

T₁: Son Tartım

m: Örnek Ağırlığı

3.2.7.5. pH analizi

Numunelerin pH analizinde; homojenize edilmiş örnek 1:1 oranında distile su ile sulandırıldıktan sonra pH metre (HANNA pH 211) probunun solüsyona daldırılarak ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir (Ludorf ve Meyer, 1973).

3.2.7.6. Tuz miktarı analizi

Balık etinin tuz miktarı Mohr metoduna göre yapılmıştır. Öncelikle örneklerden 10 g balık eti alınarak üzerine 100 ml distile su ilave edilerek blenderde iyice homojenize edilmiş ve homojenizat süzümüştür. Daha sonra 10 ml süzüntü alınıp üzerine 10 damla potasyum kromat indikatörü (K₂CrO₄) ilave edilerek 0,1 N gümüş nitrat (AgNO₃) eriği ile renk değişimi oluncaya kadar titre edilmiş ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır (Anonim, 2000).

$$\%Tuz = \frac{V \times N \times 0,0584}{m} \times 100 \quad (7)$$

V: AgNO₃ sarfiyatı,

N: AgNO₃ normalitesi

m: Örnek Ağırlığı

3.2.7.7. Tiyobarbitürik asit (TBA) analizi

TBA analizi Tarladgis ve ark. (1960)'nın uyguladığı yonteme göre yapılmıştır Analiz için, 10 g homojenize edilmiş numune üzerine 50 ml saf su ilave edilmiş ve 2 dakika süre ile Ultra Turrax' ta homojenize edilmiştir. Daha sonra numune 47,5 ml su ile bir kjeldahl balonu içine yıkanarak üzerine 2,5 ml hidroklorik asit ilave edilmiş ve balonun içersine kaynama taşı atılarak destilasyon ünitesine yerleştirilmiştir. Destilasyon işlemi 50 ml destilat toplanana kadar devam ettirilmiştir. Daha sonra destilattan 5 ml alınarak bir tüpe aktarılmış ve üzerine %90 glasiyal asetik asit içersinde hazırlanmış olan 0,02 M 2-tiyobarbutirik asit standart çözeltisinden 5'er ml ilave edilerek su banyosuna yerleştirilmiştir. Numune bu şekilde 35 dakika süre ile kaynama halindeki suda ısıtılmıştır. Ayrıca 5 ml TBA reaktifi ve 5 ml distile su ile hazırlanan kör örnekte aynı işlemlere tabi tutulmuştur. Tüpler soğutularak örneğin optik yoğunluğu standart çözeltiye karşı 538 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen dansite değeri ise 7,8 ile

çarpılarak 1000 g örnekteki mevcut malonaldehit miktarı mg olarak saptanmıştır (Tarladgis ve ark., 1960; Tarladgis ve ark., 1964).

3.2.7.8. Peroksit analizi

Peroksit analizi için, ekstrakte edilen 1 g balık yağı üzerine 10 ml kloroform, 15 ml glasiyal asetik asit ilave edilerek lipit tamamen çözünene kadar çalkalanmıştır. Lipidi çözme işleminin ardından 1 ml potasyum iyodür konularak, karanlık ortamda 4-5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 75 ml saf su, 1 damla 0,01 N' lik sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), ve 1 ml nişasta ilave edilen numune, rengi sarıdan koyu maviye dönüşünceye kadar 0,002 N' lik sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ile titre edilmiştir (Low ve Ng, 1978). Aynı uygulama lipit olmaksızın kör içinde yapılmıştır. Daha sonra titrasyon sırasında elde edilen sarfiyat okunmuş ve hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Peroksit Sayısı (milimol O}_2\text{/kg)} = \frac{((T_1 - T_0) \times 0,002)}{m} \times 1000 \quad (8)$$

T_1 : Örnek sarfiyat

T_0 : Kör örnek sarfiyat

m: örnek ağırlığı

3.2.7.9. Trimetilamin azot (TMA-N) analizi

TMA-N analizinde homojenize edilmiş örnekten 50 g tartılmış ve 100 ml %7,5'lük triklorasetik asit (TCA) ilave edilerek karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırılan çözelti üst kısım berraklaşana kadar dakikada 2000-3000 devir hızda sanrifüj edilmiştir. Numuneden 2 ml örnek alınmış ve ısıya dayanıklı deney tüplerine aktararak su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Standart çözeltiler için örnek çalışma çözeltilerinden 3 ayrı deney tüpüne sırasıyla 1 ml, 2 ml ve 3 ml koyularak her tüp su ilavesiyle 4 ml'ye tamamlanmıştır. Kör örnek çözeltisi için 4 ml saf su kullanılmıştır. Örnekler üzerine daha sonra 1 ml formaldehit, 10 ml toluen ve 3 ml potasyum karbonat çözeltisi ilave edilerek tüp kapatılmış ve kuvvetlice çalkalama yapılmıştır. Toluene tabakasından, içinde yaklaşık 0,1 g susuz sodyum sülfat bulunan küçük bir deney tüpü içine 7-9 ml ilave edilerek kapağı kapatılmış ve iyice çalkalanarak toluene içindeki suyun sodyum sülfat tarafından tutularak kurutulması sağlanmıştır. Daha sonra toluene tabakasından 5 ml kuru kolorimetre tüpüne aktararak üzerine 5 ml pikrik asit çözeltisi ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Bu işlem sonrasında örnek, kör örneğe karşı 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutulmuştur (Anonim, 1988).

3.2.7.10. Su fazında tuz tayini (WPS)

Su fazında tuz tayini, örneklerdeki su ve tuz miktarları kullanılarak aşağıda yer alan formüle göre hesaplanmıştır (Heinitz ve Johnson, 1998; Losikoff, 2007)

$$\text{WPS (\%)} = (T \times 100) / (T + S) \quad (9)$$

T: % Tuz içeriği

S: % Su içeriği

3.2.7.11. Su aktivitesi tayini

Su aktivitesi, Resnik ve Chirife (1988)'in belirtmiş olduğu eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Ross ve Dalgaard, 2003).

$$\text{Su aktivitesi (a}_w\text{)} = 1 - [(0,0052471 \times \% \text{WPS}) - (0,00012206 \times \% \text{WPS}^2)] \quad (10)$$

WPS: Su Fazında Tuz

3.2.7.12. Total amino asit analizi

Amino asit analizinde, %30 protein içerecek şekilde, 130 mg ile 290 mg arasında, ısıya dayanıklı vida kapaklı cam şişelere tartılan örneklere, 20 ml 6 N HCl ilave edilmiş ve azot gazı geçirildikten sonra 110°C'de 24 saat hidroliz edilmiştir (Anonim, 2000). Hidrolizi yapılan örnekler 0,20 µm PTFE şırınga filtreden süzülüş ve HCl, evaporatörde yüksek vakum altında 60°C'de uçurularak; geriye kalan kalıntı pH'ı 2,2 olan sodyum sitrat tampon çözeltisiyle (0,1 M, pH 2,2) seyreltilmiştir (Srivastava ve ark., 2006; Chi ve ark., 2008). Hidroliz işlemi tamamlanmış örneklerin aminoasit miktarlarının tespiti için EZ: faast GC/FID Free (Physiological) Amino Asit Kitleri kullanılmıştır (Badawy ve ark., 2008). Bu yöntem, katı faz ekstraksiyonu, türevlendirme ve sıvı/sıvı ekstraksiyonu aşamalarından oluşmaktadır (Kale ve ark., 2006; Badawy ve ark., 2008). Hazırlanan ve türevlendirilen örnekler GC'de analiz edilmiştir. İnternal standart (IS) olarak Norvaline kullanılmış ve konsantrasyonu örneklerde 200 nmol/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (Ek 2).

GC cihazının konfigürasyonu ve kromatografik koşullar;

Gaz Kromatografisi: Finnigan Trace GC Ultra AI 3000 Thermo Finnigan analizör

Kolon: Zebron Zebron™ ZB-HAAC 10 m x 0,25 mm kapilari GC kolon.

Split 1:15 (250°C)

Enjeksiyon Miktarı: 2,0 µl

Taşıyıcı gaz: Helyum 1,0 ml/dk.

Sıcaklık programı: 110°C ile 320°C arası artış 35°C/dak., 320°C’de 1 dak. bekle

Dedektör: Alev iyonizasyon dedektörü (FID; 320°C)

Kalibrasyon: Çoklu amino asit standartı (EZ:fast SD solution)

3.2.7.13. Serbest amino asit analizi

Serbest amino asit analizi için homojenize edilen balık etinden 5 g örnek tartılmış ve 50 ml trikloroasetik asit (TCA) ilave edilerek homojenize edilmiştir (Konosu ve ark., 1974). Daha sonra +4°C’de 1 saat saklanan örnekler 0,45 µm’lik membran ile filtre edildikten sonra bölüm 3.2.7.12.’de yer alan metoda göre türevlendirilerek gaz kromatografisi cihazında analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.14. Biyojen amin analizi

Biyojen amin analizi için, öncelikle örnekler kıyılmış ve kıyılan örnekten 5 g tartılmıştır. Alınan örnek üzerine 10 ml 0,4 M perklorik asit eklenmiş ve 3 dakika Ultra Turraks’ta soğutulmuş alkol-buz banyosu kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizat daha sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki berrak kısım Whatman 2 filtreden 25 ml’lik renkli balon jøjeye süzölmüş ve içerisine 10 ml perklorik asit ilave edilmiştir. Vortekste 1 dakika 2500 devirde karıştırıldıktan sonra tekrar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Berrak kısım aynı balon jøjeye süzölmüş, daha sonra balon jöjenin hacmi perklorik asit ile 25 ml’ye getirilerek, türevlendirme aşamasına geçilmiştir (Eerola ve ark., 1993).

Türevlendirmede, renkli tüpe 0,5 ml ekstrakt alınmış, üzerine sırasıyla 100 µl 2 N NaOH çözeltisi, 150 µl doymuş sodyum bikarbonat çözeltisi ve 1 ml dansil klorür ilave edilmiştir. Vortexte 15 saniye 2500 devirde karıştırıldıktan sonra reaksiyon karışımı, etüvde 40°C de 45 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon aşamasından sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 10 dakika bekletilen bu karışım üzerine 50 µl %25’lik amonyak eklenmiştir. Tekrar 15 saniye 2500 devirde vortekslendikten sonra, tekrar 30 dakika karanlıkta inkübasyona tabi tutulmuştur. Yapılan işlemler sonunda karışımın üzerine, 3,2 ml amonyum asetat+asetonitril karışımından ilave edilerek toplam hacim 5 ml’ye getirilmiştir. Eriyik oluşuncaya kadar 2500 devirde vorteks ile karıştırılan karışım, daha sonra 0,45 µl’lik filtreden geçirilerek elde edilen numuneden HPLC cihazına enjeksiyon yapılmıştır (Eerola ve ark., 1993) (Ek 3).

HPLC cihazının konfigürasyonu ve kromatografik koşullar;

Pompa: Shimadzu LC-20 AD

Degasser Ünitesi: Shimadzu DGU-20A5

Oto Örnekleyici: Shimadzu SIL-20A

Dedektör: Shimadzu SPD-20A, UV/VIS dedektör

Cihaz yazılımı: LC solution 1.12 SP1

Enjeksiyon Miktarı: 20 µL

Akış hızı: 1,3 ml/dk

Kolon tipi: ZORBAX Eclipse, XDB-C18-5 µm, 4,6x150 mm)

Dalga boyu: 254 nm

Kolon Sıcaklık: 40°C

Taşıyıcı Faz A: 0,1 M Amonyum asetat

Taşıyıcı Faz B: Asetonitril

3.2.8. Duyusal analizler

3.2.8.1. Sarımsak konsantrasyonunun belirlenmesi

Esas tuzlamaya alınan balık takozlarına ilave edilecek sarımsak yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla, kontrol (sarımsaksız) grubu eşliğinde, %1, %2,5, %5 ve %10 sarımsak ekstraktı içeren 4 farklı konsantrasyonda sarımsak ilaveli gruplar hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan balıklar olgunlaştıktan sonra, 10 uzman panelist tarafından değerlendirilmiş ve ürünlerin sarımsak aroma yoğunlukları test edilmiştir. Puanlama yaparken panelistlerin ürünleri kontrol grubuna göre değerlendirmeleri istenmiştir. Ürünlerin panelistlere sunumunda; sarımsak yoğunluğu düşük ürünlerden yüksek yoğunluğa sahip ürünlere doğru bir sıra izlenerek gerçekleştirilmiştir (Meilgaard ve ark., 1999). Sonuçlar tercih frekansına göre değerlendirilmiştir.

3.2.8.2. Ürün profil analizi

Sarımsaklı ve sarımsaksız lakerdaların duysal niteliklerinin tespitinde ürün profili analizi kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada üretilen ürünler, renk, koku, lezzet ve tekstür ana başlıkları altında incelenmiş, renk için; ayrı ayrı olmak üzere 7 tanımlama, koku ve lezzet için 6 ve ürün tekstürü için 8 tanımlama yapılmış ve bunlar panelistler tarafından 1-5 aralığında puanlanmıştır. Puanlamada 1; özelliğin hiç ya da çok az temsil edildiğini; 5 ise çok yoğun temsil edildiğini belirtmektedir (Esaiassen ve ark., 2004; Meilgaard ve ark.,

1999). Analizde kullanılan duyu özelliklerinin tanımları ve tanımlama teknikleri Çizelge 5’te verilmiştir.

Çizelge 5. Ürün profil analizinde kullanılan duyu özellikler ve tanımlama teknikleri

	Duyusal Özellikler	Tanımlama	Teknik
Renk	Süt rengi	Etin renginin süt renginde olması	Ürün görsel olarak incelenir
	Kırık beyaz	Etin renginin kırık beyaz renkte olması	Ürün görsel olarak incelenir
	Sarımsı	Etin renginin sarımsı renkte olması	Ürün görsel olarak incelenir
	Morumsu	Etin renginin morumsu renkte olması	Ürün görsel olarak incelenir
	Kırmızımsı	Etin renginin kırmızımsı renkte olması	Ürün görsel olarak incelenir
	Lekeli	Etin üzerinde lekelerin bulunması	Ürün görsel olarak incelenir
	Homojen renk	Etin renginin tek renk tonuna sahip olması	Ürün görsel olarak incelenir
Koku	Balıksı koku	Etin çiğ balık ya da yosunsu kokusu	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
	Çiğ et kokusu	Etin çiğ et gibi kokması	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
	Sabunsu	Ette sabunsu kokunun bulunması	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
	Metalik	Ette metalik kokunun bulunması	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
	Tipik lakerda kokusu	Etin lakerda ya da tuzlu balık kokusunun bulunması	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
	Tatlı Koku	Ette pamuk helvamsı kokunun bulunması	Örneği 10 cm mesafeden 5 sn. koklamak
Lezzet	Tuz	Etteki tuz (NaCl çözeltisi) tadının bulunması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Metalik	Etin çiğneme sırasında hissedilen metalimsi aroması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Tipik lakerda tadı	Etin lakerda tadına benzerliği	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Sarımsak tadı	Etin çiğneme sırasında hissedilen sarımsak aroması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Olgunlaşmamış	Etin çiğ olması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Yağsı	Etin çiğneme sırasında hissedilen yağsı aroması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
Tekstür	Gevrek	Etteki kasların lifsi parçalara ayrılması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Dış yapışkanlık	Etin ağıza (diş, damak vb.) yapışması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	İç yapışkanlık	Çiğneme sırasında etin kendi içerisinde bütünlüğü	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Yumuşak	Etin yumuşaklığı	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Lastiksi	Etin çiğneme sırasında hissedilen lastiksiliği	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Çiğnenebilirlik	Etin çiğnenmesi çiğneme ile yutacak kıvama getirilmesi	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Gevşek	Etin sıkı ve gergin olmaması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek
	Sulu	Etin suyunun yerinde olması, kuru olmaması	Örneği 3-8 defa öğütücü dişler ile çiğnemek

3.2.9. Mikrobiyolojik analizler**3.2.9.1. Örneklerin mikrobiyolojik analizlere hazırlanması**

Yapılan mikrobiyolojik analizlerde aseptik koşullarda 10 g örnek tartılmış, 90 ml peptonlu su içerisinde stomacherde (Seward 400) 2 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Elde edilen bu 10^{-1} lik homojenizattan 10^{-3} 'e kadar onluk seyreltimler hazırlanmış ve bu seyreltimlerden önceden hazırlanmış petri kaplarına ekimler gerçekleştirilmiştir (Anonim, 1998).

3.2.9.2. Analizlerde kullanılan kültür ve sayım yöntemleri

Mikrobiyolojik analizlerde, örneklerin ekimleri; yayma plak ve dökme plak yöntemleri kullanılarak yapılmıştır.

Yayma plak yönteminde, dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak, önceden kurutulan petrilere aktarılmış ve drigalski spatülü ile tüm yüzeye yayılmıştır. Ekimi yapılan petrilere inkübasyonu sonunda, üreme görülen besiyerlerindeki bakteri kolonilerinin göz ile sayımları yapılmıştır. Tespit edilen sayı seyreltme faktörü ile çarpılarak, ürünlerin gramındaki bakteri miktarı belirlenmiş ve sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Harrigan ve McCance, 1976; Baumgart, 1993).

Dökme plak yönteminde ise, homojenizatlardan 1 ml alınarak, steril boş bir petriye aktarılmıştır. Daha sonra, benmaride $40-45^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta hazır bekletilen steril besiyeri, bu petriye 15 ml kadar dökülmüştür. Besiyerinin katılaşması beklenmeden, numune ile besiyerinin homojen şekilde karışıp yayılması için petri kabı sekiz çizdirilmek sureti ile karıştırılmıştır. Besiyerinin katılaşmasından sonra, inkübasyona alınan petrilere üreme gösteren koloniler göz ile sayılarak, seyreltme faktörünün de dikkate alınmasıyla değerlendirilmiş ve bir gramdaki bakteri miktarı tespit edilmiştir. Sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Harrigan ve McCance, 1976; Baumgart, 1993).

Toplam Aerobik Bakteri Sayımı; Plate Count Agar (PCA) besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan yayma plak yöntemi ile ekimi yapılan petrilere, 35°C 'de 3 gün aerobik şartlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilere üreyen koloniler sayılarak, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı belirlenmiştir (Anonim, 1998).

Halofilik Bakteri Sayımı; Halofilik bakterilerin ekimi ve inkübasyonu toplam aerobik bakterileri sayımı gibi yapılmış, sadece kullanılan Plate Count Agar besiyerine %7 NaCl (sodyum klorür) ilave edilmiştir (Anonim, 1998).

Psikrofilik Bakteri Sayımı; PCA besiyeri kullanılmıştır. Yayma plak metoduyla ekimi yapılan petri kapları, 7°C’de 10 gün süre ile inkübe edildikten sonra üreyen kolonilerin gözle sayımları yapılmıştır (Anonim, 2001).

Toplam Koliform Bakteri Sayımı; bölüm 3.2.9.1’de belirtildiği gibi hazırlanan seyreltilmiş numunelerden VRB (Violet Red Bile) Agar’a, dökme plak yöntemi kullanılarak ekimler yapılmış ve ekimi yapılan petriler 35°C’de 24-48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrasında mor-pembe renkli düzgün yuvarlak koloniler, muhtemel koliform grubu bakteriler olarak sayılmış ve rastgele 10 adet koloni alınarak Brilliant Green Bile Broth’ta bulunan tüplere öze ile geçişleri yapılmıştır. Daha sonra bu tüpler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılarak, inkübasyon sonunda gaz oluşumu görünen tüpler koliform bakteriler olarak değerlendirilmiştir (Anonim, 1998).

Fekal Koliform Bakteri Sayımı; koliform bakterilerin sayımında olduğu gibi VRB Agar kullanılmış. Dökme plak yöntemine göre ekilen petriler, 44,5°C’de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda 1-2 mm çaplı koyu kırmızı koloniler fekal koliform olarak sayılmıştır. Fekal koliform sayısını doğrulamak amacıyla, üreme görülen petrilerdeki kolonilerden rastgele 10 adet seçilerek EC (*Escherichia coli*) Broth’a geçiş yapılmıştır. Geçiş yapılan tüpler 44,5°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gaz oluşumu gözlenen koloniler fekal koliform olarak doğrulanmıştır (Halkman, 2005).

Enterococcus spp. Sayımı; bölüm 3.2.9.1’de belirtildiği gibi hazırlanan seyreltilmiş numunelerden, içerisinde D-Coccosel Agar bulunan petrilere yayma plak yöntemiyle ekimler yapılmıştır. Daha sonra bu petriler 37°C’de 24 saat inkübasyona tabii tutulmuştur. İnkübasyon sonunda gri-siyah merkezli ve etrafında siyah zon olan koloniler şüpheli *Enterococcus* spp. olarak sayılmış ve üreyen kolonilerden alınarak biyokimyasal testler uygulanmıştır (Halkman, 2005). Biyokimyasal testler sonunda elde edilen farklı morfoloji ve özellikteki bakteriler, besiyerinde gösterdikleri farklı görünümde de dikkate alınarak yatık agara alınmış ve identifikasyon için Vitek 2 Compact cihazında test edilmiştir.

Staphylococcus spp. Sayımı; BP (Baird-Parker) Agar kullanılmıştır. Önceden hazırlanan petrilere 0,1 ml numune alınarak yayma plak yöntemi ile ekimler yapılmış, ekimi yapılan petriler 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin ardından plaklarda kolonilerin oluşup oluşmadığına bakılarak, oluşan koloniler gözle sayılarak değerlendirilmiştir (Anonim, 1998).

Clostridium spp. Sayımı; TSC (Tryptose Sulfite Cyclocerine) Agar kullanılmıştır. Numuneler, dökme plak yöntemine göre ekilmiş, ekimi yapılan petriler ise içerisinde Anaerocult C kiti bulunan kutulara yerleştirilerek, 35°C de 20 saat inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen koloniler sayılarak, siyah koloniler şüpheli *Clostridium perfringens* olarak değerlendirilmiştir. Şüpheli kolonilerin doğrulaması biyokimyasal testler ile Vitek 2 Compact cihazında gerçekleştirilmiştir (Anonim, 1998).

Laktik Asit Bakteri Sayımı; MRS (de Man, Rogosa Sharpe) Agar besiyeri kullanılmıştır. Numunler önceden hazırlanan petrilere yayma plak yöntemine göre yapılmış, daha sonra petri kapları 28°C’de 48 saat anaerobik (Aneorocult C) şartlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan bakteriler gözle sayılarak değerlendirilmiştir (Halkman, 2005).

Bacillus spp. Sayımı; dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak, içerisinde *Bacillus cereus* Selective Supplement bulunan MYP (Mannitol-Egg-yolk-Polymyxine) Agar yayma plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır. 28°C’de 48 saat inkübasyona bırakılan petrilerin değerlendirilmesi, bu sürenin sonunda oluşan koloniler gözle sayılmıştır (Anonim, 1998).

Maya ve Küf Sayımı; Malt Extract Agar kullanılmıştır. Yayma plak yöntemi ile ekimi yapılmış olan petri kapları 25°C’de 3-5 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda oluşan koloniler gözle sayılarak değerlendirilmiştir (Anonim, 2001; Halkman, 2005).

3.2.9.3. Biyojen amin oluşturan mikroorganizmaların tespiti

Potansiyel biyojenik amin oluşturan bakterilerin tespiti amacıyla, Niven ve arkadaşları (1981) ve Mah ve arkadaşlarının (2001) metotlarına göre, iki farklı dekarboksilasyon agar medyası hazırlanmıştır. Niven ve arkadaşlarının (1981) belirtmiş olduğu metotta agar içeriği; %0,5 triptone, %0,5 maya ekstraktı, %0,5 NaCl, %0,1 CaCO₃, %2 agar ve %0,006 Bromocresol-Purple indikatöründen oluşmaktadır. Mah ve arkadaşlarının (2001) belirttiği metotta ise, kullanılacak agar içeriği %0,125 triptone, %0,125 maya ekstraktı, %0,75 amonyum sülfat [(NH₄)₂SO₄], %0,5 NaCl, %0,1 glukoz, %0,02 MgSO₄ 7H₂O, %0,005 MnSO₄ 4H₂O, 0,004 FeSO₄ 7H₂O, %0,05 Tween 80, %0,02 kresol kırmızısı, %3 agar şeklinde bildirilmiştir. Hazırlanan agarlar pH=5,3 olacak şekilde ayarlanarak, üzerlerine farklı amino asitlerden (L-histidine hydrochloride monohydrate, L-tyrosine, L-ornithine hydrochloride, ve L-lysine hydrochloride) %0,5 (a/h) ilave edilmiş, daha sonra besiyeri 121°C’de 10 dakika sterilizasyona tabii tutulmuştur. Bu besiyerleri ile hazırlanan petrilere bakterilerin ekimi yapıldıktan sonra, petriler 30°C’de 24 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonucunda mor ile çevrili kırmızı koloniler ya da sarı zemin üzerine parlak koyu kırmızı koloniler pozitif olarak tanımlanmıştır.

3.2.9.4. İzole edilen suşlara uygulanan tanı testleri

Mikrobiyolojik analizlerden sonra izole edilen bakterilerin, saflaştırılması için Plate Count Agar'a geçişleri yapılmıştır. PC Agar besiyerinde saflaştırılan koloniler, 18-24 saatleri arasında ön tanı amaçlı Gram boyama, hareketlilik, sitokrom oksidaz testi, ve katalaz testine tabi tutulmuşlardır.

Bu testlerden sonra ise tür tanımlamaları için şüpheli suşlar Api 20E Test Kiti (Biomeriux) ve Vitek 2 Compact Cihazı ile incelenmiştir.

Api 20E test kiti ile tür tanımlamaları için 24 saatlik saf kültürler kullanılmıştır. Plastik koruyucu kabın içindeki kuyucuklar 6-7 ml steril saf su ile doldurulmuş ve üzerine steril test stripleri yerleştirilmiştir. Saf kültürden alınan 1-2 adet koloni Api 20E süspansiyon sıvısında pipetaj ile homojen edilmiş ve test striplerindeki kuyucuklara doldurularak ekimleri yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrasında striplerdeki renk değişimi (Şekil 5), renk skalasına (Şekil 6) bakılarak testlerin sonuçları kaydedilmiştir. Test sonuçları Apiweb-Api 20E sonuç alma programına girilerek türlerin tanımlaması yapılmıştır.



Şekil 5. İzolatların uygulanan Api 20E testi ve VP testi.



Şekil 6. Api 20E negatif (üstte) ve pozitif (altta) kontrol renk skalası.

API test kitinde belirlenemeyen izolatların tanımlanması ise, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde bulunan Vitek 2 Compact Bakteri Tanımlama ve Otomasyon Cihazı

(Biomeriux) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 7). Bu tanımlama için de yatık agarda üretilen 24 saatlik saf kültürler kullanılmıştır. Aseptik şartlarda steril öze yardımı ile seçilen koloniler, üzerine 3 ml steril tuzlu su ilave edilerek tüplerde süspansiyon edilmiştir. Elde edilen bu süspansiyon vortex ile homojenize edildikten sonra, inokulum yoğunluğu 0.50-0.63 McFarland standardına ayarlanmıştır. Daha sonra bu tüpler tür tanımlaması yapılmak üzere VITEK 2 GN (Ref 21 341) ve GP (Ref 21 342) kartuşları ile cihaza yerleştirilmiştir. Maksimum 10 saat süren tür tanımlama işleminin ardından bilgisayar çıktıları ile izolatların tür tanımlanması gerçekleştirilmiştir.



Şekil 7. Vitek 2 Compact cihazında izolatların identifikasyonu.

3.2.9.5. Mikroorganizmaların oluşturdukları biyojen amin miktarlarının tespiti

Bakterilerin biyojen amin üretme durumlarını tespit etmek için pozitif olarak tespit edilen bakteri türleri içerisinde %0,1 amino asit (L-histidine hydrochloride, L-tyrosine, L-ornithine hydrochloride ve L-lysine hydrochloride) bulunan triptik soy agara ekilerek, 30°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra buradan alınan bir öze dolusu bakteri kolonisi içerisinde %0,5 amino asit (L-histidine hydrochloride, L-tyrosine, L-ornithine hydrochloride ve L-lysine hydrochloride) ve %0,0005 pyridoksal HCl bulunan 9 ml Triptik soy brotha aşılacaktır. Bu işlem birkez daha tekrarlandıktan sonra steril enjektör yardımıyla 5 ml örnek alınmış ve 0,2 µm’lik membran filtreden geçirildikten sonra -20°C’da saklanmıştır (Mah ve ark., 2003). Biyojen aminlerin cihazda tayini yapılırken 1 ml filtre edilmiş broth kulture 9 ml 0,4 M perklorik asit ilave edilmiştir (Mah ve ark.,

2003). Karışım homojenize edildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant 3.2.7.14. bölümünde yer alan türevlendirme metoduna göre türevlendirilerek HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

3.2.10. Verilerin değerlendirilmesi

Araştırmada lakerdanın karakteristik özelliklerinin tespitinde olgunlaşma süresince gruplar arasındaki etkileşimlerin belirlenmesinde, varyansları homojen olan gruplara önemlilik testi için “tek yönlü varyans analizi (ANOVA)” ve “Tukey testi” uygulanmıştır. Normal dağılım göstermeyen gruplar ise ‘Kruskal-Wallis’ testine tabi tutulmuştur. Olgunlaşma süresince amino asit miktarı ile zaman, sıcaklık ve sarımsak ekstraktı etkileşimlerinin saptanması için öncelikle “tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (repeated measures ANOVA)” gerçekleştirilmiş ve önemli bulunan etkileşimlerin arasındaki ilişkiler “azami önemli faktör analizi (AÖF veya Least Significant Difference (LSD))” ile saptanmıştır (Mendeş, 2012). Serbest amino asitler ile biyojen aminlerin birbirleriyle ve olgunlaşma süresi ile olan ilişkileri ise Pearson korelasyon analizi ile belirlenmiştir. İstatistikî analizlerde Minitab 16 ve IBM SPSS Statistics 20 istatistik paket programları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar $P < 0,05$ ve $P < 0,01$ güven aralığında değerlendirilmiştir (Zar, 1999).

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, lakerda üretimi gerçekleştirilerek, olgunlaşma sırasında meydana gelen serbest amino asit değişimi ve biyojen amin oluşumu araştırılmıştır. Aynı zamanda; olası oluşan biyojen amin miktarının inhibisyonu için sarımsak ekstraktı kullanılmış ve üç farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen olgunlaşma sürecinde, sarımsak ekstraktının etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca üründe biyojen amin oluşumundan sorumlu bakteriler tespit edilerek, bu bakterilerin dekarboksilasyon yetenekleri incelenmiştir.

4.1. Sarımsak Ekstraktına Ait Bulgular

4.1.1. Antioksidan aktivite bulguları

Antioksidanlar, besin maddesinin yapısında bulunan aktif bileşiklerin havadaki oksijenle birleşerek oksitlenmesini, yani otooksidasyonu engellemek amaçlı kullanılan kimyasal maddelerdir. Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC)'nin tanımına göre ise, antioksidanlar "gıdada yağın acılaşması ve renk değişimleri gibi oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan bozulmaları önleyerek raf ömrünü uzatan maddeler" olarak ifade edilmektedir. Gıdalarda otooksidasyon sonucu istenmeyen olaylar gerçekleşmektedir. Bunlar; yağ içeren gıdalarda acımsı (ransidite) tat ve aroma oluşumu, pigmentelerde renk açılması, toksik oksidasyon ürünleri, gıdada lezzet kaybı, tekstürde değişimler ve gıdanın besin değerinin azalması olarak ifade edilmektedir (Decker ve ark., 1995).

Antioksidanlar, gıdada meydana gelebilecek bu etkilerin oluşumunun engellenmesini veya yavaşlatılmasını sağlamakta, bunu ise yapılarında bulunan fenolik ve flavanoid bileşikler sayesinde gerçekleştirmektedirler. Yapılan bu çalışmada lakerda üründe, olgunlaşma sürecinde otooksidasyon olayını önlemek için kullanılan sarımsak ekstraktının *in vitro* olarak antioksidan aktivitesi de tespit edilmiştir. Bunun için, sarımsak ekstraktına serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), toplam fenolik bileşik miktarı ve toplam flavonoid miktarı analizleri yapılmış ve elde edilen bulgular Çizelge 6' da verilmiştir.

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl), yapısında azota bağlı aktif oksijen içeren (Eklund ve ark., 2005) ve serbest radikal giderme aktivitesi tayininde kullanılan kararlı bir serbest radikaldir (Alma ve ark., 2003; Karioti ve ark., 2004; Kordali ve ark., 2005). DPPH aktivitesi tayininde harcanan DPPH miktarı ne kadar düşükse kullanılan antioksidantın etkinliği o derece yüksektir. Bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), askorbik asit (C vitamini) ve α -tokoferol (E vitamini) gibi maddeler bilinen en iyi DPPH aktivite olan

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

maddelerdir. Yapılan çalışmada sarımsak, aseton, metanol ve su kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonucu elde edilen numunelerin, DPPH testinde IC₅₀ değerleri aseton, metanol ve su ekstraktlarında sırasıyla 10,77 mg/ml, 14,38 mg/ml ve 82,66 mg/ml olarak tespit edilmiştir (Çizelge 6). Bir maddenin antioksidan aktivitesini, o maddenin DPPH miktarı, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarı belirlemektedir. Buna göre, DPPH miktarı düşük, toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarı fazla olan maddelerin antioksidan aktivitesi yüksek olarak değerlendirilmektedir. Buna göre farklı şekillerde ekstrakte edilen sarımsaklarda DPPH etkisi en yüksek olan numunenin asetonlu ekstrakt olduğu görülmektedir (Şekil 8). DPPH testinde sarımsak ekstraktı, bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ve α -tokoferol (E vitamini) gibi antioksidan çalışmaları için referans olarak kullanılan maddeler ile karşılaştırılmıştır (Şekil 8). Elde edilen bulgularda da görüldüğü üzere her üç ekstraksiyonda % inhibisyon, BHT ve α -tokoferol'a göre oldukça düşüktür. Yani referans maddelere göre sarımsak ekstraktının DPPH aktivitesi oldukça düşüktür (Şekil 9).

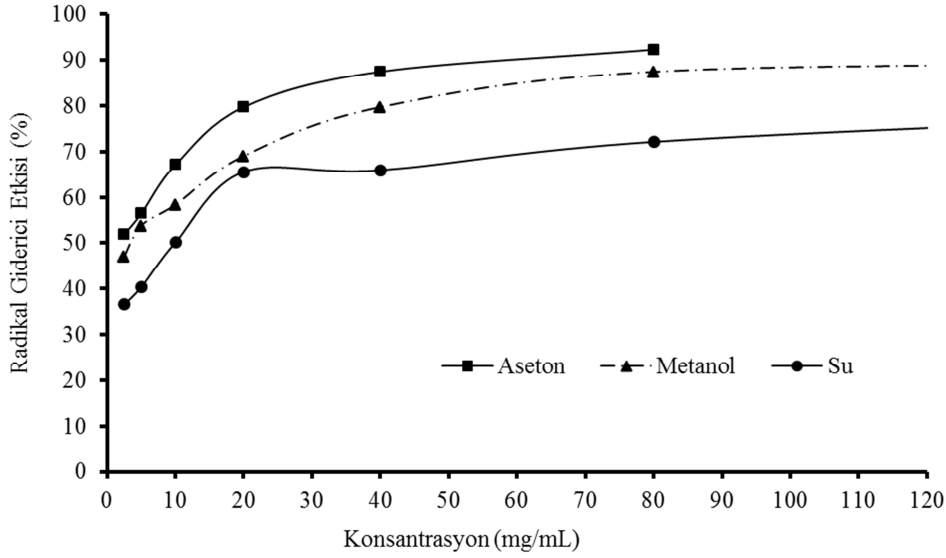
Sarımsak ekstraktı toplam fenolik bileşik miktarı yönünden incelendiğinde ise, en fazla fenolik bileşik miktarının 669,41 μ g/g değeri ile asetonlu ekstraktlarda belirlenmiş, onu metanol ekstraktı ve su ile elde edilen ekstraktın izlediği görülmüştür (Çizelge 6).

Toplam flavonoid miktarları en yüksekten en düşüğe doğru; aseton ekstraktı, metanol ekstraktı ve sulu ekstrakt olarak sıralanmıştır. Metanol ekstraktı ve su ekstraktı değerleri birbirine oldukça yakın bulunurken, aseton ekstraktının diğerlerinden yaklaşık 1,5-2,5 kat daha fazla bir flavonoid miktarına sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 6).

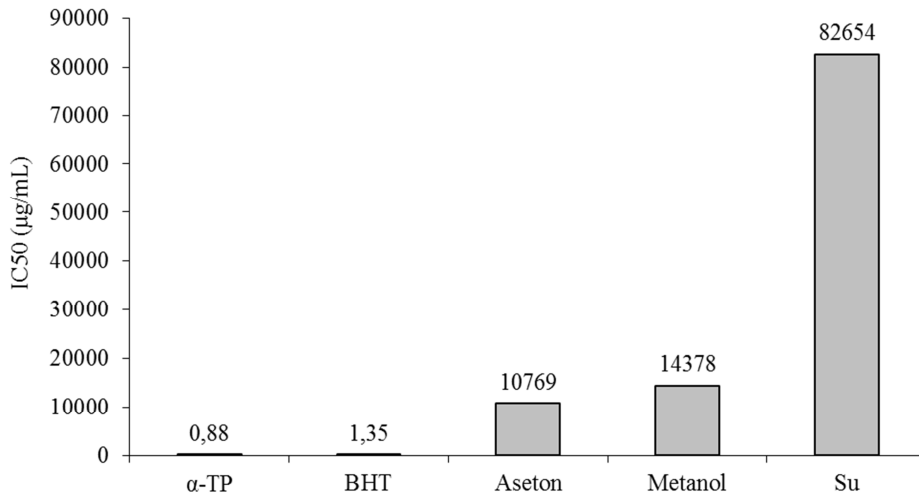
Ancak bu çalışmada kimyasal kalıntı bırakmaması ve kolay hazırlanması sebebiyle su ile ekstraksiyon yöntemi tercih edilmiş, sarımsak ekstraktı bu şekilde elde edilmiştir.

Çizelge 6. Sarımsak ekstraktına ait antioksidan analiz sonuçları

		Aseton	Metanol	Su
Total fenolik madde	μg/g	669,41	494,82	384,51
DPPH	IC₅₀ (mg/ml)	10,77	14,38	82,66
	% Giderim	92,34	89,43	77,79
Flavonoid	mg/g	1,23	0,78	0,55
Azaltıcı Güç.	mg/ml	137,06	195,32	218,83



Şekil 8. Sarımsak ekstraktlarının radikal giderici etkileri.



Şekil 9. Sarımsak ekstraktlarının %50 inhibisyon konsantrasyonları.

4.1.2. Antimikrobiyal aktivite bulguları

Antimikrobiyal etkinin kaynağını, ekstraktların yapılarında bulunan uçucu yağlar oluşturmaktadır. Sarımsak ekstraktının etken maddeleri; eterik uçucu yağlardan alliin, allicin, ve ajoen olarak bildirilmektedir (Arnault ve Auger, 2006). Çalışmada kullanılan sarımsak ekstraktının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan test sonuçları Çizelge 7’de verilmiştir. Araştırmada, 4 farklı sarımsak konsantrasyonu (2, 4, 8 ve 10 g/L), su, su+etanol ve etanol ile olmak üzere 3 farklı şekilde ekstrakte edilmiş ve 4 farklı bakteri türü üzerinde (*Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028) test edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre;

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

etanol ile ekstrakte edilmiş sarımsağın 8 ve 10 µL'lik konsantrasyonlarının kullanılan tüm bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 7). Sarımsak ekstraktının en etkili olduğu bakteri grubu ise *Escherichia coli* ATCC 11230 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 7. Farklı konsantrasyonlarda ve üç farklı şekilde ekstrakte edilen sarımsağa ait zon çapları

Bakteriler	Konsantrasyon (µL)			
	2	4	8	10
İnhibisyon zon çapı (mm)				
Su ekstraktı				
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 6644	0	0	2	6
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0	0	0	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	0	0	0	0
Su+Etanol ekstraktı				
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 6644	6	8	9	10
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	8	9	8	12
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	0	9	12
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	0	6	1	12
Etanol ekstraktı				
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 6644	10	13	16	17
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	8	12	16	16
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	8	13	19	23
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	8	14	16	17

4.2. Lakerdanın Karakteristik Özelliklerin Belirlenmesi

4.2.1. Fiziksel analiz bulguları

Tekstür (Et Sertliği)

Sade ve sarımsaklı lakerdaların olgunlaşma esnasında sertlik değişimleri Çizelge 8'de verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda taze palamut balığında sertlik 0,48 kg/cm² olarak tespit edilmiş, ön tuzlama aşamasında ise bu değerde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Tuzlama aşamasının 3. gününde ise, tekstür değerleri bariz bir artış (P<0,05) göstererek 1,78 kg/cm² olarak belirlenmiştir. Sarımsak ilave edildikten sonra her iki örnek grubunda değerler önce azalmış, daha sonra olgunlaşma süresince artarak, olgunlaşmanın sonunda lakerdada 2,04 kg/cm², sarımsaklı lakerdada ise 2,21 kg/cm² olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizlerde de, gerek tuzlama işlemi ve olgunlaşma süreci gerekse lakerdaya sarımsak ilave sürecinin, balık etinin sertliğine önemli derecede etki ederek farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir (P<0,05).

Renk

Lakerdanın olgunlaşma sürecinde lakerda ve sarımsaklı lakerda örneklerinde renk (L^* , a^* ve b^*) değerlerinin analizi yapılmıştır. Besinlerde renk en önemli kalite parametrelerinden bir tanesidir. Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (International Commission on Illumination, CIE); L^* , a^* , b^* sisteminde L^* 'nin siyahtan (mat) beyaza (parlak) 0'dan 100'e; a^* 'nın (+) kırmızı veya (-) yeşili ve b^* 'nin ise (+) sarı veya (-) maviyi ifade etmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada taze palamut balığının L^* değeri siyah ile beyaz arasında ortalama bir değer (49,03) olarak saptanmıştır. Ön tuzlama aşaması sonucunda renk matlaşarak 44,28 olarak belirlenmiştir. Balıklar kuru tuzlama yöntemi ile tuzlandığında, L^* değeri, 3. gün etin su salıp salamura oluşturması ile düşüş göstermiş, sarımsak ilavesi öncesi L^* değerinde meydana gelen bu değişimler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$; Çizelge 8). Sarımsak ekstraktının ilavesinden sonra lakerda ve sarımsaklı lakerda örneklerinin L^* değerleri düzensiz fakat istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) değişimler göstermiş ve olgunlaşma süresince ve olgunlaşmanın sonunda renkte matlaşma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan analizlerde sarımsak ekstraktının lakerda ürünün L^* değerine önemli derecede etki etmediği de tespit edilmiştir ($P>0,05$). Jonsdottir ve arkadaşlarının (2011) yapmış oldukları çalışmada morina balıklarının L^* değerini enjeksiyonla tuzlanmışlarda 54,5, salamura tuzlananlarda 53,5 ve kuru tuzlama yapılan balıklarda ise 51,9 olarak bildirmiştir. Söz konusu bu çalışmada tuzlanan morina balıklarının bu çalışmada ki palamut lakerdalarına göre daha parlak olduğu görülmektedir. Chaijan (2011) ise tuzlanmış tilapya balığının L^* değerini 35 civarında tespit etmiş ve kuru tuzlama ile salamura tuzlama arasında herhangi bir farkın söz konusu olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmalarda farklı sonuçların bulunmasının nedeni, tuzlamada kullanılan hammadde balık türünün farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla beraber Çağlak (2009)'ın bildirdiği lakerda üründe L^* değeri (42,5-49,9), olgunlaşma sürelerinin farklı olmasından dolayı, çalışmamızda elde edilen sonuçlarla farklılık göstermektedir. Hamsi balığının (*Engraulis anchoita*) tuzlanması üzerine yapılan bir çalışmada, taze hamsi balığında 34,66 olarak ölçülen L^* değerinin, ön tuzlanma aşamasından (ortalama 40,00) tuzlamanın 2. ayına (44,00) kadar arttığı, daha sonraki dönemde ise azalarak son üründe 42,00 civarına düştüğü bildirilmiştir (Czerner ve ark., 2011).

Çizelge 8. Renk ve tekstür analizi bulguları

	Taze	Ön Tuzlama	Tuzlama 3. gün	Lakerda	Sarımsaklı Lakerda
<i>L</i> *	49,03±0,43 ^a	44,28±0,41 ^c	41,33±0,55 ^d	37,44±0,52 ^d	39,16±0,70 ^c
<i>a</i> *	6,64±0,27 ^a	3,51±0,18 ^b	3,82±0,10 ^b	5,23±0,17 ^a	4,97±0,19 ^a
<i>b</i> *	-0,81±0,16 ^c	-3,83±0,21 ^d	1,27±0,23 ^a	0,47±0,30 ^c	0,81±0,28 ^b
Sertlik (kg/cm ²)	0,48±0,15 ^c	0,68±0,02 ^c	1,78±0,12 ^b	2,04±0,08 ^b	2,21±0,10 ^a

Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=10, Aynı satırdaki farklı harfler (a,b,c..) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0,05).

Taze palamut balığında 6,64 olarak tespit edilen *a** değeri, ön tuzlama işlemi sonrası düşüş göstererek 3,51 olarak saptanmıştır. Tuzlama teknolojisinin uygulanmasında ön tuzlama, balık etindeki kanın giderilmesi amacıyla gerçekleştirilmektedir. Yapılan bu çalışmada, belirlenen *a** değeri ile ön tuzlama işleminin amacına uygun olarak balık kanının giderilmesinin açıkça sağlandığı görülmektedir. Asıl tuzlama işleminin 3. gününde et renginde kırmızılığın azalması yönünde çok küçük değişimler yaşanmış (P<0,05), olgunlaşma sonrasında ise sarımsaklı (4,97) ve sarımsaksız lakerda (4,97) ürünler arasında *a** değeri açısından önemli bir fark (P<0,05) tespit edilmiştir (Çizelge 8). Palamut lakerdası üzerine yapılan bir çalışmada lakerdanın *a** değerinin 3,3-6,1 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Çağlak, 2009). Tuzlanmış hamsi balığı üzerine yapılan bir çalışmada ise taze balıkta 12,68 olarak tespit edilen *a** değerinin ön tuzlama işlemi sonunda kan giderme işleminden dolayı azaldığı (3,38), olgunlaşmış balıkta ise artarak etin pembe renkli bir görünüş aldığı (22,00) belirtilmiştir (Czerner ve ark., 2011). Tuzlanmış tilapya balığı üzerine yapılan bir çalışmada ise araştırmacı, tuzlamanın 60. dakikasına kadar *a** değerinin önemli derecede artış gösterdiğini (ortalama olarak 5'den 7'ye yükseldiğini) ve tuzlama sonunda ise tuzlamanın başlangıcındaki değere ulaştığını bildirmişlerdir (Chaijan, 2011).

Taze balıkta negatif değerlerde (mavi) tespit edilen *b** değeri; ön tuzlama sırasında salamura suyuna buz ilavesi yapılması ile salamura su sıcaklığının negatif (-) değerlere düşmesini sağlamış ve bu durumda ette sarı rengin azalması söz konusu olmuştur. Olgunlaşma esnasında etin oksidasyona maruz kalması ile her iki örnek grubunda da etteki sarılık artış göstermiş (P<0,05), lakerda ve sarımsaklı lakerda örnekleri arasında ise *b** değeri açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 8). Morina balıkları üzerine yapılan başka bir araştırmada, *b** değeri, -3,5 ile -6,3 arasında tespit edilmiştir (Jonsdottir ve ark., 2011). Görüldüğü üzere palamut lakerdası, tuzlanmış morinaya göre daha sarımsı bir üründür. Ayrıca farklı paketlenen palamut lakerdaları üzerine yapılan çalışmada da

araştırmacı, b^* değerinin 3,3-6,1 arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir (Çağlak, 2009). Czerner ve arkadaşları (2011) yaptıkları bir çalışmada taze hamsi balığındaki 8,98 olarak tespit edilen b^* değerinin tuzlama teknolojisi uygulanması ile istatistiksel anlamda önemli bir değişim göstermediğini belirtmişlerdir. Chaijan (2011) ise kuru ve salamura tuzlama yöntemi ile olgunlaştırılan tilapya balıklarının b^* değerini, sırasıyla 16 ve 15 civarında tespit etmiş ve kuru tuzlanmış balıklarda meydana gelen artışın istatistiksel olarak önemli, salamura tuzlanmış örneklerde değişimin ise önemsiz olduğunu bildirmiştir.

4.2.2. Kimyasal analiz bulguları

Besin kompozisyonu

Balığın tüketilen kısmını oluşturan kas dokusu büyük oranda su, protein ve yağdan meydana gelmektedir. Balık etindeki bu besin bileşenlerinin oranı ise, balığın türüne, beslenme, üreme, yaş ve çevreye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Tülsner, 1994). Bunun yanı sıra besin bileşenlerinin miktarı, ölümden sonra meydana gelen değişiklikler ve ete uygulanan işleme teknolojilerine göre de yeniden şekillenmektedir (Konagaya, 1990).

Yapılan bu çalışmada, taze, ön tuzlanmış, tuzlanmış ve olgunlaşmış lakerda örneklerine ait besin bileşenlerinin miktarı belirlenmiş ve değerler Çizelge 9'da sunulmuştur. Analizler sonucunda taze palamut balığının, %63,23 oranında su, %17,52 protein, %14,65 yağ, %2,40 kül içerdiği tespit edilmiştir. Ön tuzlama sonrasında ise besin bileşenlerinin miktarlarında değişiklik oluşmuş, su ve kül miktarı sırasıyla %7 ve %4 artış göstererek %70,74 ve %6,47 olarak belirlenmiş, protein ve yağ miktarları ise sırasıyla %3 ve %6 oranında düşüş göstererek %14,13 ve %8,51 olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$). Tuzlama işleminin başlangıcında, balık etine tuz girişi ile et şişmekte ve balık eti, bünyesindeki suyu tutmaktadır. Esas tuzlama işleminde ise balık etine daha yoğun tuz girişi olması nedeniyle protein koagülasyonu meydana gelmekte ve su, difüzyon yolu ile balık kasını terk etmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada da, esas tuzlama işlemi sonrasında balık etinin su miktarı ön tuzlanmış balık etine göre yaklaşık %20 azalmış ve %51,28 olarak saptanmıştır. Su içeriğinde meydana gelen bu azalma istatistiksel olarak da önem arz etmektedir ($P<0,05$). Balık etinde tuz girişi ile su oranının düşmesi, diğer besin bileşenlerinden protein ve yağın nispi olarak artmasına sebep olmaktadır. Nitekim tuzlama işleminin 3. gününde, protein ve yağ miktarı artmış ve sırasıyla %19,11 ve %15,45 olarak saptanmıştır. Bunun yanı sıra kül miktarı da, tuzlama ile ete giren tuzdan dolayı istatistiksel olarak önemli derecede artış göstermiştir ($P<0,05$).

Çizelge 9. Besin kompozisyonu değerleri (%)

	Taze	Ön Tuzlama	Tuzlama 3. gün	Lakerda	Sarımsaklı Lakerda
Su	63,23±1,33 ^b	70,74±0,67 ^a	51,28±0,68 ^c	52,22±0,80 ^d	56,84±0,87 ^d
Protein	17,52±0,49 ^a	14,13±0,71 ^b	19,11±0,69 ^a	14,64±0,67 ^b	15,23±0,58 ^b
Yağ	14,65±0,34 ^a	8,51±0,18 ^c	15,45±0,15 ^a	17,39±0,83 ^a	13,06±0,65 ^b
Kül	2,40±0,19 ^c	6,47±0,28 ^b	14,02±0,27 ^a	15,14±0,19 ^a	14,72±0,02 ^a

Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=3, Aynı satırdaki farklı harfler (a,b,c..) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05).

Olgunlaşmış ürünlerde besin kompozisyonu bulguları incelendiğinde ise, sarımsaksız lakerdada; su, protein, yağ ve kül değerleri sırasıyla %52,22; %14,64; %17,39 ve %15,14; sarımsaklı lakerda da ise %56,84; %15,23; %13,06 ve %14,72 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 9). Palamut lakerdası üzerine yapılan çalışmalarda, lakerdanın su ve yağ içeriği sırasıyla %42,2 ve %23,4 olarak belirlenmiştir (Çağlak, 2009). Ayrıca, Koral ve arkadaşları (2013) piyasada satılan lakerdaların su içeriklerinin genelde %60 civarında olduğunu bulmuş, üretim yöntemine göre %49 ile %70 arasında değişebileceğini bildirmişlerdir. Bildirilen bu değerlerdeki farklılıkların nedeni olarak, uygulanan yöntemin yanı sıra, ürün hazırlığında kullanılan hammaddenin de etki ettiğini bildirmişlerdir.

pH

Gıda endüstrisinde mikrobiyal ve enzimatik aktiviteyi etkileyen önemli faktörlerden olan pH değerinin, işlenmiş ürünlerde belirlenmesi ve sabit değerde tutulması ürün kalitesinin korunmasında önemli bir kriterdir (Olgunoğlu, 2007). Bir ürünün asidite veya alkalinitesinin ölçüsü olarak bilinen pH, gıdadan gıdaya farklılık göstermektedir (McLay, 1972; Anonim, 2005). Banwart (1989), pH değerine göre gıdaları; 3,7'den aşağı olanları yüksek asitli, 3,7–4,6 arasında olanları asitli, pH değeri 4,6–5,3 arasında olanları ise orta asitli olarak ifade etmiş, pH değeri 5,3'ün üzerinde olan gıdaları da düşük ya da asitsiz gıdalar şeklinde tanımlamıştır. Su ürünlerinde ise, canlı balığın pH değerinin nötre yakın olduğu, fakat avlandıktan sonra bu değer düşüş göstererek 6,2-6,6 arasında değişebileceği bildirilmiştir (Tülsner, 1994). Yapmış olduğumuz bu çalışmada taze balığın pH değeri 6,44 olarak tespit edilmiştir. Ön tuzlamada ve asıl tuzlamanın 3. gününde pH değerinin taze ürüne göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir değişim gösterdiği belirlenmiştir (P>0,05; Çizelge 10). Lakerda ürünlerdeki pH değeri ise her iki örnek grubunda 5,90 olarak tespit edilmiştir (P>0,05). Palamut lakerdası üzerine yapılan başka

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

bir çalışmada, hammadde balığın (dondurulmuş palamut balığı) pH'sının 5,97, lakerda üründe ise 5,92 olduğu bildirilmiştir (Erkan ve ark., 2009). Türkiye ve Yunanistan'da yerel ve endüstriyel olarak satışa sunulan lakerdalar üzerine yapılan bir çalışmada ise, lakerda ürünlerin pH değerinin 5,0-6,5 arasında değiştiği bildirilmiştir (Koral ve ark., 2013). Palamut balığından lakerda üretimi ile yapılan diğer bir çalışmada ise, ürün pH değerinin 5,83-5,95 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Çağlak, 2009). Tilapya balığının tuzlanması üzerine yapılan bir çalışmada ise, taze balıkta 6,25 civarında saptanan pH değeri 180 dakikalık kuru tuzlanmış balıkta 5,98, salamura tuzlanmış balıkta ise 6,10 olarak bildirilmiştir (Chaijan, 2011). Bunun yanında Hernandez-Herrero ve arkadaşları (2002) tuzlanmış hamsinin pH değerinin 5,80 olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma bulguları, yukarıda verilen çalışmaların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Çizelge 10. Olgunlaşma esnasında ve lakerda ürünlerde biyokimyasal değişimler

	Taze	Ön Tuzlama	Tuzlama 3. gün	Lakerda	Sarımsaklı Lakerda
pH	6,44 ± 0,01 ^a	6,56 ± 0,00 ^a	6,23 ± 0,01 ^a	5,90 ± 0,02 ^a	5,90 ± 0,03 ^a
Tuzluluk	2,34 ± 0,12 ^a	1,18 ± 0,03 ^a	16,80 ± 0,71 ^b	19,86 ± 0,25 ^a	20,44 ± 0,45 ^a
Peroksit	0,10 ± 0,01 ^a	1,27 ± 0,08 ^b	3,86 ± 0,36 ^c	5,50 ± 0,24 ^a	3,70 ± 0,19 ^b
TBA	0,53 ± 0,12 ^a	0,46 ± 0,06 ^a	1,12 ± 0,06 ^b	2,63 ± 0,25 ^b	2,48 ± 0,04 ^a
TMA-N	0,15 ± 0,02 ^a	0,09 ± 0,02 ^a	0,76 ± 0,04 ^b	2,28 ± 0,05 ^a	2,17 ± 0,08 ^a
%WPS	3,57 ± 0,19 ^c	1,64 ± 0,03 ^c	24,67 ± 0,88 ^b	27,56 ± 0,41 ^a	26,45 ± 0,38 ^a
a _w	0,98 ± 0,00 ^a	0,99 ± 0,00 ^a	0,80 ± 0,01 ^b	0,76 ± 0,00 ^c	0,78 ± 0,00 ^c

Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=3, Aynı satırdaki farklı harfler (a,b,c..) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05).

Tuzluluk

Tuzluluk değeri tuzlanmış ürünler için en önemli niteliklerden bir tanesidir. Ete aromatik tat ve kokuyu veren tuz, fazla olduğunda ise tüketimde sakınca oluşturabilmektedir. Taze balıkta %2,34 olarak tespit edilen tuzluluk değeri, tuzlamanın ilk evresi olan ön tuzlamada %1,18'e düşmüştür (P>0,05). Tuzlamanın 3. gününde ise çok hızlı bir artış göstererek %16'civarına ulaşmıştır (P<0,05). Olgunlaşmanın tamamlandığı dönemde ise örneklerde tuzluluk oranı artmaya devam etmiş ve sarımsaksız lakerda üründe %19,86, sarımsaklı lakerda da ise %20,44 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 10). Olgunlaşmış ürünlerde, tuzluluk miktarı üzerine sarımsağın herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür (P>0,05).

Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda, palamut lakerdalarında farklı tuz içeriklerinin bulunduğu ifade edilmektedir. Lülleci (1991) palamut balıkları ile yaptığı çalışmada, balıkları 3 gün kuru tuzlama (2:1, balık:tuz) ile, 7 gün ise %25 lik salamura tuzlamada olgunlaştırmış ve olgunlaşma sonrasında palamut lakerda örneklerinin tuz miktarını %13 olarak ölçmüştür. Çağlak (2009)'ın yapmış olduğu çalışmada ise, lakerdanın tuz içeriğini %5,05-6,70 arasında bildirmiştir. Bu değerler çalışmamızda elde edilen değerlerden oldukça düşüktür. Lakerdalarda görülen farklı tuz içeriklerinin, olgunlaşma süreleri ile ilgili olduğu bildirilmekte, olgunlaşma süresinin tuz girişi ile doğru orantılı olduğu ifade edilmektedir (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008). Koral ve arkadaşları (2013), ülkemizde satışa sunulan lakerdaların %3-16, Yunanistan'da satışa sunulanların ise %4-8 arasında tuz içerdiklerini bildirmişlerdir.

Tiyobarbutirik Asit Sayısı (TBA)

TBA analizleri, yağ oksidasyonunun belirlenmesinde önemli bir kalite parametresidir. Yağların okside olması sonucunda yağların tadında bir acılaşıma meydana gelmekte, oksidatif acılaşıma olarak bilinen bu değişim, daha çok yağlı balıklarda görülmektedir (Connell, 1980). Yapılan bir çok araştırmada, özellikle yağlı balıklarda, TBA değeriyle duyu test sonuçları arasında, tat kalitesi yönünden korelasyon olduğu bildirilmektedir (Barnett ve ark., 1991; Ramanathan ve Das, 1992). Ette yağların okside olması ile birlikte protein ve vitaminlerde de bozulmaların olduğu, bunun sonucunda ürünün tat ve aromasının değiştiği, kalite ve beslenme değerinde de azalmaların meydana gelebileceği ifade edilmektedir (Beltran ve Moral, 1990; Özden ve ark., 2001). Yağların oksidasyonunda ortamdaki atmosferik oksijen, önemli rol oynamakta ve sürecin ilerlemesi ile reaksiyon hızı daha da artmaktadır. Oksidasyonun hızı, yağların doymamışlık durumu, miktarı, ortamın sıcaklığı, ışık, oksijen miktarı ve nem oranına bağlı olarak değişmektedir (Khayat ve Schwall, 1983; Hultin, 1994; Yapar ve Erdol, 1999).

Bir gıda maddesi yapısındaki yağın bozulması sonucu, tüketilebilirlik özelliklerini kaybederek lezzetsiz hal almaktadır (Kietzmann ve ark., 1969). Yağların bozulması sonucunda üründe meydana gelen değişimler; lezzet ve koku değişimi, asitlik değişimi, peroksit oluşumu, aldehit ve keton oluşumu şeklinde kendini göstermektedir (Varlık ve ark., 2004). Schormüller (1968) ve(1969) taze balık etindeki TBA düzeyine göre kaliteyi derecelendirmiştir. Araştırmacıya göre, TBA değeri 3 mg malonaldehid (MA)/kg'dan daha az değere sahip olan et; çok iyi kalitede, <5 mg malonaldehid (MA)/kg değeri ise iyi kalitede ürün özelliği taşımaktadır. Tüketilebilirlik sınırını ise, 7-8 mg malonaldehid (MA)/kg

olarak bildirmiştir. İşlenmiş ürünlerde ise durum biraz daha farklı olmakta birlikte, tuzlanmış balık etinde araştırmacılar TBA değerinin, 4 mg malonaldehid (MA)/kg'ı aşmasıyla beraber acılaştırmanın başladığı bildirilmiştir (Curran ve ark., 1980; Eke, 2007).

Yapılan bu çalışmada TBA değeri olgunlaşma boyunca artış göstermiş, sarımsaksız lakerda da 2,63 mg MA/kg, sarımsaklı da ise 2,48 mg MA/kg olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$; Çizelge 10). Palamut balığından lakerda üretimi konusunda çalışan Erkan ve arkadaşları (2009), dondurulmuş balıktan yaptıkları lakerdanın ortalama TBA değeri (5 mg MA/kg), bu çalışmada elde edilen ortalama değerlerden (2,5 mg MA/kg) daha yüksek olarak bulmuşlardır. Yapılan diğer bir çalışmada ise, Hernandez-Herrero ve arkadaşları (2002) tuzlanmış hamsi balıklarının (*Engraulis encrasicolus*) TBA değerlerinin 10,70-12,57 malonaldehid/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer çalışma sonuçlarına kıyasla, lakerda ürünlerin TBA açısından çok iyi kalitede ürün olduğunu göstermektedir.

Peroksit Sayısı

Balık yağları, yüksek doymamış yağ asitleri içeriği nedeniyle, diğer etlere oranla oksidasyona daha meyillidir (Ramanathan ve Das, 1992). Bu yağların, enzimler ve havanın oksijeni ile parçalanması sonucu, oksidatif ürünler oluşmakta ve balıkta ileri düzeyde acı (ransit) tat oluşmaktadır (Çetinkaya, 2008). Yağların oksidasyonunda, ilk olarak yağ asitleri ve peroksitler meydana gelmekte, kokusuz ve tatsız olan bu bileşikler, balıkta organoleptik olarak hiçbir bozulmanın olmadığı durumlarda bile ortaya çıkabilmektedirler. Bundan sonra oluşan peroksitler ise, oksitlenerek aldehit ve ketonlara dönüştüğü zaman, ette hoşça gitmeyen bir koku ve acılaştırma meydana getirmektedir (Özden ve Gökoglu, 1997).

Yağların oksitlenmesi sonucu oluşan peroksit değeri, balığın kalitesi hakkında fikir vermektedir (Olgunoğlu, 2007). Taze balıkta peroksit değeri, 2 milimol O_2/kg 'ın altındaki materyaller “çok iyi”, 5 milimol O_2/kg 'dan fazla olmayan materyal ise “iyi” kalitede olarak ifade edilmektedir. Peroksit değerinde “tüketilebilirlik sınır değeri” ise 8-10 milimol O_2/kg arasındadır (Schormüller, 1968; Ludorf ve Meyer, 1973).

Yapılan bu çalışmada, sarımsaksız ve sarımsaklı lakerda örneklerinde peroksit değeri sırasıyla 5,50 milimol O_2/kg ve 3,70 milimol O_2/kg olarak tespit edilmiştir. Peroksit değeri olgunlaşma sürecinde taze balığa oranla, her iki örnek grubunda da artış göstermiştir ($P<0,05$; Çizelge 10). Olgunlaşmış ürünlerde sarımsak ekstraktı peroksit oluşumunu baskılamış, sarımsaklı ve sarımsaksız ürün grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir

farklılığa neden olmuştur ($P < 0,05$). Bununla beraber hiçbir örnekte peroksit değerinin, araştırmacıların taze balık eti için rapor ettiği tüketilebilirlik sınırına ulaşmadığı tespit edilmiştir (Schormüller, 1968; Ludorf ve Meyer, 1973). Bunun yanında Hernandez-Herrero ve arkadaşları (2002) yaptıkları çalışmada, tuzlama teknolojisinde hammadde balığın tazelik derecesinin peroksit değeri açısından çok önemli olduğunu vurgulamışlar ve düşük kalitedeki hammaddelerden elde edilen tuzlanmış balıkların peroksit değerlerini 51,08 meq.O₂/kg yağ olarak bildirmişlerdir.

Trimetilamin Azot (TMA-N)

Olgunlaşma süresince lakerdalarda tespit edilen TMA-N değerleri Çizelge 10'da verilmiştir. Schormüller (1968) ve Kietzmann ve ark., (1969)'a göre balık etindeki en önemli kimyasal maddelerden biri Trimetilamin oksittir (TMAO). Trimetilamin oksit, tatlı su balıklarına göre deniz balıklarında daha fazla bulunmaktadır. Balığın depolanması sırasında mikroorganizma ve enzim faaliyetleri sonucu Trimetilamin oksit, Trimetilamine (TMA) indirgenmektedir. TMAO kokusuz bir bileşiktir. TMA ise çok düşük bir koku eşliğine sahip olup, bayat balık ve balıkane kokusundadır. Balıkların içerdiği TMA miktarı; türe, yaşa, avlanma dönemine, kas tipine, balığın beslenme durumuna, mikrobiyal floraya, pH değerine ve işleme tekniklerine göre değişmektedir (Serdaroğlu ve Deniz, 2001; Kyrana ve Lougovois, 2002; Goulas ve Kontominas, 2005). Bu maddenin bozulma bakterilerinin etkinliği sonucu oluştuğu düşünülmeyle birlikte, bakteri sayısı ile TMA arasında açık bir ilişkinin olmadığı da ifade edilmektedir (Huss, 1995). TMA-N sınır değerinin uluslararası standartlara göre, iyi kaliteli bir materyalde 1 mg/100g, bozulmuş örneklerde 8 mg/100g'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (Anonim, 1986). Ayrıca Sikorski (1989), 5 mg/100 g TMA-N değerinin kritik limit olarak rapor etmiştir.

Yapılan bu çalışmada TMA-N değeri taze palamut balığı için 0,15 mg/100g olarak saptanmış, olgunlaşma süresince de bu değerde önemli bir artış görülmemiştir. Lakerda üründe ise TMA-N değeri ile ilgili olarak birçok araştırmacı çeşitli tespitler yapmışlardır. Turan ve arkadaşları (2006) kuru tuzlanmış lakerda üründe TMA-N değerini 1,19 mg/100 g olarak bildirmiş, diğer bir çalışmada ise 1,1 mg/100 g olarak tespit edilmiştir (Lülleci, 1991). Bu çalışmada ise lakerda örneklerinde tespit edilen TMA-N değeri, yukarıda belirtilen değerden daha yüksek, 2,28 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise dondurulmuş palamut balığından yapılan lakerda üründe TMA-N değeri, bu çalışma değerlerinden daha yüksek bulunmuş, 3,81 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Erkan ve ark., 2009). Sarımsaklı ürün gruplarında ise TMA-N değeri (2,17 mg/100g) normal lakerda

ürüne (2,28 mg/100g) benzer değerlerde tespit edilmiş, istatistiki açıdan da sarımsaklı lakerda ile sarımsaksız lakerda örnekleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$).

Su Fazlı Tuz (%WPS)

Ürünlerdeki % tuz ve % su miktarıyla değişim gösteren % WPS değeri, taze palamut balığında %3,57 olarak tespit edilmiştir. Bu değer ön tuzlamada azalarak %1,64 olarak belirlenmiş, tuzlamanın 3. gününde ise %24,67 tespit edilmiştir. Olgunlaştırılmış lakerda ürünlerde ise su fazlı tuz oranı sarımsaklı lakerda üründe %26,45, sarımsaksız ürünlerde ise %27,56 olarak bulunmuştur (Çizelge 10). Üzen (2008), Karadeniz Bölgesinden temin edilen lakerda ürünlerdeki su fazlı tuz oranının %21,25-23,36 arasında değiştiğini belirtmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise araştırmacılar, salamura tuzlama ile tuzlanan hamsi, lüfer, palamut ve sardalya balıklarında WPS oranını %8,58-28,47 arasında bulmuşlardır (Koral, 2012). Ayrıca araştırmacı kuru tuzlanmış örneklerde % tuz değerlerinin yüksek olmasından dolayı %WPS değerinin de diğer örneklerle göre daha yüksek bulunduğunu, lakerda örneklerinde ise %WPS değerinin %5,36-23,73 arasında değiştiğini ifade etmişlerdir.

Su Aktivitesi (a_w)

Gıdalarda mikrobiyolojik aktivite, enzimatik ve kimyasal reaksiyonların oluşabilmesi için temel koşul, suyun varlığıdır. Balıkların kurutma ya da tuzlama gibi yöntemlerle su aktivitesi düşürülmekte ve bu sayede balıklar mikrobiyolojik bozulmalara karşı daha dayanıklı hale gelmektedir (Çaklı ve Kışla, 2003). Gıda güvenliği parametresi olarak da kullanılan su aktivitesi, bozulma ve kokuşmadan sorumlu bakterileri sınırlandırabilmektedir. Bunun yanı sıra patojen bakterilerin bir çoğunda 0,83 a_w değerinin altında üremesi ve toksin oluşturma kapasiteleri sınırlandırılmaktadır (Anonim, 2001; Huss ve ark., 2004). Tuzlanmış su ürünlerinde a_w değeri düşük olduğundan genelde halofilik bakteriler, küfler ve mayalar faaliyet göstermektedir (Kose, 2010). Taze balıklarda genellikle 0,98 olarak bilinen a_w değeri (Abbas ve ark., 2009), bu çalışmada kullanılan taze palamut balığında da 0,98 olarak hesaplanmıştır. Daha sonra uygulanan ön tuzlama aşamasında ise, etin su çekmesinden dolayı bir miktar artarak 0,99 olarak tespit edilmiştir. Balıklar esas tuzlamaya alındığında ise, (3. günde) 0,80'e düşen su aktivitesi değeri olgunlaşma boyunca azalmaya devam ederek, lakerda üründe 0,76, sarımsaklı lakerda da ise 0,78 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 10).

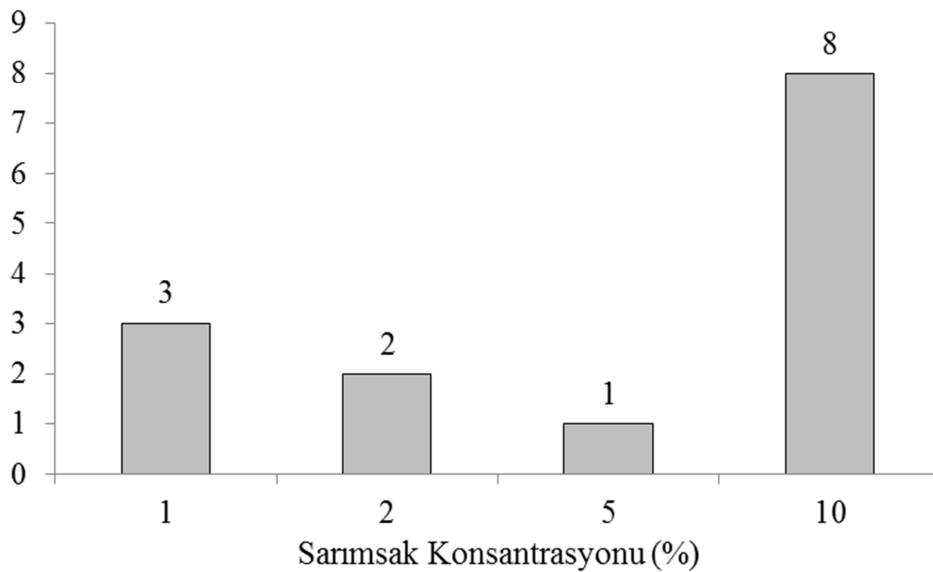
Koral (2012), tuzlanmış ürünler üzerine yapmış olduğu çalışmasında, kuru tuzlanmış örneklerde a_w değerinin genel olarak 0.75-0.76 arasında değiştiğini belirtmiştir. Lakerda örneklerinde ise, işletme ürünü olanlarda a_w değerini (0.88-0.97), balıkçı yapımı (0.79-0.92) olanlara göre daha yüksek bulmuşlardır.

4.2.3. Duyusal analiz bulguları

Duyusal analiz, başta gıda olmak üzere tüketilen veya kullanılan her şeyin, duyu organları ya da çeşitli enstrümantaller aracılığı ile iyiliğinin veya kötülüğünün azlığının ya da çokluğunun değerlendirmesi olayıdır (Meilgaard ve ark., 1999). Herhangi bir gıda maddesinde; ürünün kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik kalitesi ne kadar iyi olursa olsun, duyu analizler ürün hakkında karar vermede son söze sahiptirler (Huss, 1995; Çelik, 2004). Ayrıca, sucul kaynaklı gıdalarda duyu analizler diğer kalite parametrelerine göre, tazeliğin ve kalite kayıplarının tespitinde pratik, basit, kesin ve hızlı bir yöntem olarak değer görmektedir (Reineccius, 1990).

Sarımsak konsantrasyonu bulguları

Sarımsak yoğunluğunun tespiti amacıyla yapılan duyu analiz sonucunda, %10 sarımsak yoğunluğuna sahip grubu 8 panelistin tercih ettiğini, %1 yoğunluğa sahip grubu ise 3 panelistin tercih ettiği görülmüştür (Şekil 10). Sonuç olarak; %10 oranında sarımsak yoğunluğuna sahip grup, en fazla beğeniye aldığından dolayı ürünlere bu yoğunlukta sarımsak ekstraktı ilave edilmiştir.



Şekil 10. Sarımsak yoğunluğu frekans grafiği.

Ürün profil analizi bulguları

Lakerda üründe spesifik rengin tespiti için, süt rengi, kırık beyaz, sarımsı, morumsu, kırmızımsı, lekeli ve homojen renk tanımlamaları kullanılmıştır. Panelistler ürünlere yapılan analizlerde bu renk tanımlamalarını sırasıyla, 3,90; 4,7; 2,10; 2,60; 2,10; 1,90; 3,90 olarak puanlamışlardır. Bu değerler, lakerdanın rengi süt rengi görüntüsüne yakın kırık beyaz renkte, homojen bir yapıda olduğunu göstermektedir. Bununla beraber sarımsaklı lakerdaların, sade lakerdalara göre daha az beyaz ve daha fazla morumsu ve kırmızımsı renkte olduğu belirlenmiştir (Çizelge 11; Şekil 11). Yapılan Kruskal-Wallis testine göre bu çalışmada, lakerda ile sarımsaklı grup örnekleri arasında hiçbir kriterde istatistiksel olarak fark tespit edilememiş ($P>0,05$), lakerdaya ilave edilen sarımsak ekstraktının, lakerda rengi üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 11. +4°C’de olgunlaşan lakerdaların duyusal analiz değerleri

	Duyusal Özellikler	Lakerda	Sarımsaklı Lakerda	P Değeri
Renk	Süt rengi	3,90±0,10	3,50±0,17	*
	Kırık Beyaz	4,70±0,15	4,20±0,20	*
	Sarımsı	2,10±0,28	2,20±0,25	*
	Morumsu	2,60±0,16	2,80±0,13	*
	Kırmızımsı	2,10±0,23	2,40±0,27	*
	Lekeli	1,90±0,23	2,00±0,26	*
	Homojen Renk	3,90±0,23	4,10±0,18	*
Koku	Balıksı Koku	2,30±0,26	1,10±0,10	0,005
	Çiğ et kokusu	1,80±0,25	1,10±0,10	0,020
	Sabunsu	1,10±0,10	1,10±0,10	*
	Metalik	1,60±0,22	1,90±0,23	*
	Tipik Lakerda Kokusu	4,50±0,17	2,50±0,17	0,000
	Tatlı Koku	4,20±0,20	2,60±0,22	0,001
Lezzet	Tuz	4,00±0,37	3,50±0,27	*
	Metalik	1,90±0,28	2,20±0,33	*
	Lakerda Tadı	4,20±0,20	3,50±0,27	*
	Sarımsak Tadı	1,00±0,00	4,70±0,15	0,000
	Olgunlaşmamış	1,20±0,13	1,10±0,10	*
	Yağsı	2,30±0,21	2,00±0,21	*
Tekstür	Gevrek	1,70±0,15	1,40±0,16	*
	Yapışkanlık	1,40±0,22	1,30±0,21	*
	Bağlayıcılık	3,50±0,27	3,20±0,13	*
	Yumuşak	3,10±0,18	3,60±0,22	*
	Lastiksi	2,50±0,22	2,20±0,13	*
	Çiğnenebilirlik	3,60±0,16	3,80±0,13	*
	Gevşek	2,90±0,23	3,10±0,13	*
	Sulu	3,00±0,21	2,60±0,10	*

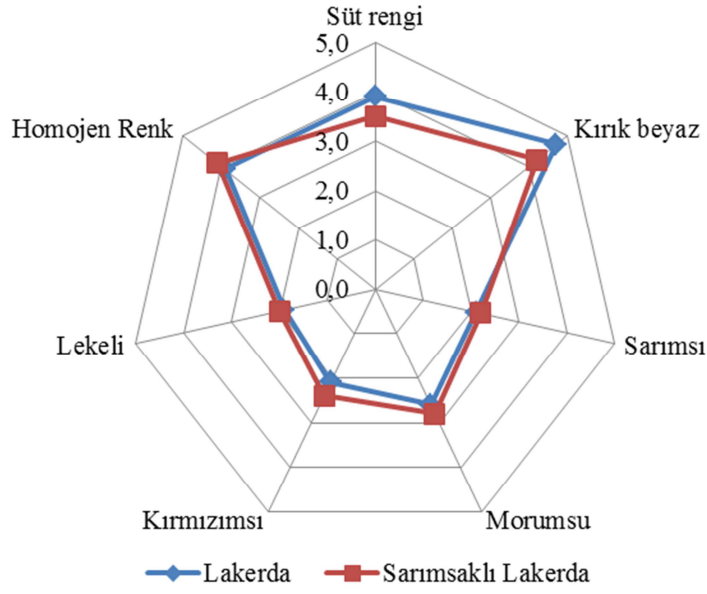
*: $P>0,05$

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

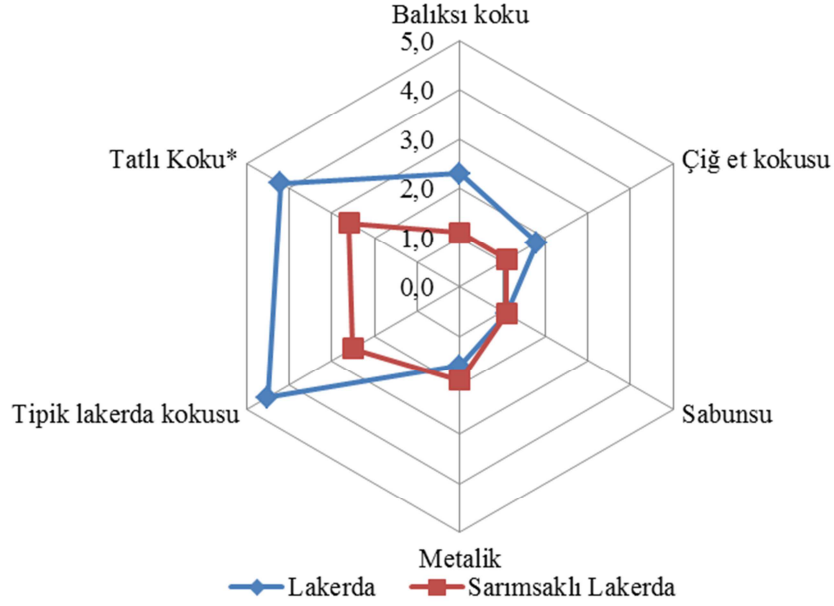
Lakerda ürünler koku yönünden ise, balıksı koku, çiğ et kokusu, sabunsu, metalik, tipik lakerda kokusu ve tatlı koku gibi tanımlamalarla incelenmiştir. Yapılan değerlendirmede lakerda ürün kokusu sırasıyla 2,30; 1,80; 1,10; 1,60; 4,50; 4,20 olarak belirlenmiştir (Çizelge 11; Şekil 12). Bu sonuçlara göre lakerda ürünlerin, tipik lakerda kokusunun yüksek olduğu ve çiğ et kokusu, sabunsu koku veya metalik koku gibi kokuları barındırmadığı tespit edilmiştir. Sarımsaklı lakerda da sarımsak kokusunun lakerdanın tipik kokusunu baskıladığı görülmüş, lakerda ve sarımsaklı lakerda grubunda arasında koku kriteri yönünden bariz farklar tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Lezzet açısından incelenen lakerda ürünlerde gruplar sırasıyla, tuzlu tat, metalik tat, spesifik tat, sarımsak tadı, olgunlaşmamış tat ve yağsı tat özellikleri açısından değerlendirilmiştir. İncelemeler sonucunda sarımsak tadının; beklenildiği gibi, lakerda grupları arasında önemli düzeyde farklılık yarattığı saptanmıştır ($P<0,05$). Panelistler tarafından sade lakerda grubu örneklerde tespit edilemeyen sarımsak tadının, sarımsaklı lakerdada 4,70 olarak değerlendirildiği belirlenmiştir. Diğer tat kriterlerinden olan tuzluluk ise lakerdada 4,00 olarak belirlenmiş; sarımsaklı lakerdada sarımsağın tuz tadını baskılaması sonucu tuz içeriğinin daha düşük oranda (3,50) hissedildiği belirlenmiştir (Çizelge 11; Şekil 13). Buna rağmen örnek grupları arasında tuz tadı açısından, istatistiki bir farklılık tespit edilememiştir ($P>0,05$). Tipik lakerda tadı, olgunlaşmamış tat ve yağsı tat lakerda örneklerinde, metalik tat ise sarımsaklı lakerdalarda daha yüksek oranda tespit edilmiş, ancak bu istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

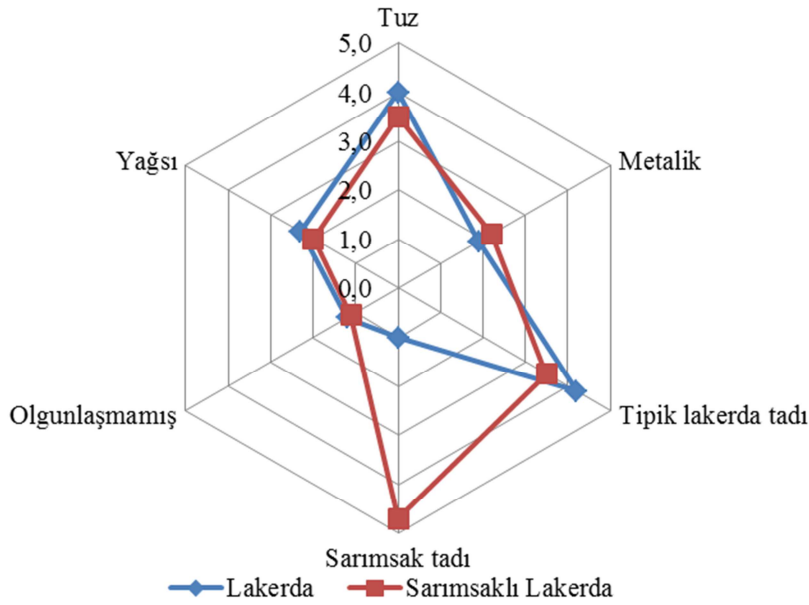
Lakerda üründe tekstür; genellikle gurmeler tarafından ne çok yumuşak ne de çok sert olmayan “doku sıklığı” yönünde açıklanmaktadır. Yapılan bu çalışmada lakerda üründe tekstür; gevrek, yapışkanlık, bağlayıcılık, yumuşak, lastiksi, çiğnenebilirlik, gevşek, sulu gibi özellikler yardımıyla irdelenmiştir. Panelistler, lakerdada gevrekliği 1,70; dış yapışkanlığı 1,40; iç yapışkanlığı 3,50; yumuşaklığı 3,10; lastiğimsi özelliği 2,50; çiğnenebilirliği 3,60; gevşekliği 2,90; sululuğu 3,00 olarak belirlemiştir (Çizelge 11; Şekil 14). Bu bulgular lakerdanın kolay çiğnenebilir, sulu, gevrek ve yapışkan olmayan, biraz yumuşak ve gevşek olmayan bir ürün olduğunun göstergesidir. Sarımsaklı lakerdalar tekstür yönünden istatistiksel olarak sarımsaksız ürün grubuna nazaran farklılık arz etmemiş ($P>0,05$), bununla beraber daha yumuşak, daha gevşek ve daha kuru bir ürün olarak nitelendirilmiştir.



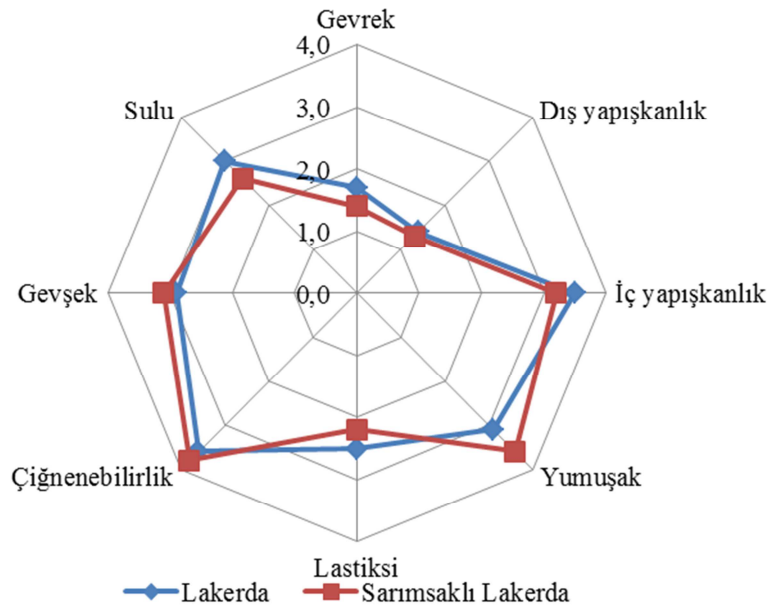
Şekil 11. Lakerdanın renk karakteristiği.



Şekil 12. Lakerdaların koku karakteristiği.



Şekil 13. Lakerdanın lezzet karakteristiği.



Şekil 14. Lakerdanın tekstür karakteristiği.

Lakerda ürününün duyusal kalitesi üzerine diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda net bir çerçeve bulunmamaktadır. Çalışmalarda incelenen duyusal kriterler genellikle raf ömrünün tespiti amacıyla değerlendirilmiş ve elde edilen ürünlerin iyi veya çok iyi kalite ürün özelliği taşıdığı ifade edilmiştir (Lülleci, 1991; Erkan ve ark., 2009).

Lakerda üründen farklı olarak, tuzlanmış su ürünlerinde de duyuşal özellikler üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Özellikle Kuzey Avrupa ülkelerinde yapılan tuzlanmış morine balığı görünüş, koku, kalite kaybı, kasla arasında açılma özellikleri açısından incelenmiştir (Jonsdottir ve ark., 2011). Kuru veya salamura tuzlamanın ürün kalitesine etkisinin araştırıldığı çalışmada, kuru tuzlanmış morina balığında, renkte koyulaşmanın, sararmanın ve spesifik kokunun oluştuğı, salamura tuzlama yönteminde ise ette lekelenme ve kaslarda ayrışmanın yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (Jonsdottir ve ark., 2011). Başka bir çalışmada ise tuzlanmış hamsi balıklarının duyuşal özelliklerinin tanımlanmasına yönelik yapılan çalışmada renkte; gri ve kırmızı, kokuda; jambon ve balık eti kokusu, tatta; tuzlu balık, çiğ hamsi ve acı tat ve son olarak tekstürde sertlik ve sululuk duyuşal analiz kriterleri olarak seçilmiştir (Besteiro ve ark., 2000). Tuzlanmış hamsi ile ilgili yapılan diğeri bir çalışmada, fileto şeklinde ön tuzlanan hamsi balıklarında olgunlaşma sürecinde koku ve lezzet kaybının daha yüksek olmasına rağmen, bütün ön tuzlama yapılan balıklarda renk değışiminin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Czerner ve ark., 2011).

4.2.4. Mikrobiyolojik analiz bulguları

Yüksek asit ve tuz konsantrasyonlarının, mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu, ancak bazı mikroorganizmaların da bu koşullara toleranslı oldukları bilinmektedir. Yapılan çalışmada lakerda ürünler, olgunlaşma sırasında, toplam mezofilik aerobik bakteri (TAB), toplam psikrofilik bakteri (Psik.), halofilik bakteri (HB), toplam koliform (TK), fekal koliform (FK), *Enterococcus* sp. (Ent.), *Staphylococcus aureus* (Staph.), *Bacillus* sp. (Bac.), *Clostridium* sp. (Clost.), *Lactobacillus* sp. (Lac.) ve Maya-Küf (MK) yönünden incelenmiştir. Taze balığın, toplam aerobik bakteri sayısı taze, ön tuzlanmış ve tuzlanmış balıkta 10^4 kob/g seviyesinde tespit edilmiştir (Çizelge 12). Halofilik bakteriler ise taze balıkta $1,5 \times 10^2$ kob/g, ön tuzlamada $3,2 \times 10^3$ kob/g, tuzlanmış balıkta $1,1 \times 10^4$ kob/g olarak bulunmuştur.

Çizelge 12. Lakerdaların mikrobiyolojik sayım sonuçları (kob/g)

Bakteri Grubu	Taze	Ön Tuzlama	Tuzlama 3. gün	Lakerda	Sarımsaklı Lakerda
TAB	2,5x10 ⁴	1,9x10 ⁴	1,5x10 ⁴	3,1x10 ⁴	5,0x10 ²
HB	1,5x10 ²	3,2x10 ³	1,1x10 ⁴	4,0x10 ⁴	4,0x10 ²
TK	1,7x10 ³	2,0x10 ²	1,0x10 ²	<10 ¹	<10 ¹
FK	1,0x10 ²	7,0x10 ¹	4,0x10 ¹	<10 ¹	<10 ¹
Ent.	4,0x10 ¹	3,0x10 ¹	2,0x10 ¹	4,0x10 ²	<10 ¹
Staph.	5,5x10 ³	7,5x10 ²	4,0x10 ²	9,0x10 ²	<10 ¹
Bac.	2,4x10 ³	1,2x10 ³	1,0x10 ³	1,8x10 ²	1,5x10 ²
Clost.	7,0x10 ²	4,0x10 ²	4,0x10 ²	1,0x10 ³	7,0x10 ¹
MK	2,0x10 ³	6,0x10 ²	3,0x10 ²	9,0x10 ¹	1,0x10 ¹
Lac.	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹
Psik.	8,5x10 ³	7,2x10 ³	5,0x10 ²	1,0x10 ³	8,6x10 ²

TAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, HB: halofilik bakteri, TK: toplam koliform, FK: fekal koliform, Ent.: *Enterococcus* spp., Staph.: *Staphylococcus* spp., Bac.: *Bacillus* sp., Clost.: *Clostridium* spp., MK: Maya ve Küf, Lac.: *Lactobacillus* spp., ve Psik.: Psikrofilik bakteri, Örnek sayısı; N=3

Olgunlaşmış lakerda ürün gruplarında toplam aerobik bakteri sayıları, sarımsaksız lakerda örneğinde 3,1x10⁴ kob/g, sarımsaklı lakerda örneğinde 5,0x10² kob/g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 12). Olgunlaşmış balıklarda, halofilik bakteriler, toplam aerobik bakteri sayısına benzer şekilde değişim göstermiş ve sarımsaklı örnek grubunda 4,0x10² kob/g, sarımsaksız örnek grubunda ise 4,0x10⁴ kob/g olarak saptanmıştır. Lakerda ürün örneklerinde, toplam koliform, fekal koliform ve *Lactobacillus* spp. bakterilerine rastlanılmamıştır.

Lakerda ürün gruplarında kullanılan sarımsak ekstraktının etkisi incelendiğinde, genel anlamda *Enterococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. bakterilerinin sarımsaktan etkilendiği belirlenmiştir. Sarımsaklı örneklerde tespit edilemeyen bu bakterilerin sarımsaksız lakerdada sırasıyla 4,0x10² kob/g ve 9,0x10² kob/g düzeyinde bulunduğu görülmüştür. Lakerda üründe patojen bakterilerden *Bacillus* spp. ve *Clostridium* spp. bakterilerine genel anlamda 10² kob/g düzeyinde rastlanmıştır. Psikrofilik karakterli bakteriler ise bütün ürün gruplarında 10²-10³ kob/g düzeyinde tespit edilmiştir (Çizelge 12). Caglak ve arkadaşları (2012), lakerda üründe, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 10²-10³ kob/gr arasında değiştiğini belirtmiş ve koliform, *S. aureus*, Maya-Küf, *E. coli*, *Salmonella* sp. *Aeromonas* sp. ve *Listeria* sp. bakterilerine ise rastlanılmadığını bildirmiştir. Koral ve arkadaşları (2013) ise lakerda ürünlerin toplam mezofilik aerobik bakteri ve toplam halofilik bakteri sayılarının 10² kob/gr civarında olduğunu rapor etmişlerdir. Tuzlanmış hamsi balığında ise psikrofilik bakterilerin 10² kob/gr, yüksek

halofilik bakterilerin 10^4 - 10^5 kob/gr arasında bulunduğu, Enterobakterlere ve *Enterococcus* sp. rastlanmadığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Hernandez-Herrero ve ark., 1999; Hernandez-Herrero ve ark., 2002).

4.3. Olgunlaşma Sürecinde Amino Asit Değişimi ve Biyojen Amin Oluşumu

Proteinlerin yapı taşı olan amino asitlerin 20 tanesi DNA tarafından kodlanarak etin yapısındaki proteinleri oluşturmaktadır. Amino asitlerin farklı şekilde bir araya gelerek bağlanmaları sonucu oluşan bu proteinler, etin işlenmesi sırasında sıcaklık, tuz, sirke, veya mikroorganizma kaynaklı bozularak, ortamda küçük yapılı peptidler ve amino asitlere dönüşmektedir. Buna ek olarak normal koşullarda ette, düşük oranda bulunan serbest amino asitlerin de miktarı artmaktadır. İşlenme sonucunda oluşan bu yeni bileşikler ete tat ve aroma kazandırmakta, diğer taraftan uzun vadede ise etin kalitesinde kayıplar yaşanmasına neden olmaktadır.

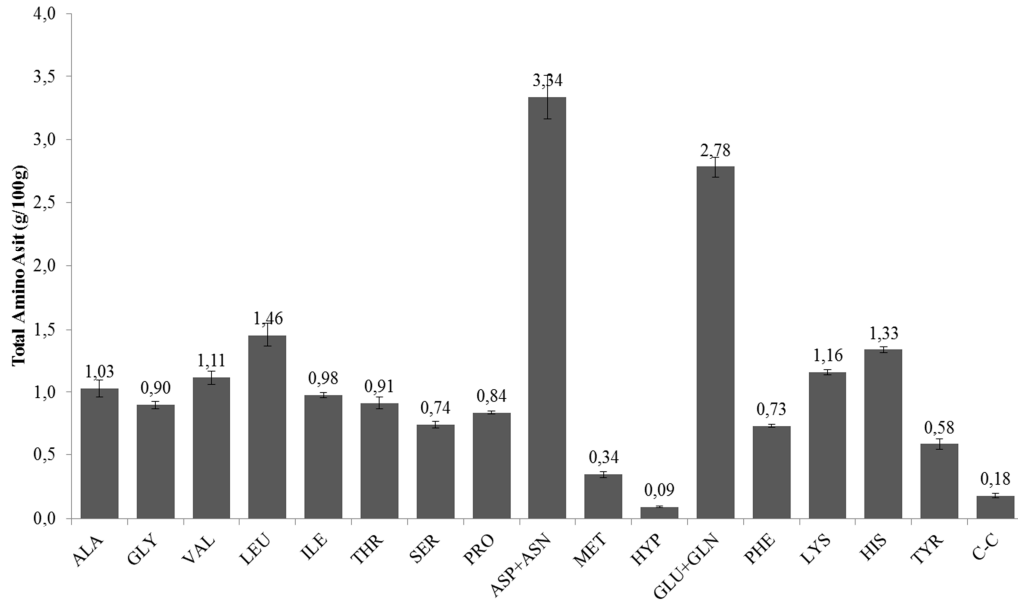
Yapılan bu çalışmada, taze palamut balığına ve lakerdanın olgunlaştırılması sırasında ette bulunan toplam amino asit değişimi incelenmiş ve bu değişimin olgunlaşmaya etkisi araştırılmıştır. Olgunlaşma sürecinde farklı sıcaklık uygulamaları da kullanılarak sıcaklık farkının toplam amino asit miktarına etkisi de tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan analizlerde toplam 20 amino asit incelenmiştir. İncelemeler sırasında amino asitlerden triptofan (TRP) analizlerde tespit edilememiş, bu amino asitin örneklerin asit ile hidrolizi sırasında form değiştirdiği kanısına varılmıştır. Triptofan gibi asit hidrolizinden etkilenen asparajin (ASN) ve glutamin (GLN) ise, sırasıyla aspartik asit (ASP) ve glutamik asite (GLU) dönüşmüştür. Bu amino asitlerin bulgularda verilen miktarları, dönüştükleri amino asitlerin (ASP+ASN ve GLU+GLN) toplamı şeklinde sunulmuştur. Böylece tüm örnek gruplarında 17 adet total amino asit üzerinden değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmada, hammadde olarak kullanılan taze palamut balığından elde edilen total amino asit kompozisyonu Şekil 15’de görülmektedir. Bulgulara göre taze palamut balığına en yüksek orana sahip amino asitler aspartik asit ile asparajin (3,34 g/100g) olarak saptanmıştır. Söz konusu bu amino asitleri 2,78 g/100g ile glutamik asit ile glutamin, 1,46 g/100g ile lösin (LEU), 1,33 g/100g ile histidin (HIS) ve 1,16 g/100g ile Lizin (LYS) izlemektedir. Taze palamut balığına en düşük oranda bulunan amino asitler ise, 4-hidroksiprolin (HYP), sistin (C-C) ve Metiyonin (MET) olarak tespit edilmiştir, bu amino asitlerin miktarları sırasıyla 0,09 g/100g, 0,18 g/100g ve 0,34 g/100g’dir. Çalışmada

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

hammadde olarak kullanılan balığın amino asitlerinin toplam miktarı, 100g taze palamut balığı etinde yaklaşık 18,5 g/100g amino asit olarak belirlenmiştir.

Araştırmacılar, balık kasında en çok bulunan amino asitlerin aspartik asit, glutamik asit ve Lizin olduğunu rapor etmektedirler (Ozden, 2005; Erkan ve ark., 2010; Vinagre ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada, istavrit balığının toplam amino asit miktarı 10,92 g/100g olarak ifade edilmiş, glutamik asit, aspartik asit, lizin miktarları da sırasıyla 1,42 g/100g, 1,04 g/100g ve 9,66 g/100g olarak verilmiştir (Erkan ve ark., 2010). Özden (2005) yapmış olduğu çalışmada; hamside toplam amino asit miktarını 12,26 g/100g, aspartik asit 1,34 g/100g, glutamik asit 1,21 g/100g ve Lizin 1,14 g/100g olarak; alabalıkta ise toplam amino asit miktarını 14,96 g/100g, aspartik asit 1,6 g/100g, glutamik asit ve lizin miktarlarını 1,5 g/100g olarak bildirmiştir. Özden ve Erkan (2011), lipsoz, iskorpit, berlam, fener, kalkan, dülger, trakonya, kırlangıç ve turna balıklarının amino asit içeriklerini araştırdığı çalışmasında, tespit edebildiği 16 adet amino asit içeriğinin toplam değerini en yüksek dülger balığında (38,05 g/100g) bulmuş, baskın amino asitlerin bu balıkta glutamik asit (6,25 g/100g), aspartik asit (4,40 g/100g) ve lizin (3,84 g/100g) olduğunu rapor etmiştir. Uskumrugillerden kolyoz balığının farklı mevsimlerde amino asit içeriğini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada ise, bu çalışma sonucuna benzer şekilde, ortalama toplam amino asit miktarı 18,45 g/100g olarak tespit edilmiştir (Bae ve Lim, 2012). Söz konusu çalışmada ayrıca, glutamik asit, aspartik asit ve lizin baskın amino asitler ve miktarlarının da sırasıyla 2,95 g/100g, 1,86 g/100g ve 1,79 g/100g olduğu bildirilmiştir (Bae ve Lim, 2012). Yapılan bir diğer çalışmada da, ringa, uskumru, istavrit ve morina balıklarında 17 adet amino asitin tespit edilebildiği belirlenmiş, toplam amino asit miktarının ise en yüksek uskumru balığında (94,73 g/100g protein) olduğu saptanmıştır (Oluwaniyi ve ark., 2010). Baskın amino asit olarak glutamik asit (13,91 g/100g protein) ve lizin (8,02 g/100g protein) belirlenmiştir. Morina balığında ise baskın amino asit aspartik asit, 10,08 g/100g protein değerinde bulunmuştur (Oluwaniyi ve ark., 2010). Ayrıca Özyurt ve Polat (2006), farklı mevsimlerde, levrek balığının amino asit yönünden incelemişler ve toplam amino asit miktarını ortalama 79,22 g/100g protein, glutamik asit ve aspartik asit miktarını ise 8,78 g/100g protein ve lizin miktarını da 8,48 g/100g protein olarak ölçmüşlerdir. Yayın balığında yapılan bir çalışmada da, 17 adet amino asit tespit edilmiş, toplam amino asit miktarı 13,40 g/100g olarak belirlenmiştir (Wang ve ark., 2012). Söz konusu çalışmada, glutamik asit (2,12 g/100g), aspartik asit (1,44 g/100g) ve lizin (1,35 g/100g)'nin de baskın amino asitler olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2012).



ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzölösin, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirosin, C-C: Sistin.

Şekil 15. Taze palamut balığında amino asit kompozisyonu.

Balıkların tuz ile olgunlaştırılması sırasında balık etine giren tuz, proteinlerin su çekerek şişmesine ve denatüre olmasına (koagülasyon) neden olmaktadır. Olgunlaşma öncesinde balıkların kan ve mukusundan arındırıldığı ön tuzlama aşamasında, toplam amino asit miktarı 16,8 g/100g olarak tespit edilmiştir. Taze palamut balığında tespit edilen miktara göre daha az olan bu toplam amino asit değeri, balık etine su girişinin olması ile birlikte artan hacimden kaynaklanmıştır. Ön tuzlama aşamasındaki balık etinde, baskın olarak tespit edilen amino asitler aspartik asit ile asparajin (3,78 g/100g) olarak belirlenmiş, bu amino asitleri ise glutamik asit ile glutamin (1,80 g/100g), lösin (1,30 g/100g) ve valin (VAL; 1,23 g/100g) izlemiştir.

Tuzlama aşamasında ise, toplam amino asit miktarında bir artış gözlenmiştir. Tuzlamanın 1. gününde, miktar 18,5 g/100g, 3. gününde ise miktar 19,1 g/100g olarak saptanmıştır. Tuzlamanın 1. ve 3. gününde, taze ve ön tuzlanmış balığa kıyasla aspartik asit ile asparajin toplamı azalmış; glutamik asit ile glutamin toplamı ise artmış, sırasıyla, aspartik asit ile asparajin toplamı; 2,41 g/100g ve 2,63 g/100g, glutamik asit ile glutamin toplamı; 2,89 g/100g ve 3,28 g/100g olarak tespit edilmiştir. Bu süreçte diğer baskın amino asitler ise lösin (1,58-1,88 g/100g) ve valin (1,46-1,57 g/100g) olarak belirlenmiştir (Çizelge 13).

Çizelge 13. Lakerdanın farklı sıcaklık uygulamaları öncesinde amino asit değişimleri

Total Amino Asit (g/100g)	Ön Tuzlama	Tuzlama (Gün)	
		1	3
ALA	0,91 ± 0,03	1,19 ± 0,03	1,34 ± 0,08
GLY	0,83 ± 0,03	0,95 ± 0,05	1,03 ± 0,03
VAL	1,23 ± 0,03	1,46 ± 0,05	1,57 ± 0,03
LEU	1,30 ± 0,03	1,58 ± 0,02	1,88 ± 0,04
ILE	1,07 ± 0,06	1,25 ± 0,03	1,30 ± 0,04
THR	0,75 ± 0,02	0,96 ± 0,06	1,12 ± 0,03
SER	0,58 ± 0,03	0,71 ± 0,02	0,83 ± 0,02
PRO	0,76 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,89 ± 0,01
ASP+ASN	3,78 ± 0,07	2,41 ± 0,15	2,63 ± 0,06
MET	0,49 ± 0,01	0,58 ± 0,03	0,72 ± 0,02
HYP	0,10 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
GLU+GLN	1,80 ± 0,08	2,89 ± 0,08	3,28 ± 0,05
PHE	0,66 ± 0,02	0,80 ± 0,02	0,88 ± 0,02
LYS	1,14 ± 0,05	1,22 ± 0,03	0,80 ± 0,03
HIS	0,69 ± 0,06	0,78 ± 0,02	0,45 ± 0,02
TYR	0,53 ± 0,02	0,57 ± 0,03	0,33 ± 0,01
C-C	0,14 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,08 ± 0,00
Toplam Total Amino Asit (g/100g)	16,8	18,5	19,1

ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzolösin, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirosin, C-C: Sistin.

Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=3

4.3.1. Farklı sıcaklık uygulamalarının amino asit değişimine etkisi

Tuzlama teknolojisinde olgunlaşma sıcaklığının artması, balık etine giren tuz oranını artırarak su çıkışını kolaylaştırmaktadır (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 2008). Yapılan bu çalışmada palamut balıkları, tuzlamanın 3. gününden itibaren 3 farklı sıcaklıkta; +4°C, 15°C ve 20°C, olgunlaştırılmıştır. Balıklar +4°C’de 22. günde olgunlaşmış, 15°C’de 17. günde ve 20°C’de ise 15. günde olgunlaşmalarını tamamlamışlardır.

Üç farklı sıcaklıkta olgunlaşan balıkların amino asit değişimleri, Çizelge 14’de verilmektedir. Palamut balıklarının +4°C’de geçirdikleri olgunlaşma sürecinde, toplam amino asit miktarı düzensiz bir şekilde artmış, 6. günde 14,7 g/100g olan toplam amino asit miktarı, olgunlaşmanın tamamlandığı 22. günde 19,1 g/100g olarak saptanmıştır (Çizelge 14). Buzdolabı koşullarında +4°C’de gerçekleşen olgunlaşma sürecinde de, taze ve ön tuzlamada olduğu gibi baskın amino asitler glutamik asit ile glutamin, aspartik asit ile asparajin, lösin, valin ve lizin olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşmış üründe, söz konusu bu amino asitler sırasıyla 4,75 g/100g, 2,39 g/100g, 1,51 g/100g, 1,36 g/100g ve 1,12 g/100g olarak bulunmuştur.

Lakerda üretiminin 15°C’de gerçekleştirildiği olgunlaşma sürecinde, toplam amino asit miktarı önce hızlı bir artış göstermiş, daha sonra düzensiz azalış ve artışlarla

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

olgunlaşma süreci tamamlanmıştır (Çizelge 14; Şekil 16). Nitekim 6. günde 24,5 g/100g olan total amino asitlerin miktarı 13. güne azalarak inmiş (13,5 g/100g), olgunlaşmanın gerçekleştiği 17. günde ise 21,6 g/100g olarak ölçülmüştür. Bu ürün grubunda toplam amino asit miktarı özellikle, 8. ve 13. günlerde bariz azalma göstermiş, bunun nedeninin ise söz konusu günlerde glutamik asit ile glutamin ve aspartik asit ile asparajin miktarlarının azalmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Balık etinde glutamik asit ile glutamin toplam miktarının, 8. günde yaklaşık olarak 3 g, 13. günde ise 4 g azaldığı, aspartik asit ile asparajin toplamının ise yaklaşık olarak 8. ve 13. günlerde 1 g azaldığı tespit edilmiştir.

Palamut balıklarının 20°C’de olgunlaştırılması sürecinde ise, toplam amino asit miktarı düzenli olarak artış göstermiştir. Tuzlamanın 6. gününde 18,9 g/100g olarak saptanan toplam amino asit miktarı, 15. gününde olgunlaşmasını tamamlayan örneklerde 21,7 g/100g olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşmış lakerda üründe baskın amino asitler yine glutamik asit ile glutamin, aspartik asit ile asparajin, lösin ve valin olarak belirlenmiştir. Bu amino asitlerin miktarı sırasıyla 3,24 g/100g, 3,38 g/100g, 1,84 g/100g ve 1,62 g/100g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 14).

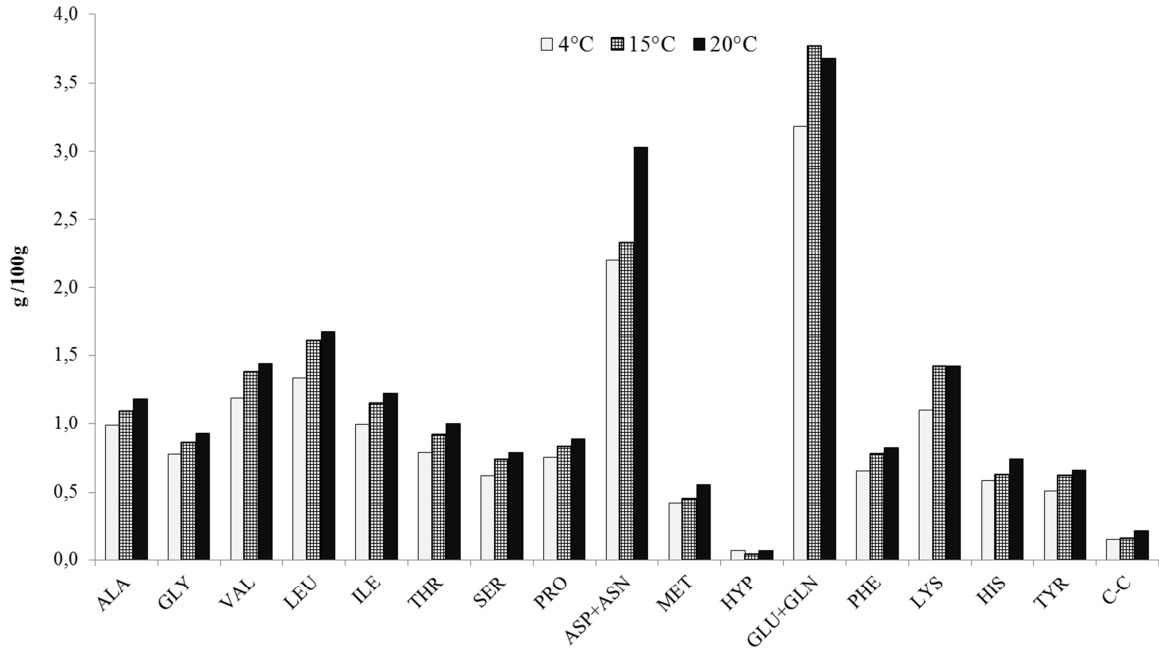
Farklı sıcaklıklarda olgunlaştırılan lakerda ürünlerin toplam amino asit miktarları karşılaştırıldığında, genel olarak sıcaklık artıka toplam amino asit miktarının da arttığı gözlenmiştir. Sadece glutamik asit ve glutamin amino asitlerinin 15°C’deki toplam miktarı +4°C ve 20°C’deki örneklere göre kıyasla daha yüksek oranda saptanmıştır (Şekil 16).

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

Çizelge 14. Lakerdaların farklı sıcaklıklarda olgunlaşması süresince amino asit değişimi

Total Amino Asit (g/100g)	Olgunlaşma Süresi (Gün)						
	6	8	10	13	15	17	22
+4°C							
ALA	0,84 ± 0,02 ^{Bc}	1,05 ± 0,03 ^{Aab}	0,81 ± 0,03 ^{Bbb}	1,03 ± 0,05 ^{Aab}	1,13 ± 0,04 ^{Aa}	0,99 ± 0,04	1,05 ± 0,06
GLY	0,70 ± 0,02 ^{Bc}	1,10 ± 0,07 ^{Aa}	0,71 ± 0,02 ^{Bb}	0,76 ± 0,03 ^{Ba}	0,59 ± 0,20 ^{Cb}	0,79 ± 0,02	0,80 ± 0,03
VAL	0,92 ± 0,02 ^{Cc}	1,16 ± 0,04 ^{Bc}	1,09 ± 0,02 ^{Bb}	1,32 ± 0,02 ^{Aa}	1,25 ± 0,02 ^{Ac}	1,24 ± 0,02	1,36 ± 0,02
LEU	1,23 ± 0,04 ^{Cc}	1,26 ± 0,04 ^{BCc}	1,15 ± 0,01 ^{Cc}	1,43 ± 0,04 ^{Ab}	1,37 ± 0,05 ^{ABb}	1,40 ± 0,04	1,51 ± 0,03
ILE	0,74 ± 0,04 ^{Cc}	0,98 ± 0,05 ^{ABb}	0,93 ± 0,05 ^{Bb}	1,12 ± 0,06 ^{Aa}	1,06 ± 0,06 ^{Ab}	1,06 ± 0,06	1,09 ± 0,06
THR	0,75 ± 0,03 ^{Bc}	0,79 ± 0,03 ^{Ac}	0,70 ± 0,03 ^{Bb}	0,78 ± 0,02 ^{ABb}	0,83 ± 0,01 ^{Ac}	0,85 ± 0,02	0,83 ± 0,02
SER	0,60 ± 0,02 ^{Ac}	0,67 ± 0,02 ^{Ac}	0,55 ± 0,01 ^{Bb}	0,60 ± 0,02 ^{Abc}	0,64 ± 0,06 ^{Ab}	0,68 ± 0,02	0,61 ± 0,01
PRO	0,68 ± 0,01 ^{Cc}	0,90 ± 0,02 ^{Aa}	0,68 ± 0,03 ^{Cb}	0,73 ± 0,02 ^{BCb}	0,76 ± 0,03 ^{Bc}	0,76 ± 0,01	0,77 ± 0,03
ASP+ASN	1,90 ± 0,05 ^{Cb}	2,26 ± 0,07 ^{Bb}	1,99 ± 0,08 ^{Cb}	2,24 ± 0,05 ^{Ba}	2,46 ± 0,11 ^{Ab}	2,13 ± 0,05	2,39 ± 0,07
MET	0,46 ± 0,02 ^{ABc}	0,29 ± 0,02 ^{Cb}	0,47 ± 0,02 ^{Ab}	0,40 ± 0,02 ^{BCa}	0,35 ± 0,03 ^{Cc}	0,38 ± 0,03	0,59 ± 0,02
HYP	0,09 ± 0,00 ^{Ba}	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	0,04 ± 0,00 ^{Cb}	TE ^{Db}	0,03 ± 0,00 ^{Cb}	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,00
GLU+GLN	2,97 ± 0,16 ^{Ac}	2,93 ± 0,13 ^{Aba}	2,67 ± 0,10 ^{Bb}	3,12 ± 0,09 ^{Ab}	2,93 ± 0,04 ^{ACb}	2,90 ± 0,06	4,75 ± 0,06
PHE	0,60 ± 0,01 ^{BCc}	0,64 ± 0,02 ^{ABCc}	0,57 ± 0,01 ^{Cc}	0,67 ± 0,02 ^{ABb}	0,71 ± 0,04 ^{Ab}	0,70 ± 0,01	0,72 ± 0,02
LYS	0,99 ± 0,02 ^{Bc}	1,07 ± 0,04 ^{Bc}	1,04 ± 0,03 ^{Bc}	1,02 ± 0,04 ^{Bc}	1,25 ± 0,07 ^{Ab}	1,24 ± 0,05	1,12 ± 0,04
HIS	0,57 ± 0,02 ^{Ac}	0,60 ± 0,03 ^{Ab}	0,55 ± 0,02 ^{Ab}	0,49 ± 0,02 ^{Ab}	0,61 ± 0,01 ^{Ab}	0,61 ± 0,02	0,68 ± 0,02
TYR	0,51 ± 0,02 ^{Ac}	0,49 ± 0,01 ^{Ab}	0,49 ± 0,02 ^{Ab}	0,47 ± 0,01 ^{Ab}	0,53 ± 0,02 ^{Ac}	0,54 ± 0,01	0,57 ± 0,02
C-C	0,16 ± 0,01 ^{Ab}	0,13 ± 0,01 ^{Ab}	0,15 ± 0,01 ^{Aab}	0,09 ± 0,00 ^{Bb}	0,16 ± 0,01 ^{Ac}	0,19 ± 0,01	0,19 ± 0,02
TOPLAM	14,7	16,5	14,6	16,3	16,7	16,5	19,1
15°C							
ALA	1,33 ± 0,05 ^{Aa}	1,02 ± 0,02 ^{BCb}	0,93 ± 0,06 ^{Cb}	0,90 ± 0,03 ^{Cb}	1,14 ± 0,08 ^{Ba}	1,27 ± 0,08	
GLY	1,06 ± 0,05 ^{Aa}	0,80 ± 0,02 ^{BCb}	0,70 ± 0,03 ^{Cb}	0,73 ± 0,03 ^{Ca}	0,92 ± 0,03 ^{Ba}	0,99 ± 0,02	
VAL	1,56 ± 0,03 ^{Aa}	1,30 ± 0,03 ^{Bb}	1,19 ± 0,03 ^{BCb}	1,12 ± 0,02 ^{Cb}	1,48 ± 0,08 ^{Ab}	1,65 ± 0,01	
LEU	1,95 ± 0,03 ^{Aa}	1,45 ± 0,05 ^{Cb}	1,35 ± 0,03 ^{CDb}	1,27 ± 0,05 ^{Dc}	1,78 ± 0,06 ^{Ba}	1,84 ± 0,03	
ILE	1,27 ± 0,03 ^{Aa}	1,10 ± 0,05 ^{Bab}	0,95 ± 0,02 ^{Cb}	0,95 ± 0,02 ^{Cb}	1,28 ± 0,04 ^{Aa}	1,39 ± 0,06	
THR	1,17 ± 0,04 ^{Aa}	0,85 ± 0,03 ^{Cbc}	0,75 ± 0,02 ^{Db}	0,73 ± 0,02 ^{Db}	0,96 ± 0,05 ^{Ba}	1,09 ± 0,06	
SER	0,93 ± 0,03 ^{Aa}	0,69 ± 0,03 ^{Cbc}	0,57 ± 0,01 ^{Db}	0,56 ± 0,01 ^{Dc}	0,81 ± 0,03 ^{Ba}	0,88 ± 0,02	
PRO	1,04 ± 0,03 ^{Aa}	0,74 ± 0,02 ^{Cb}	0,72 ± 0,03 ^{CDb}	0,67 ± 0,01 ^{Db}	0,88 ± 0,07 ^{Bb}	0,97 ± 0,01	
ASP+ASN	3,04 ± 0,04 ^{Aa}	2,08 ± 0,05 ^{Cb}	1,97 ± 0,08 ^{Cb}	1,76 ± 0,06 ^{Db}	2,27 ± 0,05 ^{Bc}	2,86 ± 0,06	
MET	0,79 ± 0,02 ^{Aa}	0,13 ± 0,01 ^{Dc}	0,49 ± 0,02 ^{Bb}	0,29 ± 0,03 ^{Cb}	0,49 ± 0,01 ^{Bb}	0,54 ± 0,01	
HYP	0,05 ± 0,00 ^{Bc}	0,02 ± 0,00 ^{Cc}	0,07 ± 0,00 ^{Aa}	0,03 ± 0,00 ^{Ca}	0,04 ± 0,00 ^{BCb}	0,04 ± 0,00	
GLU+GLN	5,79 ± 0,08 ^{Aa}	2,87 ± 0,09 ^{Ca}	5,25 ± 0,11 ^{Ba}	1,89 ± 0,09 ^{Dc}	3,00 ± 0,15 ^{Ca}	3,78 ± 0,04	
PHE	0,96 ± 0,04 ^{Aa}	0,72 ± 0,03 ^{Cb}	0,63 ± 0,01 ^{Dbc}	0,58 ± 0,03 ^{Db}	0,88 ± 0,02 ^{Ba}	0,92 ± 0,04	
LYS	1,64 ± 0,02 ^{Aa}	1,42 ± 0,07 ^{Bb}	1,04 ± 0,01 ^{Db}	1,28 ± 0,01 ^{Cb}	1,56 ± 0,06 ^{Aa}	1,62 ± 0,07	
HIS	0,92 ± 0,05 ^{Aa}	0,68 ± 0,03 ^{Bab}	0,59 ± 0,03 ^{Bb}	0,12 ± 0,01 ^{Cc}	0,68 ± 0,03 ^{Bab}	0,82 ± 0,02	
TYR	0,78 ± 0,01 ^{Aa}	0,51 ± 0,01 ^{Cb}	0,49 ± 0,02 ^{Cb}	0,61 ± 0,02 ^{Ba}	0,64 ± 0,02 ^{Bb}	0,72 ± 0,01	
C-C	0,22 ± 0,02 ^{Aa}	0,16 ± 0,00 ^{Bab}	0,13 ± 0,01 ^{Bb}	TE ^{Cc}	0,21 ± 0,01 ^{Ab}	0,25 ± 0,01	
TOPLAM	24,5	16,5	17,8	13,5	19,0	21,6	
20°C							
ALA	1,07 ± 0,02 ^{Cb}	1,19 ± 0,02 ^{ABCa}	1,32 ± 0,04 ^{Aa}	1,13 ± 0,02 ^{BCa}	1,22 ± 0,10 ^{Aba}		
GLY	0,88 ± 0,04 ^{BCb}	0,92 ± 0,03 ^{BCb}	1,05 ± 0,04 ^{Aa}	0,83 ± 0,02 ^{Ca}	0,98 ± 0,02 ^{Aba}		
VAL	1,18 ± 0,02 ^{Cb}	1,44 ± 0,02 ^{Ba}	1,62 ± 0,03 ^{Aa}	1,34 ± 0,02 ^{Ba}	1,62 ± 0,04 ^{Aa}		
LEU	1,54 ± 0,03 ^{Db}	1,66 ± 0,05 ^{BCa}	1,79 ± 0,03 ^{Aa}	1,56 ± 0,04 ^{CDa}	1,84 ± 0,02 ^{Aa}		
ILE	1,02 ± 0,06 ^{Db}	1,23 ± 0,02 ^{BCa}	1,34 ± 0,07 ^{Aba}	1,14 ± 0,02 ^{CDa}	1,41 ± 0,03 ^{Aa}		
THR	0,92 ± 0,02 ^{Cb}	0,99 ± 0,03 ^{BCa}	1,02 ± 0,04 ^{Ba}	0,97 ± 0,03 ^{BCa}	1,11 ± 0,03 ^{Aa}		
SER	0,73 ± 0,01 ^{Bb}	0,79 ± 0,02 ^{Ba}	0,77 ± 0,02 ^{Ba}	0,79 ± 0,02 ^{Ba}	0,88 ± 0,01 ^{Aa}		
PRO	0,84 ± 0,02 ^{Bb}	0,84 ± 0,01 ^{Ba}	0,97 ± 0,01 ^{Aa}	0,82 ± 0,01 ^{Ba}	0,99 ± 0,02 ^{Aa}		
ASP+ASN	3,08 ± 0,11 ^{Ba}	2,98 ± 0,06 ^{Ba}	3,28 ± 0,04 ^{Aa}	2,42 ± 0,04 ^{Ca}	3,38 ± 0,05 ^{Aa}		
MET	0,62 ± 0,02 ^{Bb}	0,52 ± 0,02 ^{Ca}	0,69 ± 0,03 ^{Aa}	0,37 ± 0,01 ^{Da}	0,57 ± 0,02 ^{BCa}		
HYP	0,07 ± 0,00 ^{Ab}	0,08 ± 0,00 ^{Ab}	0,08 ± 0,00 ^{Aa}	0,04 ± 0,00 ^{Ba}	0,07 ± 0,00 ^{Aa}		
GLU+GLN	3,43 ± 0,12 ^{BCb}	3,01 ± 0,11 ^{Ca}	5,10 ± 0,07 ^{Aa}	3,63 ± 0,11 ^{Ba}	3,24 ± 0,05 ^{Ca}		
PHE	0,75 ± 0,01 ^{Cb}	0,82 ± 0,01 ^{BCa}	0,83 ± 0,00 ^{Ba}	0,78 ± 0,04 ^{BCa}	0,94 ± 0,03 ^{Aa}		
LYS	1,16 ± 0,04 ^{Cb}	1,59 ± 0,03 ^{Aa}	1,40 ± 0,03 ^{Ba}	1,39 ± 0,05 ^{Ba}	1,60 ± 0,02 ^{Aa}		
HIS	0,68 ± 0,03 ^{Abc}	0,79 ± 0,03 ^{Aba}	0,77 ± 0,04 ^{Aba}	0,66 ± 0,04 ^{Ba}	0,81 ± 0,02 ^{Aa}		
TYR	0,65 ± 0,01 ^{Bb}	0,64 ± 0,02 ^{Ba}	0,65 ± 0,01 ^{Ba}	0,64 ± 0,02 ^{Ba}	0,72 ± 0,02 ^{Aa}		
C-C	0,21 ± 0,01 ^{BCa}	0,17 ± 0,01 ^{Da}	0,18 ± 0,01 ^{CDa}	0,22 ± 0,01 ^{Ba}	0,29 ± 0,02 ^{Aa}		
TOPLAM	18,9	19,6	22,8	18,7	21,7		

ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzölösün, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirozin, C-C: Sistin. TE: Tespit Edilemedi, Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=3
Aynı satırdaki farklı büyük harfler (A,B,C...) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05). Farklı sıcaklıktaki aynı amino asite asit ve aynı sütündeki farklı küçük harfler (a,b,c...) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05)



ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzölösün, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirozin, C-C: Sistin.

Şekil 16. Lakerdanın farklı sıcaklıklara olgunlaştırılması sırasında ortalama toplam amino asit miktarları.

4.3.2. Sarımsak ekstraktının amino asit değişimine etkisi

Son yıllarda birçok araştırmacı, balık ve diğer su ürünlerinin işlemeciliğinde doğal bitki ekstraktlarının kullanımı ve etkileri ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Doğal bitki ekstraktlarının üründe kullanımı, genellikle ürünü koruma amacıyla yapılmaktadır. Bu çalışmada ise sarımsak ekstraktı, üründe lezzet gelişimini sağlaması ve yanı sıra bir risk unsuru olan biyojen amin oluşumuna etki yaratılması amacıyla uygulanmıştır. Ürüne ilave edilen sarımsak ekstraktı konsantrasyonu, duyu analizlerde panelistler tarafından belirlenmiştir.

Olgunlaşmanın +4°C’de yapıldığı sarımsak ekstraktlı lakerdada toplam amino asit miktarı 19,1 g/100g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 15). Bu grupta, olgunlaşma süreci boyunca amino asit miktarı düzensiz bir azalma göstermiş, en yüksek seviyeye 10. günde ulaşan miktar (19,8 g/100g), en düşük düzeye ise 8. günde (13,4 g/100g) ulaşmıştır. Olgunlaşma süresince meydana gelen bu azalma, alanin, 4-Hidroksiprolin ve glutamik asit ile glutamin miktarları hariç, diğer tüm amino asitlerde görülmüştür. Bu grupta, baskın amino asitler glutamik asit ile glutamin, aspartik asit ile asparajin ve lösin dir. Sarımsak ekstraktı eklenerek +4°C’de olgunlaştırılan lakerda ürünlerin (14,4 g/100g), sarımsaksız ürünlere (19,1 g/100g) nazaran daha az oranda toplam amino asit içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu durum, protein molekülerinin serbest amino asitlere dönüşmesi

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

nedeniyle veya amino asitlerin salamura suyuna daha yoğun bir şekilde transfer olmasından kaynaklanmıştır.

Sarımsaklı lakerda ürünlerin 15°C’de olgunlaştırıldığı grupta, total amino asit miktarı 23,7 g/100g olarak belirlenmiştir. Olgunlaşma süresinin 6. gününde 16,1 g/100g olarak tespit edilen amino asit miktarı, süreç boyunca düzgün bir artış göstermiştir. Bu ürünlerde de baskın amino asitler, diğer örneklerde olduğu gibi, glutamik asit ile glutamin (5,43 g/100g), aspartik asit ile asparajin (2,99 g/100g), lösin (1,86 g/100g) ve valin (1,72 g/100g) dir. Sarımsak ilave edilmeden 15°C’de hazırlanan lakerda ürünlerde ise, toplam amino asit miktarı 21,7 g/100g değeri ile sarımsaklı olanlardan daha az miktarda tespit edilmiştir (Çizelge 15).

Yapılan çalışmada, 20°C’de 15. günde olgunlaşan sarımsak ekstraktı ilaveli lakerda ürünlerde toplam amino asit miktarı 26,3 g/100g olarak belirlenmiştir. Süreç boyunca düzensiz artış gösteren amino asitler en düşük değerini 10. günde (16,0 g/100g) görmüştür. Baskın amino asitler bu ürünlerde, glutamik asit ile glutamin, aspartik asit ile asparajin, lösin ve valindir ve miktarları sırasıyla 5,28 g/100g, 3,36 g/100g, 2,19 g/100g ve 2,00 g/100g olarak tespit edilmiştir (Çizelge 15).

Sarımsak ilavesiz lakerdalarda olduğu gibi, farklı sıcaklıkların toplam amino asit miktarına etkisi sarımsaklı lakerda da görülmüş, metiyonin (MET) hariç diğer amino asitlerin miktarı sıcaklık artıka artmıştır (Şekil 17).

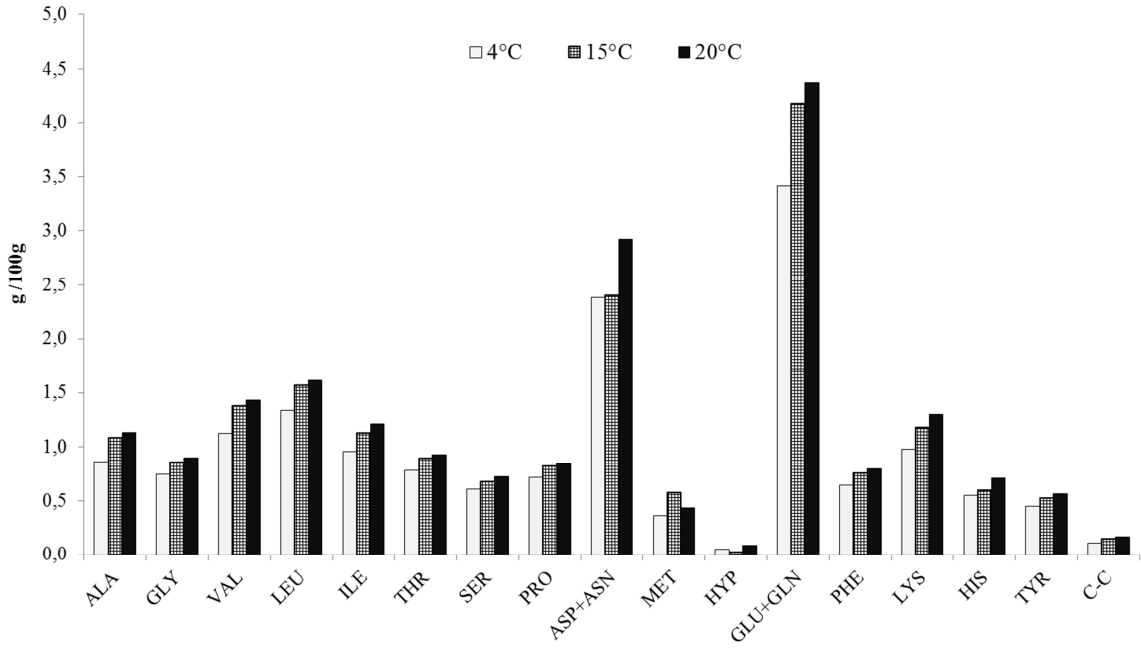
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

Çizelge 15. Sarımsak ekstraktı ilave edilmiş lakerdaların farklı sıcaklıklarda olgunlaşması süresince amino asit değişimi

Total Amino Asit (g/100g)	Olgunlaşma Süresi (Gün)						
	6	8	10	13	15	17	22
+4°C							
ALA	0,52 ± 0,05 ^{Cb}	0,79 ± 0,03 ^{Ba}	1,03 ± 0,08 ^{Aa}	1,05 ± 0,05 ^{Ab}	0,99 ± 0,08 ^{Ac}	0,92 ± 0,03	0,76 ± 0,03
GLY	0,75 ± 0,02 ^{Bcb}	0,64 ± 0,02 ^{Cb}	0,82 ± 0,04 ^{Ab}	0,88 ± 0,03 ^{Aa}	0,75 ± 0,03 ^{Bbc}	0,79 ± 0,02	0,61 ± 0,02
VAL	1,06 ± 0,04 ^{Bc}	0,96 ± 0,03 ^{Ba}	1,27 ± 0,02 ^{Aa}	1,22 ± 0,03 ^{Ab}	1,21 ± 0,11 ^{Ac}	1,24 ± 0,02	0,95 ± 0,02
LEU	1,34 ± 0,07 ^{Bc}	1,15 ± 0,03 ^{Ca}	1,46 ± 0,02 ^{Aa}	1,39 ± 0,06 ^{ABb}	1,49 ± 0,11 ^{Ac}	1,45 ± 0,06	1,11 ± 0,03
ILE	0,86 ± 0,03 ^{Bb}	0,84 ± 0,03 ^{Ba}	1,03 ± 0,03 ^{Aa}	1,01 ± 0,04 ^{Ab}	1,06 ± 0,04 ^{Ac}	1,11 ± 0,07	0,80 ± 0,02
THR	0,83 ± 0,02 ^{Ab}	0,68 ± 0,04 ^{Bb}	0,84 ± 0,03 ^{Aa}	0,82 ± 0,02 ^{Ab}	0,84 ± 0,05 ^{Ac}	0,82 ± 0,02	0,62 ± 0,02
SER	0,70 ± 0,04 ^{Aa}	0,56 ± 0,03 ^{Bab}	0,63 ± 0,03 ^{Ab}	0,64 ± 0,01 ^{Ab}	0,64 ± 0,03 ^{Ac}	0,64 ± 0,02	0,47 ± 0,01
PRO	0,73 ± 0,02 ^{Bb}	0,61 ± 0,01 ^{Cb}	0,78 ± 0,01 ^{Ab}	0,80 ± 0,02 ^{Ab}	0,75 ± 0,03 ^{ABc}	0,76 ± 0,02	0,59 ± 0,03
ASP+ASN	2,27 ± 0,14 ^{Db}	1,76 ± 0,05 ^{Eb}	2,60 ± 0,03 ^{Ca}	2,82 ± 0,05 ^{Ba}	3,18 ± 0,06 ^{Aa}	2,45 ± 0,06	1,58 ± 0,06
MET	0,46 ± 0,02 ^{Ba}	0,31 ± 0,01 ^{Cb}	0,57 ± 0,01 ^{Aa}	0,26 ± 0,01 ^{Cc}	0,29 ± 0,01 ^{Cc}	0,28 ± 0,01	0,38 ± 0,02
HYP	0,05 ± 0,00 ^{Bc}	0,03 ± 0,00 ^{Cb}	TE ^{Db}	0,08 ± 0,00 ^{Aa}	0,06 ± 0,01 ^{Ba}	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,00
GLU+GLN	3,12 ± 0,07 ^{Cb}	2,40 ± 0,07 ^{Db}	6,09 ± 0,13 ^{Aa}	3,67 ± 0,06 ^{Bb}	2,46 ± 0,10 ^{Db}	2,12 ± 0,07	3,98 ± 0,05
PHE	0,65 ± 0,02 ^{ABb}	0,57 ± 0,03 ^{Cb}	0,70 ± 0,02 ^{Ab}	0,63 ± 0,02 ^{Bcb}	0,72 ± 0,04 ^{Ab}	0,74 ± 0,02	0,52 ± 0,01
LYS	1,14 ± 0,03 ^{Ab}	0,99 ± 0,03 ^{Bb}	0,93 ± 0,00 ^{Ba}	0,43 ± 0,04 ^{Cc}	1,14 ± 0,05 ^{Ac}	1,30 ± 0,04	0,93 ± 0,02
HIS	0,57 ± 0,02 ^{Bb}	0,52 ± 0,02 ^{Bb}	0,55 ± 0,02 ^{Ba}	0,22 ± 0,01 ^{Cb}	0,72 ± 0,06 ^{Ab}	0,74 ± 0,04	0,54 ± 0,01
TYR	0,51 ± 0,02 ^{Bb}	0,45 ± 0,02 ^{Bca}	0,41 ± 0,02 ^{Ca}	0,17 ± 0,02 ^{Dc}	0,59 ± 0,02 ^{Ab}	0,60 ± 0,02	0,40 ± 0,04
C-C	0,17 ± 0,01 ^{Aa}	0,12 ± 0,03 ^{Bb}	0,07 ± 0,01 ^{Ca}	TE ^{Dc}	0,14 ± 0,01 ^{ABb}	0,16 ± 0,01	0,11 ± 0,00
TOPLAM	15,7	13,4	19,8	16,1	17,0	16,2	14,4
15°C							
ALA	1,04 ± 0,03 ^{Bca}	0,90 ± 0,03 ^{Ca}	0,96 ± 0,06 ^{Cab}	1,23 ± 0,07 ^{Aa}	1,14 ± 0,08 ^{ABb}	1,27 ± 0,03	
GLY	0,76 ± 0,02 ^{Bab}	0,82 ± 0,02 ^{Ab}	0,75 ± 0,02 ^{Ba}	0,94 ± 0,08 ^{Aa}	0,88 ± 0,03 ^{ABb}	1,00 ± 0,04	
VAL	1,19 ± 0,04 ^{Cb}	1,04 ± 0,02 ^{Da}	1,22 ± 0,08 ^{Ca}	1,48 ± 0,04 ^{Ba}	1,63 ± 0,05 ^{Ab}	1,72 ± 0,03	
LEU	1,46 ± 0,04 ^{Bb}	1,18 ± 0,02 ^{Ca}	1,38 ± 0,04 ^{Bab}	1,73 ± 0,03 ^{Aa}	1,78 ± 0,03 ^{Ab}	1,86 ± 0,03	
ILE	1,00 ± 0,02 ^{Bb}	0,89 ± 0,02 ^{Ba}	0,95 ± 0,05 ^{Ba}	1,26 ± 0,04 ^{Aa}	1,32 ± 0,07 ^{Ab}	1,39 ± 0,05	
THR	0,69 ± 0,02 ^{Bc}	0,76 ± 0,04 ^{Bab}	0,76 ± 0,04 ^{Bab}	1,04 ± 0,02 ^{Aa}	1,07 ± 0,04 ^{Ab}	1,08 ± 0,03	
SER	0,57 ± 0,02 ^{Bb}	0,55 ± 0,02 ^{Bb}	0,55 ± 0,02 ^{Bb}	0,79 ± 0,02 ^{Aa}	0,81 ± 0,03 ^{Ab}	0,81 ± 0,02	
PRO	0,72 ± 0,01 ^{Cb}	0,73 ± 0,01 ^{Ca}	0,73 ± 0,01 ^{Cab}	0,86 ± 0,02 ^{Bab}	0,93 ± 0,03 ^{Ab}	0,99 ± 0,03	
ASP+ASN	2,26 ± 0,05 ^{Cb}	1,68 ± 0,04 ^{Eb}	1,99 ± 0,04 ^{Db}	2,56 ± 0,07 ^{Bb}	2,95 ± 0,06 ^{Ab}	2,99 ± 0,07	
MET	0,29 ± 0,03 ^{Db}	0,51 ± 0,03 ^{Ca}	0,51 ± 0,03 ^{Cab}	0,67 ± 0,03 ^{Ba}	0,75 ± 0,03 ^{Aa}	0,76 ± 0,01	
HYP	0,07 ± 0,00 ^{Ab}	TE ^{Cc}	TE ^{Cb}	TE ^{Cc}	0,03 ± 0,00 ^{Bb}	0,04 ± 0,00	
GLU+GLN	3,38 ± 0,13 ^{Cb}	2,68 ± 0,08 ^{Da}	4,13 ± 0,06 ^{Bc}	4,21 ± 0,08 ^{Ba}	5,18 ± 0,09 ^{Aa}	5,43 ± 0,08	
PHE	0,58 ± 0,01 ^{Cb}	0,66 ± 0,01 ^{Ba}	0,66 ± 0,01 ^{Bab}	0,84 ± 0,01 ^{Aa}	0,89 ± 0,02 ^{Ab}	0,95 ± 0,04	
LYS	1,05 ± 0,02 ^{Bc}	0,66 ± 0,03 ^{Cc}	0,66 ± 0,03 ^{Cb}	1,63 ± 0,06 ^{Aa}	1,55 ± 0,05 ^{Ab}	1,57 ± 0,02	
HIS	0,49 ± 0,02 ^{Bb}	0,34 ± 0,17 ^{Cc}	0,34 ± 0,17 ^{Cb}	0,79 ± 0,02 ^{Aa}	0,81 ± 0,01 ^{Ab}	0,84 ± 0,02	
TYR	0,42 ± 0,03 ^{Bc}	0,28 ± 0,01 ^{Cb}	0,28 ± 0,01 ^{Cc}	0,71 ± 0,03 ^{Aa}	0,73 ± 0,05 ^{Aa}	0,75 ± 0,02	
C-C	0,10 ± 0,00 ^{Bb}	TE ^{Bc}	TE ^{Bb}	0,28 ± 0,02 ^{Aa}	0,26 ± 0,02 ^{Aa}	0,24 ± 0,02	
TOPLAM	16,1	13,7	15,9	21,0	22,7	23,7	
20°C							
ALA	1,15 ± 0,06 ^{Ba}	0,93 ± 0,03 ^{Ca}	0,88 ± 0,04 ^{Cb}	1,17 ± 0,04 ^{Bab}	1,52 ± 0,07 ^{Aa}		
GLY	0,88 ± 0,02 ^{Bca}	0,72 ± 0,01 ^{Dab}	0,76 ± 0,02 ^{CDa}	0,93 ± 0,02 ^{Ba}	1,21 ± 0,04 ^{Aa}		
VAL	1,39 ± 0,04 ^{Ca}	1,06 ± 0,03 ^{Da}	1,17 ± 0,05 ^{Da}	1,52 ± 0,02 ^{Ba}	2,00 ± 0,02 ^{Aa}		
LEU	1,61 ± 0,04 ^{Ba}	1,26 ± 0,03 ^{Ca}	1,29 ± 0,04 ^{Cb}	1,72 ± 0,05 ^{Ba}	2,19 ± 0,09 ^{Aa}		
ILE	1,17 ± 0,04 ^{Ba}	0,94 ± 0,04 ^{Ca}	0,95 ± 0,04 ^{Ca}	1,29 ± 0,10 ^{Ba}	1,73 ± 0,04 ^{Aa}		
THR	0,94 ± 0,02 ^{Ba}	0,77 ± 0,02 ^{Ca}	0,68 ± 0,03 ^{Db}	1,01 ± 0,03 ^{Ba}	1,27 ± 0,03 ^{Aa}		
SER	0,74 ± 0,02 ^{Ba}	0,63 ± 0,03 ^{Ca}	0,47 ± 0,01 ^{Dc}	0,78 ± 0,03 ^{Ba}	1,00 ± 0,04 ^{Aa}		
PRO	0,82 ± 0,02 ^{Ca}	0,65 ± 0,02 ^{Db}	0,71 ± 0,02 ^{Db}	0,90 ± 0,01 ^{Ba}	1,17 ± 0,02 ^{Aa}		
ASP+ASN	3,05 ± 0,07 ^{Ca}	3,58 ± 0,06 ^{Aa}	1,99 ± 0,04 ^{Eb}	2,65 ± 0,06 ^{Dab}	3,36 ± 0,06 ^{Ba}		
MET	0,45 ± 0,01 ^{Aa}	0,31 ± 0,01 ^{Bb}	0,50 ± 0,02 ^{Ab}	0,45 ± 0,01 ^{Ab}	0,46 ± 0,02 ^{Ab}		
HYP	0,10 ± 0,00 ^{Ba}	0,17 ± 0,01 ^{Aa}	0,06 ± 0,00 ^{Ca}	0,04 ± 0,00 ^{Db}	0,05 ± 0,00 ^{CDa}		
GLU+GLN	5,32 ± 0,06 ^{Aa}	2,78 ± 0,07 ^{Da}	4,46 ± 0,07 ^{Bb}	4,03 ± 0,10 ^{Ca}	5,28 ± 0,08 ^{Aa}		
PHE	0,80 ± 0,01 ^{Ba}	0,62 ± 0,01 ^{Cab}	0,62 ± 0,01 ^{Cb}	0,85 ± 0,02 ^{Ba}	1,10 ± 0,06 ^{Aa}		
LYS	1,26 ± 0,02 ^{Bca}	1,22 ± 0,02 ^{Ca}	0,67 ± 0,03 ^{Db}	1,36 ± 0,02 ^{Bb}	1,99 ± 0,04 ^{Aa}		
HIS	0,79 ± 0,02 ^{Ba}	0,57 ± 0,02 ^{Da}	0,41 ± 0,02 ^{Eab}	0,79 ± 0,04 ^{Ba}	1,01 ± 0,02 ^{Aa}		
TYR	0,60 ± 0,02 ^{Ba}	0,51 ± 0,01 ^{Ca}	0,33 ± 0,02 ^{Dbc}	0,61 ± 0,04 ^{Bb}	0,77 ± 0,02 ^{Aa}		
C-C	0,20 ± 0,01 ^{Aa}	0,18 ± 0,00 ^{Ba}	0,03 ± 0,00 ^{Cb}	0,20 ± 0,02 ^{Ab}	0,23 ± 0,01 ^{Aa}		
TOPLAM	21,3	16,9	16,0	20,3	26,3		

ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzölösün, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirozin, C-C: Sistin. TE: Tespit Edilemedi, Aritmetik ortalama±Standart hata, Örnek sayısı; N=3

Aynı satırdaki farklı büyük harfler (A,B,C...) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05). Farklı sıcaklıktaki aynı amino asite asit ve aynı sütündeki farklı küçük harfler (a,b,c...) gruplar arasındaki farkı belirtir (p<0.05)



ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzölösün, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirozin, C-C: Sistin.

Şekil 17. Sarımsaklı lakerdanın farklı sıcaklıklara olgunlaştırılması sırasında ortalama toplam amino asit miktarları.

4.3.3. Farklı olgunlaşma sıcaklıklarının ve sarımsak ekstraktının biyojen amin oluşumuna etkisi

Proteinlerin yapı taşı olan amino asitler, serbest formda da bulunabilmektedir. Bu çalışmanın lakerda ürün gruplarında, 26 adet serbest amino asit olduğu tespit edilmiştir. Serbest amino asitler, balık eti için çok önemli bileşiklerdir. Özellikle etin lezzet ve aromasının oluşumunda etkili bir rol oynamaktadırlar. Ette meydana gelen biyokimyasal olaylar neticesinde miktarı artan bu asitler, mikroorganizmalar aracılığı ile dekarboksilasyona uğrayarak biyojen aminlere dönüşmektedirler. Bu nedenle serbest amino asitler biyojen aminlerin öncül bileşikleri olarak da ifade edilmektedirler. Yapılan bu çalışmada, taze palamut balığında serbest amino asit ve biyojen amin miktarları Çizelge 18’de verilmiştir. Taze palamut balığında 21 adet serbest amino asit tespiti yapılmış, bunların toplam miktarı 4,18 g/100g olarak saptanmıştır. Bu miktarın büyük çoğunluğu ise %88 oranında histidin tarafından oluşturulmaktadır. Histidini takip eden diğer serbest amino asitler, glutamin, alanin ve prolin olarak belirlenmiştir.

Berlam balığının (*Merluccius merluccius*) serbest amino asit içeriği üzerine yapılan bir araştırmada, tironin (THR; 11,86 mg/100g), lizin (9,01 mg/100g), alanin (8,21 mg/100g), glisin (5,54 mg/100g) ve glutamik asit (2,47 mg/100g)’in baskın amino asit

oldukları belirlenmiş ve toplam serbest amino asit miktarının da 46,6 mg/100g olduğu bildirilmiştir (Ruiz-Capillas ve Moral, 2001). Süt balığının (*Chanos chanos*) değişik organlarında serbest amino asit içeriğinin araştırılması üzerine yapılan bir çalışmada, beyaz ve koyu renkli kaslarında sırasıyla, 72,51 µmol/g ve 64,92 µmol/g miktarında toplam serbest amino asit bulunduğu rapor edilmiştir (Shiau ve ark., 1996). Çalışmada ayrıca, serbest HIS oranının, toplam serbest amino asit miktarının, beyaz kaslarda %63'ünü, kırmızı renkli kaslarda ise %33'ünü oluşturduğu belirtilmiştir (Shiau ve ark., 1996). Antoine ve arkadaşları (2001), yaptıkları bir çalışmada mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*) ile sarıkanat orkinos (*Thunnus albacares*) balığının beyaz ve koyu renkli kaslarında serbest amino asit içeriklerini tespit etmişler ve serbest histidin miktarı mahi-mahi balığının beyaz ve koyu renkli kasında sırasıyla 308,33 mg/100g, 223,38 mg/100g olarak, sarıkanat orkinos balığında ise 956,63 mg/100g, 378,73 mg/100g olarak saptamışlardır. Mohamed ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmada, geleneksel adı Feseekh olan Mısır'a özgü tuzlanmış ve fermente edilmiş kefal balığında (*Mugil cephalus*) serbest amino asit değişimi incelenmiştir. Olgunlaşmanın ardından (20 gün) üründe toplam serbest amino asit miktarının kuru ağırlık üzerinden 8 g/kg; histidin (2,5 g/kg kuru ağırlık) ve alanin (2,1 g/kg kuru ağırlık)'nin ise baskın amino asitler olduğu bildirilmiştir.

Taze palamutta 8 adet biyojen aminin tespiti yapılmıştır. Bunlar triptamin, feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin olup, miktarları ise toplam olarak 184,46 mg/kg olarak belirlenmiştir (Çizelge 18). Biyojen aminler içerisinde en fazla bulunan amin, tiramindir (106,47 mg/kg).

Palamut balığı bilindiği üzere, uygun koşullarda muhafaza edilmediği durumlarda, amin pozitif bakteri varlığında yüksek miktarlarda biyojen amin içerebilmektedir. Yapılan bu çalışmada; lakerda üretiminde hammadde olarak kullanılan palamut balığında, biyojen amin miktarları risk teşkil edecek değerlerde bulunmamıştır. Literatürde de elde ettiğimiz bulgulara benzer sonuçlar bulunmaktadır. Örneğin; taze palamut balığında (*Sarda sarda*) en çok görülen biyojen aminin 162,59 ppm ile spermidin olduğu, tiramin ve feniletilaminin ise sırasıyla 22,40 ppm ve 14,67 ppm düzeyinde tespit edildiği belirtilmiştir (Koral, 2012). Ton balıkları üzerine yapılan bir çalışmada, taze ton balığının biyojen amin içeriğinde düşük miktarlarda histamin (0,32 µg/g) tiramin (0,32 µg/g), kadaverin (0,25 µg/g), putresin (0,29 µg/g), spermidin (5,10 µg/g), spermin (14,25 µg/g) içeriği tespit edildiği ve fenilalanin ve triptamin saptanamadığı bildirilmiştir (Veciana Nogues ve ark., 1997). Uskumru ile yapılan başka bir çalışmada ise, 3 gün +3°C'de depolanan uskumruda

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

putresin, spermidine ve histamin miktarları sırasıyla 2,3 mg/100g, 1,2 mg/kg ve 0,37 mg/100g olarak saptanmıştır (Öksüz, 2000).

Kim ve arkadaşları (2009), balık, kafadanbacaklı, kabuklu ve yumuşakça türlerinden oluşan 41 adet deniz ürünün biyojen amin içeriklerini inceledikleri çalışmada; kolyoz (*Scomber japonicus*), zurna (*Cololabis saira*) ve sarıkuyruk (*Seriola dumerilii*) balıkları hariç, diğer tüm örneklerde biyojen amin riski bulunmadığını belirtmişlerdir. Çalışmada tespit edilen maksimum biyojen aminlerin toplamı kolyoz balığında 673,3 mg/kg, zurna balığında 395,3 mg/kg, sarıkuyruk balığında ise 639,9 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada tiramin, putresin, kadaverin ve fenilalanin biyojen aminlerinin baskın olduğu da rapor edilmiştir. Çin’de yapılan bir çalışmada ise 13 balık türünün biyojen amin miktarı ölçülmüş ve toplam biyojen amin miktarının 5,03-156,17 mg/kg arasında değiştiği, ortalama miktarın 44,17 mg/kg olduğu, biyojen aminlerin içinde histamin miktarının da 21,85 mg/kg’ın altında tespit edildiği bildirilmiştir (Zhai ve ark., 2012).

Lakerdanın olgunlaştırılması sırasında serbest amino asit değişimi ve biyojen amin oluşumu Şekil 18, 19, 20, 21, 22 ve 23’de görülmektedir. Biyojen amin öncüsü olan serbest amino asitlerden histidin (HIS) miktarında, tüm örnek gruplarında genel anlamda olgunlaşmanın 8. gününe kadar bariz bir azalış, 8. günden sonra ise bir artış gözlenmiştir. Sekizinci günde histidin miktarı en düşük (201,3 mg/100g) 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı örneklerde (Şekil 22), en yüksek ise (1935,7 mg/100g) 20°C’de olgunlaştırılan sarımsak ilave edilmemiş örneklerde tespit edilmiştir (Şekil 20). Serbest histidinin dekarboksilasyonu sonucu oluşan histamin ise olgunlaşma boyunca genel anlamda histidine paralel bir değişim göstermiştir. Sadece +4°C ve 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaksız lakerdalarda histamin içeriği, 6. günde pik yaparak artış göstermiş ve sırasıyla 27,38 mg/kg ve 22,44 mg/kg. olarak saptanmıştır.

Olgunlaşma süresince serbest histidin ve histaminde meydana gelen değişim istatistiki açıdan değerlendirildiğinde, her ikisinin de önemli derecede azaldığı ve olgunlaşma süresi ile negatif bir korelasyon içinde oldukları belirlenmiştir ($P < 0,01$; Çizelge 16). Serbest histidin ve histamin arasındaki ilişki incelendiğinde ise, +4°C’de olgunlaştırılan sarımsaksız lakerda örnekleri harici, diğer tüm örnek gruplarında pozitif yönde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir ($P > 0,01$; Çizelge 17).

Serbest histidinden sonra lakerdalarda en yüksek 2. serbest amino asit lizin (LYS) dir. Lizin, taze balıkta 17,8 mg/100g olarak belirlenmiş, ön tuzlama aşamasındaki balıkta ise 49,7 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 3. gününden sonra tüm örnek

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

gruplarında lizin miktarı artmış ve olgunlaşma süresince 6. ve 13. günlerde en yüksek değerine ulaşmıştır. Olgunlaşmış lakerdalarda lizin miktarı en düşük +4°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerdada (106,0 mg/100g), en yüksek ise 355,8 mg/100g oranı ile 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı grupta belirlenmiştir. Lizinin dekarboksilasyonu sonucu oluşan kadaverin miktarı ise, olgunlaşma süresince histamine benzer bir değişim göstermiş, tüm örnek gruplarında genel anlamda azalmıştır. Sadece +4°C ve 15°C olgunlaştırılan sarımsaksız lakerdalarda 6. günde ani bir artış göstererek, sırasıyla 6,49 mg/kg, 10,44 mg/kg seviyelerine yükselmiştir (Şekil 18; Şekil 19). Kadaverinin 6. günde meydana getirdiği bu artışın aynı günde lizinde meydana gelen artışla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Yapılan Pearson korelasyon analizi sonucunda da serbest lizin ile olgunlaşma süreci arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir ($P<0,01$). Buna karşın kadaverin miktarı ile olgunlaşma süreci arasında ise negatif bir korelasyon belirlenmiştir ($P<0,01$; Çizelge 16). Serbest lizin ile kadaverin arasındaki ilişkide ise tüm örneklerde negatif bir korelasyon bulunmaktadır. Yani olgunlaşma süresince serbest lizin artarken balık etinde bulunan Kadaverin azalmıştır. Söz konusu korelasyon 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı ve sarımsaksız lakerda örneklerinde önemsiz bulunmuş ($P>0,05$), +4° ve 20°C’de olgunlaştırılan örneklerde ise önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$; Çizelge 17).

Putresinin öncüsü olan ve taze palamut balığında 19,9 mg/100g olarak bulunan serbest ornitin, tüm örnek gruplarında olgunlaşmanın 6. ve 13. günlerinde artış göstermiştir. Olgunlaşmanın 6. gününde meydana gelen artışlarda en yüksek değerler 15°C ve 20°C’de olgunlaştırılan sarımsaksız lakerdalarda tespit edilmiş olup miktarları sırasıyla 33,4 mg/100g ve 78,2 mg/100g olarak belirlenmiştir. Serbest ornitin dekarboksilasyonu ile oluşan putresinin olgunlaşma süresince değişimi ise, tüm örneklerde benzer şekilde gerçekleşmiştir. Olgunlaşmanın 6. gününe kadar serbest ornitin ile farklı davranış gösteren putresin, altıncı günden sonra ornitin ile paralel bir değişim göstermiştir.

İstatistiki açıdan ise olgunlaşma süresi ile ornitin değişimi arasındaki ilişki, örnek grupları arasında farklılık göstermiştir. Olgunlaşması +4°C ve 20°C’de gerçekleştirilen sarımsaksız lakerdalar ile 15°C ve 20°C’deki sarımsaklı lakerdalarda serbest ornitin değişimi olgunlaşma süresi ile pozitif bir değişim göstermiş, diğer örnek gruplarında ise negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Diğer taraftan putresinin değişimi, +4°C ve 20°C’deki sarımsaklı lakerdalarda olgunlaşma süreci ile pozitif bir ilişki içermekte, geriye kalan tüm gruplarda ise negatif ilişki bulunmaktadır. Serbest ornitin ve putresin arasındaki

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

ilişki ise, sadece +4°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerdalarda önemli olarak tespit edilmiştir (P<0,05).

Serbest amino asitler içerisinde önemli bir yeri olan tirozin (TYR), fenilalanin (PHE) ve triptofan (TRP) olgunlaşma süresince ornitine benzer bir değişim göstermişlerdir. Serbest tirozin ve fenilalanin taze balıkta 19,1 mg/100g ve 20,3 mg/100g olarak saptanmasına rağmen triptofan olgunlaşmanın 3. gününe kadar tespit edilememiştir. Olgunlaşmanın 3. gününden sonra ise söz konusu 3 serbest amino asitin miktarlarının düzensiz bir değişim gösterdiği ve bu değişimlerin olgunlaşma süreci ile pozitif bir ilişkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 16). Her ne kadar tirozin ve fenilalanin serbest amino asitleri olgunlaşma süresince pozitif bir korelasyona sahip olsa da bu amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşan Tiramin ve β -feniletilaminin, olgunlaşma süreci ile negatif bir korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir (P<0,01). Triptamin değişimi ile olgunlaşma süresi arasındaki ilişki ise, 20°C’deki sarımsaksız ve 15°C ile 20°C’deki sarımsaklı lakerdalarda negatif, diğer örnek gruplarında ise pozitiftir. Triptamin için bu ilişkilerin hiçbiri istatistiksel olarak önem taşımamaktadır (P>0,05). Olgunlaşma süresince serbest amino asit ve biyojen amin ilişkisi irdelenecek olursa, tirozin ile Tiramin ve fenilalanin ile β -feniletilamin korelasyonlarının, tüm örnek gruplarında negatif olduğu tespit edilmiştir (P<0,01; Çizelge 17). Serbest triptofan ile Triptamin arasında ise, +4°C’de olgunlaştırılan lakerdalarda pozitif bir ilişki bulunmakta ve sadece 15°C sarımsaklı lakerdalarda tespit edilen ilişki önem taşımaktadır (P<0,01).

Çizelge 16. Serbest amino asit ve biyojen aminler olgunlaşma süresince Pearson korelasyon katsayıları

	Lakerda			Sarımsaklı Lakerda		
	+4°C	15°C	20°C	+4°C	15°C	20°C
HIS	-0,675**	-0,776**	-0,672**	-0,800**	-0,440*	-0,787**
LYS	0,790**	0,596**	0,604**	0,619**	0,795**	0,833**
ORN	0,089	-0,106	0,252	-0,156	0,469*	0,403
TYR	0,606**	0,505**	0,574**	0,300	0,700**	0,678**
PHE	0,734**	0,647**	0,641**	0,371*	0,820**	0,936**
TRP	0,635**	0,725**	0,767**	0,533**	0,115	0,805**
Histamin	-0,558**	-0,665**	-0,829**	-0,829**	-0,856**	-0,856**
Kadaverin	-0,793**	-0,645**	-0,796**	-0,758**	-0,722**	-0,766**
Putresin	-0,036	-0,201	-0,072	0,092	-0,259	0,087
Tiramin	-0,905**	-0,918**	-0,871**	-0,854**	-0,909**	-0,890**
β -feniletilamin	-0,817**	-0,889**	-0,899**	-0,860**	-0,896**	-0,903**
Triptamin	0,057	0,050	-0,251	0,174	-0,088	-0,200

** : P<0,01; * : P<0,05

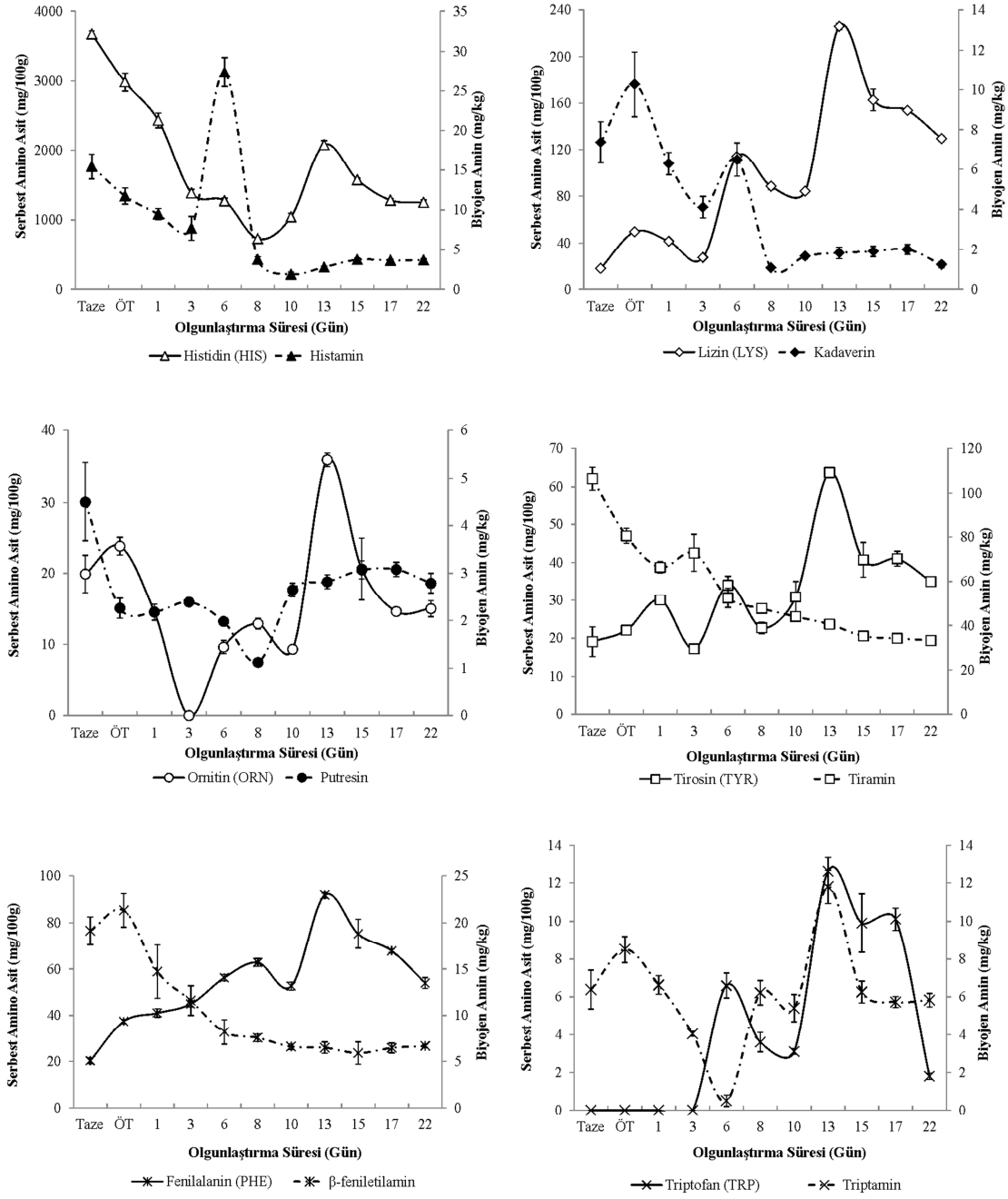
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

Çalışmanın sonucunda, lakerdanın olgunlaşması süresince genel olarak serbest amino asitlerin histidin harici tamamında artış görülmüş, biyojen amin miktarlarında ise beklenenin aksine azaldığı tespit edilmiştir. Bunun nedeninin etteki biyojen aminlerin, özellikle de histaminin, salamuraya geçmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu konuda çalışma yapan diğer araştırmacıların da aynı fikri paylaştığı belirlenmiştir (Veciana Nogues ve ark., 1997; Hernandez-Herrero ve ark., 2002).

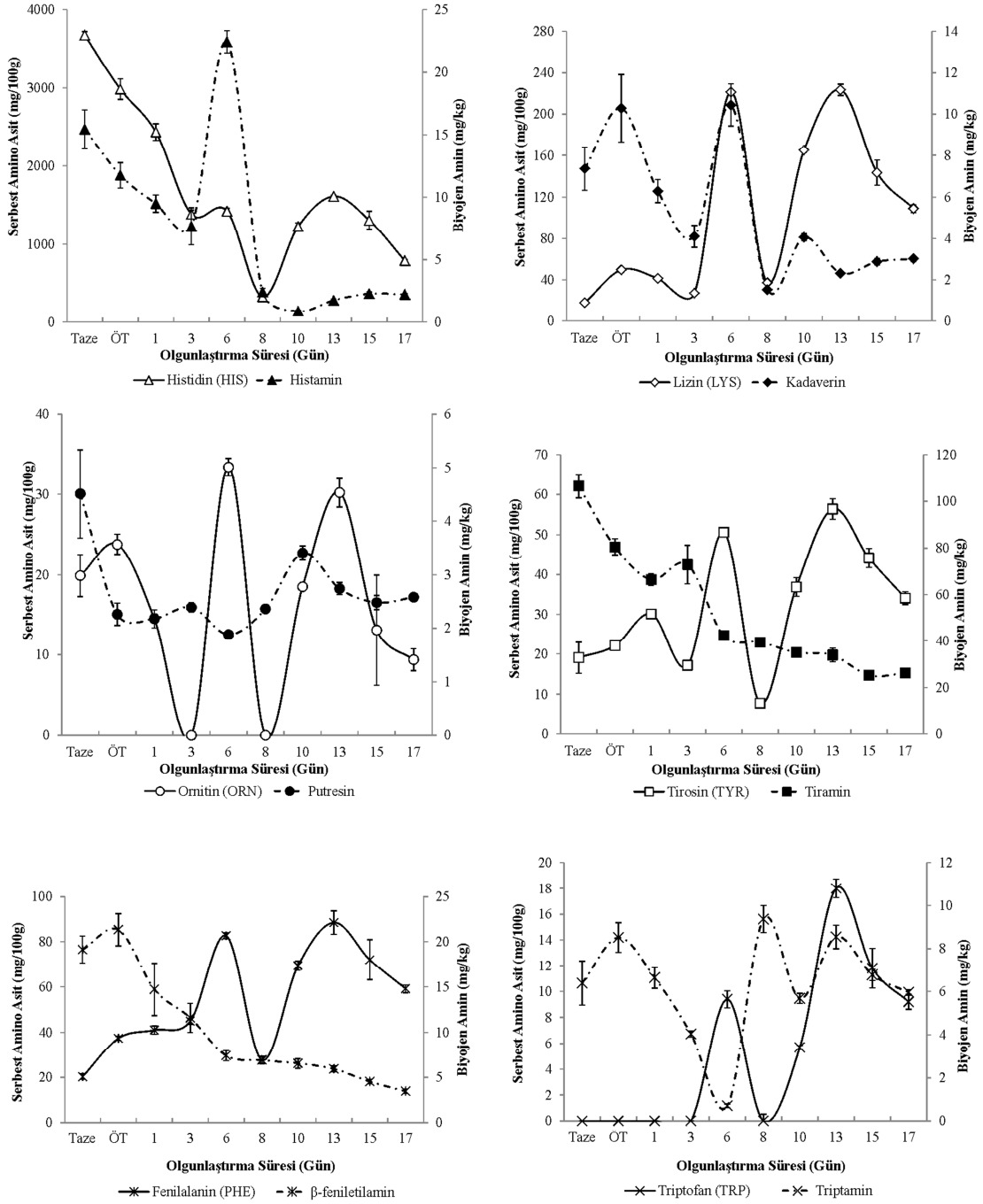
Çizelge 17. Olgunlaşma süresince serbest amino asit ve biyojen aminler arasındaki korelasyon ilişkileri

	Lakerda			Sarımsaklı Lakerda		
	+4°C	15°C	20°C	+4°C	15°C	20°C
HIS&Histamin	0,323	0,536**	0,779**	0,868**	0,775**	0,894**
LYS&Kadaverin	-0,577**	-0,043	-0,508**	-0,631**	-0,332	-0,562**
ORN&Putresin	0,299	0,086	-0,334	0,426*	-0,191	0,348
TYR&Tiramin	-0,616**	-0,537**	-0,688**	-0,515**	-0,531**	-0,611**
PHE& β -feniletilamin	-0,739**	-0,630**	-0,695**	-0,579**	-0,650**	-0,819**
TRP&Triptamin	0,238	-0,073	-0,167	0,131	-0,519**	-0,345

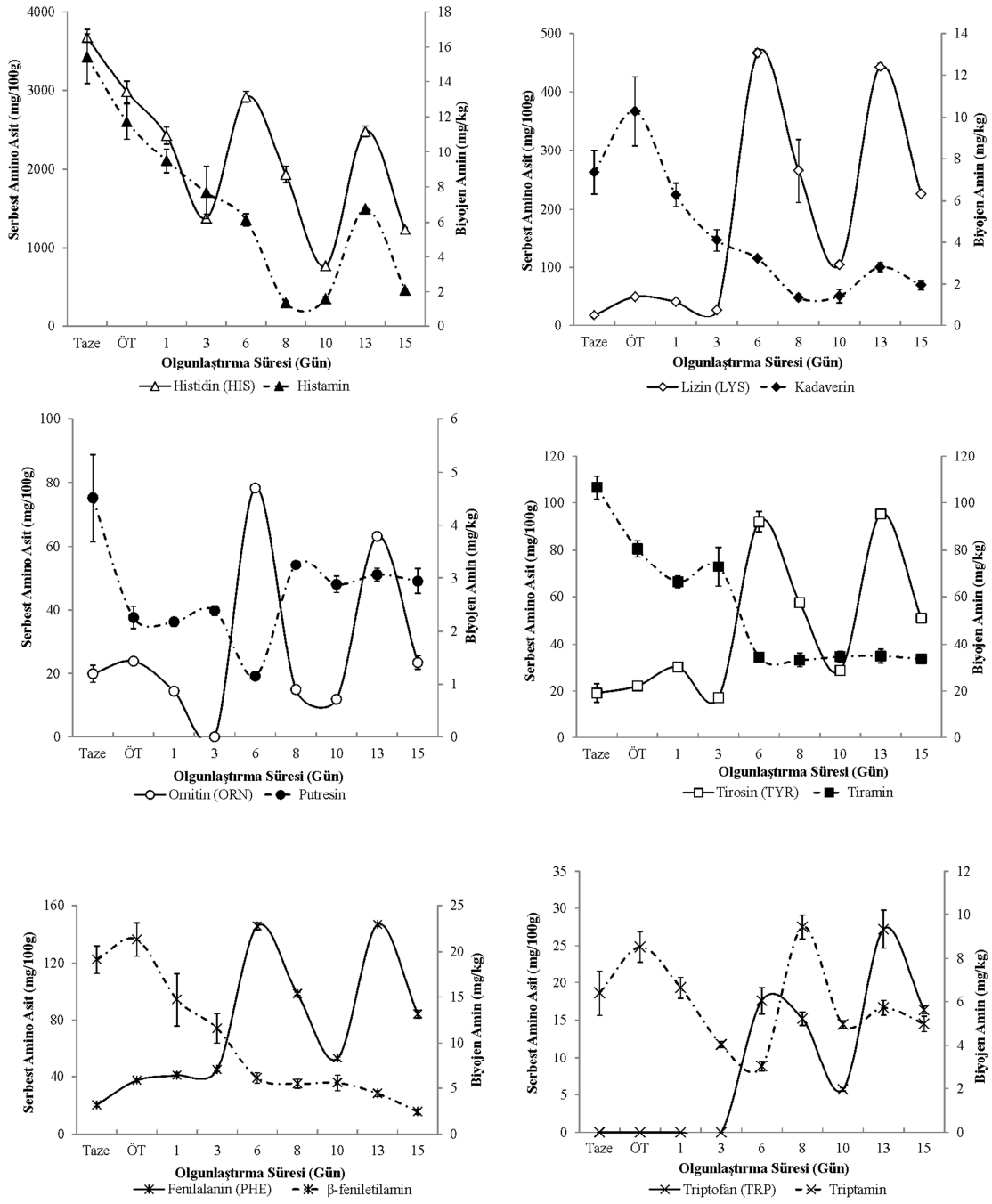
** : P<0,01; * : P<0,05



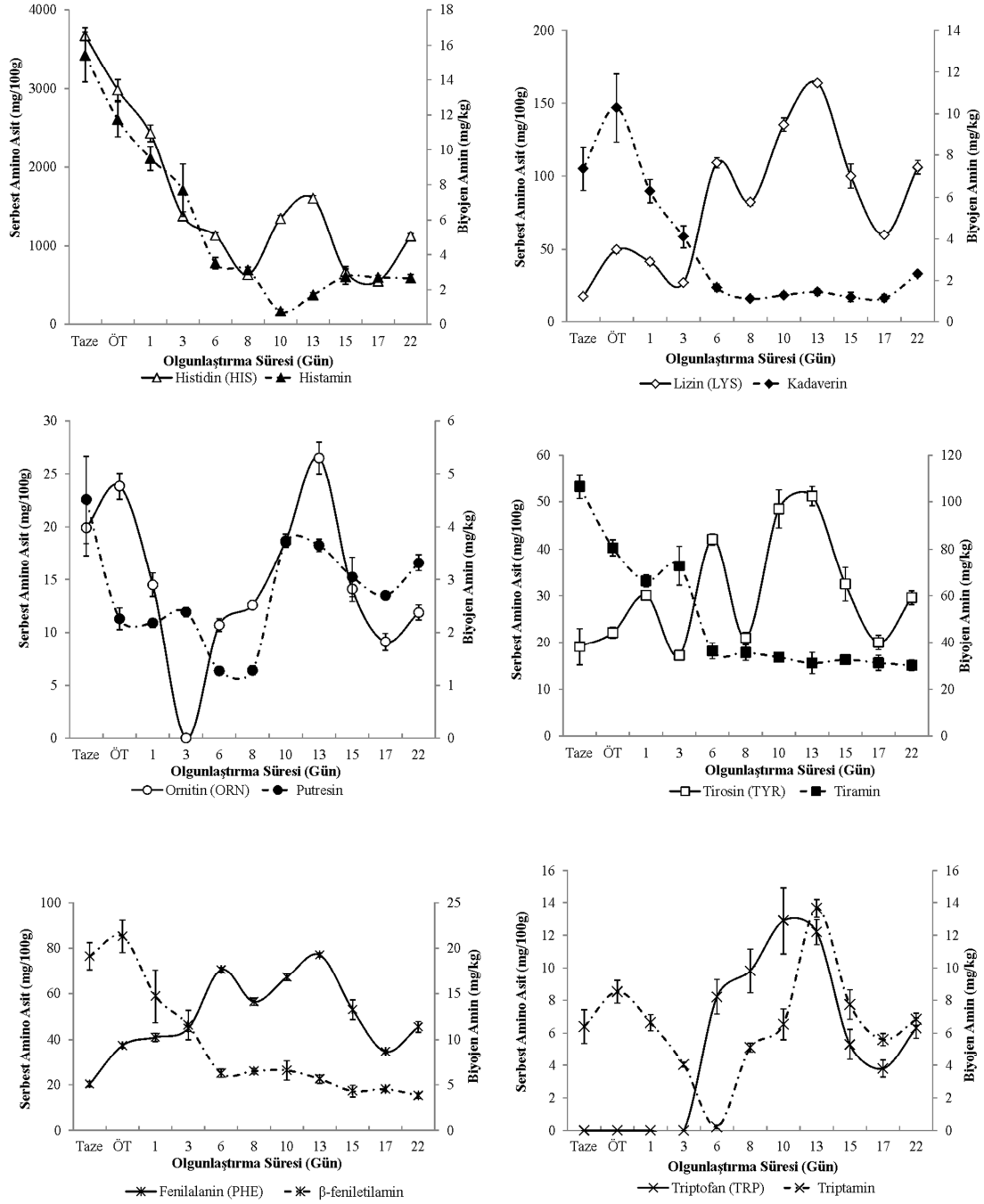
Şekil 18. +4°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.



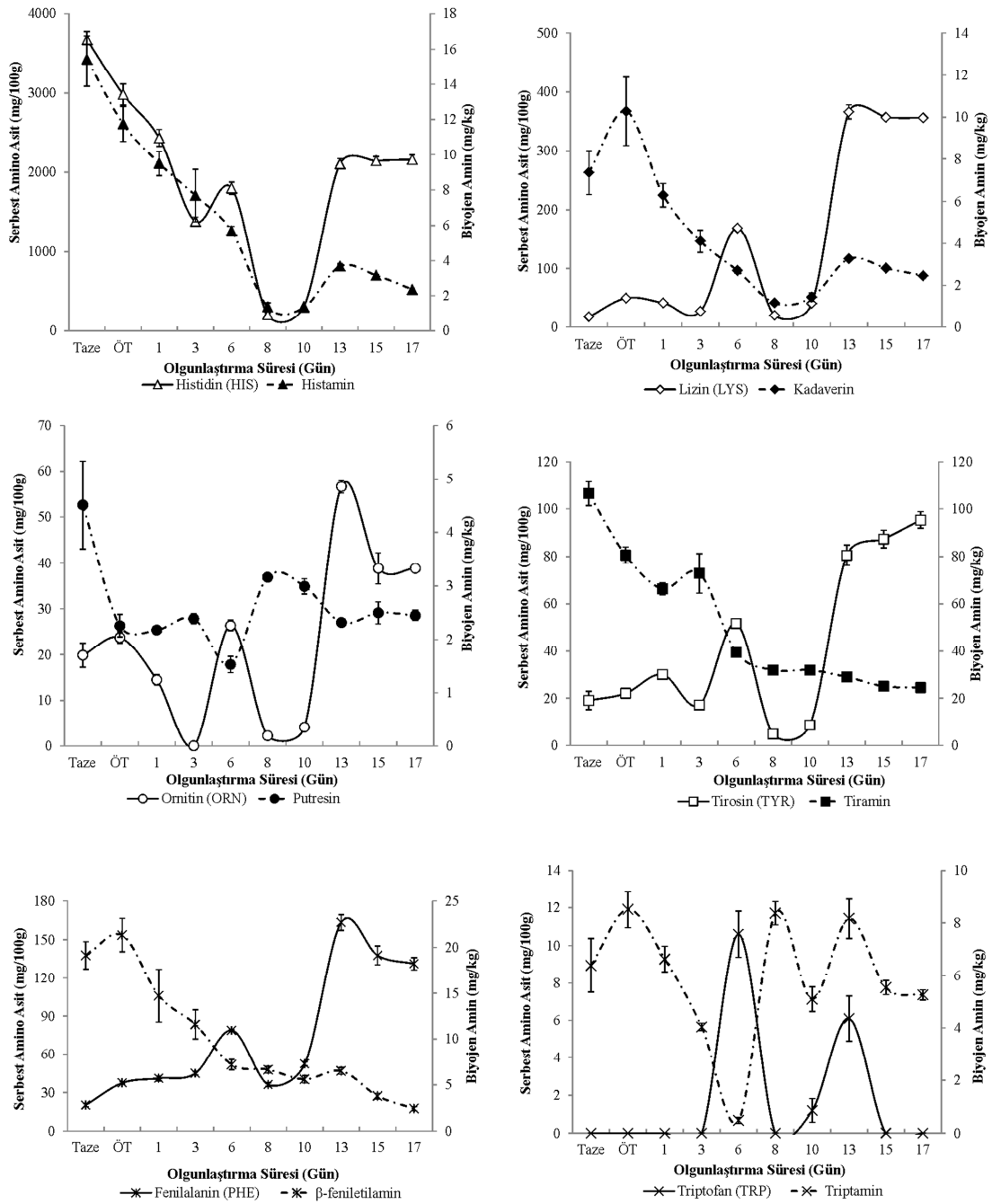
Şekil 19. 15°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.



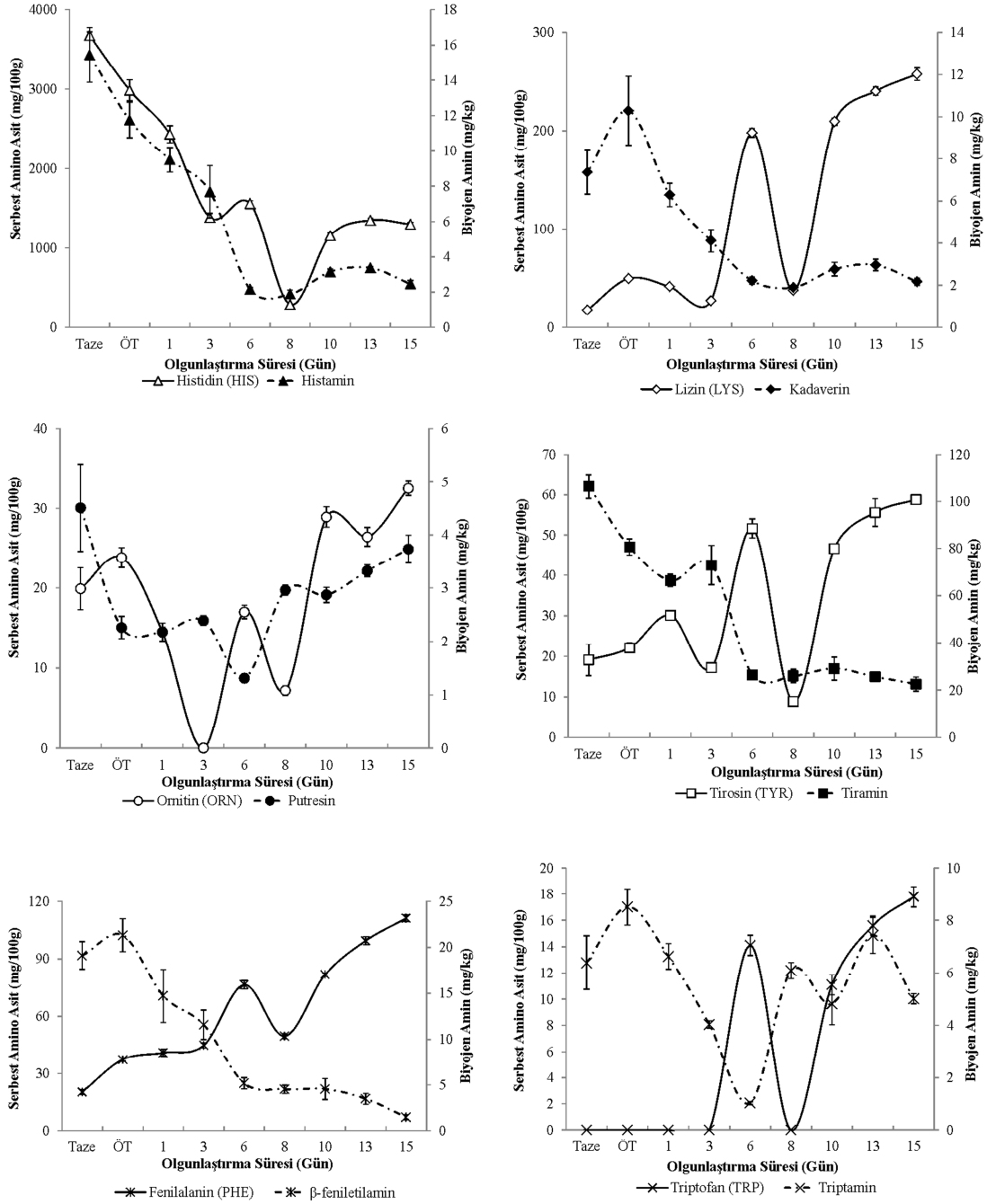
Şekil 20. 20°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.



Şekil 21. +4°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.



Şekil 22. 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.



Şekil 23. 20°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

Taze ve ön tuzlanmış palamut balıkları ile, farklı sıcaklıklarda olgunlaştırılan lakerda ürünlerin amino asit ve biyojen amin miktarları arasındaki ilişki Çizelge 18’de verilmiştir. Taze balıkta 4,2 g/100g olan toplam amino asit miktarı, ön tuzlamada azalarak 3,5 g/100g olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşmış ürünlerde ise toplam amino asit miktarı, en yüksek +15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı üründe (3,4 g/100g), en düşük ise yine 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaksız lakerda üründe (1,5 g/100g) tespit edilmiştir. +4°C ve +20°C’de olgunlaştırılan balıklarda, amino asit ve biyojen amin miktarında bariz bir ilişki gözlenmemiştir. Balıkların +15°C’deki olgunlaşma sürecinde gerçekleşen bariz farklılıklar ise histidin miktarına bağlı olarak şekillenmiştir. Serbest histidin miktarı taze balıkta 3675,4 mg/100g olarak belirlenmiş, ön tuzlamada 2984,3 mg/100g, +4°C olgunlaşan lakerda üründe 1249,1 mg/100g, 15°C 787,7 mg/100g ve 20°C ise 1238,6 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Sarımsak ekstraktlı lakerda ürünlerde ise histidin miktarı +4°C’de 1125,9 mg/100g, 15°C’de 2159,8 mg/100g ve 20°C’de 1300,1 mg/100g olarak saptanmıştır.

Serbest amino asitlerin, amin pozitif bakterileri tarafından dekarboksilasyona uğraması sonucu biyojen aminler oluşmaktadır. Biyojen aminler taze balıkta bulunabileceği gibi işlenmiş ürünlerde de bulunabilmektedir. Yapılan çalışmada olgunlaşmış balıkların toplam biyojen amin miktarları 57,92-68,79 mg/kg arasında değişmektedir. En düşük biyojen amin toplamı 20°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı örneklerde (57,92 mg/kg), en yüksek biyojen amin toplamı ise 20°C sarımsaksız örneklerde (68,79 mg/kg) bulunmaktadır (Çizelge 18). Ayrıca her üç sıcaklık uygulamasında da sarımsaklı örneklerin biyojen amin içerikleri daha az bulunmuştur. Bu durum sarımsağın biyojen amin oluşumunda baskılayıcı etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bir diğer husus, çalışmada beklenen, olgunlaşma sıcaklığı arttıkça biyojen amin miktarı artmamış ve hatta azalmıştır. Bunun nedeni ise yüksek sıcaklıkta tuzlama teknolojisinde difüzyon ve osmoz reaksiyonlarının çok hızlı gerçekleşmesi ve balığa tuz girişinin daha hızlı olması nedeniyle tuzun bakterilere daha hızlı etki etmesi olarak düşünülmektedir.

Taze, ön tuzlanmış ve farklı sıcaklıklarda olgunlaşmış lakerdalar biyojenik amin kalite indeksleri açısından incelendiğinde, taze balıkta 1,08, ön tuzlanmış balıkta ise 1,44 olarak tespit edilmiştir. Bu değerlerin Mietz ve Karmas (1977)’in iyi kalitede ton balıkları için vermiş olduğu değer aralığından (0-1) daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu çalışmada ise ürünlerin indeks değerleri oldukça düşük bulunmuş ve hatta genel olarak sıcaklık yükseldikçe indeks değerlerinde azalma olduğu görülmüştür. Örneğin +4°C’de olgunlaşan sarımsaksız lakerdada indeks değeri 0,52 iken 15°C ve 20°C’lerde olgunlaşan sarımsaksız

lakerdalarda sırasıyla 0,37 ve 0,32 olarak saptanmıştır. Ürünlere ilave edilen sarımsak ekstraktının ise, söz konusu indeks değerini azaltıcı herhangi bir etkiye yol açmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 18).

Sonuç olarak yapılan çalışmada olgunlaşma sıcaklığı ne olursa olsun, lakerda ürünlerde biyojen amin riski bulunmadığı belirlenmiş, aksine tuz ile muamele öncesi balık etinde var olan biyojen amin miktarının, olgunlaşma sürecinde miktar olarak azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu konuda Silla Santos (1996),’da tuzun uskumru balıklarında, konsantrasyonu ne olursa olsun biyojen amin oluşumunu inhibe ettiğini rapor etmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, 11 farklı balık türünden kuru tuzlama yöntemiyle üretilen ürünlere ait 31 adet örneğin histamin miktarlarının <0.84 ile 105,84 ppm arasında değiştiği rapor edilmiştir (Koral, 2012). Çalışmada ilgili örneklerden sadece sardalya örneğinde yüksek miktarda (105,84 ppm) histamin tespit edilmiştir. Histamin miktarının diğer kuru tuzlanmış örneklerde ise 20 ppm’in altında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Tuzlanmış balık ürünleri üzerine farklı ülkelerde de pek çok çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmalardan Zhai ve arkadaşları (2012), Çin’de ticari olarak satılan 49 adet tuzlanmış, fermente ve konserve balık ürünlerinin biyojenik amin (histamin, triptamin, putresin, feniletilamin, kadaverin, triamin, spermidin ve spermin) miktarlarını araştırmışlardır. Çalışmada, birçok üründe biyojen amin miktarının düşük belirlenmesine rağmen, fermente ürünlerden hafif tuzlanmış istavrit balığında (484,42 mg/kg) ve paketlenerek satılan yılan balığında (166,45 mg/kg) toplam biyojen amin miktarları oldukça yüksek oranda tespit edilmiştir. Bunun yanında aynı çalışmada, Güney Çin bölgesinin geleneksel balık ürünü olarak belirtilen hafif tuzlanmış istavrit balığında, feniletilamin, putresin, kadaverin ve tiramin miktarları sırasıyla 57,61 mg/kg, 64,53 mg/kg, 244,41 mg/kg ve 62,85 mg/kg olarak saptanmıştır. Tuzlanmış ve fermente ürünlerdeki histamin miktarı ise, en yüksek 35,08 mg/kg olarak bildirilmiştir (Zhai ve ark., 2012). Yine Koral (2012), ülkemizde üretilen çiroz örneklerinde histamin miktarının 2,21 ppm’den daha az bulunduğunu, ançüez örneklerinden sadece birinde 229,11 ppm değeri tespit edildiğini belirtmiştir.

Kanki ve arkadaşları (2004), Japonya’da 2002 yılında tüketilen “Iwashi mirinboshi” adlı kurutulmuş sardalya (*Sardinops sagax*) ürününden kaynaklanan histamin zehirlenme vakasını bildirmişlerdir. Zehirlenme vakasına neden olan ürünün vakanın gerçekleştiği restorandaki örneği ile ürünün üretildiği tesisten alınan numunelerin analizi sonucu histamin içeriklerinin sırasıyla 3000 mg/kg ve 1700 mg/kg olduğu rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada Wootton ve arkadaşları (1989), Asya da tüketilen geleneksel yöntemlerle tuzlanmış ve kurutulmuş fermente ürünlerde, yüksek miktarda histamin bulunduğunu

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

bildirmişlerdir. Kurutulmuş balık ürünlerinde putresin ve kadaverin miktarlarını sırasıyla 2200 ve 3300 ppm, histamin miktarını ise 800 ppm olarak tespit etmişlerdir. Auerswald ve arkadaşları (2006), Güney Afrikada satışa sunulan kurutulmuş ton balığında (*Thunnus albacares*) 8000 ppm histamin bulunduğunu bildirmişlerdir. Park ve arkadaşları (2010) ise Kore’de marketlerden temin ettikleri 23 adet tuzlanmış uskumru ürününde düşük düzeylerde histamin bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre bu ürünlerdeki feniletilamin ve putresinin tespit edilemediği; agmatin, triptamin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve sperminin maksimum miktarının sırası ise 19,8 mg/kg, 7,3 mg/kg, 12,1 mg/kg, 16,5 mg/kg, 20,4 mg/kg, 18,8 mg/kg ve 5,1 mg/kg olduğu rapor edilmiştir.

Çizelge 18. Taze, ön tuzlanmış ve farklı sıcaklık ve uygulamalara tabi tutulmuş olgunlaşmış lakerdaların amino asit ve biyojenik amin değişimleri

	Taze	Ön Tuzlama	Lakerda			Sarımsaklı Lakerda		
			4°C	15°C	20°C	4°C	15°C	20°C
Serbest Amino Asit (mg/100g)								
ALA	62,0 ± 4,1	27,5 ± 2,7	27,8 ± 1,5	40,4 ± 0,5	24,7 ± 1,3	37,2 ± 1,8	25,3 ± 0,6	36,8 ± 1,9
GLY	21,4 ± 0,9	13,6 ± 0,9	6,8 ± 0,4	10,2 ± 0,3	4,4 ± 0,0	10,0 ± 0,5	5,0 ± 0,2	7,3 ± 0,2
VAL	17,6 ± 1,1	8,1 ± 0,3	28,6 ± 1,3	40,7 ± 1,2	52,3 ± 2,3	35,2 ± 1,1	32,9 ± 0,9	52,9 ± 1,5
LEU	33,0 ± 3,2	51,1 ± 2,6	76,2 ± 1,0	101,8 ± 1,6	135,1 ± 1,5	73,2 ± 2,9	158,9 ± 1,9	185,3 ± 4,2
ILE	30,6 ± 3,2	TE	30,6 ± 2,9	36,8 ± 2,9	41,6 ± 0,4	34,1 ± 1,4	52,1 ± 2,4	65,5 ± 2,5
THR	TE	TE	3,3 ± 1,0	8,7 ± 0,4	TE	4,9 ± 0,5	TE	5,4 ± 1,3
SER	TE	TE	6,0 ± 0,7	12,4 ± 1,1	2,9 ± 1,2	6,7 ± 1,5	6,4 ± 0,5	10,8 ± 1,5
PRO	50,2 ± 4,0	30,4 ± 2,4	7,2 ± 0,7	12,5 ± 0,7	6,7 ± 0,5	10,7 ± 1,0	9,1 ± 0,7	11,2 ± 1,6
ASN	TE	TE	5,8 ± 0,9	4,7 ± 0,7	6,4 ± 0,6	4,7 ± 0,9	9,2 ± 0,6	TE
TPR	30,6 ± 1,7	63,3 ± 2,3	TE	2,7 ± 0,3	TE0	3,9 ± 0,8	5,2 ± 0,6	TE
ASP	TE	TE	3,4 ± 0,6	79,8 ± 2,9	79,1 ± 2,8	9,5 ± 0,6	123,5 ± 2,0	127,1 ± 1,3
MET	11,7 ± 1,2	6,3 ± 0,3	13,3 ± 0,9	19,8 ± 0,9	25,0 ± 2,5	13,0 ± 0,9	22,7 ± 1,7	36,1 ± 1,5
HYP	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	3,3 ± 0,6
GLU	TE	TE	19,5 ± 1,3	30,1 ± 0,3	13,6 ± 0,7	25,2 ± 0,6	20,2 ± 1,3	26,9 ± 1,0
PHE	20,3 ± 1,2	37,4 ± 1,0	53,9 ± 2,3	59,1 ± 1,7	84,1 ± 2,7	45,5 ± 2,3	131,2 ± 4,9	111,2 ± 1,7
GLN	172,2 ± 8,9	155,3 ± 4,3	41,0 ± 1,7	20,7 ± 1,5	16,6 ± 0,5	25,4 ± 1,2	33,3 ± 1,6	20,1 ± 0,7
ORN	19,9 ± 2,7	23,8 ± 1,3	15,0 ± 1,1	9,4 ± 1,4	23,4 ± 2,1	11,9 ± 0,7	38,8 ± 0,7	32,5 ± 0,9
LYS	17,8 ± 0,9	49,7 ± 2,3	129,5 ± 2,2	109,0 ± 3,8	226,2 ± 2,0	106,0 ± 4,6	355,8 ± 4,0	257,5 ± 6,3
HIS	3675,4 ± 45,7	2984,3 ± 132,6	1249,1 ± 34,8	787,7 ± 12,9	1238,6 ± 29,7	1125,9 ± 31,4	2159,8 ± 56,3	1300,1 ± 26,5
TYR	19,1 ± 3,9	22,1 ± 1,2	35,0 ± 0,9	34,1 ± 1,6	51,0 ± 1,4	29,6 ± 1,5	95,3 ± 3,5	58,8 ± 0,9
TRP	TE	TE	1,8 ± 0,2	9,2 ± 0,5	16,4 ± 0,5	6,3 ± 0,6	TE	17,8 ± 0,8
TOPLAM (g/100g)	4,2	3,5	1,8	1,5	2,1	1,6	3,4	2,4
Biyojen Amin (mg/kg)								
Triptamin	6,39 ± 1,02	8,51 ± 0,69	5,83 ± 0,36	5,96 ± 0,13	4,98 ± 0,34	6,83 ± 0,37	5,26 ± 0,19	5,02 ± 0,19
β-feniletilamin	19,13 ± 1,50	21,32 ± 1,79	6,66 ± 0,18	3,47 ± 0,26	2,45 ± 0,27	3,80 ± 0,30	2,43 ± 0,22	1,47 ± 0,26
Putresin	4,51 ± 0,82	2,26 ± 0,21	2,79 ± 0,21	2,58 ± 0,04	2,94 ± 0,23	3,32 ± 0,15	2,45 ± 0,09	3,73 ± 0,26
Kadaverin	7,36 ± 1,03	10,28 ± 1,63	1,23 ± 0,15	3,02 ± 0,13	1,95 ± 0,21	2,32 ± 0,10	2,46 ± 0,12	2,17 ± 0,16
Histamin	15,44 ± 1,55	11,75 ± 1,01	3,68 ± 0,13	2,22 ± 0,09	2,10 ± 0,10	2,66 ± 0,20	2,36 ± 0,05	2,46 ± 0,19
Tiramin	106,47 ± 5,10	80,55 ± 3,44	33,22 ± 0,57	26,12 ± 0,79	33,49 ± 2,05	30,13 ± 2,20	24,56 ± 1,73	22,52 ± 3,00
Spermidin	8,42 ± 1,95	3,70 ± 0,51	1,68 ± 0,24	2,19 ± 0,34	1,57 ± 0,29	2,56 ± 0,35	2,32 ± 0,19	2,19 ± 0,21
Spermin	16,74 ± 1,20	12,07 ± 1,13	12,57 ± 1,68	18,36 ± 2,04	19,32 ± 1,64	10,41 ± 0,96	16,50 ± 0,47	18,37 ± 1,52
TOPLAM	184,46	150,44	67,67	63,93	68,79	62,02	58,33	57,92
Kalite indeksi (QI)	1,08	1,44	0,52	0,37	0,32	0,60	0,37	0,39

ALA: Alanin, GLY: Glisin, VAL: Valin, LEU: Lösin, ILE: İzolösin, THR: Tironin, SER: Serin, PRO: Prolin, ASP: Aspartik asit, ASN: Asparijin, MET: Metiyonin, HYP: 4-Hidroksiprolin, GLU: Glutamik asit, GLN: Glutamin, PHE: Fenilalanin, LYS: Lizin, HIS: Histamin, TYR: Tirozin, C-C: Sistin.

TE: Tespit Edilemedi, Örnek sayısı; N=3

4.4. Lakerdada Biyojen Amin Oluşturan Bakteriler

Yapılan çalışmada lakerda ürünlerde biyojen amin üretme kabiliyeti olduğu düşünülen toplam 46 adet izolat elde edilmiştir (Çizelge 19). Öncelikle tanımlanması yapılan bu şüpheli izolatlardan, Staphylococcaceae familyasına ait 11 adet, Enterobacteriaceae ve Moraxellaceae familyalarına ait familyasına ait 6'şar adet, Bacillaceae familyasına ait 5 adet, Pseudomonadaceae familyasına ait 4 adet, Xanthomonadaceae, Sphingomonadaceae ve Micrococcaceae familyalarına ait 3'er adet, Alcaligenaceae ve Streptococcaceae familyalarına ait 2'şer adet ve Clostridiaceae familyasına ait yalnızca 1 adet bakteri olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 19. Tanımlanan izolatlar

Bakteri Kodları	İzole Edilen Bakteriler	Familya
HY3	<i>Pseudomonas luteola</i>	Pseudomonadaceae
H5	<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseudomonadaceae
H7	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	Pseudomonadaceae
L8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pseudomonadaceae
HY6	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
HY7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
HY10	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
HY13	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
HY21	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
H2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Moraxellaceae
HY15	<i>Proteus vulgaris</i>	Enterobacteriaceae
HY16	<i>Proteus mirabilis</i>	Enterobacteriaceae
HY17	<i>Proteus vulgaris</i>	Enterobacteriaceae
HY20	<i>Serratia plymuthica</i>	Enterobacteriaceae
HY41	<i>Proteus vulgaris</i>	Enterobacteriaceae
L7	<i>Buttiauxella agrestis</i>	Enterobacteriaceae
L9	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Xanthomonadaceae
L11	<i>Stenotrophomonas maltophila</i>	Xanthomonadaceae
L12	<i>Stenotrophomonas maltophila</i>	Xanthomonadaceae
HY5	<i>Bordetella</i> spp.	Alcaligenaceae
HY9	<i>Alcaligenes</i> spp.	Alcaligenaceae

Bakteri Kodları	İzole Edilen Bakteriler	Familya
HY35	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Sphingomonadaceae
HY38	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Sphingomonadaceae
L3	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Sphingomonadaceae
HY11	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae
HY22	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae
H3	<i>Staphylococcus warneri</i>	Staphylococcaceae
H25	<i>Staphylococcus</i> spp.	Staphylococcaceae
H28	<i>Staphylococcus</i> spp.	Staphylococcaceae
H43	<i>Staphylococcus</i> spp.	Staphylococcaceae
H44	<i>Staphylococcus</i> spp.	Staphylococcaceae
L13	<i>Staphylococcus warneri</i>	Staphylococcaceae
L14	<i>Staphylococcus warneri</i>	Staphylococcaceae
L15	<i>Staphylococcus warneri</i>	Staphylococcaceae
L16	<i>Staphylococcus warneri</i>	Staphylococcaceae
HY28	<i>Bacillus</i> spp.	Bacillaceae
HY36	<i>Bacillus</i> spp.	Bacillaceae
H33	<i>Bacillus</i> spp.	Bacillaceae
H34	<i>Bacillus</i> spp.	Bacillaceae
H35	<i>Bacillus</i> spp.	Bacillaceae
H20	<i>Streptococcus</i> spp.	Streptococcaceae
H27	<i>Streptococcus</i> spp.	Streptococcaceae
H9	<i>Clostridium</i> spp.	Clostridiaceae
H45	<i>Micrococcus</i> spp.	Micrococcaceae
H48	<i>Micrococcus</i> spp.	Micrococcaceae
H50	<i>Micrococcus</i> spp.	Micrococcaceae

4.5. Bakterilerin Biyojen Amin Oluşturma Kapasiteleri

Yapılan çalışmada, çeşitli biyokimyasal testlerle sınıflandırılmış bakteri türlerinden 17 adedinin biyojen amin oluşturma kapasitelerine bakılmıştır (Çizelge 20). Elde edilen bulgulara göre, izole edilen bu bakterilerin içinde histidin ve tirocini dekarboksile etme yetenekleri olmayan bakteriler bulunmaktadır. Nitekim analizler sonucunda tespit edilen histamin miktarları, 0,11-7,71 mg/L arasında değişmektedir. Tiramin miktarı ise, yine birçok bakteride tespit edilememiştir.

BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA Hasan Basri ORMANCI

Bakterilerin oluşturdukları biyojen aminler içinde en fazla içeriğe sahip olan Kadaverindir. Kadaverini, *Pseudomonas luteola*, *Buttiauxella agrestis*, *Bacillus* spp., *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus* spp. bakterileri hariç, diğer tüm bakterilerin oldukça yüksek seviyelerde ürettiği tespit edilmiştir. Kadaverin üretiminde en fazla aktiviteye sahip olan bakteri, *Proteus vulgaris* (725,32 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Bunu *Acinobacter baumannii* (724,66 mg/L) ve *Staphylococcus aureus* (713,52 mg/L) bakteri türleri izlemektedir. Putresin oluşturma yeteneği ise 7 adet bakteride görülmüş, bu bakterilerin 50 ppm'in üzerinde putresin oluşturduğu belirlenmiştir. En yüksek putresin içerikleri *Sphingomonas paucimobilis*, *Buttiauxella agrestis*, *Serratia polymuthica* ve *Acinobacter baumannii* bakterilerinde sırasıyla 355,74 mg/L, 348,23 mg/L, 316,58 mg/L ve 310,50 mg/L olarak saptanmıştır.

Tsai ve arkadaşları (2005), market ve süpermarketlerde satılan 33 adet tuzlanmış uskumru örneğinde histamin ve histamin üreten bakteriler üzerine yaptıkları çalışmada, 33 örnekten 2'sinde 70,1 ve 120,2 ppm histamine rastlandığını, diğer örneklerde ise ortalama 30 ppm histamin bulunduğunu bildirmişlerdir. Histamin üreten bakteri türlerini ise, *Pantoea* sp., *Pantoea agglomerans* ve *Enterobacter cloacae* olarak belirlemişlerdir. Huang ve arkadaşları (2010) ise, Tayvan'da satılan 46 adet kurutulmuş balık ürününde histamin ve histamin üreten bakterilerin varlığını araştırdıkları çalışmada, test edilen örneklerin %30,4'ünün 50 ppm'den fazla histamin içerdiğini, dokuz örnekte ise histamin miktarının 63,10 ile 479,00 ppm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Örneklerden 13 adet histamin üreten bakteri türü izole edilmiş ve bunların triptik soy broth (% 1 L-histidin) besiyerinde histamin üretimlerinin 8,7-531,2 ppm arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada da, taze ve donmuş ton balığından izole edilen *Stenotrophomonas maltophila* bakterisinin 25 ppm'den daha az histamin ürettiğini, bakteri tarafından üretilen kadaverin miktarının ise 759,3-2399,0 ppm arasında değiştiği bildirilmiştir (Ben-Gigirey ve ark., 2000). Kore usulü tuzlanarak fermente edilmiş hamsi balığında (Myeolchi-Jeot) yapılan bir çalışmada ise, florada bulunan *Staphylococcus* sp. bakterilerinin baskın olmasına rağmen, söz konusu bu bakterilerin amin oluşturmada zayıf olduklarını, bunun yanında başta *Bacillus licheniformis* olmak üzere *Bacillus* sp. cinsi bakterilerin bu üründe biyojen amin oluşumundan sorumlu olduklarını belirtmişlerdir (Mah ve ark., 2003).

Çizelge 20. Bakteri izolatlarının oluşturdıkları biyojen amin miktarları

Bakteri Kodu	Tür İsmi	Biyोजen Aminler (mg/L)				Toplam Biyोजen Amin
		Putresin	Kadaverin	Histamin	Tiramin	
HY9	<i>Alcaligenes</i> spp.	50,66	438,71	0,18	TE	489,55
HY6	<i>Acinobacter baumannii</i>	310,50	413,98	0,18	TE	724,66
HY3	<i>Pseudomonas luteola</i>	5,46	0,63	0,23	TE	6,32
H45	<i>Micrococcus</i> spp.	26,42	437,53	0,19	TE	464,14
H3	<i>Staphylococcus warneri</i>	3,52	442,01	0,21	TE	445,74
L8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	9,11	442,26	0,19	TE	451,56
H5	<i>Pseudomonas</i> sp.	4,37	445,34	0,19	TE	449,9
HY5	<i>Bordetella</i> spp.	5,01	435,52	0,11	0,67	441,31
L7	<i>Buttiauxella agrestis</i>	348,23	3,69	0,37	TE	352,29
HY36	<i>Bacillus</i> spp.	36,52	18,05	7,71	0,31	62,59
HY35	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	355,74	10,57	0,56	TE	366,87
L9	<i>Stenotrophomonas maltophila</i>	2,55	439,52	0,21	TE	442,28
HY20	<i>Serratia polymuthica</i>	316,58	392,49	0,16	TE	709,23
HY16	<i>Proteus mirabilis</i>	2,90	442,15	TE	TE	445,05
HY15	<i>Proteus vulgaris</i>	289,62	435,70	TE	TE	725,32
HY11	<i>Staphylococcus aureus</i>	295,07	418,27	0,18	TE	713,52
H20	<i>Streptecoccus</i> spp.	TE	2,00	TE	1,63	3,63

TE: Tespit Edilemedi

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Palamut balığından lakerda üretimi ve olgunlaşma sırasında meydana gelen değişimlerin tespiti amacıyla yapılan bu çalışmada, üç farklı olgunlaşma sıcaklığının (+4°C, 15°C ve 20°C) amino asit değişimi ile biyojen amin oluşumuna etkileri araştırılmış ve biyojen amin oluşumundan sorumlu bakteriler tespit edilmeye çalışılmıştır. Bunun yanı sıra ürüne ilave edilen sarımsak ekstraktının da biyojen amin oluşumuna etki düzeyi araştırılmıştır.

1-) Palamut balıklarının farklı üç sıcaklıkta gerçekleştirilen olgunlaşma süreci sonunda; +4°C'de bekletilen balıkların 22. günde, 15°C'de bekletilenlerin 17. günde ve 20°C'de ise 15. günde olgunlaştığı ve lakerda haline geldiği tespit edilmiştir.

2-) Lakerda ürün, kırık beyaz-uçuk pembe renkte, kendine özgü aroması olan orta sertlikte, tuzu bariz hissedilen, kolay çiğnenebilir bir ürün olarak tarif edilmektedir. Enstrumental olarak, L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 37,44, 5,23, 0,47 olarak belirlenen renk ölçümlerinin skaladan karşılıkları mat-pembe renk olarak belirlenmiştir.

Ürünün spesifik tadı olan tuzlu balık eti tadı, %10 oranında sarımsak ekstraktı ilavesi sonucu değişmiş, sarımsak ürünün kokusunda bariz hoş bir koku olarak hissedilmiştir. Sarımsak ekstraktlı ürünlerin enstrumental renk analizleri sonucunda ise, ekstraktın ürünün renginin daha parlak olmasını sağladığı belirlenmiştir.

3-) Besin kompozisyonu analizlerinde elde edilen bulgulara göre lakerda ürünün, %14,64 ham protein, %17,39 ham yağ, %15,14 ham kül ve %52,22 oranında su içerdiği belirlenmiştir. Üründe tespit edilen kül değerinin, tuz içeriği ile ilgili olduğu lakerdada tuz oranının ise %20 civarında olduğu belirlenmiştir.

4-) Lakerda ürünün kimyasal kalite parametreleri olan pH, peroksit, TBA, TMA-N, su aktivitesi (a_w) ve su fazında tuz (WPS) şu şekilde tespit edilmiştir; pH:5,90; peroksit: 5,50 milimol O_2 /kg; TBA: 2,63 mg MA/kg; TMA-N: 2,28 mg/100g; a_w : 0,76 ve WPS: 27,56. Lakerda ürüne sarımsak ilave edilmesi, kimyasal kalite açısından önemli olan peroksit değerine etki oluşturmuş, sarımsak ekstraktı katkılı lakerdaların peroksit değeri 3,70 milimol O_2 /kg'a olarak belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik açıdan üründe genel anlamda, toplam aerobik ve halofilik bakterilerin hakim olduğu belirlenmiş (10^4 kob/g), bu bakterilerin yanı sıra patojen türleri bulunan *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp. ve *Clostridium* spp. (10^1 - 10^3 kob/g) bakterilerine rastlanmıştır.

5-) Palamut balığında toplam amino asit miktarı 18,5 g/100g olarak tespit edilmiştir. Amino asit kompozisyonu içerisinde, en fazla aspartik asit ve asparajin (3336,5 mg/100g) toplamı bulunmakta ve bu amino asitleri glutamik asit ve glutamin toplamı (2781,6 mg/100g) izlemektedir. Yüksek oranda olması beklenen histidin ise bazik karakterli olmasından ve analiz yönteminde izlenen asidik yakmadan dolayı diğer amino asitlere oranla daha az miktarda (1335,0 mg/100g) tespit edilebilmiştir.

Lakerdada ise toplam amino asit miktarı 19,1 g/100g olarak tespit edilmiştir. Lakerdanın olgunlaşması süresince ve sıcaklığın artması ile beraber toplam amino asit miktarının da arttığı belirlenmiş, 15°C’de toplam miktar 21,6 g/100g; 20°C’de ise 21,7 g/100g olarak bulunmuştur.

6-) Taze palamut balığının serbest amino asit miktarı 4,2 g/100g olarak bulunmuş, bu miktarın %88’inin serbest histidin değerinden oluştuğu belirlenmiştir.

Lakerda üründe toplam serbest amino asit miktarı, +4°C’de olgunlaştırılan lakerdalarda 1,8 g/100g; 15°C’de olgunlaştırılan lakerdalarda 1,5 g/100g ve 20°C’de olgunlaştırılan lakerdalarda ise 2,1 g/100g olarak tespit edilmiştir. Lakerdanın olgunlaştırılması süresince serbest amino asit miktarlarında azalma görülmüştür.

7-) Palamut balığında biyojen aminler, miktar sırasına göre tiramin (106,47 mg/kg), feniletilamin (19,13 mg/kg), spermin (16,74 mg/kg), histamin (15,44 mg/kg), spermidin (8,42 mg/kg), kadaverin (7,36 mg/kg), triptamin (6,39 g/100g), putresin (4,51 mg/kg) olarak belirlenmiştir. Bu bulgulara göre palamut balığının taze iken biyojen amin açısından risk taşımadığını göstermektedir.

8-) Lakerdanın üründe toplam biyojen amin miktarları 4°C, 15°C ve 20°C sıcaklıklarına göre sırasıyla 67,67 g/100g, 63,93 g/100g ve 68,79 g/100g olarak tespit edilmiş, farklı sıcaklıklarda üretilen lakerda ürünlerin biyojen amin miktarları birbirine yakın bulunmuştur. Lakerda üründe de biyojen amin oluşumunun risk oluşturabilecek limitin altında olduğu belirlenmiştir.

9-) Yapılan çalışmada olgunlaşma sıcaklığındaki artış biyojen aminlerin oluşumu üzerine etki etmiş, olgunlaşma sıcaklığı arttıkça biyojen amin oluşumu ve değişimindeki hız artmıştır.

10-) Lakerda ürüne ilave edilen sarımsak biyojen amin oluşumunu etkilemiştir. Sarımsak kullanılan ürünlerde biyojen amin miktarı sarımsaksız lakerdalara göre daha az (toplam biyojen amin miktarı +4°C’de 62,02 g/100g, 15°C’de 58,33 g/100g ve 20°C’de 57,92 g/100g) miktarlarda bulunmuştur.

11-) Lakerda üründen potansiyel biyojen amin oluşturan bakteri şuşları; *Pseudomonas luteola*, *Bordetella* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes* spp., *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia polymuthica*, *Bacillus* spp., *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas oryzihabitans*, *Clostridium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Buttiauxella agrestis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Stenotrophomonas maltophila* olarak belirlenmiştir.

12-) Çalışmada elde edilen bakteri şuşları; özellikle putresin ve kadaverin üretme etkisine yani ornitin ve lizini dekarboksile etme yeteneklerine sahiptirler. Söz konusu şuşlardan 13 adedi kadaverin, 7 adedi ise putresin oluşumunda etkili oldukları saptanmıştır.

13-) Söz konusu bakterilerin putresini, 50,66-355,74 mg/kg arasında; kadaverini ise 392,49-445,34 mg/kg arasında ürettikleri tespit edilmiştir.

Lakerda Türkiye’de eskiden sadece torik, günümüzde ise toriğin azalmasından dolayı palamut balığından yapılan ve tüketimi oldukça rağbet gören bir üründür. Kuru veya salamura tuzlama yöntemine göre farklı şekillerde üretilen bu üründe; kullanılan hammadde balıktan, üretim yönteminden ve olgunlaşma sıcaklığından kaynaklanan, kalite kayıpları olabilmektedir.

Lakerda üretiminde aşağıdaki önerilere uyulması, ürünün kalitesinin üst seviyede tutulmasına imkan sağlayacaktır:

1-) Lakerda yapımında kullanılacak hammaddenin, tazeliğinin iyi kalitede olması gerekmektedir. Bununla beraber balığın eti diri ve sıkı olmalıdır. Balıkçılar arasında, “lodos esen havada yakalanan Palamut balığının eti yumuşak olur, o balıktan lakerda yapılmaz” inancı vardır. Bu, genel anlamda doğru bir tespittir. Lodos, havanın ısınmasına yol açmakta ve bu havada balıklar daha çabuk rigora girerek, ette kalite kayıpları daha hızlı olmaktadır.

2-) Balıklar lakerda yapımı için işlenirken, kullanılan bıçağın çok keskin olması ve takoz kesiminde balığın zedelenmemesi gerekmektedir. Kesilen kısımların pürüzsüz ve düz olması, özellikle kuru tuzlamada balığın homojen tuzlanması açısından önemlidir.

3-) Balığın kemik iliği ve iç organlarının iyice temizlenmesi gerekmektedir. Kemik iliği, kan pıhtıları ve iç organ kalıntıları, balığın kötü tat ve kokuya sahip olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle kemik iliğinin, temiz bir süpürge çöpü, kürdan ya da tıg yardımı ile çıkarılması ve kan pıhtıları ile iç organların ise çok iyi temizlenmesi gerekmektedir. Bunun için ön tuzlama aşaması yapılmalı, balık etindeki kanın giderilmesi sağlanmalıdır. Ön tuzlamada kesinlikle tuzlu-buzlu su kullanılmalı, tuz konsantrasyonu %5-10, salamura su

sıcaklığı 2-4°C ve kan giderimi süresinin ise en az iki gün olması tavsiye edilmektedir. Kan giderimi süresi tespitinde en pratik ölçüt, salamura suyunun ve et renginin açık morumsu renkte olmasıdır. Ayrıca salamura suyunun her gün yenilenmesi de kaliteyi korumak açısından önem taşımaktadır.

4-) Tuzlama aşamasında; ilk olarak ön tuzlamadan çıkartılan balıklarının, en az bir saat süre ile suyunun süzdürülmesi ve bu esnada etin kurummasının engellenmesi gerekmektedir. Bunun için balık etinin derisiz kısımlarının, tülbent veya adi süzme kâğıdı ile örtülmesi uygun olacaktır. Kuru tuzlama yöntemi için tuzlamada iri taneli tuz (2 veya 3 numara) kullanılmalı ve bu tuzun balığın derisiz kısımlarına çok fazla bastırılmadan, etin kabul ettiği ölçüde miktar ayarında yapılmalıdır.

Balığın tuzlanmasında dikkat edilmesi gereken diğer bir husus; balıkların kaplara dizilişinde kabın tabanının tuzla kaplandıktan sonra balığın, tuzlanan derisiz kısımlarının üst üste gelecek şekilde dizilmesidir. Dizilimden sonra balığın üstü de tuz ile kaplanmalı ve üzerine balığın hava ile temas etmesini engellemek için ağırlık konulmalıdır. Tuzlama sonrasında oluşan salamura berrak olmalıdır.

5-) Lakerdanın üretimi ve olgunlaştırılması esnasında meydana gelen en önemli kimyasal değişim riski yağ oksidasyonudur. Bunun sebebi ise ön tuzlama aşamasından sonra, tuzlanan balıkların doku suyunun çıkışı aşamasında ürünün hava ile temas etmesidir. Eğer bu aşama dikkatli bir şekilde yapılırsa ve balığın solüsyon yüzeyine çıkması engellenebilirse lakerda üretiminde oksidatif risk minimize edilebilmektedir. Bu çalışmada Lakerda ürüne sarımsak ekstraktı ilavesi, yağlı veya orta yağlı olarak adlandırılan palamut balığı etinin az da olsa oksidayona uğramasını baskılamıştır.

6-) Yapılan bu çalışmada farklı sıcaklıklarda lakerda ürün üretilmiş; sıcaklığın ve yanı sıra ürüne ilave edilen sarımsak ekstraktının, biyojen amin oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Palamut balığının olgunlaşması, düşük sıcaklığa (+4°C) nazaran yüksek sıcaklıklarda (15-20°C) daha kısa sürede gerçekleşmiştir. Sıcaklık artışı, tuz ve enzim aktivitesi ile mikroorganizma faaliyetlerini hızlandırdığından; bu durumun ürünün depolama aşamasında nasıl etki göstereceği bilinmemektedir. Dolayısıyla bundan sonra yapılan çalışmaların, farklı olgunlaşma sıcaklıklarının özellikle de yüksek sıcaklıkların (20°C ve üzeri) ürünün raf ömrüne etkisinin tespiti yönünde olması tavsiye edilmektedir.

7-) Lakerda ülkemizde tek tip olarak yapılmakta, sade tuzlanmış olarak satışa sunulmaktadır. Doğal katkı maddeleri ile ürün yelpazesinin geliştirilmesi, farklı aromalı ürün tipleri üretilmesi ticari üretim için bir ihtiyaçtır. Bu çalışmada yapılan sarımsak

ekstraktının yanı sıra; kokulu balık etine yakışan, defne, dere otu veya kekik vb. ile çalışmalar katkı oluşturacaktır.

Üretimi kolay ve ucuz olan tuzlama teknolojisi ile ilgili yapılacak her çalışma hem bu teknoloji ile üretim yapan işletmelerin pazar payını artırması hemde ürünlerin güvenli bir şekilde üretilerek tüketimin yaygınlaştırılması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Ababouch L., Afilal M.E., Benabdeljelil H. ve Busta F.F., 1991. Quantitative Changes in Bacteria, Amino Acids and Biogenic Amines in Sardine (*Sardina pilchardus*) Stored at Ambient Temperature (25–28°C) and in Ice. *International Journal of Food Science & Technology*, 26(3): 297-306.
- Abbas K.A., Saleh A.M., Mohamed A. ve Lasekan O., 2009. The Relationship Between Water Activity and Fish Spoilage During Cold Storage: A Review. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(3&4): 86-90.
- Ackman R.G., 1990. Seafood Lipids and Fatty Acids. *Food Reviews International*, 6(4): 617-646.
- Ackman R.G., 1995. Composition and Nutritive Value of Fish and Shellfish Lipids. In: Ruither, A., Ed. *Fish and Fisheries Products. Composition, Nutritive Properties and Stability*. CAB International, Wallingford, UK. 117-156.
- Alma M.H., Mavi A., Yildirim A., Digrak M. ve Hirata T., 2003. Screening Chemical Composition and *in Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oils from *Origanum syriacum* L. Growing in Turkey. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(12): 1725-1729.
- Altıok D., Altıok E. ve Bayraktar O., 2006. Fonksiyonel Gıda Üretiminde Kullanılan Bazı Baharatın Antioksidan Kapasiteleri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu. 97-100.
- Anonim, 1986. *Manuals of Food Quality Control Food Analysis: Quality, Adulteration, and Tests of Identity*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 326 p.
- Anonim, 1988. *TMA-N Tayini*. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara. 6-7 p.
- Anonim, 1998. *Bacteriological Analytical Manual Edition 8, Revision A*. Food and Drug Administration (FDA) Division of Microbiology and Association of Official Analytical Chemists, New Hampshire, USA. 250 p.
- Anonim, 2000. *Official Methods of Analysis of the AOAC International (17th)*. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. 2000 p.

- Anonim, 2001. *Bacteriological Analytical Manual*. Food Drug Administration (FDA), Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN), New Hampshire, USA. 946 p.
- Anonim, 2002. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard (2nd)*. NCCLS Publication, Pennsylvania, USA. 86 p.
- Anonim, 2005. Determination of Product Shelf-Life. In: *Guidance note No:18*. Food Safety Authority of Ireland, Abbey Court, Dublin.
- Antoine F.R., Wei C.I., Littell R.C., Quinn B.P., Hogle A.D. ve Marshall M.R., 2001. Free Amino Acids in Dark- and White-muscle Fish as Determined by O-phthaldialdehyde Precolumn Derivatization. *Journal of Food Science*, 66(1): 72-77.
- Antonocopoulos N., 1973. Bestimmung des flüchtigen Basenstickstoffs. In: Ludorf, W. and Meyer, V., Eds. *Fische und Fischerzeugnisse*. Aulage Verlag Paul Parey, Berlin. 224–225.
- Aran N., 1988. Baharatın Antimikrobiyal Etkileri. 20. *Diyabet ve Beslenme Günleri*, 5. *Diyabet Yıllığı*, İstanbul. 383-387.
- Arena M.E. ve Manca de Nadra M.C., 2001. Biogenic Amine Production by *Lactobacillus*. *Journal of Applied Microbiology*, 90(2): 158-162.
- Arganosa G.C. ve Marriott N.G., 1989. Organic Acids as Tenderizers of Collagen in Restructured Beef. *Journal of Food Science*, 54(5): 1173-1176.
- Arnault I. ve Auger J., 2006. Seleno-Compounds in Garlic and Onion. *Journal of Chromatography A*, 1112(1–2): 23-30.
- Arnold S.H. ve Brown W.D., 1978. Histamine (?) Toxicity from Fish Products. In: O., C.C., Ed. *Advances in Food Research*. Academic Press. 113-154.
- Arnold S.H., Price R.J. ve Brown W.D., 1980. Histamine Formation by Bacteria Isolated from Skipjack Tuna, *Katsuwonus pelamis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 46(8): 991-995.

- Atmaca G., 2003. Sarımsağın ve Tiol İçeren Bazı Bileşiklerin Antioksidatif Etkileri. *Trakya Üniversitesi Tıp fakültesi Dergisi*, 20(1-3): 54-60.
- Auerswald L., Morren C. ve Lopata A.L., 2006. Histamine Levels in Seventeen Species of Fresh and Processed South African Seafood. *Food Chemistry*, 98(2): 231-239.
- Aydın B., 2006. Mamul Gıdalarda Biyojenik Aminlerin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Zonguldak, 81 s.
- Badawy A.A.B., Morgan C.J. ve Turner J.A., 2008. Application of the Phenomenex EZ:faast™ Amino Acid Analysis Kit for Rapid Gas-Chromatographic Determination of Concentrations of Plasma Tryptophan and Its Brain Uptake Competitors. *Amino Acids*, 34(4): 587-596.
- Bae J.H. ve Lim S.Y., 2012. Effect of Season on Heavy Metal Contents and Chemical Compositions of Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) Muscle. *Journal of Food Science*, 77(2): 52-57.
- Banwart G.J., 1989. *Basic Food Microbiology (2nd ed.)*. Chapman & Hall, New York, USA. 773 p.
- Barnett H.J., Nelson R.W. ve Poysky F.T., 1991. *A Comparative Study Using Multiple Indices to Measure Changes in Quality of Pink and Coho Salmon During Fresh and Frozen Storage*. Utilization Research Division, Northwest Fisheries Science Center, National Marine Fisheries Service, National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle, U.S.A. 59 p.
- Barrett G.C., 1989. Amino acids. In: Jones, J.H., Ed. *Amino Acids and Peptides: Volume 22*. The Royal Society of Chemistry. 1-82.
- Baumgart J., 1993. *Mikrobiologische Untersuchung Von Lebensmitteln*. Bher's Verlag, Hamburg. 514 p.
- Beatty S.A. ve Fougère H., 1957. The Processing of Dried Salted Fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 112: 1-54.

- Beltran A. ve Moral A., 1990. Gas Chromatographic Estimation of Oxidative Deterioration in Sardine During Frozen Storage. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 23(6): 499-504.
- Ben-Gigirey B., Vieites Baptista de Sousa J.M., Villa T.G. ve Barros-Velazquez J., 2000. Characterization of Biogenic Amine-Producing *Stenotrophomonas maltophilia* Strains Isolated from White Muscle of Fresh and Frozen Albacore Tuna. *International Journal of Food Microbiology*, 57(1–2): 19-31.
- Besteiro I., Rodríguez C.J. ve Pascual C., 2000. Chymotrypsin and General Proteolytic Activities in Muscle of *Engraulis encrasicolus* and *Engraulis anchoita* During the Ripening Process. *European Food Research and Technology*, 210(6): 414-418.
- Beutling D., 1996. Biogenic Amines in Nutrition. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, 47(4): 97-102.
- Bligh E.G. ve Dyer W.J., 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8): 911-917.
- Bone Q., 1978. Locomotor muscle. In: Hoar, W.S. and Randall, D.J., Eds. *Fish Physiology*. Vol. VII. *Locomotion*. Academic Press, New York. 361-424.
- Borgstrom G., 1965. *Fish as Food: Processing*. Academic Press, New York, USA. 518 p.
- Borgstrom G., 1968. Salting (Curing) and Smoking. In: *Food Tech.: The Macmillan Company*, New York. 273-289.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E. ve Berset C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Bremner H.A. ve Hallett I.C., 1985. Muscle Fiber–Connective Tissue Junctions in the Fish Blue Grenadier (*Macrurus novaezelandiae*). A Scanning Electron Microscope Study. *Journal of Food Science*, 50(4): 975-980.
- Brimelow C.J.B. ve Groesbeck C.A., 1993. Colour Measurement of Foods by Colour Reflectance Instrumentation. In: Kress-Rogers, E., Ed. *Instrumentation and Sensors for the Food Industry* Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 63–96.

- Caglak E., Cakli S. ve Kilinc B., 2012. Effect of Modified Atmosphere Packaging on Quality and Shelf Life of Salted Bonito (*Sarda sarda*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21(3): 206-221.
- Chaijan M., 2011. Physicochemical Changes of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Muscle During Salting. *Food Chemistry*, 129(3): 1201-1210.
- Chaijan M., Benjakul S., Visessanguan W., Lee S. ve Faustman C., 2008. Interaction of Fish Myoglobin and Myofibrillar Proteins. *Journal of Food Science*, 73(5): 292-298.
- Chandler R.E. ve McMeeekin T.A., 1989. Modeling the Growth-Response of *Staphylococcus-Xylosus* to Changes in Temperature and Glycerol Concentration Water Activity. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(6): 543-548.
- Chi Z.M., Yan K.R., Gao L.M., Li J., Wang X.H. ve Wang L., 2008. Diversity of marine yeasts with high protein content and evaluation of their nutritive compositions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88(7): 1347-1352.
- Chung L.Y., 2006. The Antioxidant Properties of Garlic Compounds: Allyl Cysteine, Alliin, Allicin, and Allyl Disulfide. *Journal of Medicinal Food*, 9(2): 205-213.
- Collins C.M. ve Lyne P.M., 1987. *Microbiological Methods*. Butterworths & Co. Ltd., London. 316 p.
- Connell J.J., 1980. Control of Fish Quality In: *Marinades*. Torry Research Station, Aberdeen. 102-105.
- Curran C.A., Nicoladies L., Poulter R.G. ve Pors J., 1980. Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. *Tropical science*, 22: 367-382.
- Czerner M., Tomas M.C. ve Yeannes M.I., 2011. Ripening of Salted Anchovy (*Engraulis anchoita*): Development of Lipid Oxidation, Colour and Other Sensorial Characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(4): 609-615.

- Çağlak E., 2009. Modifiye Atmosfer Paketleme Uygulanan Sübye, Kara Midye ve Lakerdanın Buzdolabı Şartlarında Bazı Kalite Kriterlerinin İncelenmesi. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir, 121 s.
- Çakır F., 2010. Farklı Doğal Katkı Maddeleri Kullanılarak Hazırlanan Hamsi Marinatlarının Raf Ömrü Sürelerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. (Doktora Tezi). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Çanakkale, 142 s.
- Çaklı Ş. ve Kışla D., 2003. Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20(1-2): 239-245.
- Çelik U., 2004. Marine Edilmiş Akivades (*Tapes decussatus* L., 1758)'in Kimyasal Kompozisyonu ve Duyusal Analizi. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4): 219-221.
- Çetinkaya S., 2008. Eğirdir Gölü'nden Avlanan Gümüş Balığı (*Atherina boyeri*, Risso 1810)'ndan Marinat Yapımı ve Bazı Besinsel Özelliklerinin Tespiti. (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta, 126 s.
- Çolak H., 2000. Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Süresinin Fermente Sucuklarda Biyojen Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi. (Doktora Tezi). İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 69 s.
- Çolak H. ve Aksu H., 2002. Biyojen Aminlerin Varlığı ve Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13: 35-40.
- Çolak H. ve Uğur M., 2002. Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Süresinin Fermente Sucuklarda Biyojen Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 26: 779-784.
- Decker E.A., Chan W.K.M., Livisay S.A., Butterfield D.A. ve Faustman C., 1995. Interactions Between Carnosine and the Different Redox States of Myoglobin. *Journal of Food Science*, 60(6): 1201-1204.

- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. ve Vidal N., 2006. Antioxidant Activity of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660.
- Dunajski E., 1980. Texture of Fish Muscle. *Journal of Texture Studies*, 10(4): 301-318.
- Eerola S., Hinkkanen R., Lindfors E. ve Hirvi T., 1993. Liquid-Chromatographic Determination of Biogenic-Amines in Dry Sausages. *Journal of AOAC International*, 76(3): 575-577.
- Eerola S., Maijala R., Sagues A.X.R., Salminen M. ve Hirvi T., 1996. Biogenic Amines in Dry Sausages as Affected by Starter Culture and Contaminant Amine-Positive *Lactobacillus*. *Journal of Food Science*, 61(6): 1243-1246.
- Eitenmiller R.R. ve Desouza S.C., 1984. Enzymatic Mechanisms for Amine Formation in Fish. *ACS Symposium Series*, 262: 431-442.
- Eke E., 2007. Farklı Balık Türlerinden Marinat Yapımı ve Kalitesinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Samsun, 64 s.
- Eklund P.C., Langvik O.K., Warna J.P., Salmi T.O., Willfor S.M. ve Sjöholm R.E., 2005. Chemical Studies on Antioxidant Mechanisms and Free Radical Scavenging Properties of Lignans. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 3(18): 3336-3347.
- Erginkaya Z. ve Var I., 1989. Et ve Et Ürünlerinde Biyojenik Aminler. *Gıda*, 14(3): 171-174.
- Erkan N., Selcuk A. ve Ozden O., 2010. Amino Acid and Vitamin Composition of Raw and Cooked Horse Mackerel. *Food Analytical Methods*, 3(3): 269-275.
- Erkan N., Tosun S.Y., Alakavuk D.U. ve Ulusoy S., 2009. Keeping Quality of Different Packaged Salted Atlantic Bonito "Lakerda". *Journal of Food Biochemistry*, 33(5): 728-744.
- Esaiassen M., Østli J., Elvevoll E.O., Joensen S., Prytz K. ve Richardsen R., 2004. Brining of Cod Fillets: Influence on Sensory Properties and Consumers Liking. *Food Quality and Preference*, 15(5): 421-428.

- Fernandez-Lopez J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Perez-Alvarez J.A. ve Kuri V., 2005. Antioxidant and Antibacterial Activities of Natural Extracts: Application in Beef Meatballs. *Meat Science*, 69(3): 371-380.
- Fito P. ve Pastor R., 1994. Non-Diffusional Mechanisms Occurring during Vacuum Osmotic Dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21(4): 513-519.
- Frank H.A., Baranowski J.D., Chongsiriwatana M., Brust P.A. ve Premaratne R.J., 1985. Identification and Decarboxylase Activities of Bacteria Isolated from Decomposed Mahimahi (*Coryphaena hippurus*) after Incubation at 0-Degrees-C and 32-Degrees-C. *International Journal of Food Microbiology*, 2(6): 331-340.
- Gardini F., Martuscelli M., Caruso M.C., Galgano F., Crudele M.A., Favati F., Guerzoni M.E. ve Suzzi G., 2001. Effects of pH, Temperature and NaCl Concentration on the Growth Kinetics, Proteolytic Activity and Biogenic Amine Production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1-2): 105-117.
- Gençcelep H., 2006. Sucuk Üretiminde Değişik Starter Kültürler ve Farklı Nitrit Seviyelerinin Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkileri. (Doktora Tezi). Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum, 123 s.
- Gillette M., 1985. Flavor Effects of Sodium-Chloride. *Food Technology*, 39(6): 47-52.
- Goulas A.E. ve Kontominas M.G., 2005. Effect of Salting and Smoking-Method on the Keeping Quality of Chub Mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and Sensory Attributes. *Food Chemistry*, 93(3): 511-520.
- Gökoglu N. ve Varlık C., 1995. Sardalya Konservelerinin Histamin Biyojen Amini Yönünden İncelenmesi. *Gıda*, 5: 273-279.
- Gülyavuz H. ve Ünlüsayın M., 2008. *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fak. Ders Kitabı, Antalya. p.
- Halasz A., Barath A., Simonsarkadi L. ve Holzapfel W., 1994. Biogenic-Amines and Their Production by Microorganisms in Food. *Trends in Food Science & Technology*, 5(2): 42-49.

- Halkman A.K., 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık Limited Şti. 358 p.
- Hall G.M., 1997. *Fish Processing Technology*. Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall, London, UK. 292 p.
- Hamm R., 1986. Functional Properties of the Myofibrillar System and Their Measurements. In: Bechtel, P.J., Ed. *Muscle as food*. Academic Press., Orlando
- Harrigan W.F. ve McCance M.E., 1976. *Laboratory Methods (2nd ed.)*. Academic Press, London. 96 p.
- Harris J.C., Cottrell S.L., Plummer S. ve Lloyd D., 2001. Antimicrobial Properties of *Allium sativum* (Garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3): 282-286.
- Havelka B., 1967. Role of the Hafnia Bacteria in the Rise of Histamine in Tuna Fish Meat. *Cesk. Hygiene*, 12: 343-352.
- Heinitz M.L. ve Johnson J.M., 1998. The Incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in Smoked Fish and Shellfish. *Journal of Food Protection*, 61(3): 318-323.
- Hernandez-Herrero M.M., Roig-Sagues A.X., Lopez-Sabater E.I., Rodriguez-Jerez J.J. ve Mora-Ventura M.T., 2002. Influence of Raw Fish Quality on Some Physicochemical and Microbial Characteristics as Related to Ripening of Salted Anchovies (*Engraulis encrasicolus* L). *Journal of Food Science*, 67(7): 2631-2640.
- Hernandez-Herrero M.M., Roig-Sagues A.X., Rodriguez-Jerez J.J. ve Mora-Ventura M.T., 1999. Halotolerant and Halophilic Histamine-Forming Bacteria Isolated During the Ripening of Salted Anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Food Protection*, 62(5): 509-514.
- Hernandez Jover T., Izquierdo Pulido M., Veciana Nogues M.T., Marine Font A. ve Vidal Carou M.C., 1997. Biogenic Amine and Polyamine Contents in Meat and Meat Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6): 2098-2102.

- Hornero Mendez D. ve Garrido Fernandez A., 1997. Rapid High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Biogenic Amines in Fermented Vegetable Brines. *Journal of Food Protection*, 60(4): 414-419.
- Huang Y.-R., Liu K.-J., Hsieh H.-S., Hsieh C.-H., Hwang D.-F. ve Tsai Y.-H., 2010. Histamine Level and Histamine-Forming Bacteria in Dried Fish Products Sold in Penghu Island of Taiwan. *Food Control*, 21(9): 1234-1239.
- Hultin H.O., 1994. Oxidation of Lipids in Seafoods. In: Shahidi, F. and Botta, J.R., Eds. *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic & Professional. 49-74.
- Huss H.H., 1995. *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 195 p.
- Huss H.H., Ababouch L. ve Gram L., 2004. *Assessment and management of seafood safety and quality*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 230 p.
- Ijomah P., Clifford M.N., Walker R., Wright J., Hardy R. ve Murray C.K., 1991. The Importance of Endogenous Histamine Relative to Dietary Histamine in the Etiology of Scombrototoxicosis. *Food Additives and Contaminants*, 8(4): 531-542.
- Işıklı B.I., 2000. Farklı Tuzlama Tekniklerinin Eğrez Balıklarının (*Vimba vimba tenella*, Nordman 1840) Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesine Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta, 55 s.
- Jastrzebski Z., Leontowicz H., Leontowicz M., Namiesnik J., Zachwieja Z., Barton H., Pawelzik E., Arancibia-Avila P., Toledo F. ve Gorinstein S., 2007. The Bioactivity of Processed Garlic (*Allium Sativum* L.) as Shown in *Vitro* And in *Vivo* Studies on Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9): 1626-1633.
- Jeyasekaran G. ve Jeya-Shakila R., 2003. Occurrence of Biogenic Amine Forming Bacteria in Cured Fishery Products of Thoothukkudi Region of Tamil Nadu, India. *Asian Fisheries Science*, 16: 195-202.

- Jonsdottir R., Sveinsdottir K., Magnússon H., Arason S., Lauritzen K. ve Thorarinsdottir K.A., 2011. Flavor and Quality Characteristics of Salted and Desalted Cod (*Gadus morhua*) Produced by Different Salting Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8): 3893-3904.
- Kale A., Kale E., Akdeniz N. ve Canoruc N., 2006. Elevated Amniotic Fluid Amino Acid Levels in Fetuses with Gastroschisis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(8): 1021-1025.
- Kamarı N., 2007. Buzda Depolanan Yayın Balığının (*Siluris glanis* L. 1758) Nükleotid Yıkım ve Biyojenik Amin Konsantrasyonunun Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Adana, 55 s.
- Kanki M., Yoda T., Ishibashi M. ve Tsukamoto T., 2004. Photobacterium phosphoreum Caused a Histamine Fish Poisoning Incident. *International Journal of Food Microbiology*, 92(1): 79-87.
- Karioti A., Hadjipavlou-Litina D., Mensah M.L.K., Fleischer T.C. ve Skaltsa H., 2004. Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Xylopia aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) Leaves, Stem Bark, Root Bark, and Fresh and Dried Fruits, Growing in Ghana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 8094-8098.
- Khayat A. ve Schwall D., 1983. Lipid Oxidation in Seafood. *Food Technology*, 37(7): 130-140.
- Kietzmann U., Pribe K., Rakou D. ve Reichstein K., 1969. *See-fisch als Lebensmittel*. Paul Parey Verlag, Hamburg-Berlin. 368 p.
- Kılınççeker O. ve Küçüköner E., 2003. Tuzlanmış İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*) Balığında Fiziksel, Kimyasal ve Biyokimyasal Değişimlerin Saptanması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* 13(1): 55-59.
- Kim M.K., Mah J.H. ve Hwang H.J., 2009. Biogenic Amine Formation and Bacterial Contribution in Fish, Squid and Shellfish. *Food Chemistry*, 116(1): 87-95.

- Kim S.M., Kubota K. ve Kobayashi A., 1997. Antioxidative Activity of Sulfur-Containing Flavor Compounds in Garlic. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 61(9): 1482-1485.
- Kimata M. ve Kawai A., 1953. The Freshness of Fish and the Amount of Histamine Presented in the Meat. *Research Institute for Food Science*, 5: 25-54.
- Kinsella J.E., 1988. Fish and Seafoods - Nutritional Implications and Quality Issues. *Food Technology*, 42(5): 146-150.
- Klausen N.K. ve Lund E., 1986. Formation of Biogenic-Amines in Herring and Mackerel. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 182(6): 459-463.
- Konagaya S., 1990. Keeping Freshness of Wet Fish. *Science of Processing Marine Food Products*, 1: 1-15/16-26.
- Konosu S., Watanabe K. ve Shimizu T., 1974. Distribution of Nitrogenous Constituents in Muscle Extracts of Eight Species of Fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 40(9): 909-915.
- Koral S., 2012. Türkiye’de Geleneksel Yöntemlerle İşlenmiş Balık Ürünlerinde Biyojenik Amin Miktarlarının Tespiti ve Oluşumuna Neden Olan Faktörlerin İncelenmesi. (Doktora Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim. 231 s.
- Koral S., Tufan B., Scavnicar A., Kocar D., Pompe M. ve Kose S., 2013. Investigation of the Contents of Biogenic Amines and Some Food Safety Parameters of Various Commercially Salted Fish Products. *Food Control*, 32(2): 597-606.
- Kordali S., Cakir A., Mavi A., Kilic H. ve Yildirim A., 2005. Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish Artemisia Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5): 1408-1416.
- Kose S., 2010. Evaluation of Seafood Safety Health Hazards for Traditional Fish Products: Preventive Measures and Monitoring Issues. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10(1): 139-160.

- Köse S., 2008. Bitkisel ve Hayvansal Kökenli Histamin Zehirlenmesi ve Histamin Analiz Metodlarının Karşılaştırılması. *19. Biyoloji Kongresi*, Trabzon. 189
- Kurt Ş., 2006. Sucuğun Bazı Özellikleri ve Biyojen Amin Oluşumu Üzerinde Fermentasyon Süresi, Nitrit Seviyesi ve Isıl İşlem Sıcaklığı Etkisi. (Doktora Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Van, 99 s.
- Kyranas V.R. ve Lougovois V.P., 2002. Sensory, Chemical and Microbiological Assessment of Farm-Raised European Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Stored in Melting Ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(3): 319-328.
- Lampe J.W., 1999. Health Effects of Vegetables and Fruit: Assessing Mechanisms of Action in Human Experimental Studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3): 475-490.
- Lapa-Guimaraes J. ve Pickova J., 2004. New Solvent Systems for Thin-Layer Chromatographic Determination of Nine Biogenic Amines in Fish And Squid. *Journal of Chromatography A*, 1045(1-2): 223-232.
- Lauritzen K., 2004. Quality of Salted Cod (*Gadus morhua* L.) as Influenced by Raw Material and Salt Composition. PhD Dissertation (Doktora Tezi). University of Tromsø, Norwegian College of Fishery Science. Tromsø, Norway, 51 p.
- Lehane L. ve Olley J., 2000. Histamine Fish Poisoning Revisited. *International Journal of Food Microbiology*, 58(1-2): 1-37.
- Lopez-Sabater E.I., Rodriguez Jerez J.J., Roig Sagues A.X. ve Mora Ventura M.T., 1994. Determination of Histamine in Fish Using an Enzymic Method. *Food Additives and Contaminants*, 10(5): 593-602.
- Losikoff M., 2007. *Clostridium botulinum* Concerns. *International Smoked Seafood Conference Proceedings*, Anchorage, Alaska, USA. 5-7.
- Love R.M., 1970. *The Chemical Biology of Fishes: With a Key to the Chemical Literature*. Academic Press, London, UK. 547 p.

- Lovenberg W., 1973. Some Vaso- and Psychoactive Substances in Foods: Amines, Stimulants, Depressants And Hallucinogens. In: Coon, J.M. and Powers, J.L., Eds. *Toxicants Occurring Naturally in Foods*. National Academy of Sciences, Washington DC, USA. 170-188.
- Low L.K. ve Ng C.S., 1978. Determination of Peroxide Value. In: Hasegawa, H., Ed. *Laboratory Manual on Analytical Methods and Procedures for Fish and Fish Products*. Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, Singapore. C7.1–C7.3.
- Ludorf M. ve Meyer W., 1973. *Fische und Fischerzeugnisse*. Paul Parey Verlag, Hamburg-Berlin. 309 p.
- Lülleci E., 1991. Palamut Balığının *Sarda sarda* (Bloch, 1793) Lakerda'ya İşlenmesi ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 30 s.
- Mah J.H., Ahn J.B., Park J.H., Sung H.C. ve Hwang H.J., 2003. Characterization of Biogenic Amine-Producing Microorganisms Isolated from Myeolchi-jeot, Korean Salted and Fermented Anchovy. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13(5): 692-699.
- Mah J.H., Shin S.Y., Lee H.S., Cho H.Y. ve Hwang H.J., 2001. Improvement of Decarboxylating Agar Medium for Screening Biogenic Amine-Producing Bacteria in Kimchi. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11(3): 491-496.
- Maijala R., 1994. Histamine and Tyramine Production by a Lactobacillus Strain Subjected to External pH Decrease. *Journal of Food Protection*, 57(3): 259-262.
- Maijala R., Nurmi E. ve Fischer A., 1995. Influence of Processing Temperature on the Formation of Biogenic-Amines in Dry Sausages. *Meat Science*, 39(1): 9-22.
- Maijala R.L., Eerola S.H., Aho M.A. ve Hirn J.A., 1993. The Effect of GDL-Induced pH Decrease on the Formation of Biogenic-Amines in Meat. *Journal of Food Protection*, 56(2): 125-129.

- Martinez-Valverde I., Periago M.J., Santaella M. ve Ros G., 2000. The Content and Nutritional Significance of Minerals on Fish Flesh in The Presence and Absence of Bone. *Food Chemistry*, 71(4): 503-509.
- Masson F., Lebert A., Talon R. ve Montel M.C., 1997. Effects of Physico-Chemical Factors Influencing Tyramine Production by *Carnobacterium divergens*. *Journal of Applied Microbiology*, 83(1): 36-42.
- McLay R., 1972. *Marinades*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Aberdeen. 7 p.
- Meilgaard M., Civille G.V. ve Carr B.T., 1999. *Sensory Evaluation Techniques (3rd ed)*. CRC Press, Boca Raton, FL. 386 p.
- Mendeş M., 2012. *Uygulamalı Bilimler İçin İstatistik ve Araştırma Yöntemleri (2.)*. Kriter Yayınevi. 664 p.
- Middlebrooks B.L., Toom P.M., Douglas W.L., Harrison R.E. ve McDowell S., 1988. Effects of Storage Time and Temperature on the Microflora and Amine Development in Spanish Mackerel (*Scomberomorus maculatus*). *Journal of Food Science*, 53(4): 1024-1029.
- Mietz J.L. ve Karmas E., 1977. Chemical Quality Index of Canned Tuna as Determined by High-Pressure Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*, 42(1): 155-158.
- Mohamed R., Livia S.S., Hassan S., Soher E.S. ve Ahmed-Adel E.B., 2009. Changes in Free Amino Acids and Biogenic Amines of Egyptian Salted-Fermented Fish (Feseekh) During Ripening and Storage. *Food Chemistry*, 115(2): 635-638.
- Nassar A.M. ve Emam W.H., 2002. Biogenic Amines in Chicken Meat Products in Relation to Bacterial Load, pH Value and Sodium Chloride Content. *Nahrung-Food*, 46(3): 197-199.
- Niven C.F., Jeffrey M.B. ve Corlett D.A., 1981. Differential Plating Medium for Quantitative Detection of Histamine-Producing Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1): 321-322.

- Nuutila A.M., Puupponen-Pimia R., Aarni M. ve Oksman-Caldentey K.M., 2003. Comparison of Antioxidant Activities of Onion and Garlic Extracts by Inhibition of Lipid Peroxidation and Radical Scavenging Activity. *Food Chemistry*, 81(4): 485-493.
- O'Brien E.J. ve Dickens M.J., 1983. Actin and Thin Filaments. In: Harris, J.R., Ed. *Electron Microscopy of Proteins*. Academic Press, London. 1-95.
- Okada M., 1992. Fish as Raw Food Material. *Science of Processing Marine Food Products*, 1: 1-15.
- Okuzumi M., Fukumoto I. ve Fujii T., 1990. Changes in Bacterial-Flora and Polyamines Contents during Storage of Horse Mackerel Meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(8): 1307-1312.
- Olgunoğlu İ.A., 2007. Marine Edilmiş Hamside (*Engraulis engrasicholus*) Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimleri. (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana, 111 s.
- Oliveira H., Pedro S., Nunes M.L., Costa R. ve Vaz-Pires P., 2012. Processing of Salted Cod (*Gadus spp.*): A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6): 546-564.
- Oluwaniyi O.O., Dosumu O.O. ve Awolola G.V., 2010. Effect of Local Processing Methods (Boiling, Frying and Roasting) on the Amino Acid Composition of Four Marine Fishes Commonly Consumed in Nigeria. *Food Chemistry*, 123(4): 1000-1006.
- Opstvedt J., 1988. Influence and Smoking on Protein Quality. In: Burt, J.R., Ed. *Fish Smoking and Drying- the Effect of Smoking and Drying on the Nutritional Properties of Fish*. Elsevier Applied Science, London and New York. 23-26.
- Ozden O., 2005. Changes in Amino Acid and Fatty Acid Composition During Shelf-Life of Marinated Fish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12): 2015-2020.

- Ozden O. ve Erkan N., 2011. A Preliminary Study of Amino Acid and Mineral Profiles of Important and Estimable 21 Seafood Species. *British Food Journal*, 113(4-5): 457-469.
- Ozyurt G. ve Polat A., 2006. Amino Acid and Fatty Acid Composition of Wild Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*): A Seasonal Differentiation. *European Food Research and Technology*, 222(3-4): 316-320.
- Öksüz A., 2000. Quality Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*): A Comparative Study. PhD Thesis (Doktora Tezi). University of Lincolnshire and Humberside, Lincoln, United Kingdom, 227 p.
- Özden Ö. ve Gökoglu N., 1997. Sardalya Balığının, (*Sardina pilchardus* W, 1792) Soğukta Depolanması Sırasında Yağında Oluşan Değişmelerin İncelenmesi. *Gıda*, 22(4): 309-313.
- Özden Ö., Metin S., Baygar T. ve Erkan N., 2001. Vakum Paketlenmiş Marine Balıkların Kalitesinin Belirlenmesinde Yağ Asitleri ve Aminoasit Bileşimindeki Değişimlerin İncelenmesi. İstanbul: Tubitak Proje No: VHAG-1713/ADP. 29 p.
- Özdestan Ö., 2009. Türkiye’de Üretilen Bazı Fermente Gıdalarda Biyojen Aminlerin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir, 260 s.
- Özkaynak E. ve Karakaya S., 2009. Fonksiyonel Gıda Olarak Sarımsak ve Organosülfürlü Bileşikler. *Hasad Gıda Dergisi*, 286: 26-30.
- Özoğul F., 2001. The Effect Packaging Systems on Quality and Safety of Herring. Phd Dissertation (Doktora Tezi). University of Lincoln, Lincoln, UK, 287 p.
- Park J.S., Lee C.H., Kwon E.Y., Lee H.J., Kim J.Y. ve Kim S.H., 2010. Monitoring the Contents of Biogenic Amines in Fish and Fish Products Consumed in Korea. *Food Control*, 21(9): 1219-1226.

- Patır B., Gürel A.İ., Öksüztepe G. ve İlhak I.I., 2006. Microbiological and Chemical Qualities of Salted Grey Mullet (*Chalcalburnus tarichii* Pallas, 1811). *International Journal of Science & Technology*, 1(2): 91-98.
- Pedro S. ve Nunes M.L., 2007. Reducing Salt in Seafood Products. In: Kilcast, D. and Angus, F., Eds. *Reducing Salt in Foods. Practical Strategies*. Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge CB21 6AH, England
- Pérez-Villarreal B. ve Pozo R., 1990. Chemical Composition and Ice Spoilage of Albacore (*Thunnus alalunga*). *Journal of Food Science*, 55(3): 678-682.
- Ragazzi E. ve Veronese G., 1973. Quantitative-Analysis of Phenolic Compounds after Thin-Layer Chromatographic Separation. *Journal of Chromatography*, 77(2): 369-375.
- Ramanathan L. ve Das N.P., 1992. Inhibitory Effects of Some Natural Products on Metal-Induced Lipid Oxidation in Cooked Fish. *Biological Trace Element Research*, 34(1): 35-44.
- Rawles D.D., Flick G.J. ve Martin R.E., 1996. Biogenic Amines in Fish and Shellfish. In: Taylor, S., Ed. *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press. 329-365.
- Reineccius G.A., 1990. Off-Flavors in Foods. *Cereal Foods World*, 35(7): 679-680.
- Resnik S.L. ve Chirife J., 1988. Proposed Theoretical Water Activity Values at Various Temperatures for Selected Solutions to be Used as Reference Sources in the Range of Microbial Growth. *Journal of Food Protection*, 51: 419-423.
- Rice S.L., Eitenmiller R.R. ve Koehler P.E., 1976. Biologically-Active Amines in Food - Review. *Journal of Milk and Food Technology*, 39(5): 353-358.
- Rodriguez-Jerez J.J., Lopez-Sabater E.I., Hernandez-Herrero M.M. ve Mora-Ventura M.T., 1994. Histamine, Putrescine and Cadaverine Formation in Spanish Semipreserved Anchovies as Affected by Time/Temperature. *Journal of Food Science*, 59(5): 993-997.

- Ross T. ve Dalgaard P., 2003. Secondary Models. In: McKeller, R.C. and Lu, X., Eds. *Modeling Microbial Responses in Food*. CRC Press, Boca Raton, USA. 63-150.
- Ruiz-Capillas C. ve Jiménez-Colmenero F., 2010. Biogenic Amines in Seafood Products. In: Nollet, M.L. and Toldrá, F., Eds. *Safety Analysis of Foods of Animal Origin*. CRC Press. 743-760.
- Ruiz-Capillas C. ve Moral A., 2001. Changes in Free Amino Acids During Chilled Storage of Hake (*Merluccius merluccius* L.) in Controlled Atmospheres and Their Use as a Quality Control Index. *European Food Research and Technology*, 212(3): 302-307.
- Schormüller J., 1968. Tierische Lebensmittel Eier, Fleisch, Buttermilch. In: *Handbuch der Lebensmittel Chemie, Band III/2 Teil*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 1493-1494.
- Schormüller J., 1969. Fette und Lipide (Lipids). In: *Handbuch der Lebensmittel Chemie, Band IV*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 872-878.
- Serdaroğlu M. ve Deniz E.E., 2001. Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 18(3/4): 575-581.
- Sermenli M.H., 2006. Farklı Yöntemlerle Elde Edilmiş Sarımsak (*Allium sativum* L.) Ekstraktlarının Antimutagenik Etkilerinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü. Aydın, 81 s.
- Serpe I., Demasi D., Salzillo A. ve Scatola L., 1995. Histamine Content in Fish Products during 1990-1993 Period. *Industrie Alimentari*, 34(334): 108-110.
- Shalaby A.R., 1996. Significance of Biogenic Amines to Food Safety and Human Health. *Food Research International*, 29(7): 675-690.
- Shewan J.M., 1955. The Browning of Salt Cured White Fish. *Food Manufacture*, 5: 200-203.

- Shiau C.Y., Pong Y.J., Chiou T.K. ve Chai T.Y., 1996. Free Amino Acids and Nucleotide-Related Compounds in Milkfish (*Chanos Chanos*) Muscles and Viscera. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9): 2650-2653.
- Sikorski Z.E., 1989. *The Nutritive Composition of the Major Groups of Marine Food Organisms, Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 256 p.
- Sikorski Z.E., 1990. *Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation*. Taylor & Francis. p.
- Sikorski Z.E. ve Ruitter A., 1995. Changes in proteins and nonprotein Nitrogen Compounds in Cured, Fermented, and Dried Seafoods. In: Sikorski, Z.E., Pan, B.S. and Shahidi, F., Eds. *Seafood Proteins*. Springer US. 113-126.
- Silla Santos M.H., 1996. Biogenic Amines: Their Importance in Foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29(2-3): 213-231.
- Singh B., Falahee M.B. ve Adams M.R., 2001. Synergistic Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Nisin and Garlic Extract. *Food Microbiology*, 18(2): 133-139.
- Slomkowska A. ve Ambroziak W., 2002. Biogenic Amine Profile of the Most Popular Polish Beers. *European Food Research and Technology*, 215(5): 380-383.
- Srivastava A., Hamre K., Stoss J., Chakrabarti R. ve Tonheim S.K., 2006. Protein Content and Amino Acid Composition of the Live Feed Rotifer (*Brachionus plicatilis*): With Emphasis On The Water Soluble Fraction. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 254(1-4): 534-543.
- Stratton J.E., Hutkins R.W. ve Taylor S.L., 1991. Biogenic-Amines in Cheese and Other Fermented Foods - A Review. *Journal of Food Protection*, 54(6): 460-470.
- Suzuki T., 1981. Fish and Krill Protein: Processing Technology. In.: Applied Science Publishers, London. 1-147.
- Şenman N.H., 2007. Gökkuşacağı Alabalıklarında (*Onchornycus mykiss*) Biyojen Aminlerin HPLC ile Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara, 55 s.

- Tarladgis B.G., Pearson A.M. ve Dugan Jun L.R., 1964. Chemistry of the 2-Thiobarbituric Acid Test for Determination of Oxidative Rancidity in Foods. II—Formation of the TBA-Malonaldehyde Complex without Acid-Heat Treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 15(9): 602-607.
- Tarladgis B.G., Watts B.M., Younathan M.T. ve Dugan J.L., 1960. A Distillation Method for the Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37(1): 44-48.
- Tassoni A., Germana M.A. ve Bagni N., 2004. Free and Conjugated Polyamine Content in *Citrus Sinensis* Osbeck, Cultivar Brasiliano Nl 92, a Navel Orange, at Different Maturation Stages. *Food Chemistry*, 87(4): 537-541.
- Taylor S.L., Guthertz L.S., Leatherwood M. ve Lieber E.R., 1979. Histamine Production by *Klebsiella-Pneumoniae* and an Incident of Scombroid Fish Poisoning. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(2): 274-278.
- ten Brink B., Damink C., Joosten H.M.L.J. ve Huis in 't Veld J.H.J., 1990. Occurrence and Formation of Biologically-Active Amines in Foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11(1): 73-84.
- Teodorovic V., Buncic S. ve Smiljanic D., 1994. A Study of Factor Influencing Histamine Production in Meat. *Fleischwirtschaft*, 74(2): 181-183.
- Til H.P., Falke H.E., Prinsen M.K. ve Willems M.I., 1997. Acute and Subacute Toxicity of Tyramine, Spermidine, Spermine, Putrescine and Cadaverine in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 35(3-4): 337-348.
- Tsai Y.H., Lin C.Y., Chang S.C., Chen H.C., Kung H.F., Wei C.I. ve Hwang D.F., 2005. Occurrence of Histamine and Histamine-Forming Bacteria in Salted Mackerel in Taiwan. *Food Microbiology*, 22(5): 461-467.
- Turan H. ve Erkoyuncu İ., 1997. Farklı Tuzlama Yöntemlerinin Değişik Balıklarda Kalite ve Saklama Sürelerine Etkileri. *Akdeniz Balıkçılık Kongresi*, İzmir. 191-197.

- Turan H., Kaya Y., Erkoyuncu I. ve Sonmez G., 2006. Chemical and Microbiological Qualities of Dry-Salted (Lakerda) Bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793). *Journal of Food Quality*, 29(5): 470-478.
- Turantaş F. ve Öksüz A., 1998. Balık ve Balık Ürünlerinde Biyojenik Aminler ve Amin Üretiminde Rol Oynayan Bakteriler. *Gıda Teknolojisi*, 3(5): 58-65.
- Tülsner M., 1994. *Fischverarbeitung Band 1 - Rohstoffeigenschaften und Grundlagen der Verarbeitungsprozesse*. Behr's verlag, Hamburg. 304 p.
- Üner Y., Aksu H. ve Ergün Ö., 2000. Baharatın Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(1): 1-10.
- Üzen F., 2008. Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Üretilen Tuzlanmış Balıkların Bakteriyel Tehlikeler Bakımından İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon, 89 s.
- Van Klaveren F.W. ve Legendre R., 1965. CHAPTER 4 - Salted Cod. In: Borgstrom, G., Ed. *Fish As Food*. Academic Press. 133-163.
- Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S. ve Baygar T., 2004. *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul. 490 p.
- Veciana Nogues M.T., Marine Font A. ve Vidal Carou M.C., 1997. Biogenic Amines as Hygienic Quality Indicators of Tuna. Relationships with Microbial Counts, ATP-Related Compounds, Volatile Amines, and Organoleptic Changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6): 2036-2041.
- Vinagre J., Rodriguez A., Larrain M.A. ve Aubourg S.P., 2011. Chemical Composition and Quality Loss During Technological Treatment in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Food Research International*, 44(1): 1-13.
- Wang F., Ma X.Z., Wang W. ve Liu J.Y., 2012. Comparison of Proximate Composition, Amino Acid And Fatty Acid Profiles in Wild, Pond- and Cage-Cultured Longsnout Catfish (*Leiocassis longirostris*). *International Journal of Food Science and Technology*, 47(8): 1772-1776.

- Wendakoon C.N., Murata M. ve Sakaguchi M., 1990. Comparison of Nonvolatile Amine Formation between the Dark and White Muscles of Mackerel During Storage. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(5): 809-818.
- Wheaton F.W. ve Lawson T.B., 1985. *Processing Aquatic Food Products*. John Wiley and Sons, USA. 536 p.
- Wootton M., Silalahi J. ve Wills R.B.H., 1989. Amine Levels in Some Asian Seafood Products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49(4): 503-506.
- Yapar A., 1989. Değişik Tuzlama Teknikleri Uygulanan Alabalıklarda Bazı Kimyasal ve Fiziksel Değişimlerin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir, 50 s.
- Yapar A. ve Erdol M., 1999. Changes in Some Properties of Whiting Liver Oil Stored in a Refrigerator. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 23(4): 333-336.
- Yatsunami K. ve Echigo T., 1993. Changes in the Number of Halotolerant Histamine-Forming Bacteria and Contents of Nonvolatile Amines in Sardine Meat with Addition of NaCl. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(1): 123-127.
- Yeğin S., 2006. Geleneksel Fermente Ürünlerimizden olan Bozada Biyojen Amin Varlığının Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir, 88 s.
- Yerlikaya P. ve Gökoğlu N., 2002. Gıdalarda Biyojen Aminler ve Önemi. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 12(24-30).
- Yoshida A. ve Nakamura A., 1982. Quantitation of Histamine in Fishes and Fishes Products by High Performance Liquid Chromatography. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 23(4): 339-343.
- Zar J.H., 1999. *Biostatistical analysis (4th)*. Prentice Hall PTR. 663 p.
- Zhai H.L., Yang X.Q., Li L.H., Xia G.B., Cen J.W., Huang H. ve Hao S.X., 2012. Biogenic Amines in Commercial Fish and Fish Products Sold in Southern China. *Food Control*, 25(1): 303-308.

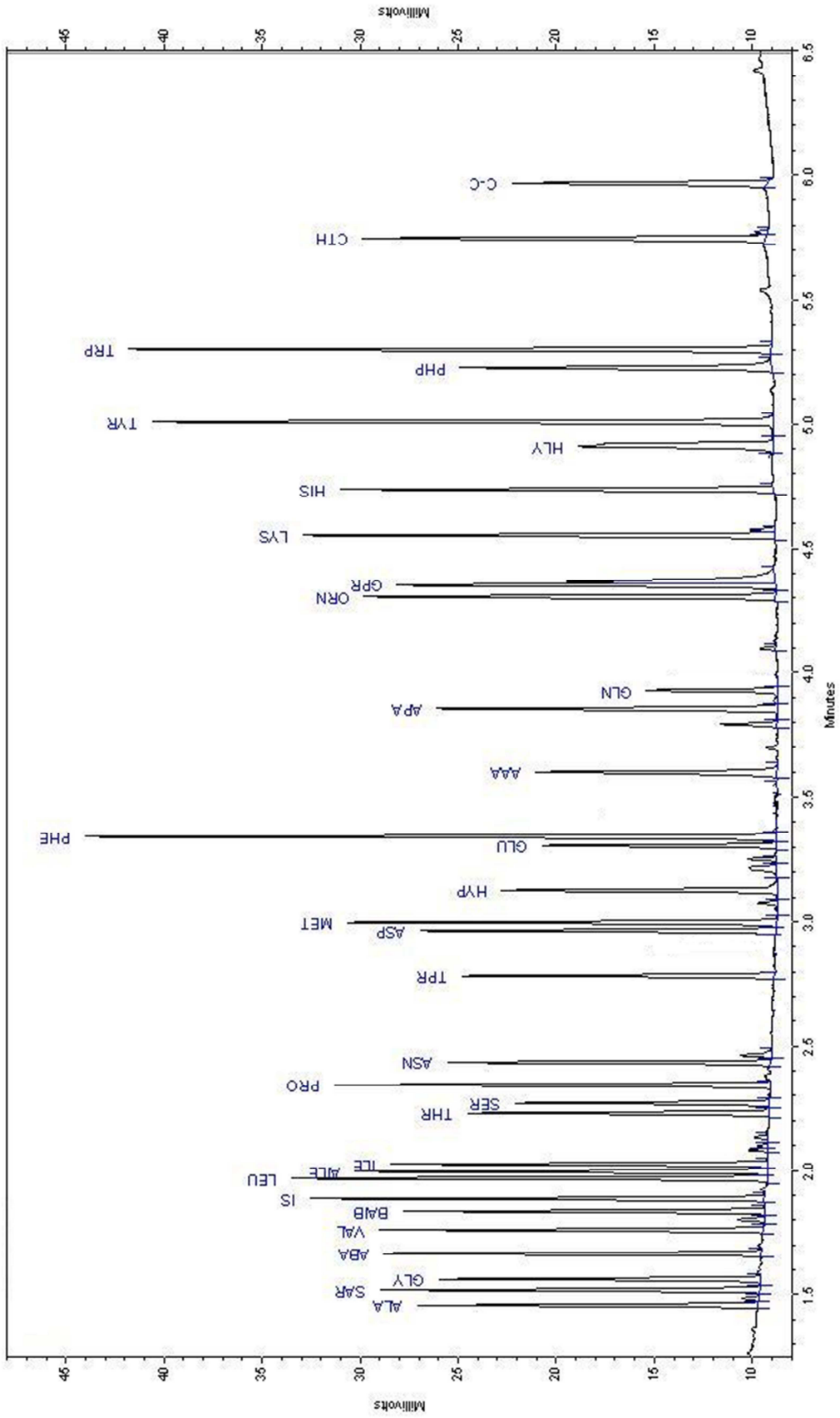
EKLER

Ek 1. Araştırmada Kullanılan Alet ve Malzemeler

Santifirij (Nüve, NF800R), DPPH (2.2-diphenyl-1-picrylhydrazil), metanol (MERCK), UV/VIS spektrofotometre (PG Instrument T80 Plus), gallik asit (Merck), Folin Ciocaltaeu reaktifi (Merck), sodyum karbonat (Merck), alüminyum klorür (Merck), Mueller Hinton Agar (Merck), Brain Heart Infusion Broth (Merck), etüv (Nüve FN-500V, Nüve-EN500, Fine Tech SFCN 302, Shin Saeng Co. Ltd., Ordell SC771), hassas terazi (Kern ABJ 220-4M), sülfirik asit (Merck), kjeldahl tableti (Merck), H₂O₂ (Merck), yağ yakma bloğuna (InKjel M), distile su, sodyum hidroksit (Merck), boric asit (Merck), Kjeldahl destilasyon ünitesine (Behrotest WD20, Gerhardt), hidroklorik asit (HCl) (Merck), kloroform (Merck), CaCl₂ (Merck), rotary evaporatör (IKA RV10 basic), kül fırını (Elektro.mag M 1811), sodyum sitrat tampon (Merck), GC/MS (Thermo-Finnigan), trikloroasetik asit (TCA) (Merck), tekstür analiz cihazı (TA.XT2 Tekstür Analiz (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK)), renk analiz cihazı (Minolta Chromometer), pH metre (Hanna pH 211), potasyum kromat indikatörü (K₂CrO₄), gümüş nitrat (AgNO₃) (Merck), Ultra Turrax (IKA yellow line DI25 basic), glasiyel asetik asit (Merck), tiyobarbutirik asit (Merck), su banyosu (Electromag), potasyum iyodür (Merck), sodyum tiyosülfat (Merck), nişasta (Merck), triklorasetik (Merck), formaldehit (Merck), toluen (Merck), potasyum karbonat (Merck), sodyum sülfat (Merck), pikrik asit (Merck), perklorik asit (Merck), Vorteks (Nüve NM-110), sodyum bikarbonat (Merck), dansil klorür (Sigma), amonyak (Merck), amonyum asetat (Merck), asetonitril (Sigma), HPLC (Shimadzu LC-20AD), pepton (Oxoid), stomacher (Seward 400), Plate Count Agar (PCA) (Merck), anaerobik kavanoz (anaerocult C) (Merck), sodyum klorür (NaCl) (Merck), Violet Red Bile Agar (VRB) (Merck), D-Coccosel Agar (Bio-Merieux), Baird-Parker Agar (BP) (Merck), Tryptose Sulfite Cyclocerine Agar (TSC) (Merck), de Man Rogosa Sharpe Agar (Oxoid), Mannitol-Egg-yolk-Polymyxine Agar (Merck), Malt Extract Agar (Merck), triptone (Oxoid), maya ekstraktı (Merck), kalsiyum karbonat (Merck), Bromocresol-Purple (Merck), amonyum sülfat (Merck), glukoz (Merck), Magnezyum Sülfat (MgSO₄ 7H₂O ve MnSO₄ 4H₂O) (Merck), Demir Sülfat (FeSO₄ 7H₂O) (Merck), kresol kırmızısı (Merck), (L-histidine hydrochloride monohydrate, L-tyrosine, L-ornithine hydrochloride, ve L-lysine hydrochloride) (Sigma), Api 20E Test Kiti (Biomeriux), VITEK 2 GN Otomasyon Cihazı (Biomeriux) (Ref 21 341), GP (Ref 21 342), 1,7 diamino heptan (Sigma), Cadaverine dihydrochloride (Sigma), Spermine trihydrochloride (Sigma), Spermidin tetrahydrochloride (Sigma), Putresine dihydrochloride (Sigma), Tyramine hydrochloride

(Sigma), Tyrptamine hydrochloride (Sigma), β -phenylethylamine hydrochloride (Sigma), Histamine dihydrochloride (Sigma).

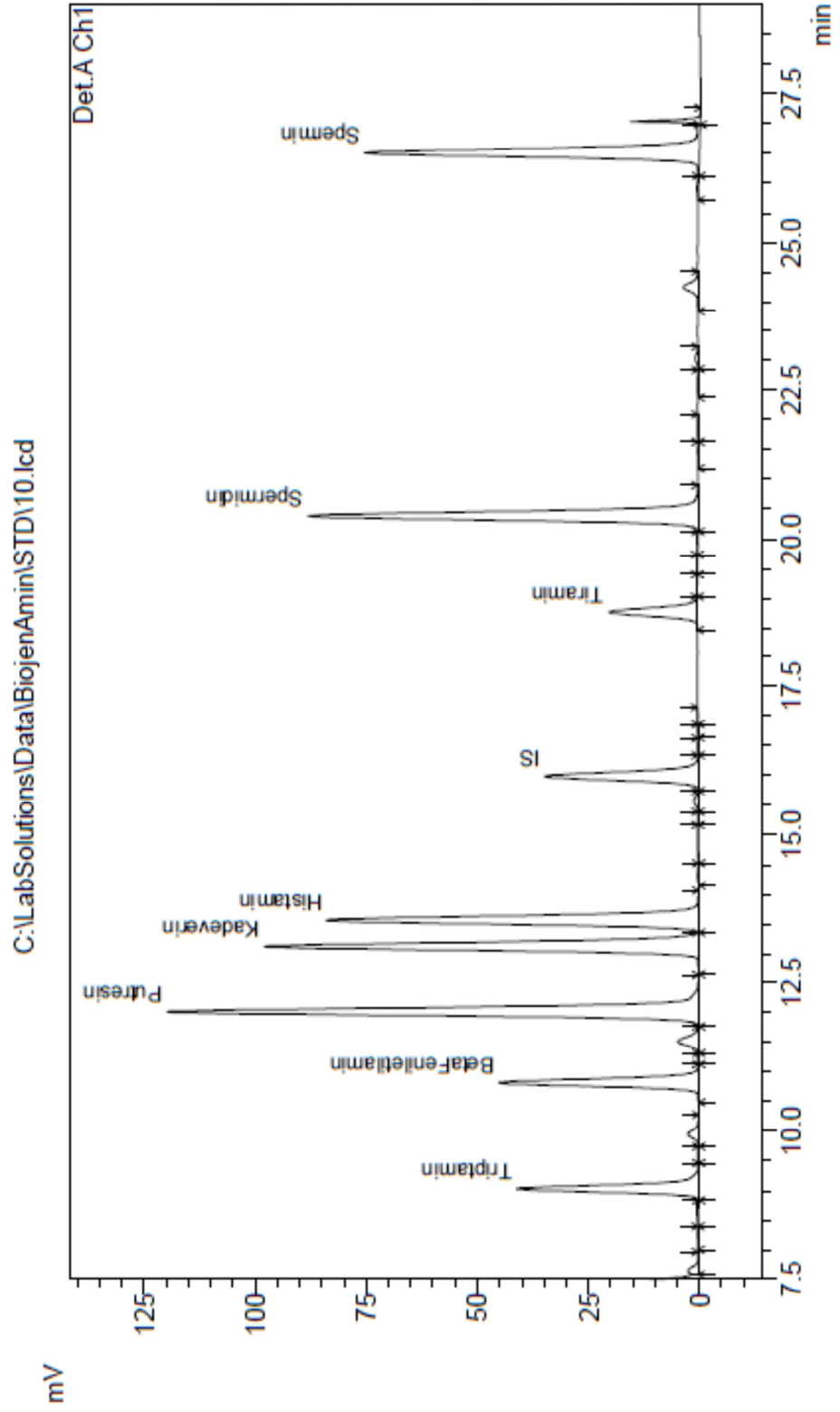
Ek 2. Amino Asit Tayininde Elde Edilen Standartlara Ait GC/MS Kromatogramı



Ek 3. Biyojen Amin Tayininde Elde Edilen Standartlara Ait HPLC Kromatogramı

==== Shimadzu LCsolution LC Data Image ====

<Chromatogram>



ÇİZELGELER	Sayfa No
Çizelge 1. Balık türlerine göre besin kompozisyonları (%).....	5
Çizelge 2. Aroma oluşumda rol oynayan bazı amino asitler.....	6
Çizelge 3. Biyojenik aminlerin sınıflandırılması.....	14
Çizelge 4. Çalışmada kullanılan tuzun bileşimi.....	24
Çizelge 5. Ürün profil analizinde kullanılan duyuşal özellikler ve tanımlama teknikleri.....	37
Çizelge 6. Sarımsak ekstraktına ait antioksidan analiz sonuçları.....	45
Çizelge 7. Farklı konsantrasyonlarda ve yöntemler ile ekstrakte edilen sarımsağı zon çapları.....	47
Çizelge 8. Renk ve tekstür analizi bulguları.....	49
Çizelge 9. Besin kompozisyonu değerleri (%).....	51
Çizelge 10. Olgunlaşma esnasında ve lakerda ürünlerde biyokimyasal değişimler.....	52
Çizelge 11. +4°C' de olgunlaşan lakerdaların duyuşal analiz değerleri.....	58
Çizelge 12. Lakerdaların mikrobiyolojik sayım sonuçları (kob/g).....	63
Çizelge 13. Lakerdanın farklı sıcaklık uygulamaları öncesinde amino asit değişimleri.....	67
Çizelge 14. Lakerdaların farklı sıcaklıklarda olgunlaşması süresince amino asit değişimi.....	69
Çizelge 15. Sarımsak ekstraktı ilave edilmiş lakerdaların farklı sıcaklıklarda olgunlaşması süresince amino asit değişimi.....	72
Çizelge 16. Serbest amino asit ve biyojen aminler olgunlaşma süresince Pearson korelasyon katsayıları.....	77
Çizelge 17. Olgunlaşma süresince serbest amino asit ve biyojen aminler arasındaki korelasyon ilişkileri.....	78
Çizelge 18. Taze, ön tuzlanmış ve farklı sıcaklık ve uygulamalara tabi tutulmuş olgunlaşmış lakerdaların amino asit ve biyojenik amin değişimleri.....	88

Çizelge 19. Tanımlanan izolatlar.....	89
Çizelge 20. Bakteri izolatlarının oluşturdukları biyojen amin miktarları.....	92

ŞEKİLLER	Sayfa No
Şekil 1. Biyojen aminlerin metabolik yolu.....	13
Şekil 2. Balık etinde biyojen amin oluşumuna etki eden faktörler.....	15
Şekil 3. Palamut (<i>Sarda sarda</i> , Bloch 1793)	23
Şekil 4. Lakerda akış şeması ve örnek grupları.....	27
Şekil 5. İzolatlara uygulanan Api 20E testi ve VP testi.....	41
Şekil 6. Api 20E negatif (üstte) ve pozitif (altta) kontrol renk skalası.....	41
Şekil 7. Vitek 2 Compact cihazında izolatların identifikasyonu.....	42
Şekil 8. Sarımsak ekstraktlarının radikal giderici etkileri.....	46
Şekil 9. Sarımsak ekstraktlarının %50 inhibisyon konsantrasyonları	46
Şekil 10. Sarımsak yoğunluğu frekans grafiği.....	57
Şekil 11. Lakerdanın renk karakteristiği.....	60
Şekil 12. Lakerdaların koku karakteristiği.....	60
Şekil 13. Lakerdanın lezzet karakteristiği.....	61
Şekil 14. Lakerdanın tekstür karakteristiği.....	61
Şekil 15. Taze palamut balığında amino asit kompozisyonu.....	66
Şekil 16. Lakerdanın farklı sıcaklıklara olgunlaştırılması sırasında ortalama toplam amino asit miktarları.....	70
Şekil 17. Sarımsaklı lakerdanın farklı sıcaklıklara olgunlaştırılması sırasında ortalama toplam amino asit miktarları	73
Şekil 18. +4°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.....	79
Şekil 19. 15°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.....	80
Şekil 20. 20°C’de olgunlaştırılan lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.....	81
Şekil 21. +4°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve	82

biyojen amin etkileşimi.....	
Şekil 22. 15°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.....	83
Şekil 23. 20°C’de olgunlaştırılan sarımsaklı lakerda da serbest amino asit ve biyojen amin etkileşimi.....	84

Özgeçmiş

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı : Hasan Basri ORMANCI

Doğum Yeri : Alaşehir - Manisa

Doğum Tarihi : 07. 12. 1977

EĞİTİM DURUMU:

Ön Lisans Eğitimi: Ankara Üniversitesi, Çankırı Meslek Yüksekokulu

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

a) Yayınlar - SCI – Diğer

1. Colakoglu, S., Ulukoy, G., Ormanci, H.B. ve Colakoglu, F.A. 2012. Metal Levels in Economically Important Bivalve Species from Turkey. Food Additives and Contaminants: Part B: Surveillance, 5(4):272-278.
2. Arik Colakoglu, F., Ormanci, H.B., Berik, N., Künili, İ.E. ve Colakoglu, S. 2011. Proximate and Elemental Composition of *Chamelea gallina* from the Southern Coast of the Marmara Sea (Turkey). Biological Trace Element Research, 143(2):983-991.
3. Arik Colakoglu, F., Ormanci, H.B., Cakir, F. 2011. Effect of Marination and Smoking on Lipid and Fatty Acid Composition of Thornback Ray (*Raja clavata*) and Spiny Dogfish (*Squalis acanthias*).European Food Research and Technology, 232(6):1069-1075.
4. Arik Colakoglu, F., Ormanci, H.B., Künili, İ.E., Colakoglu, S.2010. Chemical and Microbiological Quality of the *Chamelea gallina* from the Southern Coast of the Marmara Sea in Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 16 (Suppl-A):153-158.
5. Karafistan A., Ormanci H.B., 2010. Metal concentrations in *Mytilus galloprovincialis* from southern Dardanelles, Turkey. Environmental Science An Indian Research. 5(3):201-204.

6. Çolakoğlu, F.A., Ormancı, H.B., Altın A., 2006. Frische-Star ile Muamele Edilmiş Taze Karideslerin (*Parapenaeus longirostris*) Raf Ömrünün Saptanması Üzerine Bir Araştırma.E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2006. Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/3): 383-386.
7. Çolakoğlu, F.A.,İşmen, A., Özen, Ö., Çakır, F., Yığın, Ç., Ormancı, H.B., 2006. Çanakkale İlindeki Su Ürünleri Tüketim Davranışlarının Değerlendirilmesi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 2006. Cilt/Volume 23, Ek/Suppl. (1/3): 387-392.
8. Arik Çolakoğlu, F., Ormancı, H. B., Çakır, F., Künili, E. İ. 2010. Tuzlanmış Sardalya (*Sardina pilchardus*) Balığından Ezme Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Gıda Dergisi, Sayı 10, 46-51.
9. Çakır F., Çolakoğlu F., Ormancı H. B. 2008. Su Ürünleri İşleme Sektörünün Durumu. Hasat Hayvancılık Kasım-Aralık 2008. yıl: 24, sayı: 283. S:46-51. ISSN-1302-1702.

b) Bildiriler - Uluslararası –Ulusal

1. Colakoglu, F. A., Cakir, F., Ormanci, H. B., Yigin, C. Ç., 2010. Microbiological Quality of the Striped Venus (*Chamelea gallina*) and Wedge Clam (*Donax trunculus*) Harvested in Marmara Sea, Turkey. 39th CIESM Congress, Venice-Italy, 10-14 May 2010.
2. Ormanci, H. B., Arik Colakoglu, F. and Künili, İ. E., 2012. Perspective of salted seafood's. Turkey-Japan Marine Forum. Harmonization of Biodiversity and Marine Industries. Nov 8, 2012. Çanakkale.
3. Ormanci, H. B. and Arik Colakoglu, F., 2012. Sensory quality characteristics of lakerda; Salted bonito (*Sarda sarda*). Turkey-Japan Marine Forum. Harmonization of Biodiversity and Marine Industries. Nov 8, 2012. Çanakkale.
4. Ormancı, H, B., Arik Çolakoğlu, F., 2008. Lipid Changes in Sardine (*Sardine pilchardus*, Walbaum 1792) as Affected by Different Processing Techniques. 1 st International Congress of Seafood Technology. 18-21 May 2008, Çeşme-İzmir, Turkey.
5. Arik Çolakoğlu, F., Çakır, F., Berik, N., Ormancı, H. B., 2008. Shelf Life of Anchovy Marinades Prepared with Natural Additive, 1st International Congress of Seafood Technology. 18-21 May 2008, Çeşme-İzmir, Turkey.s:266
6. Berik, N., Ormancı, H. B., Kahraman, D., Yılmaz, S., 2008. Effects of Cooking Methods on the Proximate Composition Content of Rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss*).1st International Congress of Seafood Technology. 18-21 May 2008, Çeşme-İzmir, Turkey.
7. Colakoğlu, F. A., Ormancı, H.B., 2007.A study on lipid changes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) treated with different processing techniques. 2nd International Congress on Food and Nutrition. 24-26 October 2007, Istanbul.
 8. Karafistan, İ, A., Ormancı, H, B., 2008 .Çanakkale Boğazındaki Midyelerde Metal Kirliliği. Çanakkale Kenti Çevre Sorunları Sempozyumu. 5-6 Haziran 2008. Çanakkale.
 9. Çardak, M., Künili, İ.E., Çolakoğlu, F.A., Ormancı, H.B. Kekik Ekstraktının Taze Levrek Balığının Raf Ömrü Üzerine Etkilerinin Araştırılması. 16. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 25-27 Ekim Antalya.
 10. Ormancı H.B., Çolakoğlu F.A. Lakerda Üretiminde Farklı Olgunlaştırma Sıcaklıklarının Ürün Kalitesine Etkisi. XVI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 25-27 Ekim Antalya.
 11. Özmen F., Çolakoğlu F.A., Ormancı H.B. Tatlısu Kefalinden (*Squalius cephalus*) Üretilen Kroketin Niteliklerinin Belirlenmesi. XVI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 25-27 Ekim Antalya.
 12. Çakır F., Çolakoğlu F.A., Ormancı H.B. Farklı Paketleme Materyallerinin Hamsi Marinatlarının Raf Ömrüne Etkisi. XVI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 25-27 Ekim Antalya.
 13. Çakır F., Çolakoğlu F.A., Ormancı H.B. Kekik, Biberiye ve Dereotu Yağ Ekstraktlarının Hamsi Marinatlarının Kalitesine Etkisi. XVI. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. 25-27 Ekim Antalya.
 14. Çolakoğlu, F.A., Çakır, F., Ormancı, H.B., Özevin, Ö., 2007. Dondurulmuş Karidesin (*Penaeus Longistoris*) İşlem Basamaklarındaki Mikrobiyal Kalite Değişimleri. XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Muğla.
 15. Çolakoğlu, F.A., Uluköy, G., Ormancı, H.B., Çakır, F., 2007. Bazı Bitki Ekstraktlarının Deniz Levreğinin (*Dicentrarchus labrax*) Et Kalitesi Üzerine Etkisi. XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Muğla.
 16. Künili İ. E., Çakır F., Ormancı H. B., Çolakoğlu F., 2007. Çanakkale’de Taze Olarak Tüketime Sunulan Bazı Balıkların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi. XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Muğla.

17. Çolakoğlu, F.A., Ormancı, H.B., Çakır, F., Çaylak, B., 2007.Farklı Sıcaklıklarda Depolanan Midye Dolmaların Raf Ömürlerinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma. XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu. Muğla.

İŞ DENEYİMİ:

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 2005 – Devam ediyor

İLETİŞİM

E-posta Adresi : basriormanci@yahoo.com, basriormanci@comu.edu.tr