

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

İlkan Ali OLGUNOĞLU

**MARİNE EDİLMİŞ HAMSİDE (*Engraulis engrasicholus* L., 1758)
DUYUSAL, KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLER**

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MARİNE EDİLMİŞ HAMSİDE (*Engraulis engrasicholus* L., 1758)
DUYUSAL, KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLER**

**İlkan Ali OLGUNOĞLU
DOKTORA TEZİ**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**Bu Tez...../...../2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği / Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.**

İmza.....

İmza.....

İmza.....

Doç. Dr. Fatih ÖZOĞUL

Prof. Dr. Abdurrahman POLAT

Doç. Dr. Özkan ÖZDEN

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

İmza.....

İmza.....

Doç. Dr. Cengiz GÖKBULUT

Yrd. Doç. Dr. Abdullah ÖKSÜZ

ÜYE

ÜYE

**Bu Tez Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:**

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

**Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: SÜF-2004-D5**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
DOKTORA TEZİ

**MARİNE EDİLMİŞ HAMSİDE (*Engraulis engrasicholus* L., 1758)
DUYUSAL, KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK DEĞİŞİMLER**

İlkan Ali OLGUNOĞLU

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Doç. Dr. Fatih ÖZOĞUL
Yıl 2007, Sayfa 111

Jüri: Doç. Dr. Fatih ÖZOĞUL
Prof. Dr. Abdurrahman POLAT
Doç. Dr. Özkan ÖZDEN
Doç. Dr. Cengiz GÖKBULUT
Yrd. Doç. Dr. Abdullah ÖKSÜZ

Bu çalışmada, marine edilerek 0-2°C’de muhafaza edilen hamsi (*Engraulis engrasicholus* L., 1758) filetoalarının duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değışimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada balık eti kalitesini belirleyen, kimyasal kriterler olarak, toplam uçucu bazik azot (TVB-N mg/N 100g), tiyobarbitürik asit (TBA, mg malonaldehit/100g), peroksit (meq/kg), serbest yağ asitleri (%Oleik asit), biyojenik aminler ve pH incelenmiştir. Mikrobiyolojik kriter olarak toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, maya-küf, koliform, *E.coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus-Micrococcus* ve histamin oluşturan bakteri sayıları belirlenmiştir. Araştırma sonunda örneklerin 0-2 °C’de 7 ay depolanabileceği sonucuna varılırken, kimyasal kriterlerden TBA ve peroksit sayısının kaliteyi belirlemede TVB-N’e göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Depolama süresince histamin sürekli artış göstererek maksimum 34.5±2.00mg/kg ulaştığı, ancak FDA tarafından kabul edilebilir maksimum sınır değerine (50mg/kg) ulaşmadığı gözlenmiştir. Ancak histaminin gösterdiği düzenli artış nedeniyle marinasyonda kullanılacak balığın başlangıçtaki kalitesinin önemli olduğu sonucuna varılırken, olgunlaştırma işleminde kullanılan sirkenin mikroorganizmaların gelişimi üzerine doğrudan etkili olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan marine ürünlerde E 330 gibi kullanılacak gıda katkı maddelerinin de önem arz ettiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Marinasyon, Hamsi, Fileto, Depolama, Histamin

ABSTRACT

PhD. THESIS

SENSORY CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHANGES OF MARINATED ANCHOVY (*Engraulis engrasicholus* L., 1758)

İlkan Ali OLGUNOĞLU

DEPARTMENT OF FISHERIES
INSTITUTE OF NAURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih ÖZOGUL
Year 2007, Page 111

Jury: Assoc. Prof. Dr. Fatih ÖZOGUL
Prof. Dr. Abdurrahman POLAT
Assoc. Prof. Dr. Özkan ÖZDEN
Assoc. Prof. Dr. Cengiz GÖKBULUT
Asist.Prof.Dr. Abdullah ÖKSÜZ

The aim of this study was to determine the sensorial, chemical and microbiological changes of marinated anchovy (*Engraulis engrasicholus* L., 1758) fillets stored at 0-2 °C. Total volatile basic nitrogen (TVB-N mg/N 100g), thiobarbituric acid (TBA, mg malonaldehyde/100g), peroxide (PV-meq/kg), free fatty acid (Oleic acid %), biogenic amines and pH were considered as chemical criteria of fish flesh. Total aerobic count, psychrotrophic flora count, mould-yeast, coliform, *E.coli*, *Salmonella* *Staphylococcus-Micrococcus* and histamine forming bacteria were determined as microbiological criteria. At the end of the study, it was determined that the samples can be stored at 0-2 °C for 7 months and the concentration of TBA and PV were found more efficient than the TVB-N for determination of marinated fish quality. The concentration of histamine level increased throughout the storage and reached to the maximum level of 34.5±2.00mg/kg but it did not reached to the toxic level is reported by FDA as 50mg/kg. Besides, it was concluded that the inital quality of fish was important for marinade because of histamine which increased continuously. On the other hand, it was seen that the vinegar used for maturation was efficient directly on the microorganism growth and food additives like E 330 play an important role on manufacture of marinade.

Key Words: Marination, Anchovy, Fillet, Storage, Histamine

TEŞEKKÜR

Araştırmanın planlanması, y¼r¼t¼lmesi ve değerlendirilmesinde geniş bilgi birikimi ve tecr¼beleriyle bana yol g¼steren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih ÖZÖĞUL' a, yine geniş bilgi birikimi ve tecr¼beleriyle bana daima destek olan ve laboratuvar uygulamalarında benden yardımını esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Yeőim ÖZÖĞUL'a, laboratuvar analizlerinin gerçekleőtirilmesi esnasında yardımlarını g¼rd¼đ¼m Arő.Gör. Sayın Esmeray (K¼ley) BOĞA'ya, teőekk¼r ederim. Aynı zamanda proje s¼resince benden manevi desteğini esirgemeyen eőim baőtta olmak üzere t¼m aileme ő¼kranlarımı sunarım. Ayrıca alıőtıđım s¼re içerisinde, projemi tamamlayabilmem konusunda bana sağladıkları kolaylık ve verdikleri destekten dolayı PAKY¼REK A.Ő. y¼netimine teőekk¼r ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

| | |
|--|-----|
| ÖZ..... | I |
| ABSTRACT..... | II |
| TEŞEKKÜR..... | III |
| İÇİNDEKİLER..... | IV |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | VII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | IX |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1. Marinasyon..... | 1 |
| 1.2. Marinasyon Teknolojisinin Temel Prensipleri..... | 4 |
| 1.3. Gıdalarda Oluşan Biyojenik Aminler..... | 6 |
| 1.3.1. Amin-Dekarboksilaz Aktivitesini Etkileyen Faktörler..... | 7 |
| 1.3.2. Biyojenik Aminlerin Toksik Etkileri..... | 11 |
| 1.4. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar..... | 11 |
| 1.5. Mikrobiyolojik Kalite Çalışmalarında Aranılan Bakteriler..... | 12 |
| 1.6. Marinatların ve Su Ürünlerinin Korunması Yöntemleri..... | 15 |
| 1.6.1. Kontaminasyonun Önlenmesi..... | 15 |
| 1.6.2. Mikroorganizmaların Uzaklaştırılmaları..... | 16 |
| 1.6.3. Mikrobiyal Gelişmenin İnhibisyonu..... | 16 |
| 1.6.4. Mikroorganizmaların Öldürülmesi..... | 18 |
| 1.7. Marinatların Raf Ömrü..... | 19 |
| 1.8. Marine Edilmiş Farklı Ürünler..... | 19 |
| 1.9. Araştırma Materyali..... | 20 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 23 |
| 2.1. Raf Ömrü Çalışmaları..... | 23 |
| 2.2. Mikrobiyolojik Kalite ile İlgili Çalışmalar..... | 29 |
| 2.3. Biyojenik Aminlerle İlgili Çalışmalar..... | 31 |
| 2.4. Genel Çalışmalar..... | 32 |
| 2.5. Yasal Bildirimler..... | 35 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 38 |

| | |
|---|----|
| 3.1. Materyal..... | 38 |
| 3.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler..... | 38 |
| 3.1.2. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri..... | 39 |
| 3.2. Yöntem..... | 40 |
| 3.2.1. Örneklerin Analizlere Hazırlanması..... | 42 |
| 3.2.2. Besin Değerleri Analizi | 42 |
| 3.2.2.1. Ham Protein Analizi..... | 42 |
| 3.2.2.2. Lipit Analizi..... | 43 |
| 3.2.2.3. Nem Analizi..... | 43 |
| 3.2.2.4. Ham Kül Analizi..... | 44 |
| 3.2.3. Duyusal Değerlendirme..... | 44 |
| 3.2.4. Kimyasal Analizler..... | 46 |
| 3.2.4.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini..... | 46 |
| 3.2.4.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Tayini..... | 46 |
| 3.2.4.3. Peroksit Sayısı..... | 47 |
| 3.2.4.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi..... | 47 |
| 3.2.4.5. Yağ Asitleri Analizi..... | 48 |
| 3.2.4.6. pH Ölçümü..... | 48 |
| 3.2.4.7. Biyojenik Aminler..... | 49 |
| 3.2.5. Mikrobiyolojik Analizler..... | 49 |
| 3.2.5.1. Toplam Aerob Mezofillik ve Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı..... | 50 |
| 3.2.5.2. Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı..... | 50 |
| 3.2.5.3. <i>E. coli</i> Sayımı..... | 50 |
| 3.2.5.4. <i>Salmonella</i> Aranması..... | 51 |
| 3.2.5.5. <i>Staphylococcus - Micrococcus</i> Bakteri Aranması..... | 51 |
| 3.2.5.6. Maya ve Küf Sayımı..... | 51 |
| 3.2.5.7. Histamin Üreten Bakterilerin Aranması..... | 51 |
| 3.2.6. İstatistiksel Analizler..... | 52 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA..... | 53 |

| | |
|---|-----|
| 4.1. Besin Değerleri ve Yağ Asitleri Kompozisyonu..... | 53 |
| 4.2. Duyusal Değişimler..... | 58 |
| 4.3. Kimyasal Analizler..... | 62 |
| 4.3.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N mg /100g)..... | 62 |
| 4.3.2. Tiyobarbitürik Asit Sayısı (TBA mg malonaldehit/kg)..... | 65 |
| 4.3.3. Peroksit Sayısındaki (meq/kg) Değişimler..... | 68 |
| 4.3.4. Serbest Yağ Asidindeki Değişimler..... | 70 |
| 4.3.5. pH' taki Değişimler..... | 72 |
| 4.3.6. Biyojenik Aminlerdeki Değişimler..... | 75 |
| 4.4. Mikrobiyolojik Değişimler..... | 85 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... | 95 |
| KAYNAKLAR..... | 99 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 111 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|---|----|
| Çizelge 2.1. Taze ve Marine edilmiş hamsinin (<i>Engraulis engrasicholus</i>) %’ de besin öğeleri kompozisyonu..... | 26 |
| Çizelge 2.2. Çizelge 2. Marine edilmiş hamsinin (<i>Engraulis engrasicholus</i>) %’de yağ asit kompozisyonu..... | 27 |
| Çizelge 2.3. Çizelge 3. Marine edilerek +4 °C’de depolanmış hamsilerin yağ asitleri kompozisyonları..... | 34 |
| Çizelge 2.4. İşlenmiş balıklarda aranılan mikroorganizmalar ve maksimum tolere değerleri..... | 36 |
| Çizelge 2.5. Çizelge 6. Ayçiçek yağının yağ asitleri kompozisyonuna ait tolere değerleri..... | 37 |
| Çizelge 3.1. Histamin üreten bakteriler için modifiye edilmiş Niven’ nin besi yeri..... | 39 |
| Çizelge 3.2. Shormüller (1968)’ in ayçiçek yağlı natürel marine hamsiye göre modifiye edilmiş duysal değerlendirme şeması..... | 45 |
| Çizelge 4.1. Marine edilmiş hamsinin (<i>Engraulis engrasicholus</i>) depolama başlangıcındaki (0.gün) besin değerleri..... | 53 |
| Çizelge 4.2. Marine edilmiş hamsinin (<i>Engraulis engrasicholus</i>) depolama başlangıcındaki (0.gün) yağ asitleri kompozisyonu..... | 55 |
| Çizelge 4.3. Marine edilmiş hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) kullanılan ayçiçek yağına ait Yağ Asitleri Kompozisyonu..... | 56 |
| Çizelge 4.4. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) duysal değişimler..... | 59 |
| Çizelge 4.5. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) TVB-N mg /100g değerleri..... | 62 |
| Çizelge 4.6. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) TBA mg /1000g değerleri..... | 65 |
| Çizelge 4.7. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) peroksit meq /kg değerleri..... | 68 |

| | |
|---|----|
| Çizelge 4.8. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) serbest yağ asidindeki (% Oleik) değişimler..... | 70 |
| Çizelge 4.9. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) pH değerleri..... | 72 |
| Çizelge 4.10. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) biyojenik amin değişimleri (mg/100g)..... | 76 |
| Çizelge 4.11. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (<i>Engraulis engrasicholus</i>) mikrobiyolojik değişimler..... | 86 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Biyojenik amin oluşumunun matabolik yolları..... | 9 |
| Şekil 2.1. Hamsi (<i>Engraulis engrasicholus</i>) | 21 |
| Şekil 3.1. Marinat yapımı akış şeması..... | 40 |
| Şekil 3.2. Marine edilmiş hamsi (<i>Engraulis engrasicholus</i>) filetosu..... | 41 |
| Şekil 4.1. Duyusal değerlerin zaman içindeki değişimi..... | 60 |
| Şekil 4.2. TVB-N değerinin zaman içindeki değişimi..... | 63 |
| Şekil 4.3. TBA değerinin zaman içindeki değişimi..... | 66 |
| Şekil 4.4. Peroksit sayısının zaman içindeki değişimi..... | 69 |
| Şekil 4.5. Serbest Yağ Asitlerinin (%Oleik asit) zaman içindeki değişimi..... | 71 |
| Şekil 4.6. pH değerinin zaman içindeki değişimi..... | 73 |
| Şekil 4.7. Histaminin zaman içindeki değişimi..... | 77 |
| Şekil 4.8. Putresin ve Kadaverinin Zaman içindeki değişimi..... | 78 |
| Şekil 4.9. Spermin ve Spermidinin zaman içindeki değişimi..... | 79 |
| Şekil 4.10. β-Feniletılamin ve Serotoninin zaman içindeki değişimi..... | 80 |
| Şekil 4.11. Tyramin ve triptaminin zaman içindeki değişimi..... | 81 |
| Şekil 4.12. Toplam mezofilik aerob (TAMB) ve toplam psikrofilik bakteri (TPB), sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı değişimleri..... | 87 |
| Şekil 4.13. Koliform ve <i>E.coli</i> sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı Değişimleri..... | 88 |
| Şekil 4.14. Histamin Oluşturan Bakteri sayılarının (HOB) ve <i>Staphylococcus</i> ve <i>Micrococcus</i> (SM) sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı değişimleri..... | 89 |
| Şekil 4.15. pH'ın mikrobiyal gelişim üzerine etkisi..... | 91 |

1. GİRİŞ

İnsanlığın varoluşundan bu yana gıdaların korunması yaşamın sürekliliği için gerekli olmuştur (Gram ve ark., 2002). Günümüzde değişen beslenme alışkanlıkları ve çalışan kişi sayısının artması, tüketime hazır gıdaların geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Gıda işleme yöntemlerindeki gelişmeler ile yeni ürünlerin elde edilmesinin yanında elde edilen ürünlerin dayanma sürelerinin uzatılması ve kalitelerinin korunması da amaçlanmaktadır. Bu sayede belirli dönemlerde avlanan su ürünlerinin daha az buldukları dönemlerde insan tüketimine sunulmaları sağlanabilmektedir (Erdem ve ark., 2005).

Günümüzde kasaplık hayvan etleri işleme yöntemlerinin hemen hepsi balık işleme teknolojisine uyarlanmıştır. Balık muhafazası kendi arasında alt bölümlere ayrılan altı grupta değerlendirilebilmektedir. Bunlar, kurutma, tuzlama, dumanlama, soğutma ve dondurma, ısı işlemlili uygulama ve ısı işlemsiz uygulamalardır. Marinasyon bu yöntemlerden ısı işlemsiz konservasyon bölümüne girmektedir (Ovayolu, 1997).

1.1. Marinasyon

Marinasyon hamsi, sardalya, tirsi gibi balıkların sirke ve tuz ile olgunlaştırılması yapılan, su ürünleri işleme teknolojisinde de kullanımı yaygın olan ve tarihi Milattan Önce (MÖ) 7. yüzyıla kadar dayanan en eski gıda muhafaza yöntemlerinden birisidir.

T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksinin Et Ürünleri Tebliğine göre marinasyon; etin, sirke, tuz ve bitkisel yağ gibi çeşitli gıda maddeleri ile ve gerektiğinde lezzet vericiler kullanılarak muamele edilmesi işlemi olarak tanımlanmaktadır (Tebliği No: 2000/4). Araştırmacılar tarafından marinasyon; taze, dondurulmuş, tuzlanmış balık veya balık kısımlarının ısı etkisi olmadan asetik asit veya adipik, laktik, sitrik, fumarik, malik, fosforik, tartarik asitler gibi diğer organik asitler ile birlikte glucono-delta-lactone (GDL) ve tuz ile muamele edilerek olgunlaştırılması veya dayanıklılığının artırılmasını sağlayan teknoloji olarak tanımlanmaktadır. Marinasyon işlemi ile oluşan ürün ise marinat olarak

tanımlanmadır. (Fuselli ve ark.,1996; Poligne ve Collignan, 2000; Whittle ve Howgate, 2002).

Marinasyon etin yumuşatılması yanında tadın, tekstürün ve etin yapısal özelliklerini değiştirmek amacıyla da uygulanmaktadır ve böylece diğer işlenmiş balık çeşitlerine de alternatif oluşturmaktadır (Poligne ve Collignan, 2000).

Marinatlar 3 gruba ayrılmaktadır.

a. Soğuk Marinatlar: Asetik asit ve tuz çözeltisinde su ürünlerinin olgunlaştırılması işlemidir, gerektiğinde sos, krema, mayonez yada yağ ile ambalajlanması sonucu elde edilmektedir. Isı uygulama işlemi yoktur. Soğuk marinatların sınıflandırılmasındaki en önemli kriter, balığın kılçıklı yada kılçıksız olarak işlenmesidir. Soğuk marinatlarda ana hammadde olan filetolar balıkların kafaları, iç organları ve kılçığı ayrıldıktan sonra elde edilir. Çeşnilendirme amaçlı soğuk marinatlarda soğan ve baharat gibi bitkisel katkıları sirke ve tuz salamurasına katılabilmekte bununla birlikte asidik tadın yumuşatılması için sakkarin gibi tatlandırıcılar da kullanılabilir. Tatlandırmada şeker kullanıldığında fermentasyon sonucu ürünün bozulma riski ortaya çıkabilmektedir. Avrupa’da soğuk marinatların hazırlanmasında pelajik balıklar olan ringa ve çaça balıkları yağ içeriklerinin yüksek olması nedeniyle marine ürünlerin hazırlanmasında taze materyal olarak kullanılabilir. Soğuk marinatların hazırlanmasında kullanılacak balıkların en az %72 nem, %16 protein, %10 yağ içermesi gerektiği bildirilmiştir (Kılınç ve Çaklı, 2004a).

b. Pişirilmiş Marinatlar: Pişirilmiş marinatlar taze yada donmuş balıkların 85°C’deki %1–2 asetik asit ve %4 tuz çözeltisinde 10–15dk. Bekletilmesi ile elde edilmektedir. Büyük balık ve balık parçaları için daha uzun süre gerekebilir. Bu işlemle bakterilerin çoğu öldürülür ve enzimler inaktive edilir. Bozulma, pişirme işlemi ile canlı kalan ısıya dayanıklı organizmalar ve daha sonra işleme, paketleme işlemleri esnasında ürünün kontaminasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Pişirme ve pastörizasyon işlemleri uygun şekilde yapılmalı, hijyen ve temizliğe ısı uygulama öncesi ve sonrasında dikkat edilmelidir. Pişirilmiş balıkların taze balıklarla çapraz kontaminasyonunun (çiğ gıda ile pişmiş veya işlem görmüş gıdalara temas etme) önlenmesi için iki üründe ayrı yerlerde tutulmalıdır. Pişirilmiş balıklara tekrar

ısı uygulanması gıda zehirlenmesine neden olan organizmaların gelişimini artırmaktadır. Pişirilmiş balık, sıcak olduğu zaman hızlı bir şekilde nemini kaybetmekte ve uygun olamayan koşullarda kurumaktadır. Pişirilmiş balık yavaş bir şekilde soğutulur, uzun süre ılık tutulursa acılaşıma veya karton benzeri koku ve tat gelişebilmektedir. Bu durumu önlemek için hızlı bir şekilde soğutulmalı; örneğin içilebilen temiz su içerisine daldırılarak soğutulmalıdır. Bunun dışında pişirilmiş marinatların üretiminde jelleştiriciler ve kaplama sosları da ilave edilebilmektedir. Kullanılan jelleştiricilerden ötürü son ürün jelöz bir yapı kazanmakta ve pişmiş marinatlar jelleşmiş ürünler olarak da adlandırılmaktadır. Ringa, yılan balığı, vatoz balığı, uskumru, nehir yılan balığı, çamuka balığı ve diğer deniz balıklarında olduğu kadar karides ve midyelerin de pişirilmiş marinasyon yapılmaktadır (Kılınç ve Çaklı, 2004a).

c. Kızartılmış Marinatlar: Taze yada dondurulmuş, balık veya balık parçaları yağda kızartılarak salamura veya soslarla kaplanmaktadır. Ringa, yılan balığı, nehir yılan balığı ve yassı balıkların bazı tipleri kızartılmış marinat yapımında kullanılmaktadır. Yağda kızartma sıcaklıkları 160°C ve 180°C arasında olmalıdır. Kızartma süresi kızartma yağının sıcaklığına, balık etinin kalınlığına ve su içeriğine bağlıdır. Kızartma işleminin süresi 5 ve 12 dakika arasındadır. Tavada kızartma işleminde, kızarmış balıkların yağın yüzeyine yükselmesi, onların spesifik ağırlıkları dolayısıyla su kaybetmesi ve yağı absorblamaları sonucunda meydana gelmektedir. Kızartılmış balıklar çok iyi soğutulduktan sonra paketlenmelidir. Balık kaplama sıvısı oranı yaklaşık 2:1'dir. Bu oran kızartılmış balıkların sıvıyı almasına bağlıdır. Kızartmada balıklar sularının yaklaşık %20'sini kaybetmektedirler. Bunların çoğu daha sonra kaplandıkları sıvıyı absorblamaktadır. Salamuranın asetik asit içeriği yaklaşık %2-3.5 ve tuz içeriği %3-5 arasındadır. Bu yüzdeler ürünün su içeriği ve mevsime bağlıdır. Kızartılmış marinatlar Avrupa ülkelerinde meze olarak veya sandviçlerin içine konularak tüketilmektedir (Tırakoğlu, 2003; Kılınç ve Çaklı, 2004a).

1.2. Marinasyon Teknolojisinin Temel Prensibi

Marinasyon işleminin temel prensibi bir veya birden fazla ön işleme tekniklerine tabi tutulmuş balığın asetik asit/tuz salamurasında soğuk depoda birkaç gün içerisinde olgunlaştırılmasına dayanmaktadır. Bu işlem iyonik kuvvetin artmasına ve pH'ın düşmesine neden olur (Poligne ve Collignan, 2000). Olgunlaştırma tuzlama işleminde olduğu gibi çiğ materyalin yenilebilir hale getirilmesidir. Bu ürünlere gerektiğinde değişik tatlar kazandırmak amacıyla şeker, baharatlar sos, krem, mayonez, bitkisel yağ ve sebzeler ilave edilerek lezzetlendirilebilmekte; cam şişe veya plastik kaplar içerisinde paketlenmektedir (Kılınç ve Çaklı, 2004a). Ancak baharatlı marine ürünler Türk insanının damak tadı için yeni bir işleme yöntemidir. Ülkemizde baharatlı olarak hazırlanmış balık tüketimi alışkanlığı yaygın değildir (Erdem ve ark., 2005).

Başarılı bir marinasyon sağlayabilmek için, marinasyon bileşenlerinin kaslar üzerinde etkileri iyi bilinmelidir (Toledo, 2001). Bu bileşenlerin enzim ve bakteriler üzerindeki engelleyici etkileri konsantrasyonlarının artışı ile ilgilidir (Fuselli ve ark., 1996). Marinatın daha çok dayanması amacıyla salamuradaki asitlik oranının yükseltilmesi ürünün lezzetini bozacağı için uygun bir uygulama değildir (Çelik, 2004).

Marinasyonun ilk aşaması olan olgunlaştırma işlemi karmaşık fiziksel-kimyasal bir olaydır. Olgunlaşma işlemi yalnız asetik asit ve tuzun etkisiyle gerçekleşmektedir (Özden ve Baygar, 2003). Tuz ve asetik asit balık etinde aynı yönde ve birlikte etki etmekle birlikte karşılıklı olarak birbirini engelleyen ve zıt kutuplu maddelerdir. Tuz materyale sertlik vermesine karşın, asetik asit yumuşaklık vermektedir (Kılınç ve Çaklı, 2004a). Olgunlaştırma işleminde, balık doku suyundaki tuz ve sirke ile çözeltinin tuz ve sirke oranı eşitleninceye kadar, balık dokusundaki tuz ve sirke geçişi devam eder. Bu geçiş sıcaklığa bağlıdır ve süratle gerçekleşerek, iki gün içinde tamamlanır (Dokuzlu, 1996; Çelik, 2004). Asetik asit ve tuz, balığın içerdiği enzimlerle birlikte balıkta mevcut protein ve yağlara etki ederek, protein ve yağların belirli bir derecede yıkımı ile hoş aromalı ve lezzetli ürünler oluşturmaktadır (Özden ve Baygar, 2003).

Marine ürünlerde pH 4–4.5 olması gereklidir. Ancak en uygun pH aralığı 3.8-4.3'tür. pH 4.5 altında bütün gıda zehirlenmesi ve bozulma yapan bakterilerin çoğunun gelişimi önlenmektedir. Örneğin *Clostridium botulinum* proteolitik tip A, B ve F'nin minimum gelişme gösterdiği pH'ın 4.6 olduğu rapor edilmiştir. Aynı şekilde *Listeria monocytogenes*'in 4.6'nın altındaki pH değerlerinde gelişme göstermediği bildirilmiştir. Ayrıca bu pH derecesi proteazlar, özellikle de lizozomal katepsin tipi enzimler için optimumdur ve bu enzimlerin marinata özgü aromanın oluşumunda etkisi oldukça büyüktür ve tipik tat oluşumunu sağlamaktadır (McLay,1972; Owayolu, 1997; Whittle ve Howgate, 2002; Huss ve ark., 2004; Kılınç ve Çaklı, 2004).

pH düzeyi aminoasit dekarboksilasyonunu etkileyen önemli bir faktördür. Örneğin uskumruda yüksek tyramin seviyesine düşük pH değerinde rastlanmıştır. Amino asit dekarboksilasyon aktivitesi optimum pH 4.0 ve 5.5 gibi asetik ortamda daha yüksektir. Böyle bir ortamda mikroorganizmalar asiditeye karşı savunma mekanizmasının bir gereği olarak dekarboksilaz aktiviteyi teşvik edici bir durum sergilerler.

Biyojenik aminlerin oluşumu üzerinde pH'ın etkisini, gıdaların başlangıç pH'sını ve inkübasyon boyunca pH'ı arttırarak ayarlamak mümkündür. Dekarboksile olarak amino asitlerden çoğunlukla kadaverin, putresi, tyramin ve histamin gibi biyojenik aminler oluşur (Gökoğlu, 2003).

Gıdalardaki biyojenik aminler toksik etkileri yanında aynı zamanda tazelik göstergesi olarak kimyasal kalite indikatörü olarak da görev yaparlar ve gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında değişim gösterirler. Balıklardaki biyojenik amin zehirlenmeleriyle ilgili sağlık problemlerinde en çok rastlanan histamin zehirlenmesidir. Bu zehirlenmede başlıca bileşim histamin olmasına rağmen diğer biyojenik aminler örneğin putresin ve kadaverin gibi aminler toksik etkiyi arttırır.

Bazı biyojenik aminler balık ve balık ürünlerinin mikrobiyal bozulma derecesini göstermesi bakımından da önem taşırlar. Bu bileşenler taze balıkta yoktur. Bunlar çoğunlukla bakteriyel bozulmayla ilişkili olarak görülür. Biyojenik aminler gıdalarda az miktarda ise ve metabolizma genetik olarak değişime uğramamışsa

insan sağlığı açısından çok büyük risk oluşturmaz (Naguib ve ark.,1995; Veciana-Nogues ve ark., 1996; Draisci ve ark., 1998).

Yapılan bir çalışmada < 5mg histamin/100 g tüketim için güvenli; 5-20mg histamin/100g tüketim için az güvenli; 20-100mg histamin/100g muhtemelen toksik; >100mg histamin/100g toksik ve tüketim için güvenli olmadığı, FDA tarafından kabul edilebilir maksimum sınır değerinin ise 50 mg/kg olduğu; T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğünün, 1380 sayılı Su Ürünleri Kanuna göre ise, dokuz örnekteki aritmetik ortalama değer 100mg/kg'ın üzerinde olmaması gerektiği bildirilmiştir (Luten ve ark., 1992; Nakovich, 2003, Huss ve ark., 2004).

1.3. Gıdalarda Oluşan Biyojenik Aminler

Histamin, kadaverin, putresin, spermin, spermidin, triptamin ve tyramin gibi biyojenik aminler terimi, amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu veya aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyon sonucu, gıdalarda oluşan uçucu olmayan, düşük molekül ağırlığa sahip, alifatik, aromatik veya heterosiklik azotlu bileşikler için kullanılmaktadır. Bu aminlerin “biyojenik aminler” olarak adlandırılmalarının nedeni canlı organizmanın bir aktivitesi sonucu oluşmalarıdır (Ölmez, 1996; Turantaş ve Öksüz 1998; Çolak ve Aksu, 2002; Shakila ve Vasundhara, 2002; Allen, 2004).

Biyojenik aminler hormonlar, alkaloidler, nükleik asitler ve proteinlerin sentezinde azot kaynağı olarak rol almaları, gıdalarda aroma maddelerinin oluşumuna katkıda bulunmalarının yanı sıra insanlarda mide hacminin ve pH'nın düzenlenmesinde, vücut sıcaklığının ayarlanmasında ve beyin aktivitesinin yerine getirilmesi açısından son derece önemlidirler (Ölmez, 2000; Allen, 2004).

Putresin, spermidin ve spermin gibi poliaminler, canlı hücrenin vazgeçilmez bileşenleridir. Hücre gelişimi ve metabolizmasında çok değişik fonksiyonları olan ve hızlı büyüyen dokularda yüksek oranlarda ihtiyaç duyulan bu maddelerin, metabolizmada hangi biyolojik olaylarda rol aldıkları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Poliaminlerin, bağırsak fonksiyonlarının ve bağışıklık sisteminin

normal fonksiyonu için gerekli olduğu bilinmektedir. Spermin ve spermidin, ayrıca bağırsak dokusunun gelişiminde rol oynarlar (Ölmez, 2000).

Katekolaminler, indolaminler ve histamin insanlarda önemli metabolik fonksiyonları yerine getirirler. Özellikle sinir sistemi fonksiyonlarında ve kan basıncı kontrolünde rol alırlar. Feniletilamin ve tiramin, kan basıncının yükselmesine neden olurken, histamin kan basıncını düşürür. Putresin, kadaverin ve agmatinin, insanlarda histamin oksidasyonunu engelleyerek histamin toksisitesini arttırdığı bulunmuştur. Histamin, triptamin, tiramin ve (-feniletilamin gibi biyolojik aktiviteye sahip aminlerin insan üzerinde önemli psikoaktif veya vasoaktif etkileri vardır. (Ölmez, 2000).

Spermin, spermidin ve putresin gibi poliaminler, yapılarındaki amin grubu sayısı ile orantılı olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önleyici bir antioksidan özeliğine sahiptirler. Tyraminde, yapısındaki amin ve hidroksil grupları nedeniyle, konsantrasyonla artan güçlü bir antioksidan etkiye sahiptirler. (Ölmez, 2000).

Agmatin, spermin ve spermidin gibi ikinci aminler, nitritle reaksiyona girerek nitrozaminlerin ve dolayısıyla kanserojenik bileşiklerin oluşumuna neden olurlar. N-nitroso bileşikleri, genellikle gıdaların depolanması, saklanması ve pişirilmesi sırasında, amino-bileşiklerinin nitrit ve azot oksitlerle tepkimesi sonucunda oluşurlar. Bu tip reaksiyonlar sonucunda, birincil aminler kısa ömürlü, alkile edici yapı oluştururlar. Bu ara ürünlerin gıdanın bileşimindeki diğer maddelerle reaksiyonu sonucunda ise özellikle alkol yapısında, toksik aktiviteye sahip olmayan ürünler ortaya çıkar. İkincil aminler kalıcı, üçüncül aminler ise parçalanabilir N-nitroso bileşiklerine dönüşür (Ölmez, 2000).

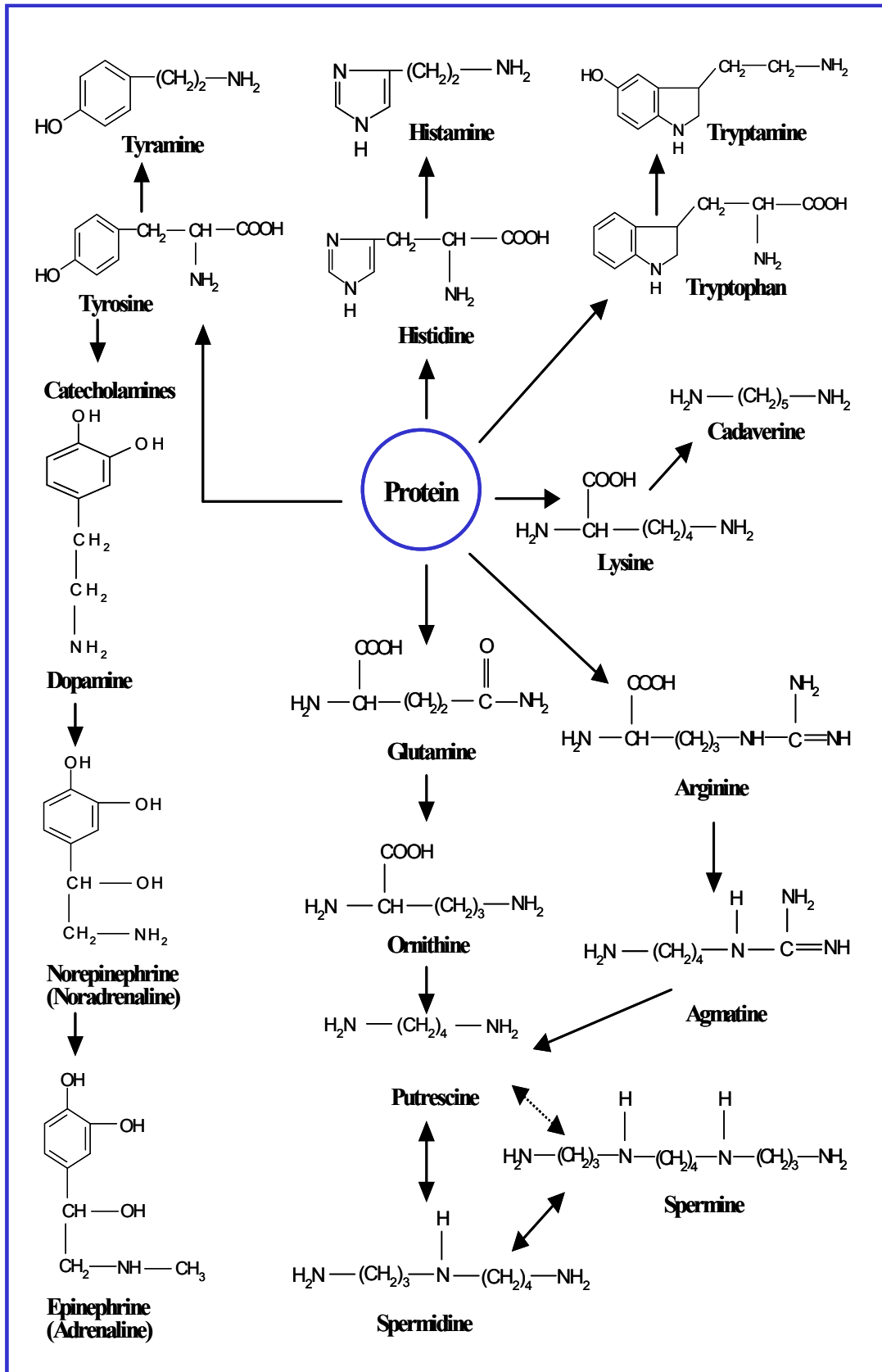
1.3.1. Amin-Dekarboksilaz Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Aminler gıdalardaki enzimatik aktiviteler sırasında veya dakarboksilaz pozitif mikroorganizmaların aktiviteleri sonucunda oluştukları için bu enzimlerin aktivitelerinin inhibasyonu veya bakteriyel büyümenin önlenmesi gıdanın amin içeriğinin kontrolü açısından çok önemlidir (Turantaş ve Öksüz; 1998; Ölmez, 2000).

Gıdalarda biyojenik aminlerin oluşumu aşağıdaki faktörlere bağlıdır

- a. Serbest amino asitlerin bulunuşu: Serbest amino asitler gıdalarda doğal olarak bulunabilirler veya proteinlerin proteolitik aktivitesi sonucunda parçalanmasıyla ortaya çıkar
- b. Dekarboksilaz aktivitesi yüksek mikroorganizmaların ortamda bulunması
- c. Mikroorganizmaların gelişimi ve dekarboksilazların oluşumu için uygun koşulların varolması (Gökoğlu ve Varlık,1995; Ölmez, 2000)

Biyojenik aminlerin oluşumuna dair metabolik yollar Şekil 1.1.'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Biyojenik amin oluşumunun metabolik yolları (Özoğul, 2001)

Dekarboksilaz-pozitif mikroorganizmalar, gıdanın doğal mikroflorasının bir üyesi olabilir veya gıdanın işlenmesi öncesinde, sırasında ve sonrasında gıdaya bulaşabilir (Ölmez, 2000). Mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitesini etkileyen bazı faktörlerin sağlanması gereklidir. Bunlardan pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu ve starter kültürlerin varlığı en önemli faktörlerdir (Çolak ve Aksu, 2002).

Sıcaklık ve pH'ın etkisi: pH dekarboksilaz aktivitesini ve dolayısıyla biyojenik amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Biyojenik amin oluşumunun, asidik ortamlarda, bakteri için koruyucu bir mekanizma olduğu bilinmektedir. Asidik ortamlarda aminoasit dekarboksilaz aktivitesi daha güçlü olmaktadır. Amin oluşumunda pH 4.0-5.5 arasındaki koşullar optimum olarak bulunmuştur.

Sıcaklık, bakterilerin amin üretimini büyük ölçüde etkilemektedir. Amin oluşumu için optimal sıcaklık değerleri bakteri türlerine göre değişir. Biyojenik amin miktarlarının, depolama süresi ve sıcaklığı ile pozitif korelasyon içinde olduğu bildirilmektedir. (Çolak ve Aksu, 2002).

Tuz konsantrasyonunun etkisi: Biyojenik amin oluşumunda, ortam tuz konsantrasyonu önemli bir faktördür. Tuz konsantrasyonunun %5'ten fazla olmasının histamin oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (Çolak ve Aksu, 2002).

Starter kültürlerin etkisi: Amin üretmeyen starter kültürlerin kullanılması ile amin pozitif laktik asit bakterilerinin gelişimi büyük ölçüde engellenmektedir. Starterler, hammaddede mevcut bazı kontamine mikroorganizmaları ve dolayısıyla putresin ve kadaverin gibi bazı biyojenik aminlerin oluşumunu inhibe eder. Fakat histamin ve tiyramin oluşumunu, amin üreten mikroorganizmalar çok düşük konsantrasyonlarda bulunsa bile inhibe etmez (Çolak ve Aksu, 2002)

Aerobik ortam koşulları: Aerobik ortam koşulları da biyojenik amin sentezi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Genel olarak mikroorganizmaların biyojenik amin üretimi oksijenli ortamda artmaktadır. *Enterobacter cloacea* ile yapılan bir çalışmada, hücrelerin aerobik koşullarda, anaerobik koşullara göre iki kata daha fazla putresin ürettiği görülmüştür (Ölmez, 2000). Ayrıca ortamda %0.5-2 oranında glikoz varlığının amin üretimini olumlu yönde hızlandırdığı bildirilmektedir (Turantaş ve Öksüz, 1998).

1.3.2. Biyojenik Aminlerin Toksik Etileri

Biyojenik aminlerin neden olduğu gıda kaynaklı intoksikasyonlardan en sık görüleni “scombroid balık zehirlenmesi – scombroid fish poisoning” 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 balıklarını tüketen kişilerde saptandığı için bu zehirlenmeye çok eskiden beri scombroid balık zehirlenmesi adı verilmiştir (Gökoğlu ve Varlık, 1995; Ölmez, 1996; Turantaş ve Öksüz 1998; Jeyasekaran ve Shakila, 2003). Scombridae ve Clupeidae familyasına ait balıklardaki histamin seviyesinin kontrolü Avrupa Birliği Direktifleri No. 91/493 çerçevesinde sağlanmaktadır (Rossano ve ark., 2006). Balık ürünlerinde yüksek oranlarda histamin oluşumu direk olarak üründeki mikroorganizma seviyesi ile korelasyon halindedir. Histamin oluşumu mikroorganizmaların geliştikleri ortamdan çok, sayılarına bağlıdır (Jeyasekaran ve Shakila, 2003).

1.4. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar

Bir ürünün kalitesi; tazeliğe, taze materyalin kontaminasyonuna ve uğradığı hasara bağlıdır. İyi marinatlar iyi kalitede taze materyalden yapılabilmektedir. Ancak materyal olarak iyi kalitede dondurulmuş ve çözdürülmüş balıkta kullanılabilir (Kılınç ve Çaklı, 2004a). Marinatların raf ömrünün belirlenmesinde en önemli faktör depolama sıcaklığıdır. Bu nedenle piyasaya kutular içinde sunulan marinatların etiketlerine “soğukta saklanmalıdır ve çabuk tüketilmelidir” hususunun belirtilmesi gereklidir (Dokuzlu, 1996).

İşlenmiş balıklar için duyu analizler genellikle tazeliği belirlemede yeterli olmasına rağmen, bir kuşku durumunda laboratuvar analizleri zorunlu olup, kalitenin değerlendirilmesi için hızlı ve objektif veriler sağlamaktadır. (Malle ve Poumeyrol, 1989). Duyusal analiz metodunda görünüm, koku, tat ve yumuşaklık-sertlik

dereceleri insan duyuları yardımıyla değerlendirilmekte ve söz konusu duyu özellikler kalite kontrolde önem taşımaktadır (Olafsdottir ve ark., 2004).

Gıdalardaki mikrobiyal çoğalma ve aktiviteleri sonucu meydana gelen bozulma, ürünün duyu özelliklerini etkileyerek gıdanın insanlar için tüketilemez hale dönüşmesine neden olmaktadır (Gram ve Huss, 1996; Gram ve Dalgaard, 2002). Mikrobiyal bozulma aynı zamanda ürünün rengini değiştirerek yapışkanimsi hal almasına neden olarak da kendini göstermektedir. Böylece gıdalarda başlıca bozulmaya neden olan mikrobiyal gelişme, aminlerin, sülfidlerin, alkollerin, aldehytlerin, ketonların ve organik asitlerin ortaya çıkışına neden olarak gıdalarda hoş gitmeyen ve kabul edilmeyen lezzetin oluşmasına neden olurlar (Gram ve Dalgaard, 2002). Mikrobiyal açıdan balık kalitesini belirlemek için en çok kullanılan metot, toplam mezofilik bakteri sayımıdır (Özoğul, 2001).

Gıdalarda bozulmaya kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel zararlar da neden olmaktadır (Gram ve Dalgaard, 2002).

Marine edilmiş ürünlerin bozulması farklı şekillerde meydana gelmektedir.

Fiziksel bozulma: Paket dondurulursa içerik genişleyerek cam kavanoza veya konserve kutusuna zarar verebilmektedir.

Kimyasal bozulma: Asetik asit kutu konserve metalini etkilemektedir. Metalde, asidin etkisiyle hidrojen açığa çıkarıp, konserve içerisinde çoğalarak asitte çözülmüş metaller ürünün tadını değiştirmektedir.

Biyolojik bozulma: Balık proteinlerinin bakteriyel ve otolitik enzim hareketi ile yıkımı sonucu kötü lezzet oluşumu meydana gelebilmektedir. Baharatlar ve diğer şeker içeren katkı maddeleri kullanılırsa bakteriyel fermentasyon meydana gelebilmektedir (Clucas ve Ward,1991: Kılınç ve Çaklı, 2004a'dan).

1.5. Mikrobiyolojik Kalite Çalışmalarında Aranılan Bakteriler

Gıdalarda bulunan mikroorganizmalar arasında, bakteriler en önemli grubu oluşturmaktadır. Bunlar yalnızca gıdalarda farklı birçok türlerde bulunmasından değil aynı zamanda gıdalarda hızla gelişme göstermeleri, yüksek sıcaklıklarda spor oluşturabilmeleri, geniş sıcaklık, pH ve su aktivitesi aralıklarında dahi gelişme

gösterebilmeleri açısından son derece önem taşımaktadırlar. Gıdalarda bulunan bakterileri benzerlik karekteristiklerine göre, taksonomik önemi olmayan aşağıda belirtilen gruplara ayırmak mümkündür.

Laktik Asit Bakterileri: Bu bakteri grubu karbonhidratlardan yüksek miktarlarda laktik asit oluştururlar. Bu grup içerisinde *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus thermophilus* yer almaktadır.

Asetik Asit Bakterileri: *Acetobacter aceti* gibi asetik asit üreten bakteriler bu grupta yer almaktadır

Propionik Asit Bakterileri: Süt ürünlerinde kullanılan ve propionik asit üreten bakteriler bu grup içerisinde. Örneğin, *Propionibacterium frudenreichii*

Butirik Asit Bakterileri: Yüksek miktarlara butirik asit üreten bakteriler bu grupta yer almaktadır. Örneğin *Clostridium butyricum* gibi *Clostridium* spp.

Proteolitik Bakteriler: Bu grup bakteriler ekstraselüler proteinazlar ile proteinleri hidrolize ederler. Genellikle *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, ve bazı *Enterobacteriaceae* ve *Brevibacterium* cinsleri bu grup için örnek teşkil etmektedir.

Lipolitik Bakteriler: Bu bakteriler ekstraselüler lipaz ile trigliseridleri hidrolize etme yeteneğine sahiptirler. Bu grup genellikle *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Alteromonas* ve *Flavobacterium* içermektedir.

Sakkarolitik Bakteriler: Bunlar kompleks karbonhidratları hidrolize ederler. Bu grup genellikle *Clostridium*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* ve *Enterobacter*'leri içerir.

Termofilik Bakteriler: Bu grup bakteriler genellikle 50°C' ve daha üst sıcaklıklarda gelişme gösterebilen bakteriler olmasına karşın 45°C'de de hayatlarını sürdürebilmelerine karşın 30°C'nin altında yaşayamazlar. Optimum gelişme sıcaklıkları 55-65°C arasındır. *Bacillus*, *Clostridium*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* bu gruba örnek verilebilir.

Psikrotrofik Bakteriler: Bu grup bakteriler genellikle buz dolabı sıcaklığında (<5°C) gelişme gösteren bakterilerdir. *Alteromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Brochothrix*, *Listeria*, *Yersinia*, ve *Aeromonas* bu grup için örnek verilebilir.

Termodurik Bakteriler: Pastörizasyon sıcaklık uygulamalarında hayatta kalabilen bakteri gruplarıdır. *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bacillus* (sporları) ve *Clostridium* (sporları) bu grupta yer almaktadır.

Halotolerant Bakteriler: Bu grup bakteriler yüksek tuz konsantrasyonlarında (>%10) canlı kalabilen bakterilerdir. *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Vibrio* ve *Corynebacterium* bu grup içerisinde yer almaktadır.

Asidurik Bakteriler: Düşük pH (<4.0) konsantrasyonlarında canlılıklarını sürdürebilen bakteriler bu grup içerisinde yer almaktadır. *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, ve *Streptococcus* bu grup içerisinde yer almaktadır.

Osmofilik Bakteriler: Diğer bakteri gruplarına göre, daha yüksek ozmotik çevrede gelişme gösteren bakteriler bu grup içerisinde yer almaktadır. Genellikle *Staphylococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* bu grup için örnek verilebilir. Bunlar maya ve küften daha az osmofiliktirler.

Gaz Üreten Bakteriler: Bu gruba, nutrientlerin metabolizma olması esnasında, gaz (CO₂, H₂, H₂S) oluşturan bakteriler girmektedir. *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Clostridium* ve *Desulfotomaculum* bu grup içerisinde yer almaktadır.

Salgı Üreticiler: Bu grup bakteriler polisakkarit sentezlediklerinden yapışkan bir yapı oluştururlar. *Xanthomonas*, *Leuconostoc*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*, *Lactococcus*, ve *Lactobacillus* bu grupta yer almaktadır.

Spor Formlar: Bu grup bakteriler spor oluşturma yeteneğine sahip olan bakterilerdir. *Bacillus*, *Clostridium*, ve *Desulfotomaculum* bu grup için örnek verilebilir. Ayrıca bu grup, aerobik spor formlar, anaerobik spor formlar, termofilik spor form ve sülfid üreten spor formlar olarak gruplara ayrılabilir.

Aerobikler: Bu grup bakteriler gelişip çoğalabilmeleri için oksijene gereksinim duyarlar. *Pseudomonas*, *Bacillus*, ve *Flavobacterium* cinsleri bu grup için örnektir.

Anaerobikler: Oksijenin varlığında gelişme gösteremeyen bakteriler bu grupta yer almaktadır. *Clostridium* bu grup için örnektir.

Fakültatif Anaeroblar: Bu grup bakteriler hem oksijenin varlığında hem de oksijensiz ortamda gelişme gösterebilirler. *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, enterik patojen, ve bazı *Bacillus*, *Serratia*, ve koliform türü bakteriler bu grup içerisinde yer alırlar.

Koliformlar: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, ve *Klebsiella* bu grupta yer alır. Bunlar Sanitasyon indeksi olarak kullanılırlar.

Fekal Koliformlar: : *Escherichia coli* bu grupta yer almaktadır. Bunlar aynı şekilde Sanitasyon indeksi olarak kullanılmaktadır.

Enterik Patojenler: Patojenik *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Listeria*, hepatit A ve sindirim sistemi rahatsızlıklarına neden olan diğer bakteriler bu grupta yer almaktadır. Bu grup bakterilerin gıdalarda önem teşkil etmesinden dolayı laboratuvar metotları spesifik cins ve tür yerine spesifik grup üzerinde yoğunlaşmaktadır. Benzer şekilde kontrol metotları çoğunlukla bu grup mikroorganizmaları engellemek ve yok etme şeklinde oluşturulmaktadır (Ray, 2004).

1.6. Marinatların ve Su Ürünlerinin Korunması Yöntemleri

1.6.1. Kontaminasyonun Önlenmesi

Mikroorganizmalar doğada yaygın olarak bulduklarından dolayı mikroorganizmaların gıdalara bulaşmasını önlemek imkansızdır. Ancak potansiyel bulaşma kaynaklarını kontrol altına alarak bu noktalardan meydana gelebilecek bulaşmaları alt düzeye indirmek mümkündür. Örneğin, su ürünlerinin avlandığı bölgeler evsel, endüstriyel gibi atıklarla kirlenmiş alanlardan uzak olmalıdır. Mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesi sanitasyon uygulamaları ile gerçekleştirilir. Bu konunun içine personel hijyeni de girmektedir. Gıda üretiminde ve hazırlanmasında hijyen ve sanitasyona uyulmayan işletmelerde, gıda işleyicilerinden doğrudan bir bulaşma söz konusu olabileceği gibi, bu kişilerin hijyen kurallarına uymamalarından dolayı meydana gelebilecek çapraz kontaminasyonlar da önemlidir. (Çaklı ve Kışla, 2003). Sonuç olarak; marine edilmiş ürünler steril olmadığından marinatların hijyenik koşullar altında hazırlanması gerekmektedir. Bütün kaplar,

çalışma yüzeyleri, aletler ve katkı maddeleri temiz olmalıdır (Clucas ve Ward, 1991: Kılınç ve Çaklı, 2004a'dan).

1.6.2. Mikroorganizmaların Uzaklaştırılmaları

Gıdalardaki mikrobiyal yükün azaltılmasında kullanılan diğer bir yöntem mikroorganizmaların uzaklaştırılmasıdır. Su ürünleri açısından yıkama işleminin önemli olduğu göz ardı edilmemelidir. Örneğin, fileto çıkarma işlemi boyunca içilebilir nitelikte akan suyun varlığı, iç organlardan gelen mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında etkili olmaktadır. Aynı şekilde çiğ deniz ürünleri ile temas etmiş yüzeylerin tatlı su ile yıkanması *V. parahaemolyticus* inaktivasyonu için pratik bir uygulamadır. Ayıklama işlemi ile de mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaştırılması söz konusudur. Ezilmiş, parçalanmış su ürünlerinin ayıklanmasıyla bu ürünlerin çabuk bozularak diğer sağlam su ürünlerini de kontamine etmesi engellenmiş olmaktadır (Çaklı ve Kışa, 2003).

1.6.3. Mikrobiyal Gelişmenin İnhibisyonu

Mikrobiyal gelişmenin inhibisyonunda aşağıdaki yöntemler kullanılmaktadır:

Düşük sıcaklıkta muhafaza: Sıcaklık düştükçe mikroorganizmaların gelişmesi yavaşlamaktadır. Su ürünleri çok çabuk bozulan gıdalar olduklarından dolayı, avlandıktan hemen sonra hızlı bir şekilde buz ile, soğutulmuş deniz suyu ile veya soğuk hava yardımıyla soğutulmalı, tüketime kadar ya da diğer işlemlere kadar bu sıcaklıkta tutulmalıdır. Ancak sadece soğutma ile mikrobiyal gelişmeyi engellemek her zaman mümkün değildir. Örneğin *A. hydrophila* ve *L. monocytogenes* psikrotrof bakteri olduklarından dolayı düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen gıdalarda gelişebilmektedir (Çaklı ve Kışa, 2003). Marinatların raf ömrü için de en önemli faktör depolama sıcaklığıdır. Marinatlar soğuk sıcaklıklarda depolanmalıdır (Kılınç ve Çaklı, 2004a). Bundan dolayı soğukta muhafaza ile birlikte aşağıda belirtilen diğer yöntemlerde uygulanabilir.

Su aktivitesinin düşürülmesi: Gıdalarda mikrobiyal aktivite, enzimatik ve kimyasal reaksiyonların oluşabilmesi için temel koşul suyun varlığıdır. Gıdalardaki

su kurutma ile uzaklaştırılarak ya da gıdaya tuz gibi su fazında çözünen maddeler ilave edilerek gıdanın su aktivitesi düşürülebilir. Örneğin kurutulmuş veya tuzlanmış balıklar mikrobiyal bozulmalara karşı taze balıklara göre daha dayanıklıdır (Çaklı ve Kışla, 2003).

Modifiye atmosferde muhafaza: Gıdaların muhafazasında kullanılan modifiye atmosferde ambalajlamada mikroorganizmaların ihtiyaç duydukları oksijenin ortamdaki uzaklaştırılması söz konusudur. Bu durumda, vakum ambalajlamada olduğu gibi ya ambalaj içindeki hava boşaltılır ya da ambalaj içerisine belirli gaz karışımı (CO_2 N_2) doldurulur. Böylece mikroorganizma gelişmesi kontrol altında tutulabilir. Taze ya da işlenmiş su ürünleri bu şekilde paketlenerek satışa sunulmaktadır (Çaklı ve Kışla, 2003).

Kimyasal koruyucularla muhafaza: Koruyucu maddelerle muhafaza yönteminde gıdaya işleme, depolama ve paketlenme aşamalarında katkı maddeleri ilave edilerek mikroorganizma gelişmesi sınırlandırılır. Bu katkı maddeleri çeşit ve doz açısından ülkelere göre değişen belli hükümlere bağlanmıştır. Sorbik asit ve sorbatlar, benzoik asit ve benzoatlar, asetik asit ve asetatlar, laktik asit ve asetatlar, nitrit ve nitratlar, antibiyotikler, bakteriyosinler bu grubun yaygın örnekleridir. Örneğin taze balıkların muhafazasında bir antibiyotik olan nisin kullanılmaktadır. Bu amaçla muhafazada kullanılan buza OTS veya nisin ilave edildiği gibi fileto formundaki balıklar bu maddeleri içeren çözeltilere daldırılabilir. Balıklarda çok kullanılan bir yöntem olan tütsüleme işlemiyle de elde edilen tütsünün yapısındaki formaldehit, asitler ve fenoller yardımıyla mikrobiyal flora azaltılabilir (Çaklı ve Kışla, 2003).

Hexametilentetramin marinatların bozulma riskini minimuma indirmektedir. Fakat birçok ülkede kullanımına izin verilmemektedir. Formaldehit oluşum oranı nedeniyle küçük miktarlarda, insanların tüketimi için güvenli olan koruyucuların kullanımı gerekebilmektedir. Sorbik asit, dehidroasetik asit *p*-hidroksibenzoik asitin esterleri suda düşük çözülebilirlikleri açısından marinat ürünlerde kullanımları teknik açıdan engel teşkil etmektedir. Benzoik asit ürüne hoş olmayan tat vermektedir. Nisin kullanımı alternatif olarak verilmiştir. (Meyer, 1965: Kılınç ve Çaklı, 2004a'dan)

Mikroorganizmalar arası antagonistik ilişkilerden yararlanma: Laktik asit bakterilerinin diğer bakteriler (patojenler ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalar) üzerindeki antimikrobiyal etkisinden yararlanarak gıdaların muhafazası mümkündür. Bu antimikrobiyal etki laktik asit bakterilerinin ürettikleri organik asitler, bakteriyosin, diasetil ve hidrojen peroksitten kaynaklanmaktadır. Su ürünlerinden yapılan çeşitli soslar ve marinatlar bu gruba örnek verilebilir (Çaklı ve Kışla, 2003).

1.6.4. Mikroorganizmaların öldürülmesi

Gıdaların muhafazasında kullanılan en etkin yöntem mikroorganizmaların öldürülmesidir. Bu yöntemin içerisinde en çok ısı işlem uygulamaları, radyasyon uygulamaları ve sterilant gazların kullanımı yer almaktadır (Çaklı ve Kışla, 2003).

Gıdaların muhafazasında kullanılan ısısal işlemler, mikroorganizmaları öldürerek gıdayı mikrobiyolojik açıdan dayanıklı hale getirdiği gibi gıdanın yapısında bulunan enzimleri de inaktive eder. Gıda endüstrisindeki ısı işlem uygulamalarında genellikle pH değeri 4.5'den düşük olan gıdalar için pastörizasyon (100°C'nin altında uygulanan ısı işlem) tekniği, pH'sı 4.5'den yüksek olan gıdalar için ise sterilizasyon (100°C'nin üzerinde uygulanan ısı işlem) tekniği uygulanmaktadır. Gıdaların muhafazasında radyoaktif maddelerden sağlanan iyonize eden ışınlar dışında ultraviyole (UV) ışınlardan da yararlanılmaktadır. Ancak UV ışınları düşük enerjili oldukları için sadece yüzeyde bulunan mikroorganizmalar üzerinde etkilidirler. Son zamanlarda çift kabuklu yumuşakçaların depurasyon işlemlerinde kullanılan deniz suyunu dezenfekte etmede UV ışınlarından yararlanılmaktadır. İyonize radyasyon uygulaması ile ürün pastörize veya sterilize edilebilir. Bu durum radyasyon dozu ayarlanarak yapılabilir. İyonize radyasyon uygulanarak muhafaza edilen su ürünlerine örnek olarak çeşitli balık filetoları, yengeç ve karides etleri verilebilir. Su ürünleri açısından sterilant gazların kullanımı sınırlıdır. Bugün gıdaların sterilizasyonunda kullanılan gazlardan olan ozon, UV ışınları gibi, çift kabuklu yumuşakçaların depurasyon işleminde deniz suyunu dezenfekte etme amacıyla kullanılmaktadır (Çaklı ve Kışla, 2003).

Mikroorganizmaların öldürülmesi işleminde yukarıda bahsedilen yöntemlerin dışında yüksek basınç uygulamaları da yer almaktadır. Ancak gıda endüstrisindeki uygulamaları yeni olup, henüz araştırma aşamasındadır. Bunun yanında gıdalardaki mikrobiyolojik güvenilirliğin sağlanmasında birden fazla antimikrobiyal faktör bir arada kullanılabilir. Böylece yalnız başına yeterli olmayan birçok faktör kombine olarak kullanıldıklarında daha etkili olmaktadır. Örneğin, kimyasal koruyucular ilave edilmiş ya da modifiye atmosfer altında soğukta saklanan çeşitli su ürünlerindeki mikrobiyal gelişme sadece soğukta saklanan örneklerle kıyasla daha sınırlıdır (Çaklı ve Kışla, 2003).

1.7. Marinatların Raf Ömrü

Soğuk marinatların raf ömrünün soğuk derecelerde depolandıklarında birkaç ay, sıcak ortamda depolandıklarında ise sadece birkaç hafta olabildiği belirtilmiştir. Pişirilmiş marinatların raf ömrünün altı aya kadar olabildiği ve kızartılmış marinatların ise 0-8°C'de depolandıklarında raf ömürlerinin bir yıla kadar ulaşabildiği bildirilmiştir (Clucas ve Ward, 1991; Kılınç ve Çaklı, 2004a'dan).

1.8. Marine Edilmiş Farklı Ürünler

Kızartılarak marine edilmiş uskumru veya sardalya: Sardalya veya uskumru balığı filetoları yıkanarak %10 salamura çözeltisinde 1.5 saat bekletildikten sonra süzülerek unlandıktan sonra kızartılmaktadır. Soğuması sağlandıktan sonra cam kavanozlar içerisine konulmaktadır. Baharatlar (tuz, biber, şeker, yenibahar) ve sirke (%4-5 asetik asit) içerisinde 10-15 dakika kaynatıldıktan sonra soğutulurak, kızartılmış marinatlar üzerine dökülmektedir.

Marine edilmiş midyeler: Britanya'da marinat yapımı için genellikle midyeler, kardiüm ve şeytan minareleri kullanılmaktadır. Kabuklu canlı midyeler yıkandıktan sonra tel ağ sepetlere konularak 4-6 dakika boyuta bağlı olarak kaynayan su içerisine daldırılmaktadır. Etler kabuklardan ayrılmalı, sakallar uzaklaştırılmalı ve düşük salamura (%2-3 tuz) içeren suda 2-3 saat tutularak, kalan kum veya sert parçaların uzaklaştırılması sağlanmalıdır. Temizlenmiş ve pişirilmiş etler süzülmekte

ve cam kavanozlar içerisinde paketlenmektedir. Cam kavanozlar %4-6 asetik asit içeren sirke ile kaplanmalıdır. Paketin pH'sı 4.2'den daha yüksek olmamalıdır. %4 asetik asit veya %4 asetik asit içeren sirke kullanıldığı zaman midye eti sıvı oranı gereken son asitliği sağlayabilmek için (1.5:1)'i geçmemelidir. Genellikle midyeleri kaplamak üzere sirke ilave edilmeden önce baharatlanır.

Ceviche: Güney Amerika'da balık veya kabukluların portakal suyu, limon suyu veya suda çözülen tartarik asit ile marine edilerek yapılan üründür. Son ürünün raf ömrünün ılıman iklimlerde 5 gün olduğu, tropikal iklimlerde raf ömrünün daha da kısa olduğu belirtilmiştir. Ceviche'in oldukça çabuk bozulan taze balık ürünü olduğu ve içinde bulunan limon suyunun marinasyon esnasında balık kasında bulunan proteinlerle hızlı nötralizasyonu nedeniyle antimikrobiyal etkisinin yetersiz olduğu belirtilmiştir.

Escabeche: Filipinler'de İspanyol orijinli marine edilmiş üründe balık parçaları kızartılmakta ve daha sonra sirkede marine edilmektedir. Sirke bazen sarımsak, zencefil ve biberlerle tatlandırılmaktadır. Marinata şeker de ilave edilebilmektedir.

Paksiw: Bu marinat Filipinlerde yaygındır. Taze balığa ilave olarak hindistan cevizi, sirke, tuz ve bazen şeker de ilave edilerek hepsi birlikte kaynatılmaktadır. Su daha sonra ilave edilmekte ve karışım tekrar kaynatılmaktadır. Son ürünün raf ömrü birkaç gündür (Kılınç ve Çaklı, 2004a).

1.9. Araştırma Materyali

Bu çalışmada araştırma materyali olarak hamsi (*Engraulis engrasicholus*) kullanılmıştır. *E. engrasicholus* dünyada Avrupa hamsisi olarak bilinmektedir. *Engraulidae* familyasına ait pelajik bir türdür. İnce bir vücuda sahip, tipik pelajik balıklara ait renktedir. Kuşlar tarafından görülmekten kaçınmak için su yüzeyinden bakıldığında arka tarafı koyu, suyun aşağısından gözlemlendiğinde karın kısmı şaşırtacak şekilde grimsi renktedir (Cascado ve ark., 2006).



Şekil 2.1. Hamsi (*Engraulis engrasicholus*)

2004 yılı Devlet İstatistik Enstitüsü Verilerine göre Türkiye’de yakalanan toplam 644.492 ton balığın, 340.000 tonunu *E. engrasicholus* oluşturmaktadır. Bu miktarın 214.572 tonu Doğu Karadeniz’den, 92.084 tonu Batı Karadeniz’den, 23.372 tonu Marmara Denizinden, 9.972 tonu Ege Denizinden avlanmaktadır. Avcılık Kasım ve Mart ayları arasında gırgır adı verilen çevirme ağlarıyla yapılmaktadır (Karaçam ve ark., 2002; DİE, 2004).

Ülkemizde hamsinin çoğu taze olarak tüketilmekte, az bir kısmı yağ ve balık işlemede kullanılmaktadır. Alternatif işleme metotlarının azlığı nedeniyle hamsi tüketimi mevsimler itibariyle sınırlı kalmaktadır (Karaçam ve ark., 2002; Tırakoğlu, 2003). Gelişen marinasyon teknolojisi ile hamsi, sezon dışında dahi tüketime sunulmaya başlanmış, bu sayede alışlagelmiş olan taze balık tüketim alışkanlıklarımızı da bir ölçüde azaltmak mümkün olabilecektir.

Amaç

Bu çalışmanın amacı marine edilmiş *E. engrasicholus*’de zamana bağlı olarak kaliteyi etkileyen duyuşal özellikler ile birlikte fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin araştırılmasıdır. Böylece tüketiciye daha sağlıklı ürünler sunma yönünde önemli bilgiler elde edilebilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmada *E. engrasicholus* biyolojik olarak asetik asit fermantasyonuyla damıtılmış alkolden elde edilen alkol sirkesinde (TS 1880 EN 13188, 2003), marine edildikten sonra, lezzet katabilmek amacıyla dolgu sıvısı olarak bitkisel yağ ilave edilerek 0–2 °C’de muhafaza edilmiştir. Bu konuda yapılmış çalışmalar balıkların cam şişe veya plastik kaplar içerisinde dolgu sıvısı olarak salamurada bekletilmesi ile ilgilidir. Bu çalışma ayrıca Türk Gıda Kodeksi

Yönetmeliği Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddelerine ilişkin tebliğ (2003) çerçevesinde pH düzenleyici olarak sitrik asidin kullanılması (E330) ve marine ürünlerde peroksit sayısı, serbest yağ asitleri ve biyojenik amin oluşumunun ortaya konması açısından diğer çalışmalardan farklıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Raf Ömrü Çalışmaları

Dokuzlu (1996)'nun marinat hamsi üretimi sırasında kullandığı asit-tuz oranlarının ürünün mikrobiyolojik, organoleptik ve raf ömrü üzerine etkisini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, %4 asetik asit - %12 tuz içeren çözeltide, $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de olgunlaştırdığı marinatların fiziksel, kimyasal mikrobiyolojik analizler neticesi, sekiz ay çok iyi kalite kaldıklarını bildirirken, duyuşal açıdan 7. aydan sonra insan gıdası olarak tüketilemez durumda olduğunu ortaya koymuştur.

Erkan ve ark. (2000), paneli alabalık marinatlarında modifiye atmosferle paketlenen (MAP) ürünün raf ömrü üzerine olan etkisini incelemiştir. Yapılan duyuşal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre kontrol grubu örneklerin depolamanın 90. gününden itibaren bozulmaya başladığını, modifiye atmosferle paketlenen grupların ise 120. günde bozulduklarını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak modifiye atmosferle paketlenme teknolojisinin ürünün raf ömrünü uzatmada etkili olduğu görülmüştür.

Varlık ve ark. (2000), hamsi balığını kullanarak yaptıkları marine balık köftesini soğukta ($+4^{\circ}\text{C} \pm 1$) depolayarak raf ömrünü belirlemek üzere, 15 günlük periyotlarda duyuşal, pH, TVB-N ve TMA-N analizlerini yapmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre marine balık köftesinin 60. güne kadar çok iyi, 105. güne kadar iyi, 120. günde pazarlanabilir olduğunu, bozulmanın ise 120. günden sonra başladığını bildirmişlerdir.

Cadun (2002), çim çim karidesten (*Parapenaeus longirostris*) marinat yapımı, kalitesi ve raf ömrünün belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada, örnekleri $+1^{\circ}\text{C}$ 'lik soğuk odada muhafazaya almış; kimyasal ve duyuşal analizlerin ardından raf ömrünün 40 gün olduğunu bildirmiştir. Marinatın raf ömrünü TBA (mg malonaldehit/kg) miktarının belirlediğini, buna bağlı artışın duyuşal analizlerde acılaşıma şeklinde ortaya çıktığını bildirmiştir.

Gökoğlu ve ark. (2003), %2 ve %4'lük konsantrasyonlarda ve %10'lük NaCl'de 24 saat marine ettikleri sardalyaları, cam kavanoz içerisinde ayçiçek

yağında +4 °C’ de depolayarak, raf ömrünü belirlemek için bir dizi duyuşal, kimyasal (TVB-N, TMA-N, pH) analizler gerçekleştirmişlerdir. Araştırma sonunda %2’lik ve %4’lük konsantrasyonlar arasında, TVB-N ve TMA-N değerlerinin artışı yönünde önemli farklılıklar bularak, %2’lik konsantrasyondaki artışın daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. Depolama süresince iki konsantrasyon değeri arasındaki pH farkının ise önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Depolama sonunda duyuşal açıdan ürün 120 günde kabul edilemez sınıra ulaşırken, TVB-N ve TMA-N değerleri açısından kabul edilebilirlik sınırının depolamanın 150. gününde ortaya çıktığı bildirilmişlerdir.

Özden ve Baygar (2003), farklı paketleme yöntemlerini deneyerek marine edilmiş balıkların bazı kalite kriterleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmada hamsi, istavrit, kolyoz ve sardalya filetoları kullanılarak, sızdırmaz cam kavanozlarda yağ içerisinde ve polietilen torbalarda vakum paketlenmiştir. Depolama süresince 15 günlük periyotlarda duyuşal, pH ve TVB-N analizleri yapılmış ve raf ömrünü duyuşal bakımından 90 gün olarak tespit ederek, paketleme metotları arasında önemli bir fark olmadığını bildirmişleridir.

Tırakoğlu (2003), Marmara ve Karadeniz’den avlanan, dondurularak ve dondurulup glaze edilerek farklı yöntemlerle depolanan hamsilerin, marinat üretiminde kullanılmasının, son üründeki kalitesi üzerine etkisini araştırdığı çalışmada, her iki bölgenin ve depolama şeklinin 6 aylık inceleme süresince uygun kalite özellikleri gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak 6. ay sonunda Marmara hamsisinin Karadeniz hamsisine göre fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan daha düşük kalite özellikleri gösterdiğini saptamıştır.

Kılınç ve aklı (2004b), dondurulmuş ve çözdürülmüş sardalya balığı (*Sardina pilchardus*) filetolarını fiılar içerisinde marine ettikleri çalışmada, 1.5:1 balık ve salamura olmak üzere, %7’lik asetik asit ve %14’lk tuz kullanmışlardır. Duyusal ve tekstür analizleri, +4 °C’ de marinasyon prosesinin sonuna kadar devam ettirilmiştir. Araştırmada, sardalya filetolarında +4 °C’deki marinasyon işleminin tamamlanabilmesi için 22 gün gibi bir sürenin gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Fiılarda depolama başlangıcı ve sonundaki kimyasal analiz sonuçlarının istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p>0.05$) belirtilirken, fiılara konulduktan sonra

filetolardaki toplam bakteri sayısında, laktik asit bakterileri sayısında, psikrotrofik bakteri sayısında ve maya ve küfte azalma olduğu bildirilmiştir.

Erdem ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada, tuzlama ve marinasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığının (*Trachurus mediterraneus*) muhafazası sırasındaki kalite değişim kriterleri olarak, total volatil bazik azot (TVB-N), trimetilamin azot (TMA-N), pH, tiyobarbitürik asit (TBA) ve duyu analizi gerçekleştirilmiştir. Marine ürünler tuz ve sirke ile hazırlanırken, aynı zamanda baharat katkılı olarak hazırlanmıştır. Ürünler $+4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}$ 'de 120 gün boyunca depolanmış; araştırma sonunda ise marinat ürünlerin 60 ve 90 gün bozulmadan saklanabileceğini belirlemiştir.

Kılınç ve Çaklı (2005a), 70°C 'de 20 dakika pastörize işleminin domates soslu marine edilmiş sardalya balığının (*Sardina pilchardus*) raf ömrü üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmada marinasyon prosesinden sonra sardalya filetoları %2 asetik asit ve %4 tuz, domates sosu ve baharat içeren cam kavanozlar içerisinde $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. 6 aylık depolama sonunda pastörize edilmiş ve edilmemiş marinatlar arasında TBA, FA (serbest), FA (toplam) ve pH değerleri bakımından önemli bir fark ($p>0.05$) olmadığını bildirirken, TVB-N, TMA-N, toplam bakteri ve laktik asit bakterileri sayısı açısından farkın önemli ($p<0.05$) olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonunda pastörize edilmiş ve edilmemiş domates soslu marine edilmiş sardalyaların $+4^{\circ}\text{C}$ 'deki raf ömrünün 6 ay olduğu bildirilmiştir.

Özden (2005), marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) raf ömrü süresince yağ asitleri kompozisyonunu tespit etmeye çalıştığı araştırmada, Marmara denizden avlanan hamsi balıklarını kullanmıştır. Kullanılan hamsiler %3 asetik asit ve %10 tuzlulukla 24 saat marine edildikten sonra vakum paketlenerek $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmış ve her 30 günde bir analizler gerçekleştirilerek raf ömrünün 120 günün üzerinde olduğu bildirilmiştir. Araştırmada yağ asitleri kompozisyonunun soğukta depolanan marine balıkları için tazelik ve dekompozisyon indeksi olarak iyi bir kriter olduğu belirtilmiştir. Araştırmada SFA konsantrasyonlarındaki artışın ve PUFA konsantrasyonlarındaki düşüşün oksidasyon neticesinden kaynaklandığını ve kalitede önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Taze ve soğuk depolanmış hamside

depolama süresince besin öğelerine ait bilgiler Çizelge 2.1.'de, yağ asitleri kompozisyonundaki değişimler Çizelge 2.2.'de verildiği şekilde bildirilmiştir.

Çizelge 2.1. Taze ve Marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) %'de besin öğeleri kompozisyonu (Özden, 2005)

| | Nem | Protein | Yağ |
|--------------|------------|----------------|------------|
| Taze Hamsi | 69.76±2.86 | 18.02±0.92 | 10.32±0.75 |
| Marine Hamsi | 66.75±3.16 | 19.10±1.04 | 11.51±0.98 |

Çizelge 2.2. Marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) %'de yağ asit kompozisyonu (Özden, 2005)

| Yağ Asitleri | Taze Balık | Marine Balık | Depolama Süreleri | | | |
|----------------------|------------|--------------|-------------------|-------|-------|-------|
| | | | 30 | 60 | 90 | 120 |
| C _{12:0} | 0.24 | 0.22 | 0.22 | 0.22 | 0.27 | – |
| C _{13:0} | 0.06 | 0.06 | 0.07 | 0.07 | 0.07 | – |
| C _{14:0} | 7.53 | 7.50 | 7.34 | 7.07 | 7.48 | 8.09 |
| C _{15:0} | 0.80 | 0.82 | 0.86 | 0.80 | 0.84 | 0.88 |
| C _{16:0} | 15.93 | 16.37 | 16.71 | 16.45 | 16.46 | 17.05 |
| C _{17:0} | 1.14 | 1.14 | 1.10 | 1.12 | 1.06 | 1.11 |
| C _{18:0} | 3.14 | 3.26 | 3.33 | 3.48 | 3.16 | 3.39 |
| C _{20:0} | 1.27 | – | – | 0.08 | 1.19 | 1.22 |
| C _{21:0} | 0.10 | 0.13 | 0.10 | 0.15 | 1.78 | 1.87 |
| C _{22:0} | 0.78 | 0.74 | – | 0.75 | – | 0.75 |
| C _{23:0} | – | – | – | – | 0.46 | 0.25 |
| C _{24:0} | 0.21 | 0.20 | 0.12 | – | 0.09 | 0.16 |
| Toplam Doymuş | 31.2 | 30.44 | 29.85 | 30.19 | 32.86 | 34.77 |
| C _{14:1} | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.20 | 0.21 | 0.26 |
| C _{16:1} | 6.22 | 6.03 | 5.96 | 6.00 | 5.96 | 6.41 |
| C _{17:1} | – | – | 0.91 | 0.99 | 0.63 | 1.04 |
| C _{18:1n-9} | 11.17 | 11.17 | 11.10 | 11.61 | 11.18 | 11.72 |
| C _{20:1n-9} | 2.73 | 2.80 | 1.24 | 2.78 | 3.37 | 3.09 |
| C _{22:1n-9} | 0.29 | 0.27 | 0.26 | 0.28 | 0.42 | 0.29 |
| C _{24:1n-9} | 0.37 | 0.20 | 0.24 | 0.22 | 0.76 | 1.11 |
| MUFA | 20.98 | 20.67 | 19.91 | 22.08 | 22.53 | 23.92 |
| C _{18:2n-6} | 2.09 | 1.98 | 1.75 | 1.58 | 2.08 | 1.99 |
| C _{18:3n-6} | 0.88 | 0.53 | 0.81 | 1.34 | 0.15 | 0.14 |
| C _{18:3n-3} | 0.78 | 0.80 | 0.83 | 0.79 | 0.81 | 0.81 |
| C _{20:2} | 0.16 | 0.22 | 0.23 | 0.24 | 0.23 | 0.26 |
| C _{20:3n-6} | – | – | 0.09 | 0.07 | 0.07 | – |
| C _{20:3n-3} | 0.14 | 0.18 | 0.25 | 0.17 | 0.15 | 0.18 |
| C _{20:4} | 3.63 | 2.50 | 4.45 | 4.02 | 0.71 | 3.26 |
| C _{22:2} | – | – | – | – | – | – |
| C _{20:5} | 9.97 | 9.75 | 9.84 | 9.51 | 9.89 | 9.69 |
| C _{22:6} | 18.52 | 18.48 | 19.26 | 18.67 | 19.31 | 17.41 |
| PUFA | 26.23 | 34.14 | 37.51 | 36.39 | 33.4 | 33.74 |
| Tespit Edilemeyen | 11.59 | 14.74 | 12.99 | 11.35 | 11.21 | 9.46 |

Sallam ve ark., (2006) %12 tuzlulukta %2'lik ve %3'lük asetik asitte marine ettikleri Pasifik zarganası (*Cololabis saira*)'nın kimyasal ve duyuşsal özelliklerini ortaya koymak üzere yaptıkları çalışmada, örnekleri vakum paketleyip +4 °C' de 90 gün depolamışlardır. Başlangıçta taze materyalde 9.12 mg/100g tespit ettikleri TVB-N miktarında, marinasyondan sonra önemli bir düşüşün yaşanmadığını yalnızca çok az miktarda bir azalmanın (0.89–1.25 mg/100g) gözlendiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte depolamanın 30. 40. ve 50. gününde yavaş bir artışın yaşandığını ve her iki marinyasyon şeklinde de TVB-N miktarlarının 12mg/100g'ın altında kaldığını bildirmişlerdir. Ancak depolamanın sonuna doğru her iki marinyasyon grubunda da önemli bir artışın ($p<0.05$) gözlendiğini, TVB-N miktarlarının sırasıyla 24.1 mg/100g ve 20.5mg/100g ulaştığını ortaya koymuşlardır. Başlangıçta taze materyalde 6.32 olarak bildirdikleri pH'ta marinyasyon işleminde sonra her iki asitlik grubunda önemli bir düşüşün yaşandığını ortaya koymuşlar, ancak depolama sonunda her iki grupta önemli bir artışın gözlendiğini ($p<0.01$) sırasıyla 4.56 ± 0.03 ve 4.47 ± 0.2 olarak bildirmişlerdir. Başlangıçta taze materyalde 0.37 mg MA/kg olarak bildirdikleri TBA değerinde marinasyondan sonra keskin bir artışın yaşandığını ($p<0.01$) ve sırasıyla 0.72 ve 0.63'e yükseldiğini bildirmiş daha sonra depolama süresince artışın yaşanmaya devam ettiğini ve depolamanın 50. ve 70. gününde maksimum noktaya ulaştığını ve kademeli olara tekrar bir düşüş gözlenerek depolama sonunda 1.88 ve 1.61mg MA/kg olarak ortaya koymuşlardır. Psikrotrofik bakteri sayısını başlangıçta $3.95 \log_{10}$ CFU/g olarak bildirmişler ancak marinyasyon prosesinden sonra önemli bir düşüşün gözlendiğini ($p<0.05$) ve sırasıyla 1.55 ve 1.7 \log 'a gerilediğini bildirmişlerdir. Ancak depolama süresince artışın gözlendiğini depolama sonunda sırasıyla 5.16 ve 4.75 \log_{10} CFU/g olarak bildirmişlerdir. Duyusal açıdan ise depolama sonuna kadar tekstür, koku, tat ve ransidite gibi kriterlerin skorlarında önemli bir düşüşün ($p<0.05$) gözlendiğini bildirmişlerdir. Ancak depolama sonunda (90. gün) ne tat da nede kokuda kabuledilemez durumun gözlendiğini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak psikrotrofik bakteri miktarında ve kimyasal indikatörlerde gözlenen artışların duyuşsal skorlardaki artışlarla uyum içerisinde olduğu bildirilmiştir

2.2. Mikrobiyolojik Kalite ile İlgili Çalışmalar

Fuselli ve ark. (1996)'nın soğuk marine edilmiş hamsideki (*Engraulis anchoita*) mikroflorayı izole ve karakterize etmek üzere yaptıkları çalışmada, %2' lik asetik asitte marine ettikleri hamsileri, ayçiçek yağı içerisinde 23°C'de 4 ay depolamışlardır. Mikrobiyal analizleri hammadde de, marinasyon işleminden sonra ve depolamanın 4. ayından sonra gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak depolamada baskın gelen mikroflora olarak *Lactobacillus* spp. özellikle *L. casei* subsp. ve *Micrococcus* ve özellikle *M. varians* olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte *Staphylococcus* spp., koliform, Enterobacteriaceae, maya ve küf, *E. coli*, *Pseudoaeromonas aeruginosa* ve *Clostridia* türü bakterilerin de bulunmadığını bildirmişlerdir.

Poligne ve Collignan (2000), hamsinin (*Engraulis encrasicolus*) marinasyonunda asetik asit, glukonik asit ve her iki asit solüsyonlarını birlikte kullanıp hızlı marinasyon tekniği ile yaptıkları çalışmada, son ürünlerdeki pH ve tuz konsantrasyonu miktarlarının benzer olduğunu bildirmişlerdir. Mikrobiyal sayının ortaya konması için 0. gün, 15. gün, 30. gün 45. gün ve depolamanın 60. gününde toplam koliform, toplam mezofilik aerob bakteri, sülfid indirgeyen anaeroblar, küf ve maya sayısı bakımından analiz etmişlerdir. Her iki asit solüsyonunun birlikte kullanılarak muamele edilen hamsi ile asetik asitle muamele edilmiş hamsinin, toplam bakteri sayısı ile maya ve küf sayının, yalnızca glukonik asit ile muamele edilen hamsiye göre daha düşük miktarlarda olduğu rapor edilmiştir. Depolamanın 0. gününde ve sonunda elde edilen değerlerin Fransa'nın kabul edilebilirlik sınırları içerisinde olduğu da bildirilmiştir. Bununla birlikte hızlı marinasyon tekniğinin geleneksel salamura yöntemine bir alternatif olduğu bildirilirken, yüksek konsantrasyonlardaki asit solüsyonlarının kullanılmasıyla da proses süresinin kısaltılabileceği ortaya konulmuştur.

Lyhs ve ark. (2001), marine edilmiş ringa balıklarındaki spesifik bozulma organizmalarının *Lactobacillus* spp. olduğunu bildirmişlerdir. Söz konusu organizmaları tanımlamak ve karakterize etmek üzere yaptıkları araştırmada, kullandıkları tüm örneklerde spesifik bozulma organizması olarak *L. alimentarius*'u

tespit etmişlerdir. Bozulmanın gaz oluşumu ve cam kavanoz kapaklarında çöküntü oluşturmasıyla karakterize edildiğini ve ringa balıklarında daha önce bu organizmanın baskın mikroorganizma olarak bozulmada rol oynadığının rapor edilmediğini bildirmişlerdir. Bunu önleyebilmek için hijyen ve iyi üretim kurallarının önemli olduğunu ortaya koymuşlardır.

Sen ve Temelli (2003), soslu ve sebze marine hamside mikrobiyal kaliteyi belirlemek üzere koliform, toplam mezofilik aerob bakteri, koagülaz pozitif *Staphylococcus*, *Salmonella* spp. sülfid indirgeyen anaerob bakteriler, maya ve küfleri tespit etmişlerdir. Mikrobiyolojik analizler, hamsi filetolarıyla birlikte marinasyonda kullanılan sebzeler ve sos gibi ilaveler de dahil edilerek yürütülmüştür. Araştırmacılar çalışma sonunda, halk sağlığı için tehdit oluşturabilecek patojen mikroorganizmalara rastlamadıklarını bildirirken, uygun şartlar altında depolandıkları sürece marine hamsinin insanların güvenle tüketebilecekleri bir ürün grubu olduğunu ortaya koymuşlardır.

Çolakoğlu (2004), farklı işleme teknolojilerini kullanarak kızılöz (*Rutilus rutilus*) ve beyaz balık (*Coregenus* sp.) mikroflorasını araştırmak üzere yaptığı çalışmada marinat yapımı için %3 tuz ve %2 şarap sirkesinden oluşan soğan ve çeşitli baharatların eşliğinde hazırlanan salamura küp şeklinde doğranmış filetoları ilave ederek, 0°C'de 24 saat süreyle olgunlaşmasını sağlamıştır. Olgunlaştırma işleminden sonra mikrobiyolojik analizler sadece balık etleri üzerinde yürütülmüş ve kriter olarak toplam aerob bakteri sayısı, balıklarda "normal flora" olarak adlandırılan ve bozulmada etkili olduğu bildirilen *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Laktobasiller*, *Enterococcus*, *Bacillus* ve ayrıca mantar sayıları baz alınmıştır. Sonuç olarak araştırmacı, farklı işleme teknikleriyle (Sıcak dumanlama, marinasyon, salata ve kızartma (köfte) elde edilen son ürünlerin mikrobiyal sayımda taze balık filetosuna kıyasla önemli ölçüde azalma olduğunu bildirirken özellikle en az bakteri içeriğinin marinat teknolojisinde kullanılan *R. rutilus*'ta olduğunu ortaya koymuştur.

2.3. Biyojenik Aminlerle İlgili Çalışmalar

Gökoğlu (2003), marine edilmiş sardalyada (*Sardina pilchardus*) biyojenik amin değişimini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, sardalya filetolarını tuz ve asetik asitten oluşan salamura içerisinde 24 saat süreyle olgunlaşmasını sağlamak için bekletmiştir. Araştırmacı, başlangıçta ve olgunlaşma süresi boyunca dört saat aralıklarla tiyramin, putresin, kadaverin, histamin, spermin ve spermidine gibi biyojenik amin miktarlarını ortaya koymayı amaçlamıştır. Olgunlaştırma prosesinin başlangıcında tiyramin, putresin, kadaverin ve histamin miktarlarının çığ balıktakine göre daha düşük olduğunu bildirirken, spermin ve spermidinin çok daha az miktarlarda olduğunu bildirmiştir. Tiyramin, putresin, kadaverin ve histamin içeriklerinin olgunlaşmanın ilerlemesine bağlı olarak değişim gösterdiğini olgunlaşma tamamlandıktan sonra ise başlangıçtaki ve taze balıktaki miktarlara kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak araştırma sonunda marine edilmiş sardalyalarda biyojenik amin içeriklerine, olgunlaştırma prosesinin etkili olduğu ortaya konulurken asetik asit konsantrasyonunun, histamin dışındaki biyojenik amin içeriklerine herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca balık dokusundaki asitlik değişiminin biyojenik aminlerin oluşumunda etkili olduğu da tespit edilmiştir. Araştırmada biyojenik aminlerin oluşumu üzerine balıkların başlangıç kalitesinin önemli bir role sahip olduğu vurgulanırken, marinasyon işleminde, özellikle taze balığın kullanılması gerektiği de bildirilmiştir.

Cascado ve ark. (2005), marine hamside volatil ve biyojenik aminleri belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, hamsileri vakum paketleyip buzdolabında 3 ay depolamışlardır. Depolama sonunda trimetilamin ve total volatil bazik nitrojen seviyelerinin çok düşük düzeyde olduğu ve sırasıyla 1 ve 10mg/100g şeklinde bildirilmişlerdir. Depolama süresince tiyramin ve serotonin gibi spesifik amin seviyelerinde yavaş bir artışın olduğu bildirilmiştir. Çalışmada ortaya konan hem volatil hem de biyojenik amin değerlerinin, insanların tüketimi için tehlike arz eden kritik değerlerin altında olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak marinasyonda kullanılan sirke konsantrasyonunun ve artışının hamside toplam aminlerdeki azalmaya neden

olabileceği bildirilirken hem volatil hemde biyojenik amin seviyelerinin hammadde kalitesine bağlı olduğu da ortaya konmuştur.

Kılınç ve Çaklı (2005b), %7 asetik asit ve %14 NaCl kullanarak marine ettikleri dondurulmuş sardalya (*Sardina pilchardus*) filetoalarını cam kavanozlarda, 1.5:1 balık:solüsyon oranıyla %2 asetik asit, %4 NaCl, domates sosu ve baharatlarla, ayrıca %2 sitrik asit, %4 NaCl limon ve baharat kullanarak iki ayrı şekilde hazırlayarak, yarısını 70°C'de 20 dakika süreyle pastörize edip diğer yarısını pastörize etmeden depolamışlardır. 6 aylık depolama periyodu boyunca kimyasal, enzimatik ve tekstürel değişimler araştırılmıştır. Araştırmada pastörize edilmemiş sardalya filetolarındaki proteolitik değişimlerin, pastörize edilmişlere göre daha yüksek olduğu ortaya konmuş; bunun nedeninin ise pastörize prosesi boyunca enzimlerin inaktif hale geçmesinden kaynaklandığı şeklinde açıklanmıştır. Çalışmada histidin içeriklerinde azalma, glutamik asit ve aspartik asit içeriklerinde artışın meydana geldiği bildirilmiştir. Marinasyon ve depolama süresince sardalyalarda histamin düzeyi toksik düzey olarak bildirilen 100mg/kg seviyesinden aşağıda kalmıştır. Ayrıca araştırmada diğer bir sonuç olarak, dondurulmuş sardalya filetoalarının pastörizasyon işleminden sonra parçalanmasından dolayı, filetoaların dondurulduktan sonra kullanılmamasının uygun olacağı ve marinasyonda, pastörizasyon işleminin iyi bir proses olmadığı vurgulanmıştır

2.4. Genel Çalışmalar

Varlık ve ark. (1993a) marinat üretiminde sıcaklığın sirke/tuz geçişi üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, cam kavanozlar içerisindeki %2 sirke ve %12 tuz içeren olgunlaştırma çözeltisine, iç organları ve kılçıkları çıkarılmış sardalya örneklerini koyarak +4°C ve +20°C'de depolamışlardır. Depolama süresince, 2 saatlik periyotlarla ette ve çözeltide sirke, tuz ve pH tayinleri yapmışlardır. Sonuç olarak sardalya örneklerinin tuz ve sirkeyi absorbe etme hızının sıcaklıkla değiştiğini gözlemlemişlerdir. 20°C'deki örneklere tuz ve sirkenin +4°C'dekilere kıyasla hızlı geçtiğini, yine pH değerinde 20°C'dekinde daha hızla yükselme olduğunu ve dolayısıyla olgunlaşma süresinin kısaldığını bildirmişlerdir.

Ovayolu (1997), marine edilmiş hamsilerde +4°C’de depolama süresince yağ asitleri değişimlerini incelemiştir; çalışmada 90 gün boyunca 15 gün ara ile yağ asitleri kompozisyonunun ortalama değerleri Çizelge 2.3.’de verildiği gibi bulunmuştur. Araştırma sonunda yağ asitlerin de önemli bir değişimin görülmediği ortaya konmuştur. Ayrıca çalışmada marine edilmiş hamsilerle, çiğ hamsilerin yağ asitleri arasında da önemli bir farklılığın olmadığı da bildirilmiştir.

Çizelge 2.3. Marine edilerek +4 °C' de depolanmış hamsilerin yağ asitleri kompozisyonları (Ovayolu,1997)

| Yağ Asitleri (%) | Depolama Süresi | | | | | | |
|--|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Salamura | 15.gün | 30.gün | 45.gün | 60.gün | 75.gün | 90.gün |
| Doymuş Yağ Asitleri | | | | | | | |
| C _{14:0} Miristik Asit | 9.90 | 9.30 | 9.70 | 11.80 | 10.20 | 10.85 | 8.90 |
| C _{16:0} Palmitik Asit | 17.35 | 21.50 | 17.60 | 17.80 | 19.90 | 18.45 | 18.20 |
| C _{18:0} Stearik Asit | 4.50 | 4.10 | 4.05 | 3.20 | 4.25 | 4.06 | 3.08 |
| C _{20:0} Arashidik asit | 0.90 | 1.35 | 1.00 | 0.90 | 0.75 | 1.45 | 0.55 |
| C _{22:0} Beherik Asit | 0.90 | 1.10 | 0.95 | 1.20 | 1.05 | 1.10 | 0.95 |
| Toplam | 33.5 | 37.5 | 33.3 | 34.9 | 36.15 | 35.91 | 31.68 |
| Tekli Doymamış Yağ Asitleri | | | | | | | |
| C _{14:1} Miristoleik Asit | 1.25 | 1.10 | 1.30 | 1.20 | 1.30 | 1.45 | 1.50 |
| C _{16:1} Palmitoleik Asit | 8.80 | 7.45 | 9.15 | 7.80 | 7.50 | 8.50 | 8.50 |
| C _{18:1} Oleik asit | 15.20 | 17.30 | 19.30 | 18.45 | 19.80 | 19.45 | 17.75 |
| Toplam | 26.10 | 26.80 | 30.30 | 28.35 | 28.95 | 29.90 | 28.55 |
| Çoklu Doymamış Yağ Asitleri | | | | | | | |
| C _{18:2} Linoleik Asit | 9.70 | 8.20 | 10.35 | 8.05 | 9.80 | 9.55 | 8.50 |
| C _{18:3} Linolenik Asit | 2.40 | 3.05 | 1.95 | 1.70 | 2.02 | 2.30 | 2.40 |
| C _{20:4} Eikosatetranoik Asit | 2.90 | 2.45 | 2.65 | 2.65 | 2.90 | 2.70 | 2.95 |
| C _{20:5} Eikosapentanoik Asit | 0.50 | 0.30 | 0.45 | 0.35 | 0.60 | 0.25 | 0.30 |
| C _{22:5} Dekasopentanoik Asit | 11.40 | 10.55 | 9.85 | 11.45 | 10.90 | 8.50 | 11.05 |
| C _{22:6} Dekasoheksanoik Asi | 13.35 | 11.30 | 11.15 | 12.50 | 9.25 | 10.35 | 13.60 |
| Toplam | 40.25 | 35.82 | 36.40 | 36.70 | 35.47 | 33.65 | 38.80 |

Xiong ve ark. (2002), çeşitli tuz (NaCl, CaCl₂) ve asit solüsyonlarında (limon suyu, sitrik asit, tripolyphosphate) marine ettikleri taze hasat edilmiş ve kabukları ayrılmış çiğ ve pişmiş karideslerde (*Machrobrachium rosenbergii*) marinasyonun doku tekstürü üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmada CaCl₂ ve asit solüsyonunda (sitrik asit, limon suyu, pH 3) marine ettikleri çiğ karideste et sıklığının arttığını, diğer solüsyonlarda ve nötr pH'da marine edilen karideslerin kopma gücünde herhangi bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. NaCl ve sitrik solüsyonda 7 pH'da marine edilen pişmiş karideste daha çok yumuşamanın gözlemlendiğini, kopma gücünün 0,33'ten 0,24 kg g⁻¹ düştüğünü bildirmişlerdir. CaCl₂ ve düşük pH'da sitrik asit ve limon suyuyla yapılan marinasyonda, marinasyon süresince pişmiş dokuda sıklığın arttığı ortaya konulmuştur. Tripolyphosphate ile yapılan marinasyonda, tripolyphosphenin dokuda herhangi bir etkisinin gözlenmediği bildirilmiştir.

Çelik (2004), marine edilmiş akivadeste (*Tapes decussatus*) aroma oluşumunu, duyusal değerlendirmeyle ortaya koymaya çalışmış ve yapılan araştırmada akivadeslerin marine edilmesiyle farklı bir lezzetin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Duyusal analizlere katılan panelistler tarafından genel olarak beğeni ile karşılandığının üzerinde durularak, 6.51 olan hammadde pH'nın marinasyon işleminden sonra 4.43 olarak tespit edildiği vurgulanmıştır.

2.5. Yasal Bildirimler

T. C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğünün Su Ürünleri Kalite Kontrol Genel Müdürlüğünün Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabına göre işlenmiş balıklarda aranılan mikroorganizmalar ve sınır değerleri Çizelge 2.4'de verildiği şekilde bildirilmiştir.

Çizelge 2.4. İşlenmiş balıklarda aranılan mikroorganizmalar ve maksimum tolere değerleri

| Aranılacak Mikroorganizma | Maksimum Kabul Değerleri |
|--------------------------------|--------------------------|
| Toplam Aerob Mezofilik Bakteri | 10^6 kob/g |
| Koliform | 95 adet/g |
| <i>E.coli</i> | 6 adet/g |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5×10^3 kob/g |
| <i>Salmonella</i> | 0/25 g kob/g |

Türk Gıda Kodeksinin 2001/29 nolu Bitki Adı İle Anılan Yemeklik Yağlar tebliğine göre ayçiçek yağına ilişkin yağ asitleri kompozisyonunun bildirilen sınır değerleri Çizelge 2.5’da verildiği şekliyle bildirilmiştir.

Çizelge 2.5. Ayçiçek yağının yağ asitleri kompozisyonuna ait tolere değerleri

| Yağ Asitleri | % |
|-------------------|-----------|
| C _{14:0} | TED-0.2 |
| C _{16:0} | 5.0-7.0 |
| C _{16:1} | TED-0.3 |
| C _{17:0} | TED-0.2 |
| C _{17:1} | TED-0.1 |
| C _{18:0} | 2.7-8.5 |
| C _{18:1} | 14.0-39.4 |
| C _{18:2} | 48.3-74.0 |
| C _{18:3} | TED-0.3 |
| C _{20:0} | 0.1-0.5 |
| C _{20:1} | TED-0.3 |
| C _{22:0} | 0.3-1.5 |
| C _{24:0} | TED-0.5 |

TED: Tespit edilemeyen düzey

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak Karadenizden yakalanan Hamsi (*Engraulis engrasicholus*) filetoları kullanılmıştır. Yeni yakalanan hamsiler, buzla kaplı tahta kasalar içerisinde soğuk zincirde, ortalama 1.9°C'lik bir iç sıcaklıkla özel bir balık işleme tesisine getirilmiş ve plastik kasalara aktararak, marine üretimi yapılmak üzere 0-2°C'lik soğuk odada depolanmıştır. Avlanma ile marinasyona başlama arasında geçen süre yaklaşık 48 saattir.

3.1.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasal Maddeler

SEYRELTME SIVISI

| | |
|--------|--------|
| NaCl | 8.5g/l |
| Pepton | 1.0g/l |

Yukarıdaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek, pH'sı 7.2±0.2 olacak şekilde tamponlandıktan sonra tüplere dağıtılarak 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

TAMPONLANMIŞ PEPTONLU SU

| | |
|----------------------------------|--------|
| Pepton | 10g/l |
| NaCl | 5.0g/l |
| Na ₂ HPO ₄ | 6.0g/l |
| KH ₂ PO ₄ | 1.5g/l |

Yukarıdaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek pH 7.2 ± 0.2 olacak şekilde tamponlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilizasyonu sağlanmıştır.

KOVAC'S INDOLE AYIRACI (MERCK)

IODINE SOLÜSYONU: Tetrionate broth için katkı maddesi; 6g iodine kristali ve 5g potasyum iyodür'ün 20ml distile suda eritilmesiyle sağlanmıştır.

EGG-YOLK TELLURIT (MERCK): Baird Parker Agar besi yeri için katkı maddesi

3.1.2. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri

Toplam aerob mezofilik bakteri ve psikrofil bakteriler için PLATE COUNT AGAR (MERCK), koliform bakteriler için VIOLET RED BİLE AGAR (MERCK) *E.coli* ve koliform için FLUOROCULT LAURYL SULFATE BROTH (MERCK), *Staphylococcus- Micrococcus* için BAIRD PARKER AGAR (MERCK), Maya ve Küf için POTATO DEXTROSE AGAR, *Salmonella* için TETRATHIONATE BROTH BASE, SS AGAR (MERCK) ve XLD AGAR (MERCK), Histamin üreten bakteriler için ise Çizelge 3.1.'de belirtildiği şekilde hazırlanan NIVEN'S besi yeri kullanılmıştır.

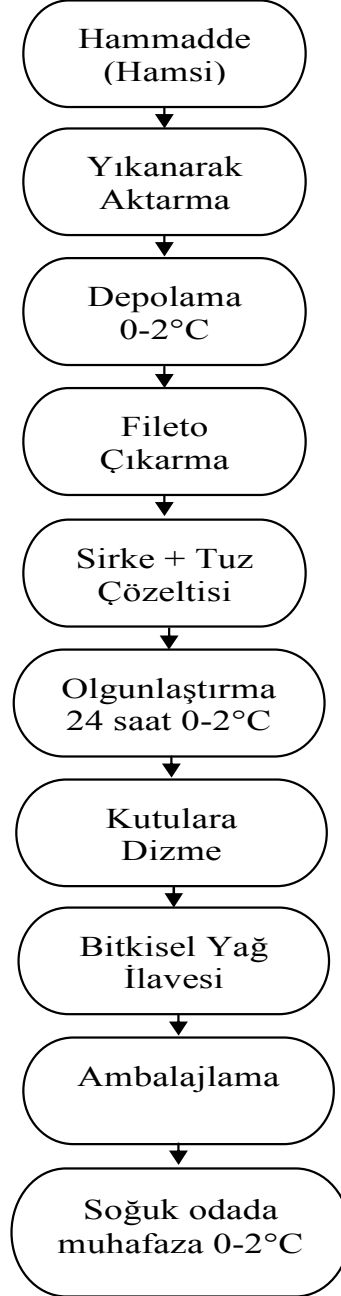
Çizelge 3.1. Histamin üreten bakteriler için modifiye edilmiş Niven besiyeri

| İçerikler | Miktar |
|--------------------|--------|
| L-Histidine | 23.5 g |
| Yeast extract | 5.0 g |
| Technical Agar | 20.0 g |
| Bromocresol purple | 0.06 g |
| Tryptone | 5.0 g |
| NaCl | 5.0 g |
| CaCO ₃ | 1.0 g |

Yukarıdaki maddeler 1 litre distile suda eritilerek pH 6.5 olacak şekilde tamponlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklav kullanılarak sterilizasyonu sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

Araştırmanın akışını gösteren basamaklar, aşağıdaki akış şemasında verildiği şekildedir.



Şekil 3.1. Marinat yapımı akış şeması

Karadeniz'den Kasım 2004 tarihinde avlanan balıklar, tahta kasalarda buz içerisinde özel bir balık işleme tesisine getirilmiş ve ardından plastik kasalara

aktarılarak soğuk odada depolanmıştır. Daha sonra marine edilmek üzere iç organları ve kılçıkları temizlenip fileto haline getirilerek 0.28ppm serbest klor içeren işletme suyu ile iyice yıkandıktan sonra, başlangıç analizleri için mikrobiyolojik incelenmeye alınacak filetolar hariç, hazırlanmış bütün filetolar %10 tuzluluk, %4.5'lik alkol sirkesi ve %0.2 sitrik asit ile hazırlanmış salamuraya yatırılarak 24 saat süreyle 0-2°C'lik soğuk odada olgunlaşmaya bırakılmıştır. Olgunlaştırma işleminde salamura:balık oranı 10:9 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Olgunlaştırma işleminin ardından 250g'lık şeffaf plastik ambalaj kutulara 175g fileto dizilip, 75g ayçiçek yağı dolgu sıvısı olarak ilave edildikten sonra manuel vakumlamayla kutular kapatılıp, 0. gün analizleri için incelemeye alınan marine edilmiş filetolar hariç, diğerleri 0-2 °C' de depolanmak üzere saklanmıştır.



Şekil 3.2. Marine edilmiş hamsi (*Engraulis engrasicholus*) filetosu

Her ay 250g'lık ambalajlardan herhangi üç tanesi tesadüfi olarak alınıp, buz içerisinde incelemenin yapılacağı Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi bölümüne ait laboratuara getirilmiştir.

3.2.1. Örneklerin Analizlere Hazırlanması

Araştırmanın ayçiçek yağı ilave edilmiş filetolarda yürütülmesi nedeniyle, mikrobiyolojik analizler hariç diğer analizler öncesinde filetoların süzdürülmesi sağlanmıştır. Daha sonra fileto örnekleri steril edilebilir çelik blender kullanılarak çok iyi bir şekilde homojenize edilmiştir.

3.2.2. Besin Değerleri Analizi

3.2.2.1. Ham Protein Analizi

Protein analizinde kullanılmak üzere homojenize edilmiş fileto örneğinden yaklaşık 1g örnek, 0.1mg'a duyarlı hassas terazide tartılarak Kjeldahl cihazının tüplerine koyulmuştur. Bunun üzerine de yaklaşık 2g katalizör ($K_2SO_4 + Cu_2SO_4$ karışımı) ve 10ml H_2SO_4 eklenerek tüplerin içerisindeki örnek yeşil sarı saydam bir renk oluşturuncaya kadar $420^\circ C$ 'de yaş yakma bloğuna yerleştirilerek yakılmıştır. Yakma işleminin ardından bu tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmış, soğuma sağlandıktan sonra tüplere 50ml distile su ve 50ml % 33'lük NaOH ilave edilmiştir. Destilat yakalama kısmına da, bir erlen içerisinde 35ml N/7'lik H_2SO_4 ve 3 damla metil kırmızısı (0.1g metil kırmızısı/100ml alkol) eklenerek yerleştirilmiştir. Erende 100ml sıvı toplanıncaya kadar destilasyona devam edilmiş, daha sonra erlendeki destilat N/7'lik NaOH ile titre edilerek örnekteki % ham protein hesaplanmıştır (Mattissek ve ark, 1988).

Numunenin ham protein oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Ham Protein Oranı} = \frac{[(N/7 H_2SO_4 \times F) - (N/7 NaOH \times F)] - [(N/7 H_2SO_4 \times F) - (N/7 NaOH \times F)]}{\text{Örnek Miktarı}} \times 1.25$$

3.2.2.2. Lipit Analizi

Lipit analizi Bligh ve Dyer (1959)'in uyguladığı yöntem esas alınarak yapılmıştır. Bu amaçla 15g homojenize edilmiş örnek üzerine 120ml metanol/kloroform (1/2) eklendikten sonra Warring blender ile karıştırılmıştır. Daha sonra bu örnekler üzerine 20ml %0.4'lük CaCl₂ solüsyonundan eklenerek süzme kağıdından (Scleicher&Schuell, 595^{1/2} 185 mm) süzülen örnekler 105°C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan balon jodelere süzdürülmüştür. Bu balonlar ağızları hava almayacak şekilde kapatılıp 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol-sudan oluşan üst tabaka bir ayırma hunisi yardımıyla alınmıştır. Balonların içinde kalan kloroform-lipit kısmından 60°C'lik su banyosunda rotary evaporatör kullanılarak uçurulmuştur. Daha sonra balonlar etüvde 1 saat süreyle 90°C'de bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamının uçması sağlanmış ve bir desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılmıştır. Aşağıdaki formül yardımıyla % yağ miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Lipit Miktarı (\%)} = \frac{(\text{Balon Darası (g)} + \text{Lipit (g)} - (\text{Balon Darası (g)} \times 100)}{\text{Örnek Miktarı (g)}}$$

3.2.2.3. Nem Analizi

Nem analizi Ludorf ve Meyer (1973)'in uyguladığı yöntem esas alınarak yapılmıştır. Petri kutuları etüvde 105°C'de 1 saat süreyle kurtulmuş ve desikatörde 30 dakika süreyle soğutulduktan sonra 0.1mg duyarlı hassas terazide darası alınmıştır. Daha sonra homojenize edilmiş örnekten darası alınan petrilere yaklaşık 4-5g koyularak sabit bir ağırlığa ulaşana kadar (8 saat) kurutulmuştur. Bu işlemin ardından oda sıcaklığına kadar soğumaları için desikatöre yerleştirilmiş ve 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılarak sonuçlar kaydedilmiştir.

Analiz sonucunda örneğe ait nem miktarı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{Nem miktarı} = \frac{\text{İlk Tartım} - \text{Son tartım} * 100}{\text{Örnek miktarı}}$$

3.2.2.4. Ham Kül Analizi

Ham kül analizi gerçekleştirmek amacıyla kullanılan porselen krezeler ilk önce 103°C’de 2 saat süreyle etüvde kurutulup daha sonra desikatörde soğutulularak 0.1mg duyarlı hassas terazide daraları alınmıştır. Krezeler içerisine daha önce homojenize edilmiş örnekten 3.5-5g tartılıp, bu örnekler 550°C’de 4 saat tutularak renginin açık gri olduğu gözlenene kadar yakma işlemine devam edilmiştir. Yakma işleminin ardından desikatör içinde oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra hassas terzide tartılmıştır (Mattissek ve ark., 1988). Örneğe ait % ham kül sonuçları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Kül (\%)} = \frac{[\text{Dara (g)} + \text{Ham Kül (g)}] - \text{Dara (g)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100$$

3.2.3. Duyusal Değerlendirme

Varlık ve ark. (1993b)’nin bildirdiğine göre, marine edilmiş hamsinin duyusal değerlendirmesi, Shormüller (1968) tarafından kullanılan şemanın ayçiçek yağlı natürel marine hamsiye göre modifiye edilip oluşturulmasıyla yapılmıştır. Değerlendirmeler 6 deneyimli panalist tarafından görünüş, koku – lezzet, tekstür gibi kategoriler dikkate alınarak 1’den başlayarak 9’a kadar puan üzerinden yapılmıştır. Puanlama sisteminde 7-9 arası “çok iyi”, 4.1-6.9 arası “iyi”, 4 “tüketilebilirliği”, 1-3.9 arası ise kabul edilemezliği göstermektedir. Tekstür ise 1’den başlayarak 4’e kadar puan üzerinden değerlendirilmiştir

Çizelge 3.2 Shormüller (1968)'in ayçiçek yağlı natürel marine hamsiye göre modifiye edilmiş duyusal değerlendirme şeması (Varlık ve ark.,1993)

| GÖRÜNÜŞ | Verilen Puan | | | | | | | | |
|--|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 |
| Kutu içerisinde balık veya etinin uygun renkte oluşu | | | | | | | | | |
| Kutu içerisindeki balığın yerleşme durumu parça ve tane büyüklüğünün uygunluğu | | | | | | | | | |
| Kutu içerisindeki yağ veya sosun kıvam ve berraklığı | | | | | | | | | |
| KOKU- LEZZET | Verilen Puan | | | | | | | | |
| Balık eti kendine özgü hoşça giden kokuda | | | | | | | | | |
| Balık eti kendine özgü, çeşnili, hoşça giden kokuda | | | | | | | | | |
| Dolgu sıvısı kendine özgü hoşça giden lezzette | | | | | | | | | |
| TEKSTÜR | Verilen Puan | | | | | | | | |
| Balık eti yeterince sert (4); Lifli (3) Biraz Yumuşak(2); Çok Yumuşak(1) | | | | | | | | | |

3.2.4. Kimyasal Analizler

3.2.4.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Tayini

Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) tayini, Antonacopoulos (1973)'un uyguladığı yöntem esas alınarak, destilasyon işlemiyle yapılmıştır (Varlık ve ark.,1993b). Bu amaçla kullanılmak üzere, homojenize edilmiş örnekten yaklaşık 10g, 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılarak Kjeldahl cihazının tüplerine aktarılmış ve üzerine yaklaşık 1g kadar magnezyum oksit ve 100ml distile su ilave edilmiştir. Bir erlen içerisine de 10ml %3'lük borik asit ve sekiz damla metilen kırmızısı ilavesi ardından, ortalama 100ml distile su ile üzeri tamamlanarak, destilasyon ünitesinin destilat toplama kısmına yerleştirilmiştir. Destilasyona, erlende 200ml sıvı toplanıncaya kadar devam edilmiştir. Daha sonra erlen içerisinde toplanan destilat, 0.1N'lik hidroklorik asit ile nötr noktaya kadar (renk dönüşümü oluşuncaya kadar) titre edilmiştir. Harcanan 0.1N'lik hidroklorik asit miktarına bağlı olarak, TVB-N'nin değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{mg TVB-N}/100 \text{ g} = A \times 1.4 \times 100 / B$$

A= ml olarak harcanan 0.1N'lik asit miktarı

B= Örneğin tartım ağırlığı

3.2.4.2. Tiyobarbitürik Asit (TBA) Sayısı Tayini

Tarladgis ve ark. (1960)'nın uyguladığı yöntemine göre yapılmıştır. Bu amaçla homojenize edilmiş örnekten tam 10g örnek 0.1mg duyarlı hassas terazide tartılarak, Kjeldahl cihazının tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örneğin üzerine 97.5ml distile su ve 2.5ml (1:2)'lik HCl çözeltisi ilave edilerek destilasyon işlemine geçilmiş ve 200ml destilat elde edilinceye kadar kaynatılmaya devam edilmiştir. Kaynatma işleminin sona ermesinin ardından destilat karıştırılarak, 5ml' si cam kapaklı deney tüpüne yerleştirilmiş ve üzerine de %90'luk 100ml glacial asetik asit içerisinde 0.2883g çözdürülmüş 5ml TBA reaktifi ilave edilerek tüpün kapağı kapatılıp, bir vorteks kullanılarak karıştırılmıştır. Kör için ise bir başka deney tüpüne 5ml TBA reaktifi ve 5ml distile su ilave edilerek kapağı kapatılıp yine vorteksle karıştırıldıktan

sonra, tüpler kaynayan su banyosunda 35 dakika tutulup, soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra spektrofotometre tüplerine aktarılarak 538nm dalga boyunda köre karşı, optik dansitesi okunmuştur. Elde edilen dansite değeri ise 7.8 ile çarpılarak 1000g örnekteki mevcut malonaldehit miktarı mg olarak saptanmıştır (Varlık ve ark., 1993b).

3.2.4.3. Peroksit Sayısı

Ekstrakte edilmiş 1g lipit örneği üzerine 20ml kloroform ilave edilmiş ardından, 50ml asetik asit:kloroform (60:40) çözeltisi ilave edilerek lipit tamamen çözülene kadar çalkalanmıştır. Lipidi çözme işleminin ardından 1ml, doymuş potasyum iyodür ilave edilerek 1-2 dakika süreyle kaynatılmıştır. Daha sonra 20 saniye gibi bir süre döndürerek çalkalama işleminin ardından karanlık bir ortamda 30 dakika bekletildikten sonra 100ml distile su ilave edilip ardından %1'lik nişasta solüsyonundan birkaçla damla damlatılıp berrak renk oluşana kadar kaynatılarak 0.002M'lık sodyum tiyosülfatla titre edilmiştir. Aynı uygulama lipit olmaksızın kör içinde yapılmıştır. Hesaplama ise aşağıdaki formül yardımıyla gerçekleştirilmiştir (AOAS, 1994).

$$\text{Peroksit Sayısı} = \frac{2(C-B)}{W} \text{ mEq/kg}$$

C: Harcanan 0.002M'lık sodyum tiyosülfat (ml cinsinden)

B: Kör için harcanan 0.002M'lık sodyum tiyosülfat (ml cinsinden)

W: Örnek Ağırlığı

3.2.4.4. Serbest Yağ Asitleri Analizi

Önceden ekstrakte edilmiş lipitten 0.5g örnek tartılarak, dietileter:etanol (25:25 ml oranında) içerisinde nötrale edilmiştir. Daha sonra bu dietileter:etanol içerisine 1ml, %1'lik fenolftalein indikatörü ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışım 0.1M'lık sodyum hidroksit ile kalıcı pembe renk oluşuna kadar (en az 15 saniye

süreyle) titre edilerek nötralizasyonu sağlanmıştır. %'de serbest asit miktarı oleik asit cinsinden aşağıdaki formül yardımıyla hesap edilmiştir (AOAS, 1994).

$$\% \text{ Serbest Yağ Asit} = (C-B) \times 2.805 / w$$

C: Harcanan 0.1M'lık NaOH miktarı ml cinsinden

B: Kör için harcanan 0.1M'lık NaOH miktarı ml cinsinden

W: Örnek ağırlığı

2.805: Dönüşüm faktörü

3.2.4.5. Yağ Asitleri Tayini

Eksrakte edilmiş lipitten, yağ asidi metil esterleri, methanol ve *n*- hexan içinde 2M'lık KOH oluşmuş transmetillendirme yöntemi ile hazırlanmıştır. 10mg eksrakte edilmiş yağ örneği üzerine 4ml 2M'lık KOH oluşan 2ml hexan ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırılmış ve 4000rpm' de 10 dakika süreyle santürlü edilmiş ve hexan tabakası GC'de analiz için alınmıştır. Yağ asitleri kompozisyonu alev iyonizasyon dedektörlü (FID) ve 30m x 0.32mm ID x 0.25µm film kalınlığında SGE kolonlu otomatik örnekleme (Perkin Emler,USA) GC (Gaz kromatografik) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör ve detektör sıcaklıkları sırasıyla önce 220°C sonra 280°C' ye ayarlanmıştır. Bu esnada fırın sıcaklığı 5 dakikada 140 °C'de tutuldu. Sonrasında 200 °C'ye kadar, her dakika 4 °C arttırılarak, 200 °C'den 220'ye de her dakika 1°C arttırılarak getirildi. Örnek miktarı 1ml olup, taşıyıcı gazı kontrolü 16ps'de olması sağlanmıştır. Enjeksiyon uygulaması 1:100 oranında gerçekleştirilmiştir. Yağ asitleri standart 37 bileşenden oluşan FAME karışımının gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlandı. Aynı şekilde yapılan iki GC analiz sonuçları ± standart sapma değerleri ile % olarak GC bölümünde ifade edildi (AOAC, 1990).

3.2.4.6. pH Ölçümü

pH ölçümleri homojenize edilmiş fileto örneğine, sivri uçlu et probu batırılarak, Hana marka dijital pH metre ile yapılmıştır. Homojenizasyon 1:10

oranındaki fileto: distile su olacak şekilde sağlanmıştır (Lima Dos Santos ve ark., 1981)

3.2.4.7. Biyojenik Aminler

Biyojenik aminler, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) metodu (Özoğul ve ark., 2000a) kullanılarak analiz edilmiştir. Homojenize edilmiş fileto örneğinden 5g alınıp üzerine 20ml %6'lık Trikloroasetik asit (TCA) eklenerek Ultraturaksta 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler daha sonra filtre kağıdından (Scheicher&Schuell, 595^{1/2} 110mm) süzülmüştür. Bu örnekler distile su ile 50ml' ye tamamlanıp, analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-18°C) depolanmıştır.

Standart amin solüsyonlarının hazırlanması: Triptamin hidroklorid (122.8mg), putresin dihidroklorid (182.9mg), 2-feniletülamın hidroklorid (130.1mg), kadaverin dihidroklorid (171.4mg), spermidin trihidroklorid (175.3mg), spermin tetrahidroklorid (172.0mg), histamin dihidroklorid (165.7mg), tyramin hidroklorid (126.7mg) 10 ml HPLC için ultra saf suda çözülmüştür.

Türevlendirme maddesi olarak benzoil klorid kullanılıp, türevlendirme işlemi Özoğul ve ark. (2002a)'e göre yapılmıştır. Standart amin solüsyonunun türevlendirmesi için, her bir saf orijinli standart solüsyonundan (10mg/ml) 50µl alınmıştır.

Dört kanallı mikser (Shimadzu, FCV-10ALVP) ile bir düşük kademeli pompa (Shimadzu, FCV-10ATVP) ve bir UV/VIS detektörü (Spectra-Physics SP 8450, Analytical, UK) bulunan bir Shimadzu LC 10-VP (Shimadzu, Kyoto, Japan) aleti kullanılarak, yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) analizi yapılmıştır. Aminlerin tespitinde, 250x4.6mm ebadında ve 5µm çapında reverse-phase, C18, nukleosil kolon (Mecherey-Nagel, Duren, Germany) kullanılmıştır.

3.2.5. Mikrobiyolojik Analizler

Katı gıdalarda bulunan mikroorganizmaların ayrılması ve sayımı için, örneklerin homojenize edilerek sıvı ortama alınmaları gerekir (Varlık ve ark.,1993b).

Bu amaçla örnekler steril edilmiş çelik blendırda homojenize edilmiştir. Homojenize edilen fileto örneğinden, aseptik koşullarda 10g örnek 90ml peptonlu seyreltme sıvısına tartılarak 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmıştır. Daha sonra 10^{-5} 'e kadar gerekli seyreltme serisi hazırlanmıştır. Mikrobiyolojik analizler, özel bir balık işleme tesisinin Mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.1. Toplam Aerob Mezofilik Bakteri ve Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı

Bu amaçla paralel petri kutularına uygun dilüsyonlardan 0.5-0.1ml yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Toplam aerob mezofilik bakteri sayımı için plaklar 30°C 'de 48 saat, toplam psikrofil aerob bakteri sayımı için ise $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 14 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 30-300 koloni içeren plaklar sayılarak örneğin gramındaki bakteri sayısı belirlenmiştir (Merck, 1998).

3.2.5.2. Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı

Bu amaçla Fluorocult Lauryl Sulfate Broth (sıvı besi yeri) kullanılarak, EMS (En Muhtemel Sayı) yöntemine göre ekim yapılmıştır. Tüpler 37°C 'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Gaz oluşturan tüpler koliform olarak değerlendirilmiş ve kaydedilmiştir; negatif olanlar ise 24 saat daha inkübe edilerek, bu süre sonunda bakteri sayısı En Muhtemel Sayı (EMS) olarak hesap edilmiştir (Merck,1998).

3.2.5.3. *E. coli* Sayımı

Bunun için gaz oluşturan ve koliform olarak kaydedilen dürham tüplü fluorocult deney tüpleri 366nm uzun dalga boylu UV el lambası ile loş bir ortamda kontrol edilmiştir. Floresan ışınım görülen tüpler *E.coli* olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra bu floresan ışınım veren kültüre 1ml Kovaks indol ayırıcı damlatılarak tüp yüzeyinde kırmızı bir renk tabakası oluşumu gösterenler pozitif olarak kaydedilmiş ve *E.coli* sayısı En Muhtemel Sayı (EMS) olarak verilmiştir (Merck,1998).

3.2.5.4. *Salmonella* Aranması

Bunun için homojenize edilmiş 25g örnek, aseptik koşullarda 225ml tamponlanmış peptonlu su içerisine tartılmıştır. Bu homojenat 37°C'de 24 saat inkübe edilerek bir ön zenginleştirme işlemi uygulanmıştır. Bu kültürden, seçici zenginleştirme besi yeri olan tetrasyonat broth' un 10ml sine 1ml eklendikten sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bu kültürden öze ile SS agar plaklarına sürme ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Oluşan şeffaf, merkezi siyah noktalı şüpheli kolonilerden öze ile yine SS agar ve XLD besi yerine transfer edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından *Salmonella* yönünden değerlendirilmiştir (Halkman ve ark., 1994).

3.2.5.5. *Staphylococcus - Micrococcus* Bakteri Aranması

Bu amaçla BAIRD PARKER AGAR besi yeri kullanılmış ve uygun dilüsyonlardan 14cm' lik petri kutusuna doğrudan 1ml ekim yapılarak, plaklar 37°C' de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin ardından plaklarda kolonilerin oluşup oluşmadığına bakılarak değerlendirme yapılmıştır (Merck,1998).

3.2.5.6. Maya ve Küf Sayımı

Bu amaçla paralel petri kutularına uygun seyreltmelerden 0.5-0.1ml yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. 25°C'de 5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Maya ve Küfler aynı besi yerinde sayılmıştır (Merck,1998).

3.2.5.7. Histamin Üreten Bakterilerin Aranması

Bu amaçla paralel petri kutularına uygun dilüsyonlardan 0.5-0.1ml yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Histamin üreten bakterilerin sayımı için plaklar 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 30-300 koloni içeren plaklar sayılarak örneğin gramındaki histamin üreten bakteri sayısı belirlenmiştir (Niven ve ark.,1981).

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Araştırma sonucunda elde edilen veriler Microsoft Windows için SPSS 13.0 paket programı kullanılarak; one-way-Anova (Tek Yönlü Varyans Analizi) modeli seçilerek, LSD (Least Significant Difference) testi uygulanmıştır (Xiong ve ark., 2002). Duyusal değerlendirme için ise Kruskal Wallis testi uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Besin Değerleri ve Yağ Asitleri Kompozisyonu

Marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcındaki (0.gün) besin değerleri Çizelge 4.1.'de, yağ asitleri kompozisyonu ise Çizelge 4.2.'de, ayçiçek yağına ait kompozisyon ise Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.1. Marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcındaki (0.gün) besin değerleri

| Besin Değerleri | (%) Ortalama±standart sapma |
|-----------------|-----------------------------|
| Protein | 18.07±0.21 |
| Lipit | 11.71±0.53 |
| Nem | 66.03±0.28 |
| Kül | 3.62±0.02 |

Örnek sayısı; n=3

Bu çalışmada elde edilen ham protein değeri, Şengör ve ark. (1999)'nın çeşitli su ürünlerinin kimyasal kompozisyonlarını araştırmak üzere yaptıkları çalışmalarda taze hamside bildirdikleri ortalama %16.65±0.21 protein değerine yakın bir değer göstermiştir. Aynı araştırmacı hamsideki yağ oranını %2.35±0.14 olarak bildirirken Ovayolu (1997), taze hamsideki yağ oranını %7.1, protein oranını %15 olarak bildirmiştir. Yaptığımız araştırmada marine edilmiş hamsideki protein değeri söz konusu araştırmacıların taze hamside bildirdikleri protein değerine yakın bir değer göstermiştir.. Özden (2005)' in marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) raf ömrü süresince yağ asitleri kompozisyonu tespit etmeye çalıştığı araştırmada taze hamsi filetoalarının protein oranın marinasyondan önce %18.02±0.92 bildirirken, marine edildikten sonra %19.10±1.04 olarak bildirmiştir. Benzer şekilde yağ oranın taze hamside marinasyon işleminden önce %10.32±0.75 bildirirken, marine edildikten sonra %11.51±0.98 olarak bildirmiştir. Dolayısıyla söz konusu araştırmacının marine edilmiş hamsideki protein ve yağ içeriğine ait bulgularıyla,

yaptığımız araştırmada elde ettiğimiz bulgular benzerlik göstermektedir. Marinasyonda olgunlaştırma işleminin balıkta minimum düzeyde protein kaybına neden olabileceği düşüncesini ortaya koyan bir çalışmada Kılınç (2003)'ın sardalya balığından marinat üzerine yaptığı çalışmada bildirilmiştir. Sardalya filetolarındaki protein oranı marinasyondan önce 13.20 ± 0.10 olarak bildirilirken, marine edilmiş filetolarda 15.37 ± 0.31 olarak tespit edilmiştir. Yağ oranını marinasyondan önce 3.60 ± 0.66 olarak bildirirken, marine edilmiş filetolarda 4.44 ± 1.58 olarak bulmuştur. Benzer şekilde nem içeriklerini 79.47 ± 2.02 olarak bildirirken, marine edilmiş filetolarda 73.70 ± 3.56 olarak bildirmiştir.

Bir başka araştırmada, Gökoğlu ve ark. (1999)'nın hamsinin (*Engraulis engrasicolus*) mevsimsel değişimlerini belirlemek üzere yaptığı çalışmada yağ içeriğini Ocak, Şubat, Mart, Nisan, Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında ortalama sırasıyla %9.9 (0.56), %7.8 (0.21), % 5.1 (0.29), % 6.9 (0.06), %10.4 (0.60), %11.1 (0.37), %13.6 (0.18) ve %11.7 (0.76) olarak bildirmişler ve Kasım ayında avlanan balıklardaki yağ içeriğinin (%13.6 (0.18)) en yüksek değerde olduğuna dikkati çekmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar hamsilerdeki yağ ve nem içeriği arasında ters bir ilişkinin var olduğuna dikkati çekerek aylara göre % nem değişimlerin sırasıyla %67.5 (0.45), %71.3 (0.55), %74.2 (0.53), %77.0 (0.31), %67.2 (0.31), %68.0 (0.54), %66.0 (0.24) ve %70.4 (0.72) olarak bildirerek en düşük değerin yine kasım (%66.0 (0.24)) ayında gözlendiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak yaptığımız araştırmada kullanılan balıkların da Kasım ayında avlanan balıklar olduğunu düşünürsek yağ ve protein içeriğinin söz konusu araştırmacıların taze balık için bildirdiği değerlere yakınlık göstermesinden dolayı marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicolus*) iyi bir protein ve enerji kaynağı olduğunu söylemek mümkündür.

Çizelge 4.2. Marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcındaki (0.gün) yağ asitleri kompozisyonu

| Yağ Asitleri (%) Ortalama±standart sapma | | |
|---|------------------------|--------------|
| C _{12:0} | Laurik asit | 0.045±0.007 |
| C _{14:0} | Miristik asit | 6.575±0.120 |
| C _{14:1} | Miristoleik asit | 0.030±0.000 |
| C _{15:0} | Pentadecanoik asit | 0.930±0.014 |
| C _{15:1} | Pentadecaenoik asit | 0.130±0.000 |
| C _{16:0} | Palmitik asit | 18.725±0.233 |
| C _{16:1} | Palmitoleik asit | 6.900±0.212 |
| C _{17:0} | Margarik asit | 0.700±0.014 |
| C _{17:1} | Heptadesenoik asit | 0.085±0.007 |
| C _{18:0} | Stearik asit | 3.610±0.065 |
| C _{18:1} | Oleik asit | 13.040±0.212 |
| C _{18:2n-6} | Linoleik asit | 4.465±0.091 |
| C _{18:3n-6} | Gamma-Linolenik asit | 0.245±0.007 |
| C _{18:3n-3} | Alfa-Linolenik asit | 0.980±0.014 |
| C _{18:4n-6} | Stearidonik asit | 0.620±0.014 |
| C _{20:0} | Arashidik asit | 1.035±0.035 |
| C _{20:1} | Ekosenoik asit | 0.240±0.141 |
| C _{20:2n-6} | Eikosadienoik asit | 0.190±0.000 |
| C _{20:3n-6} | Dihomo-Gamma Linolenik | 0.080±0.000 |
| C _{20:4n-6} | asit | 0.130±0.014 |
| C _{20:5n-3} | Arachidonik asit | 10.545±0.162 |
| C _{22:0} | Eicosapentaenoik asit | 0.740±0.084 |
| C _{22:1n-9} | Beherik asit | 0.085±0.007 |
| C _{23:0} | 13-Docosenoik asit | 0.180±0.000 |
| C _{22:6n-3} | Hexacosanoik asit | 17.685±0.247 |
| ΣSFA | Docosahexaenoik asit | 32.360 |
| ΣMUFA | | 20.510 |
| ΣPUFA | | 34.940 |
| Tespit Edilemeyen | | 12.190 |

Örnek sayısı; n=2

Çizelge 4.3. Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) kullanılan ayçiçek yağına ait yağ asitleri kompozisyonu

| Yağ Asitleri (%)Ortalama±standart sapma | |
|--|------------|
| C _{14:0} Miristik Asit | 0.07±0.09 |
| C _{16:0} Palmitik Asit | 5.98±1.00 |
| C _{16:1} Plamitoleik Asit | 0.16±0.01 |
| C _{17:0} Margarik Asit | 0.06±0.01 |
| C _{17:1} Heptadesenoik Asit | 0.04±0.02 |
| C _{18:0} Stearik Asit | 3.43±3.15 |
| C _{18:1} Oleik Asit | 37.79±0.08 |
| C _{18:2} Linoleik Asit | 50.94±1.32 |
| C _{18:3} Linolenik Asit | 0.13±0.12 |
| C _{20:0} Araşidik Asit | 0.25±0.20 |
| C _{20:1} Ekosenoik Asit | 0.20±0.07 |
| C _{22:0} Behenik Asit | 0.74±0.60 |
| C _{24:0} Lignoserik Asit | 0.24±0.18 |

Örnek sayısı; n=2

Balık ve balık yağlarının organizma için önemi yapısındaki doymamış yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır. Son yıllarda yağ asitleri analizlerinin bilim ve endüstri alanında yoğun ilgiye maruz kalmaları bu doymamış yağ asitlerinin beslenmedeki öneminden, dolayısıyla insan sağlığında oynadığı rollerden kaynaklanmaktadır ki n-3 yağ asidi özellikle eicosapentaenoik asit (C_{20:5n-3}) ve docosahexaenoic asit (C_{22:6n-3}) insan sağlığıyla birebir ilişkilidir. Omega 6 aşırı doymamış yağ asitleri, insan vücudunda çok büyük etkilere sahip olan eikosanoid (prostaglandinler, tromboksanlar ve lekositler) metabolizmasında düzenleyici rollere sahip oldukları gibi omega 3 polienoik yağ asitleri, trigliserid ve kolesterol seviyesini düşürmede, göğüs kanseri semptomlarını hafifletmede, retina ve beyin gelişiminde, ateşli rahatsızlıklarda, kalp ve damar rahatsızlıklarının önlenmesinde oldukça

etkilidir. Dolayısıyla insan sağlığı açısından bu derece önemli olan balıkların, değişik dokularındaki yağ asitlerinin ortaya konulması son derece önemlidir (Kara, 2001; Aidos ve ark.; 2003; Özoğul ve ark., 2005a; Zlatanov ve Laskaridis, 2006).

Balıklardaki yağ ve yağ asidi kompozisyonu sabit değildir. Bunlar mevsimsel değişimlere bağlı (sıcaklık, tuzluluk) olarak değişim gösterebildiği gibi, balığın yaşam döngüsüyle, beslendiği gıdaların yağ asidi kompozisyonu gibi faktörlere bağlı olarak değişim gösterir (Ingólfssdóttir ve ark. 1996; Zlatanov ve Laskaridis, 2006).

Ovayolu (1997), marine edilmiş hamsilerde yağ asitleri değişimini araştırdığı çalışmada depolama süresince palmitik asit oranının ($C_{16:0}$) %17.35-21.5 arasında değiştiğini ve doymuş yağ asitleri içerisinde en yüksek oranda olduğunu saptamıştır. Bizim yaptığımız araştırmada palmitik asit oranı 18.725 ± 0.233 'lük değerle aynı şekilde en yüksek doymuş yağ asidi olarak bulunmuştur. Söz konusu araştırmacı aynı şekilde tekli doymamış yağ asitleri içerisinde oleik asitin ($C_{18:1}$) %17.30-%19.80 arasında değiştiğini bildirmiş ve en yüksek değerde olduğunu saptamıştır. Diğer tekli doymamış yağ asitlerinden palmitoleik asit ($C_{16:1}$) oranının %9.15-7.45 arasında değiştiğini, miristoleik asit oranının ise ($C_{14:1}$) %1.25-%1.50 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Bulgularımız söz konusu araştırmacı tarafından desteklenir niteliktedir

Özden (2005), marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) raf ömrü süresince yağ asitleri kompozisyonu tespit etmeye çalıştığı araştırmada, taze balık ve marine edilmiş balıkta bildirdiği yağ asitleri konsantrasyonları ile araştırmamızda elde edilen bulgular arasında benzerlik bulunmakla birlikte, araştırmada marinyasyon işleminin minimum düzeyde yağ ve yağ asitleri kompozisyonu kaybına neden olabileceği ortaya çıkmaktadır.

Zlatanov ve Laskaridis (2006), hamsideki (*Engraulis engrasicholus*) yağ asitleri kompozisyonunun mevsimsel değişimini incelemek üzere şubat, nisan, haziran, ağustos, ekim ve aralık aylarında avlanan örneklerden yaptıkları çalışmada buldukları % yağ asidi konsantrasyonlarının tamamıyla mevsimlere bağlı olarak değişim gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin yapılan çalışmada palmitik asit ($C_{16:0}$) oranının nisan ayında en düşük oranda olduğu gözlenirken ekim ayında ise en yüksek orana ulaştığı ve mevsimsel ortalaması itibariyle en yüksek orandaki yağ asidinin olduğunu bildirmiştir. Yine aynı şekilde $C_{22:6n-3}$ yağ asidinin mevsimsel

ortalaması itibariyle en yüksek değerdeki ikinci yağ asidinin olması ve yaptığımız araştırmada marine edilmiş hamsinin söz konusu araştırmacıların bildirdiği taze balıktakine çok yakın değerler göstermiş olması açısından benzerlik taşımakla birlikte, yağ asitleri bakımından çok iyi bir gıda olduğu sonucuna varılmaktadır.

Çalışmada marine ettiğimiz hamsinin muhafazasında dolgu sıvısı olarak kullanılan ayçiçek yağının yağ asitleri kompozisyonu, Türk Gıda Kodeksinin Bitki Adı İle Anılan Yemeklik Yağlar Tebliğine (Tebliğ No:2001/29) uygun olduğu da görülmüştür.

4.2. Duyusal Değişimler

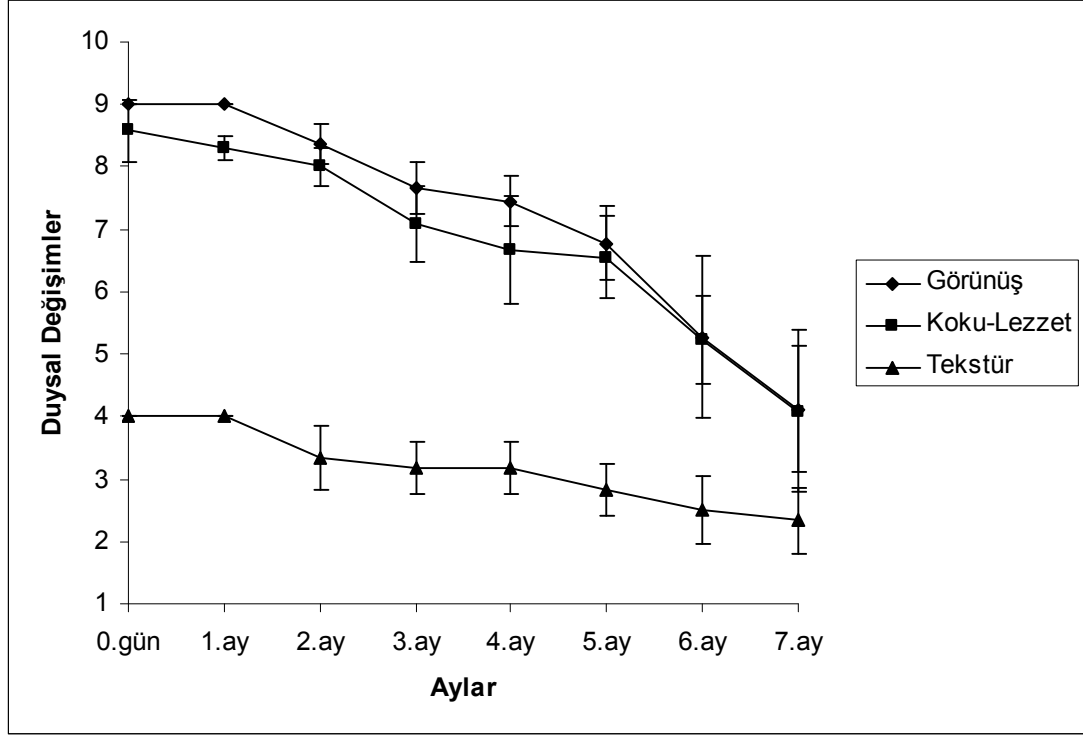
Araştırmamızda marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcından, 7. ay sonuna kadar değişim gösteren görünüş, koku, lezzet ve tekstür gibi duyusal parametreler yönünden değişimleri Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) duysal değişimler (ortalama \pm standart sapma)

| D.K. | DEPOLAMA SÜRESİ | | | | | | | |
|------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 0.gün | 1.Ay | 2.Ay | 3.Ay | 4.Ay | 5.Ay | 6.Ay | 7.Ay |
| GR | 9.00 \pm 0.00 ^a | 9.00 \pm 0.00 ^a | 8.37 \pm 0.31 ^{ab} | 7.67 \pm 0.42 ^{bc} | 7.44 \pm 0.40 ^{cd} | 6.78 \pm 0.59 ^d | 5.27 \pm 1.30 ^e | 4.11 \pm 1.01 ^f |
| K-L | 8.58 \pm 0.49 ^a | 8.30 \pm 0.20 ^a | 8.00 \pm 0.30 ^a | 7.08 \pm 0.61 ^b | 6.67 \pm 0.87 ^b | 6.55 \pm 0.66 ^b | 5.22 \pm 0.71 ^c | 4.09 \pm 1.30 ^d |
| TKS | 4.00 \pm 0.00 ^a | 4.00 \pm 0.00 ^a | 3.33 \pm 0.52 ^b | 3.17 \pm 0.41 ^b | 3.17 \pm 0.41 ^b | 2.83 \pm 0.41 ^{bc} | 2.50 \pm 0.55 ^c | 2.33 \pm 0.52 ^c |

D.K.: Duyusal Kriterler; GR: Görünüş; K-L: Koku-Lezzet; TKS: Tekstür; Aynı sırada farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$); Örnek sayısı;n=6;

Çizelge 4.4.'teki duysal değerlerin zaman içindeki değişimi Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Duyusal değerlerin zaman içindeki değişimi

Çoğunlukla “kalite” balığın tazeliğini, bozulmaya uğramış balığın bozulma derecesini ya da estetik görünüşünü ifade etmektedir (Huss, 1995). Gıdaların kalite kontrolünde duysal analiz, önemli bir parametredir. Duyusal analizler insanların duyu organlarıyla değerlendirdikleri görünüş, koku tat ve tekstür gibi parametreleri ifade eder. Kalite parametreleri bakımından kabul edilebilir özellikte olan bir ürün, duysal özellikler açısından kabul edilemez nitelik taşıyorsa bu ürün tüketilemez olarak kabul edilir (Huss,1995; Kietzman ve ark, 1969:Erkan ve ark.’dan 1998).

Tüketicilerin balık tercihini etkileyen unsurların başında lezzet ve tekstür gelmektedir. Lezzet ve tekstür deniz ürünlerinin kabul edilebilirliğinin bir göstergesi olması açısından tüketiciler için önemli bir parametredir. Hatta lezzetin tekstüre göre çok daha önemli olduğu rapor edilmektedir. Söz konusu bu parametreler depolama süresince birçok faktörden dolayı etkilenerek ürün bozulabilir ve tazeliğinin

algılanmasında azalma gerçekleşir (Gudmundsson ve Hafsteinsson, 2002; Lazos, 1997).

Ürünün depolanması aşamasında, duyu analizi sonuçlarına göre başlangıçta tüm özellikler yönünden “çok iyi” kalitede olan marinat, depolamanın 5. ayına kadar görünüş açısından “çok iyi” özelliğini korumuş, koku ve lezzet açısından da depolamanın 4. ayına kadar “çok iyi” kalitede bulunmuştur. Tekstür açısından değerlendirme neticesinde ise ürünün sertliği bakımından 5. ayına uygun bulunmuştur. 7. ay sonundaki duyu bulguları bakımından ürün tüm özellikler yönünden “tüketilebilirlik” sınır değerine yaklaşım gösterirken, Dokuzlu (1996)’nın Hamsi marinatlarının kalitesi ve raf ömrü üzerine yaptığı çalışmada yedinci aydan sonra insan gıdası olarak tüketilemez durumda olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgular söz konusu araştırmacının bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Araştırma sonucunda elde edilen aylık duyu değişim değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı artışın önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Ayrıca görünüş, koku-lezzet, tekstür değerleri arasındaki karşılaştırmada özellikle 7. aya ait artışın istatistiksel olarak diğer aylardaki artışlara göre daha önemli olduğu bulunmuştur.

Yapılan birçok araştırmada marine ürünlerin raf ömrünün 3 ile 6 ay arasında olduğu bildirilirken (Erkan ve ark., 2000; Varlık ve ark., 2000; Özden ve Baygar, 2002; Kılınç, 2003; Erdem ve ark., 2005; Kılınç ve Çaklı, 2005), elde ettiğimiz bulgular neticesinde Türk Gıda Kodeksinin Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliğine (Tebliğ No: 2003/44) uygun olarak kullanılan pH düzenleyici ve kullanılan yüksek kalitedeki hammaddenin ve depolama sıcaklığının ürünün raf ömrü üzerine etkili olduğu sonucunu düşündürmektedir.

4.3. Kimyasal Analizler

4.3.1. Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N mg /100g)

Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcından, 7. ay sonuna kadar değişim gösteren TVB-N değerleri Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) TVB-N mg /100g değerleri

| Depolama Süresi | Ortalama TVB-N mg/100g \pm standart sapma |
|-----------------|--|
| 0.gün | 11.90 \pm 0.70 ^a |
| 1.Ay | 12.99 \pm 1.61 ^{ab} |
| 2.Ay | 13.19 \pm 0.66 ^{abc} |
| 3.Ay | 13.44 \pm 1.58 ^{abc} |
| 4.ay | 13.90 \pm 0.04 ^{bc} |
| 5.Ay | 14.87 \pm 0.75 ^{bc} |
| 6.Ay | 15.17 \pm 1.36 ^{cd} |
| 7.Ay | 16.91 \pm 0.66 ^d |

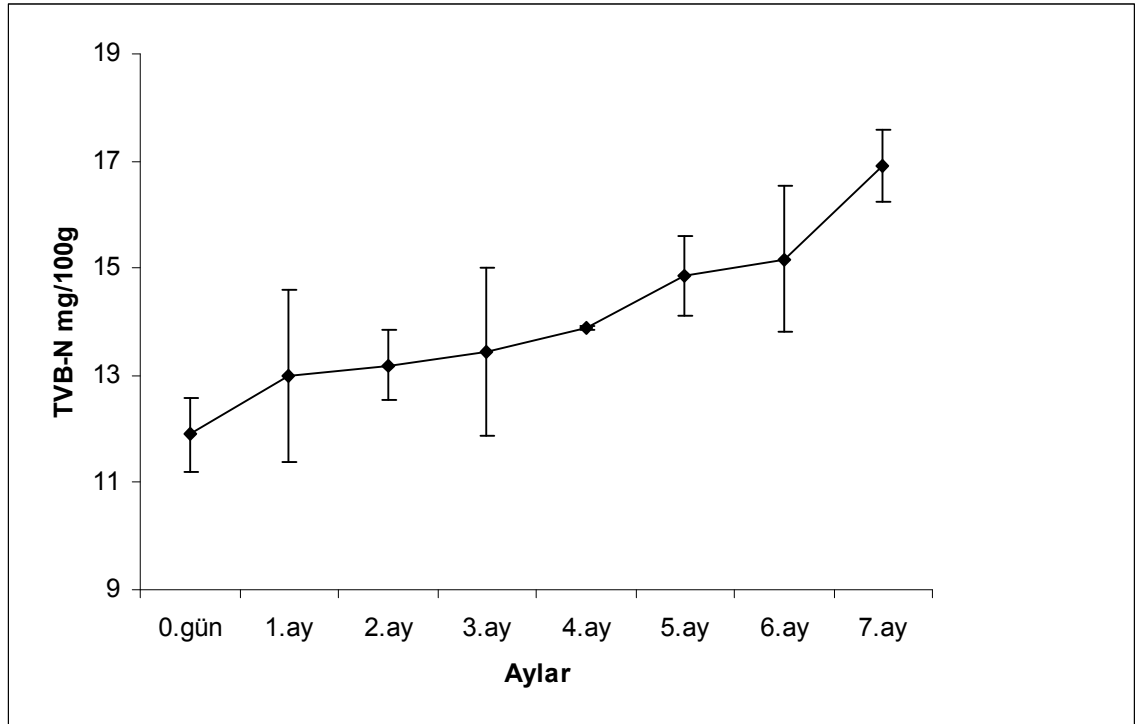
Sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p < 0.05$); Örnek sayısı; n=3

İlk olarak 1935'te Boury tarafından önerilen toplam uçucu bazik azotun (TVB-N) belirlenmesi, günümüzde balığın bozulma derecesini tahmin etmede en yaygın kullanılan analizlerden biridir. TVB-N'in kalite belirlemedeki etkinliği sağlık uzmanlarını tamamen tatmin etmemesine rağmen, birçok araştırmacı tarafından güvenli bir analiz olarak kabul edilmektedir (Malle ve Poumeyrol,1989).

Yeni yakalanmış balıkta TVB-N seviyesinin genellikle 5 ile 20 mg N/100g kas olduğu bildirilirken, balık ve balık ürünlerinin TVB-N değerlerine göre kalite sınıflandırılması 25 mg/100g TVB-N'e kadar "Çok İyi"; 30mg/100g TVB' ne kadar "İyi"; 35 mg/100g TVB-N'e kadar "Pazarlanabilir"; 35 mg/100g TVB-N' den yukarısı ise "Bozulmuş" şeklinde tanımlanmış (Huss,1988; Keitzman ve ark.1969: Varlık ve Heperkan 1990'dan) ancak T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve

Kontrol Genel Müdürlüğü, 1380 sayılı Su Ürünleri Kanuna Dayalı hazırlanmış Su Ürünleri Yönetmeliğine göre 20 mg Azot/100g'a kadar uygun, 20-28 mg Azot/100g'a arası kabul edilebilir, 28 mg Azot/100g'dan yukarı kabul edilemez şeklinde bildirilmiştir.

Çizelge 4.5.'teki TVB-N değerlerinin zaman içindeki değişimi Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. TVB-N değerinin zaman içindeki değişimi

Araştırmamızda, Çizelge 4.5. ve Şekil 4.2.' de görüldüğü gibi başlangıçta ortalama 11.90mg/100g'lık bir değerle “çok iyi” durumda olan ürünün TVB-N değeri 7. aya kadar sürekli yükselerek ortalama 16.91mg/100g değerine ulaşmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen aylık TVB-N değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı değişimlerin önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Özellikle araştırmanın 7. ayına ait artışın istatistiksel olarak diğer aylardaki artışlara göre daha önemli olduğu bulunmuştur. Araştırmamızda 7. ay itibariyle saptanan TVB-N değerinin Varlık ve Heperkan (1990) tarafından bildirilen Keitzmann ve ark. (1969)'nın rapor ettiği kriterlere göre, tüketilebilirlik sınırını

aşmadığı, Huss (1988) tarafından bildirilen yeni yakalanan balıktaki TVB-N seviyesi sınırları içerisinde yer aldığı; Su Ürünleri Yönetmeliğine göre de uygun olarak nitelendirilen sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür.

Araştırmamıza ait bulguları destekleyen bir çalışma Erkan ve ark. (2000) tarafından modifiye atmosferle paketlenmiş paneli alabalık marinatlarının raf ömrünü tespit etmek üzere yaptıkları çalışmada bildirilmiştir. 120 günlük raf ömrüne sahip olduğu bildirilen örneklerin 90. günündeki TVB-N'in değerlerinin modifiye atmosferle paketlenmiş örneklerde 16.54mg/100g ve modifiye atmosferle paketlenmemiş örneklerde 16.69mg/100g olarak bildirmiştir. Söz konusu bu değerlerin sınır değerlerini aşmadığı rapor edilmiştir. Dokuzlu (1996)'nun hamsi marinatları üzerine yaptığı çalışmada TVB-N değerini depolamanın ilk 6 ayı 9.8mg/100g olarak sabit kaldığını 7. ayda 11.2mg/100g, 8. ayda 14mg/100g olarak rapor etmiştir.

Varlık ve ark.(2000) tarafından yapılan bir başka çalışmada $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' de depolanan marine hamsi köftesini 120. günden sonra bozulmuş olduklarını bildirirken 150. günde TVB-N değerinin 10.35mg/100g olduğu rapor edilmiştir.

Kılınç ve Çaklı (2005a), domates soslu marine edilmiş sardalya balığının (*Sardina pilchardus*) raf ömrünü araştırdıkları çalışmada pastörizasyon işlemi uygulanmış ve uygulanmamış örneklerin raf ömürlerini 6 ay olarak bildirirken, 6. ay sonunda TVB-N değerleri pastörize edilmiş örneklerde 19.13mg/100g olarak, pastörizasyon işlemi uygulanmamış örneklerde 28.47mg/100g olarak rapor edilmiştir. Kılınç ve Çaklı (2005)'nin bildirdiğine göre Aksu ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada %2'lik asetik asit içerisindeki hamsinin TVB-N değeri depolamanın 150. gününde 8.31mg/100g'dan 15.18mg/100g'a yükselirken %4'lük asetik asit içerisindeki hamsinin TVB-N değeri 7.79mg/100g'dan 13.48mg/100g yükselmiş, %6'lük asetik asit içerisindeki hamsinin TVB-N değeri ise 7.41mg/100g'dan 12.34mg/100g yükselmiştir. Sonuç olarak bu çalışmadaki tazelik kriterini belirleyen TVB-N analizi sonuçları diğer araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir.

4.3.2. Tiyobarbitürik Asit Sayısı (TBA mg malonaldehit/kg)

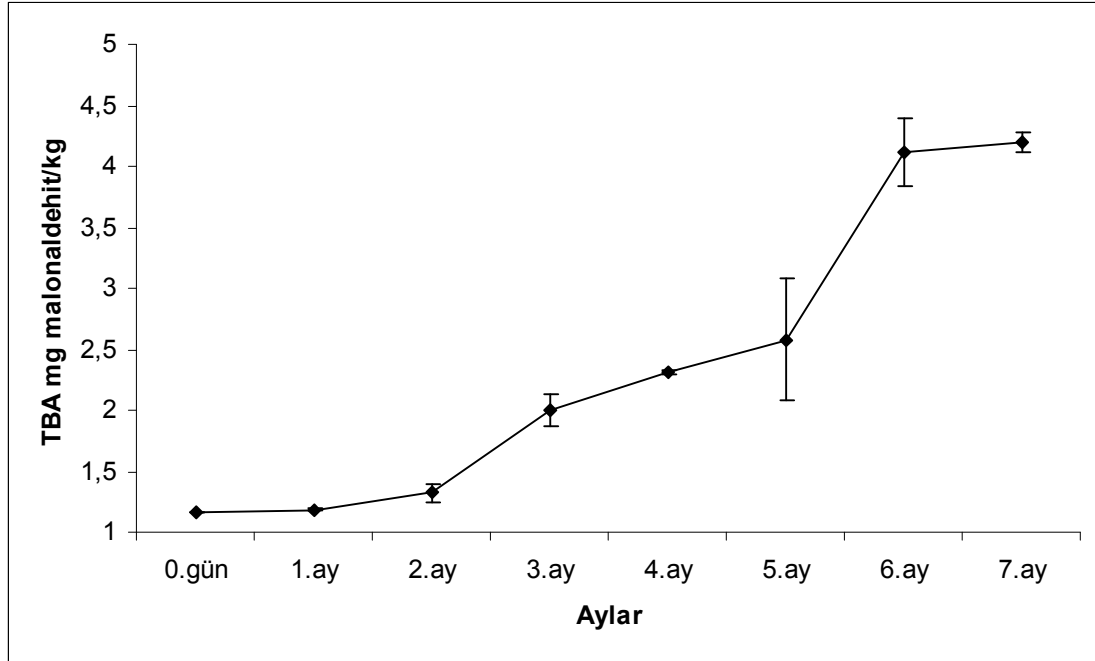
Araştırmamızda marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcından, 7. ay sonuna kadar değişim gösteren TBA değerleri Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) TBA mg /kg değerleri

| Depolama Süresi | Ortalama TBA mg malonaldehit/kg±standart sapma |
|-----------------|---|
| 0.gün | 1.16±0.00 ^a |
| 1.Ay | 1.18±0.01 ^a |
| 2.Ay | 1.32±0.07 ^a |
| 3.Ay | 2.00±0.13 ^b |
| 4.Ay | 2.32±0.02 ^{bc} |
| 5.Ay | 2.58±0.50 ^c |
| 6.Ay | 4.10±0.28 ^d |
| 7Ay | 4.20±0.08 ^d |

Sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05); Örnek sayısı; n=3

Çizelge 4.6'daki TBA değerlerinin zaman içindeki değişim grafiği Şekil 4.3.'te gösterilmiştir



Şekil 4.3. TBA değerinin zaman içindeki değişimi

Balık, yağlarındaki yüksek doymamışlık nedeniyle, diğer etlere kıyasla lipid oksidasyonuna daha meyillidirler (Ramanathan ve Das, 1992). Balıktaki yağlar, işleme ve depolama sırasında lipolitik ve lipoksidatif enzimlerle ve havayla temas sonucu parçalanarak, oksidatif ürünler oluşturup ileri düzeyde acı (ransit) tat oluşumuna yol açan oksidasyonla acılaştırılır. Oksidasyon sonucu ilk olarak yağ asitleri ve peroksitler oluşur. Bunların bileşimleri kokusuz ve tatsız olup, balıkta organoleptik görünüş olarak hiçbir bozulmanın olmadığı zamanda ortaya çıkabilmektedir. Daha sonra peroksitlerde oksitlenerek aldehit ve ketonlara katılırlar. Böylece balıkta hoşça gitmeyen bir koku ve acılaştırma meydana gelir. Yağın oksitlenmesinin ilk safhasında peroksit değerinin tespiti balığın başlangıçtaki kalitesi hakkında fikir verirken ikinci aşamada Tiyobarbitürik Asit (TBA) değerinin ölçümü balık etindeki acılaştırma hakkında bilgi verir (Kutlu,1996; Soyer, 1999). Dolayısıyla yukarıda bahsedildiği gibi yağların acılaştırma derecesinin belirlenmesi için kullanılan tiyobarbitürik asit sayısının (Erdem ve ark., 2004), çok iyi bir materyalde 3'ten az, iyi bir materyalde 5'ten fazla olmaması gerektiği, tüketilebilirlik sınır değerinin ise 7–8 arasında olduğu bildirilmiştir (Varlık ve ark.,1993b). Ayrıca balık etindeki

TBA'nın 4mg malonaldehit/kg'ı aştığı durumda acılaştırmanın başladığı da bildirilmektedir (Tarladgis ve ark., 1960; Erdem ve ark., 2005'den).

Yapılan birçok araştırmada yağ yönünden zengin balıklarda TBA değeriyle duyuusal test arasında ransidite yönünden korelasyon olduğu bildirilmekte, özellikle balık ürünlerinde lipit oksidasyonunu tespit etmede önemli bir metot olduğu vurgulanmaktadır (Barnett ve Nelson, 1991; Ramanathan ve Das,1992).

Araştırma sonucunda elde edilen aylık TBA değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı artışın önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Ayrıca aylar arasındaki artışta özellikle 6 ve 7.aya ait artışın istatistiksel olarak diğer aylardaki artışlara göre daha önemli olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda 7. ay sonunda TBA değerindeki artışın iyi bir materyalde bulunması gereken 5mg malonaldehit/kg'ı aşmadığı ancak depolamanın 6. ayında acılaştırma başlangıcı olduğu bildirilen 4mg malonaldehit/kg' ı aştığı gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar duyuusal analizlerle de desteklenerek paralellik göstermiştir.

Erdem ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmada %10 tuz +% 4 sirkeden oluşan olgunlaştırma çözeltisinde marinat ve baharatlı olarak işlenmiş istavrit (*Trachurus mediterraneus*) balığını +4°C' depolamışlar ve başlangıçtaki TBA değerlerinin çalışmamızdaki değerlere benzerlik göstermesine karşın 90. gün sonunda 4.09±0.20mg malonaldehit/kg ve 4.60±0.18mg malonaldehit/kg olarak bildirmişlerdir. 120. günde bozulmanın olduğunu ortaya koyarak TBA miktarlarını sırasıyla 8.97±0.27mg malonaldehit/kg ve 8.58±0.09mg malonaldehit/kg olarak bildirmişlerdir. 90. günde ulaşılan söz konusu değerlere çalışmamızda ancak 7. ay sonunda ulaşılmış ve dayanma süresinin daha uzun olduğu bulunmuştur. Bunun sebebini ise yaptığımız çalışmada kullanılan %4.5 sirkeden ve %0.2 oranında antioksidan olarak kullanılan sitrik asitten ve depolama sıcaklığından kaynakladığı düşünülmektedir.

Kılınç ve Çaklı (2005a) tarafından yapılan çalışmada ise %2 asetik asit ve %4 tuz kullanılarak hazırlanmış çözelti içerisinde domates soslu sardalya (*Sardina pilchardus*) marinatlarına pastörizasyon işlemi uygulayarak ve uygulamadan, +4°C' de depolamışlardır. Çalışmadaki başlangıç TBA değerlerini sırasıyla 4.33±0.17mg malonaldehit/kg ve 4.47±0.15mg malonaldehit/kg olarak bildirmişlerdir. Söz konusu

çalışmada başlangıç TBA değerlerinin yüksek olmasının nedenin dondurulmuş ve 5 ay depolanmış sardalya balığı filetolarının kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla beraber çalışmanın 6. ay sonundaki TBA miktarlarının 8.14 ± 0.35 mg malonaldehit/kg ve 8.21 ± 0.39 mg malonaldehit/kg' a kadar yükseldiğini ortaya koymuşlar ve ürünün raf ömrünü $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 6 ay olarak bildirmişlerdir. Söz konusu çalışmayla olan benzerlik ürünün ancak 6 ay gibi bir süre dayanabileceğini göstermekten öteye gitmemekle beraber marinat kalitesini ve raf ömrünü belirlemede başlangıçtaki balık kalitesinin, depolama sıcaklığının, kullanılan çözeltilerin asit ve tuz miktarlarının ve katkı maddesinin kullanılıp kullanılmamış olmasının önemli olduğunu ortaya koymuştur.

4.3.3. Peroksit Sayısındaki (meq/kg) Değişimler

Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcından, 7. ay sonuna kadar değişim gösteren peroksit sayısındaki değişimler Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

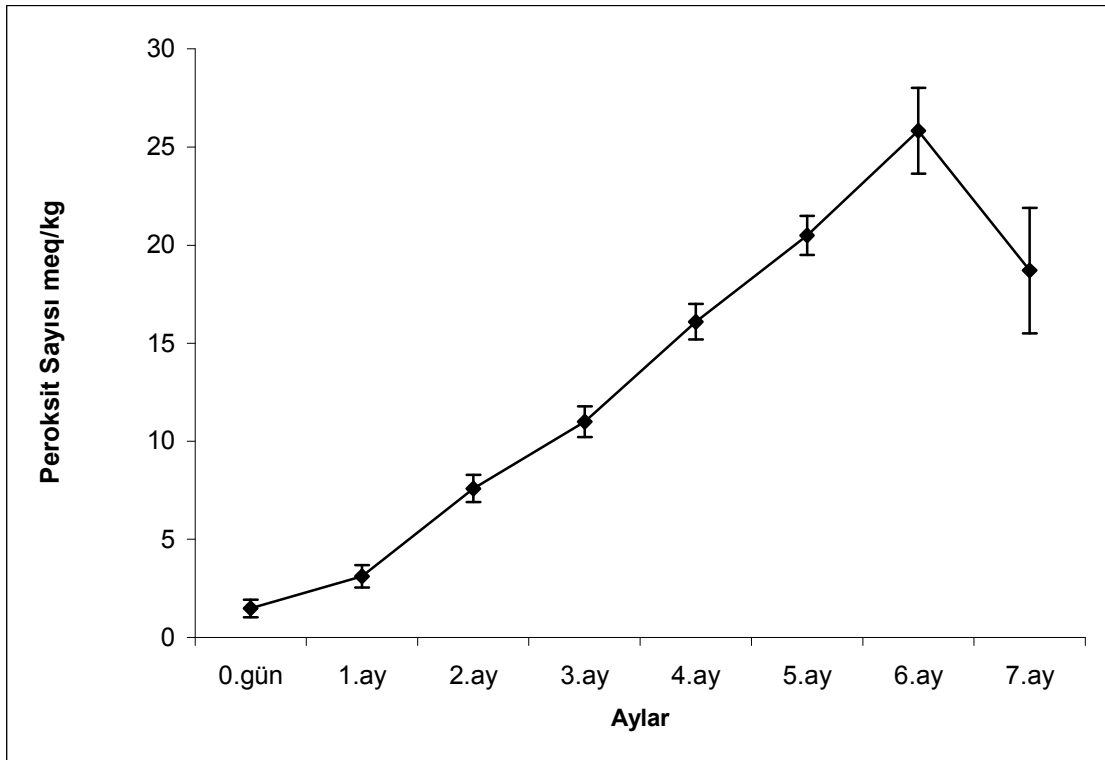
Çizelge 4.7. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) peroksit meq /kg değerleri

| Depolama Süresi | Ortalama Peroksit Sayısı meq/kg \pm standart sapma |
|-----------------|--|
| 0.gün | 1.48 ± 0.45^a |
| 1.Ay | 3.12 ± 0.57^a |
| 2.Ay | 7.6 ± 0.69^a |
| 3.Ay | 11 ± 0.78^a |
| 4.Ay | 16.09 ± 0.9^{ab} |
| 5.Ay | 20.5 ± 1.0^{ab} |
| 6.Ay | 25.83 ± 2.19^{ab} |
| 7Ay | 18.7 ± 3.2^b |

Sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p < 0.05$); Örnek sayısı; $n=3$

Yağlı balık türlerinin raf ömrü lipitlerin oksidasyonuna bağlıdır. Çok iyi bir materyalde 2mmol O₂/kg yağda (= 4meq/kg)'dan daha düşük olması gerektiği bildirilen peroksit sayısının, iyi bir materyalde 5mmol O₂/kg yağda (=10meq/kg) ten fazla olmaması gerektiği; tüketilebilirlik sınır değerinin ise 10mmol O₂/kg (=20meq/kg) olduğu bildirilmiştir (Varlık ve ark.,1993b; Özoğul 2006). Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda şekillenen ilk ürünler peroksitlerdir. Bu bakımdan acılaştırmanın başlangıç safhalarında oluşan peroksitlerin saptanması kalite göstergesi olarak kullanılabilir. Dolayısıyla yağlarda oksidasyonun bir göstergesi olan peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit, oksijenin miliekiyolan olarak miktarıdır (Yapar ve Erdöl,1999).

Çizelge 4.7.'deki peroksit sayısının zaman içindeki değişim grafiği Şekil 4.4.'de gösterilmiştir



Şekil 4. 4. Peroksit sayısının zaman içindeki değişimi

Çizelge 4.7.'de de görüldü gibi depolama başlangıcında 1.48 ± 0.45 meq/kg olarak bulunan peroksit sayısının çok iyi bir materyal için bildirilen değerin altında

olduğu görülmüştür. Daha sonra depolamaya bağlı olarak sürekli bir artış gözlenerek 6. ayda maksimum düzeyine ulaşmıştır. Depolamaya bağlı olarak gözlenen bu artışın önemli ($p<0.05$) olduğu; aylar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada özellikle 1. 3. ve 6. aydaki artışların diğer aylardan daha önemli olduğu bulunmuştur. Çalışmamızın 5. ayında peroksit sayısının tüketilebilirlik sınır değerinde olduğu ve 6. ayda ise tüketilebilirlik sınır değerini aştığı bulunmuştur. Çalışmamızın 6. ayında TBA değerinin acılaşıma başlangıcı olarak bildirilen 4mg malonaldehit/kg'ı aştığı da göz önünde bulundurulduğunda aralarında paralelliğin gözleendiği, elde edilen duysal analizlerle bunların desteklendiği görülmüştür.

4.3.4. Serbest Yağ Asidindeki Değişimler

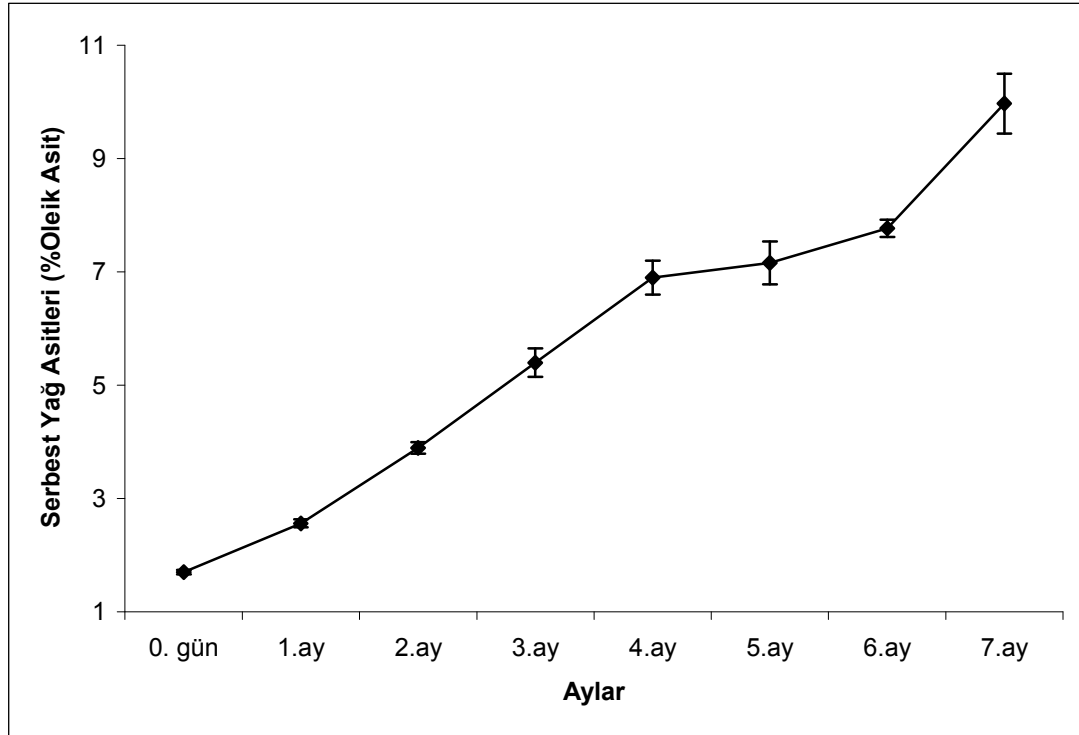
Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) depolama başlangıcından, 7.ay sonuna kadar serbest yağ asidindeki değişimler Çizelge 4.8.'de verilmiştir

Çizelge 4.8. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) serbest yağ asidindeki (% Oleik) değişimler

| Depolama Süresi | Ortalama % Oleik asit \pm standart sapma |
|-----------------|---|
| 0.Gün | 1.7 \pm 0.04 ^a |
| 1. Ay | 2.56 \pm 0.07 ^b |
| 2.Ay | 3.89 \pm 0.1 ^c |
| 3.Ay | 5.4 \pm 0.25 ^d |
| 4. Ay | 6.9 \pm 0.3 ^e |
| 5.Ay | 7.16 \pm 0.38 ^e |
| 6.Ay | 7.77 \pm 0.15 ^f |
| 7.Ay | 9.97 \pm 0.53 ^g |

Aynı sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$); Örnek sayısı; n=3

Çizelge 4.8.'deki Serbest Yağ Asitlerinin (% Oleik asit) zaman içindeki değişim grafiği Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Serbest Yağ Asitlerinin (% Oleik asit) zaman içindeki değişimi

Şekil 4.5’de görüldüğü gibi depolama başlangıcından sonuna kadar düzenli bir artış yaşanmıştır. Gözlenen bu artışta istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0.05$) bulunmuş ve en yüksek değere 7. ayda ulaştığı görülmüştür. Serbest yağ asitlerindeki bu artışın oksidasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü TBA’ daki ve Peroksit sayısındaki gözlen artışların oksidasyonun hızla gerçekleştiği yönünde olmuştur.

Soyer ve Şahin (1999) dondurulmuş kolyoz (*Scomber japonicus*) balıklarındaki lipid oksidasyonuna glazelemenin ve depolama süresinin etkisini ortaya koymak üzere yaptıkları çalışmada, kontrol grubu örneklerindeki serbest yağ asitleri miktarlarını % oleik asit olarak 0. gün 1.64 ± 0.22 , 2. ay 4.85 ± 0.33 , 4. ay 6.97 ± 0.47 , 6. ay 9.34 ± 0.45 , 8. ay 10.82 ± 0.55 ve 10. ayda 12.18 ± 0.22 olarak bildirerek, lipidlerde ve özellikle fosfolipidlerde meydana gelen hidroliz sonucu serbest yağ asidi miktarlarının arttığını ortaya koymuşlardır.

Özoğul ve ark., (2005b) Avrupa yılan balığında (*Anguilla anguilla*) tazelik kriterlerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depoladıkları örneklerde serbest yağ asidi miktarlarını % oleik asit olarak 1. günde 0.57 ± 0.05 , 5. günde 1.05 ± 0.2 , 8. günde 1.49 ± 0.51 ve 12. günde 1.60 ± 0.38 olarak belirlemişler ve depolama süresince artışın kaydedildiğini bildirmişlerdir.

4.3.5. pH' taki Değişimler

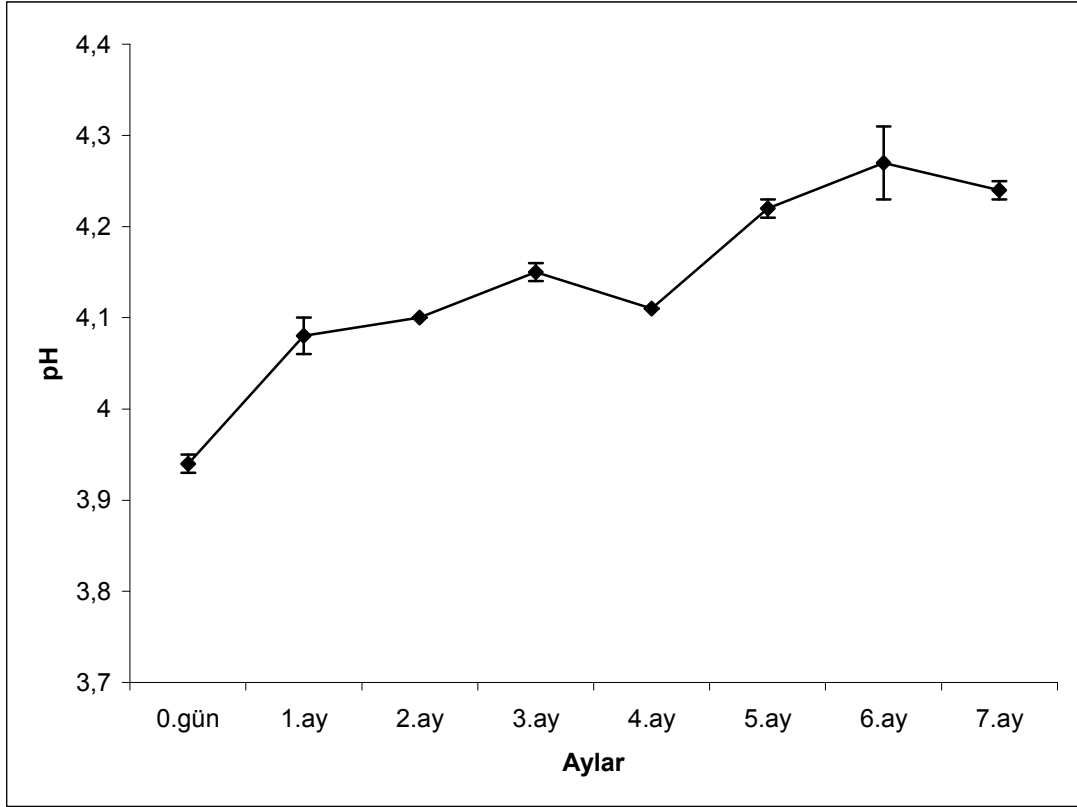
Araştırmamızda materyal, marinat haline getirilip depolandıktan sonra, 7. ay sonuna kadar değişim gösteren pH değerleri Çizelge 4.9.'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) pH değerleri

| Depolama Süresi | Ortalama pH \pm standart sapma |
|-----------------|-------------------------------------|
| 0.gün | 3.94 ± 0.01^a |
| 1.Ay | 4.08 ± 0.02^b |
| 2.Ay | 4.10 ± 0.00^b |
| 3.Ay | 4.15 ± 0.01^c |
| 4.Ay | 4.11 ± 0.00^{bc} |
| 5.Ay | 4.22 ± 0.01^d |
| 6.Ay | 4.27 ± 0.04^e |
| 7Ay | 4.24 ± 0.01^d |

Sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$); Örnek sayısı; $n=3$

Çizelge 4.9.'daki pH değerlerinin zaman içindeki değişimi Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. pH değerinin zaman içindeki değişimi

Gıda endüstrisinde pH'ın belirlenmesi ve sabit değerde tutulması kalite kontrol ve proses gereksinimleri için önemli bir kriterdir (Banwart, 1987)

Bir ürünün asiditesinin veya alkalinitesinin ölçüsü pH olarak bilinir ve gıdadan gıdaya farklılık gösterir (McLay, 1972; Court, 2005). Gıdaları pH değerlerine göre aşağıdaki şekillerde sınıflandırabilmek mümkündür.

pH değeri 3.7'den aşağı olan yüksek asitli gıdalar

pH değeri 3.7 ile 4.6 arasında olan asitli gıdalar

pH değeri 4.6 ile 5.3 arasında olan orta asitli gıdalar

pH değeri 5.3'ün üzerinde olan düşük ya da asitsiz gıdalar (Banwart, 1987)

Balıklardaki pH değeri mevsimlere, türlere bağlı değişim göstermekle birlikte, büyük ve küçük olmalarına göre de farklılıklar arz edebilmektedir. Küçük balıklar büyüklere göre daha yüksek pH'a sahip olmakla birlikte canlı balık dokusundaki pH nötre yakın bir değer göstermektedir. Rigor mortisten sonra

balıklardaki pH değeri direk olarak 6.2 ile 6.5 arasında bir değer arz etmektedir (Ingólfssdóttir ve ark., 1996; Suvanich ve Marshall,1997).

Araştırma materyali olarak kullandığımız hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) pH değeri, iç organları çıkarılıp fileto haline getirildikten sonra ölçülmüş ve 6.21 ± 0.01 olarak bulunmuştur. Tespit edilen bu değer taze materyalde olması gerektiği bildirilen sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. Ayrıca Varlık ve Heperkan (1990)'nın Hamsinin buzda muhafazası üzerine yaptığı çalışmada depolama başlangıcında bildirdiği 6.2'lik pH değeriyle uyum sağlamaktadır.

Araştırma sonucunda elde edilen pH değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı değişimlerin önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) özellikle 6. aydaki artışın diğer aylara göre daha önemli olduğu bulunmuştur.

Dokuzlu (1996), $+4 \pm 1^\circ\text{C}$ ' de depoladığı hamsi marinatlarında pH değerini depolamanın başlangıcında 3.87 tespit etmiş depolama sırasında gösterdiği değişimlerin ardından depolama sonunda 3.98 olarak bildirmiştir.

Poligne ve Collignan (2000) asetik asit içerisinde olgunlaştırdığı hamsi örneklerinde pH'nın 3.90'dan 4.21'e yükseldiğini ve daha sonra sabit kaldığını tespit etmişlerdir.

Özden ve Baygar (2003) marine edilmiş balıkların bazı kalite kriterlerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada cam kavanozlarda bitkisel yağ içerisinde beklettikleri balıklardaki pH'nın olgunlaştırma işleminden 15 gün sonra 4.30 ± 0.01 olduğunu tespit etmiş, 120. gün sonunda ise 4.00 ± 0.01 olduğunu bildirmişlerdir.

Gökoğlu ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada, %10 tuzlulukta, %2'lik ve %4'lük asetik asitte 24 saat olgunlaştırılan ve $+4^\circ\text{C}$ ' de depolanan sardalya (*Sardina pilchardus*) örneklerinde 150 gün depolama süresince pH değişimlerini incelemişlerdir. %2'lik asetik asitte olgunlaştırılan örneklerin pH'nın depolama başlangıcında 4.47 ± 0.05 olduğunu bildirirken depolama süresince meydana gelen iniş ve artışların ardından depolama sonunda yine 4.47 ± 0.2 olarak tespit etmişler; %4'lük asetik asitte olgunlaştırılan örneklerde depolama başlangıcında 3.95 ± 0.27 depolama sonunda 4.13 ± 0.05 olduğunu bildirmişlerdir. Yaptığımız araştırmada elde

ettiğimiz bulgular söz konusu araştırmacıların elde ettiği bulgularla ve değişimlerle benzerlik göstermektedir.

4.3.6. Biyojenik Aminlerdeki Değişimler

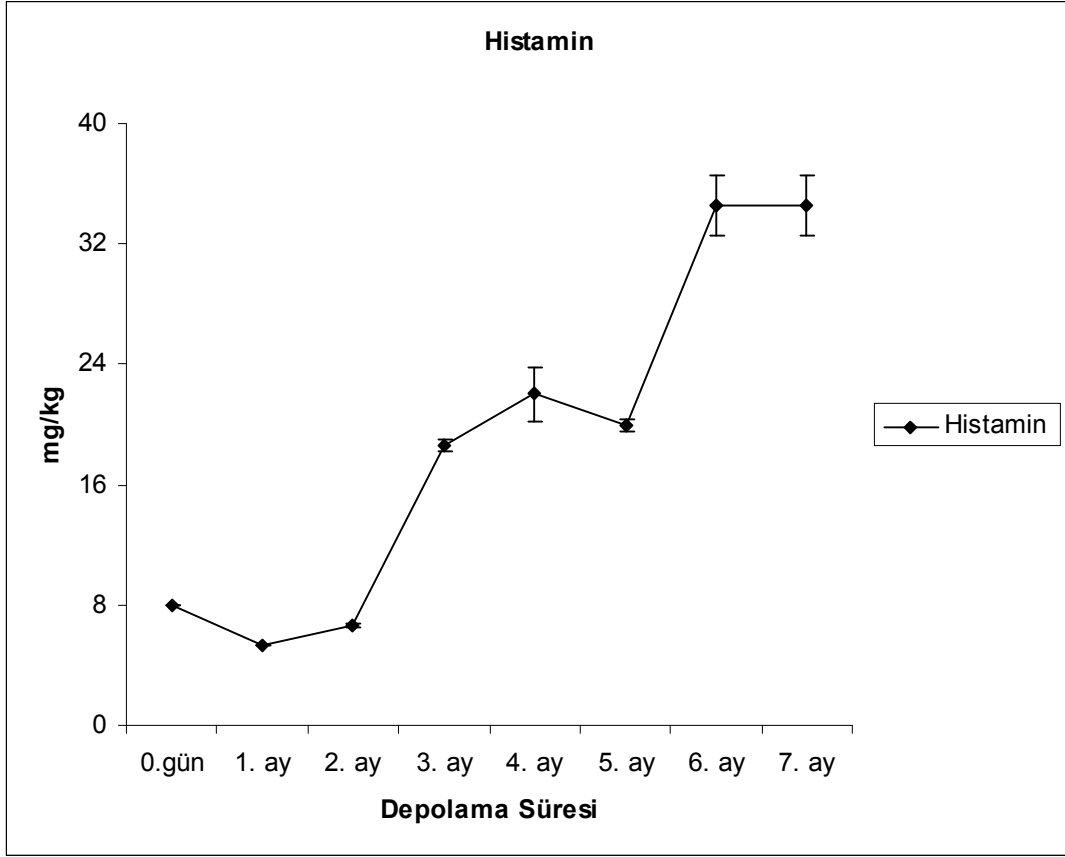
Çalışmamıza ait biyojenik amin değerlerindeki değişimler Çizelge 4.10.'da, zamana bağlı değişim grafikleri Şekil 4.7., 4.8., 4.9., 4.10. ve 4.11.'de verilmiştir.

Histamin toksik etkisi en yüksek amindir. Kılcal ve atar damarlardaki kan basıncını etkilemekte, bu da tansiyon ve baş ağrısına neden olmaktadır. Histaminin toksik etkisi kişilerin fizyolojik yapısına, histaminin tolere edilebildiği konsantrasyona, diğer aminlerin varlığına ve aminooksidaz aktivitesine bağlıdır. Tyramin, triptamin ve β -feniletılamin gibi aminlerde insan sağlığı açısından potansiyel tehlike oluşturan aminler grubuna girmektedir. Zayıf toksik etkisi olan tyramin gibi aminlerin insan sağlığı açısından önemi yarattıkları diğer toksik etkilerden kaynaklanmaktadır. Örneğin tyramin monoamioksidaz (MAO) inhibitörü ilaçlarla reaksiyona girerek amin detoksifikasyonunu önler. Bunun sonucu olarak vücutta kan basıncı etkilenir, yüksek tansiyon ve kalple ilgili bazı problemler ortaya çıkar (Turantaş ve Öksüz,98).

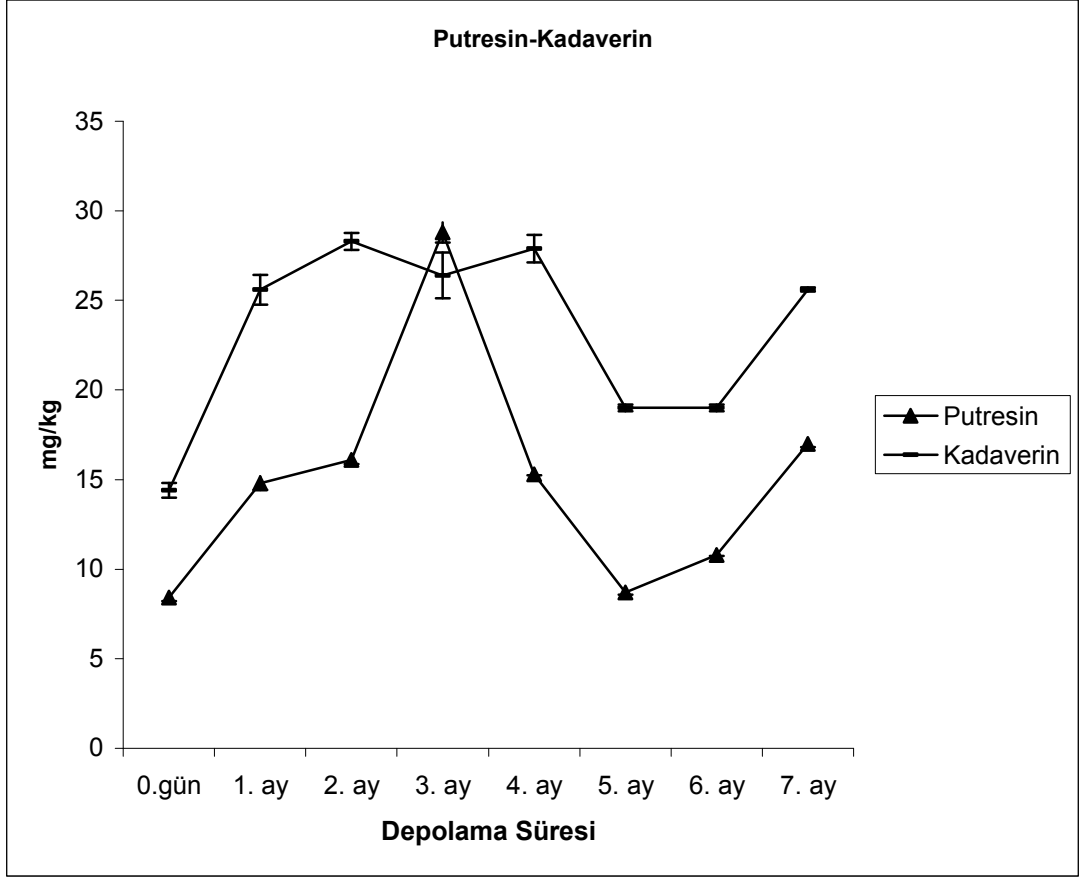
Çizelge 4.10. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) biyojenik amin değişimleri (Ortalama±standart sapma/mg/kg)

| Depolama Süresi | Putresin | Kadaverin | Spermin | Triptamin | β-Fenilettilamin | Spermidin | Histamin | Serotonin | Tyramin |
|-----------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 0.Gün | 8.4±0.19 ^a | 13.4±0.41 ^a | 8.4±0.74 ^a | 10.7±0.06 ^a | 7.8±0.39 ^a | 8.1±0.93 ^a | 8.0±0.00 ^a | 85±6.16 ^a | 9.4±0.00 ^a |
| 1.Ay | 14.8±0.38 ^a | 25.6±0.84 ^{ab} | 6.3±0.11 ^{ab} | 6.7±0.40 ^a | 4.3±0.33 ^a | 6.1±0.00 ^b | 5.3±0.05 ^a | 81.3±5.71 ^a | 9.8±0.19 ^a |
| 2.Ay | 16.1±0.23 ^a | 28.3±0.47 ^b | 7.5±0.13 ^{ab} | 5.3±0.12 ^a | 3.9±0.00 ^a | 6.5±0.14 ^b | 6.6±0.12 ^a | 85.0±2.62 ^a | 11.7±0.47 ^a |
| 3.Ay | 28.8±0.56 ^a | 26.4±1.28 ^b | 8.8±0.48 ^b | 12.0±0.00 ^b | 7.4±0.46 ^a | 8.8±0.48 ^{ab} | 18.6±0.46 ^{ab} | 76.9±2.10 ^a | 25.8±2.11 ^b |
| 4.Ay | 15.3±0.05 ^a | 27.9±0.77 ^b | 6.3±0.11 ^b | 10.5±0.15 ^a | 4.9±0.16 ^a | 4.1±0.24 ^b | 22.0±1.79 ^{ab} | 69.9±2.45 ^a | 35.2±2.81 ^c |
| 5.Ay | 8.7±0.14 ^a | 19.0±0.18 ^{ab} | 6.0±0.06 ^{ab} | 22.7±0.12 ^c | 3.5±0.08 ^a | 4.0±0.12 ^b | 19.9±0.40 ^{ab} | 117.6±1.99 ^a | 7.0±0.41 ^a |
| 6.Ay | 10.8±0.05 ^a | 19.0±0.18 ^{ab} | 5.6±0.06 ^{ab} | 19.0±0.52 ^c | 4.3±0.08 ^a | 6.7±0.06 ^b | 34.5±2.00 ^b | 113.6±2.52 ^a | 9.4±0.23 ^a |
| 7.Ay | 17.0±0.19 ^a | 25.6±0.12 ^{ab} | 6.7±0.06 ^{ab} | 11.0±0.00 ^a | 4.1±0.10 ^a | 5.9±0.04 ^b | 34.5±2.00 ^b | 178.2±5.22 ^b | 18.7±0.62 ^a |

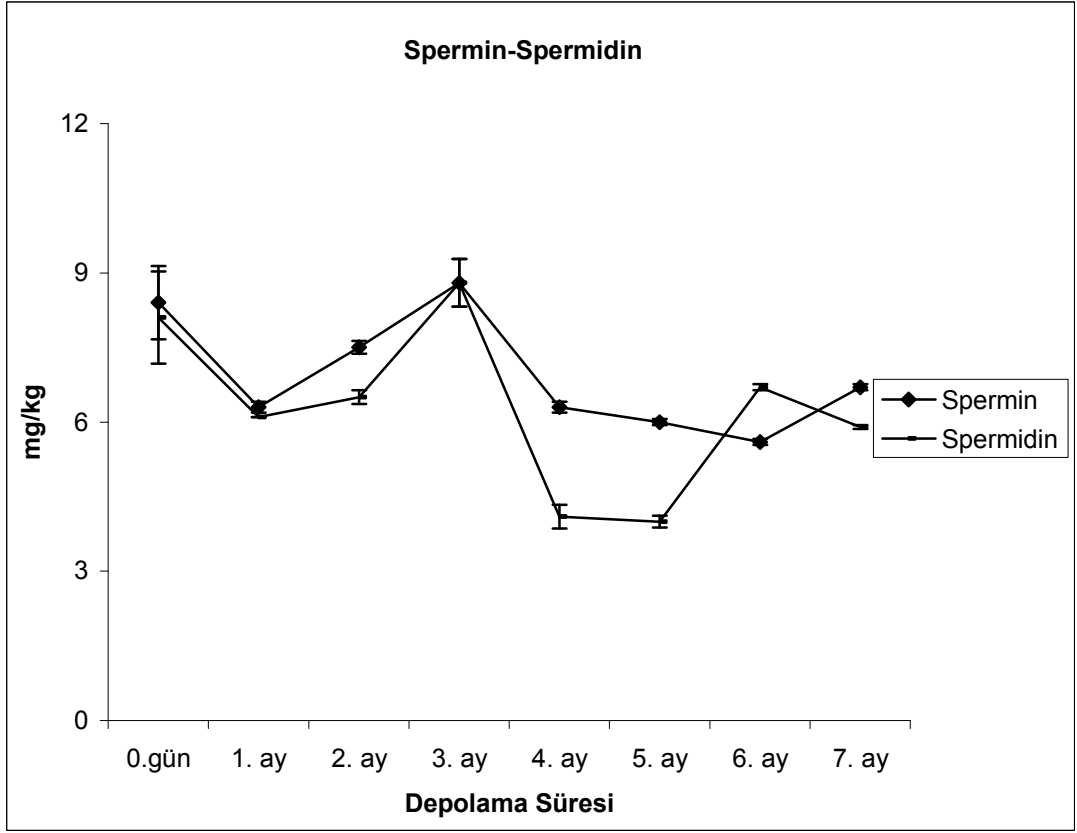
Aynı sütunda farklı harflerle belirtilen ortalamalar arası fark önemlidir (p<0.05); Örnek sayısı; n=3



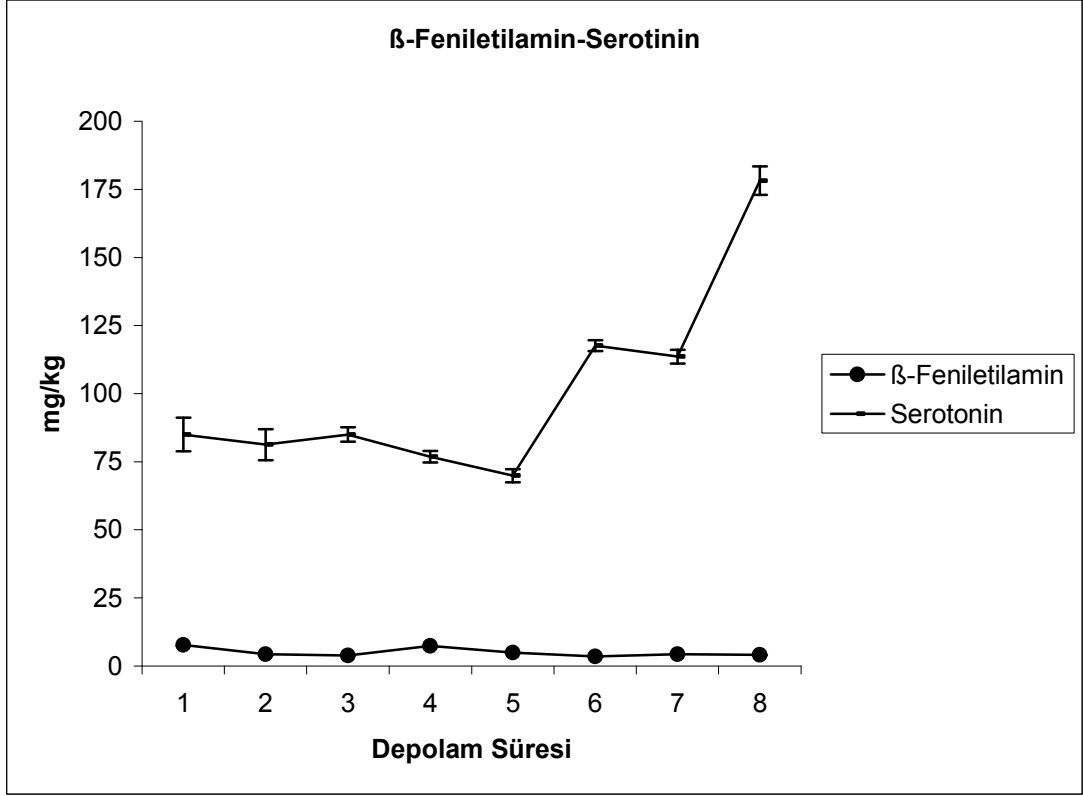
Şekil 4.7. Histaminin zaman içindeki değişimi



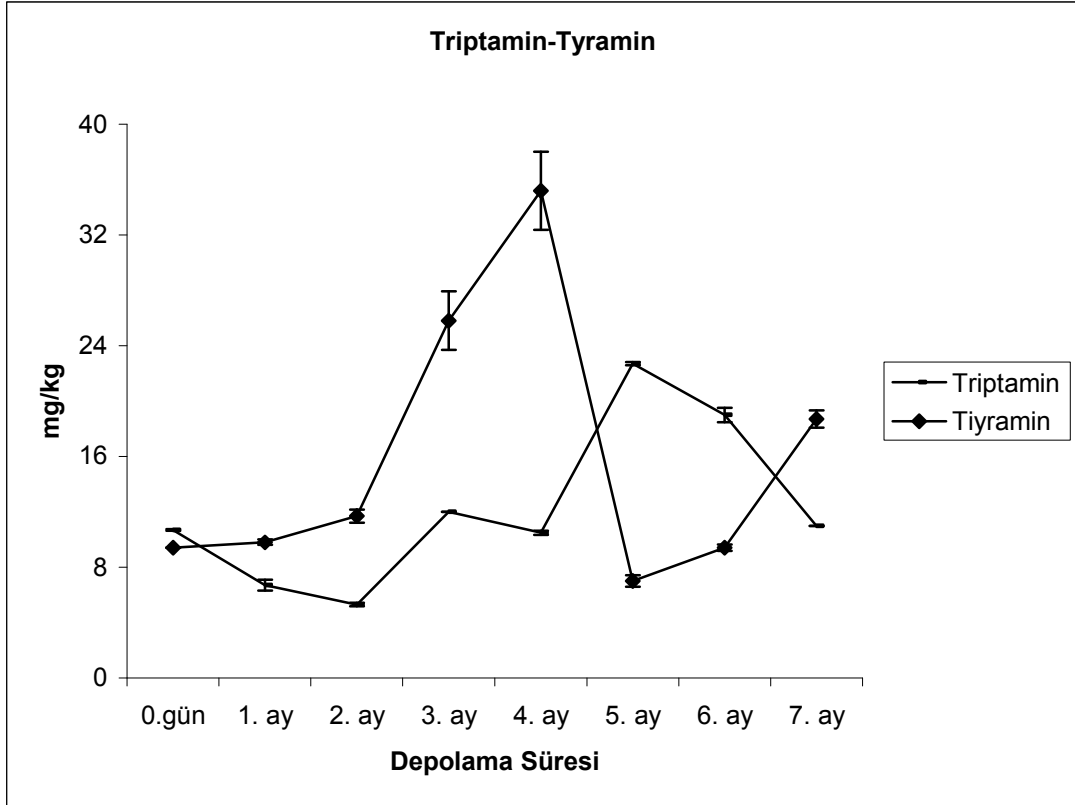
Şekil 4.8. Putresin ve Kadaverinin Zaman içindeki değişimi



Şekil 4.9. Spermin ve Spermidinin zaman içindeki değişimi



Şekil 4.10. β -Feniletilamin ve Serotonin zaman içindeki değişimi



Şekil 4.11. Tyramin ve triptaminin zaman içindeki değişimi

Araştırma sonucunda elde edilen aylık biyojenik amin değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada depolama süresine bağlı değişimlerin önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Özellikle histaminde 6. ve 7. aylardaki artışın, 3. aydaki spermin ve spermidindeki artışın, triptamindeki 3. 5. ve 6. aylardaki artışın, tyraminin 3. ve 4. aylardaki artışı, serotonin ve kadaverinin 7. aydaki artışı, putresinin 3. aydaki artışı istatistiksel olarak daha önemli olduğu tespit edilmiştir.

Gökoğlu (2003), marine edilmiş sardalyada (*Sardina pilchardus*) biyojenik amin değişimini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, sardalya filetolarını tuz ve %2 ile %4'lük asetik asit içerisinde 24 saat süreyle olgunlaşması için bekletmiş ve olgunlaşma süresi boyunca başlangıçta ve dört saat aralıklarla tyramine, putresin, kadaverin, histamin, spermin ve spermidin gibi biyojenik aminleri tespit etmiştir. Taze sardalyadaki tyramin, putresin, kadaverin ve histamin değerlerini sırasıyla 82.37mg/kg, 127.21mg/kg, 20.14mg/kg ve 14.23mg/kg olarak bildirmiştir. Filetolar %2'lik ve %4'lük solüsyonlarda 1 saat bekletildikten sonra, biyojenik amin

içeriklerinde azalma gözlenmiş, ancak olgunlaşma tamamlandıktan sonra ise biyojenik amin seviyelerinin başlangıçtaki ve taze balıktaki miktarlara göre daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. %4'lük asetik asit içerisinde olgunlaştırılan filetolardaki en yüksek tyramin seviyesine 8. saatte ulaşılırken, daha sonra olgunlaşma sona erene kadar düşüş gözlenmiştir. %2'lik asetik asitte olgunlaştırılan filetolarda 16 saat boyunca tyramin düzeylerinde bir artış yaşanmış ve 16. saatten sonra ise düşüş gözlenmiştir. Putresinde ise, %2'lik asetik asit içerisindeki filetolarda kademeli bir artış yaşanmış ve olgunlaştırma işleminin sonunda ise pik noktaya ulaşarak 1564mg/kg olduğu bildirilmiştir. %4'lük asetik asit içerisindeki filetolarda putresin miktarının 4. ve 8.saatlerde artışın gözleendiği, 12. ve 16.saatlerde tekrar bir düşüşün yaşandığını ve olgunlaşma sonunda ise tekrar arttığı bildirilmiştir. Kadaverindeki değişimin de putresine benzer özellik taşıdığı ortaya konmuştur. Olgunlaşmanın başlangıcında histaminin, biyojenik aminler içerisindeki en düşük konsantrasyona sahip olduğu bildirilirken, her iki asit solüsyonunda 100mg/kg'ı aşmadığı ve olgunlaşma süresince gözlenen artışın önemli olduğu ortaya konmuştur. Spermin ve spermidinin olgunlaşmanın başlangıcında düşük miktarlarda tespit edildiği bildirilmiş ve sonuç olarak asitlik arttıkça biyojenik amin oluşumunun da arttığı ifade edilmiştir.

Sonuç olarak biyojenik amin oluşumunun, asidik ortamlarda, bakteriler için koruyucu bir mekanizma olduğu bildirilmekte, dolayısıyla savunma mekanizmasının bir gereği olarak dekarboksilaz aktiviteyi teşvik edici bir durum sergiledikleri rapor edilmektedir. Nitekim yaptığımız araştırmada ürün pH' sının, amin oluşumu için optimum olarak bildirilen 4.0-5.5 değerlerine yakın değerlerde seyretmesinden dolayı, asidik ortamlarda amino asit dekarboksilaz aktivitesi daha güçlü olur (Ölmez, 2000; Çolak ve Aksu, 2002; Gökoğlu, 2003) gerçeğini destekler nitelikte amin oluşumları gözlenmiştir.

Araştırmamızda olgunlaşma tamamlandıktan sonra tespit edilen spermin (8.4 ± 0.74 mg/kg) ve spermidin (8.1 ± 0.93 mg/kg) konsantrasyonlarının depolama sonuna kadar, başlangıç konsantrasyonlarındaki değerlerin üzerine çıkmadığı görülmüştür Olgunlaşma tamamlandıktan sonra en düşük biyojenik amin değerinin β -feniletilamin (7.8 ± 0.39 mg/kg) ve spermidinden sonra, 8mg/kg'lık değerle histamin

olduğu tespit edilmiş ve depolama sonuna kadar artış gözlenerek maksimum 34.5mg/kg'a ulaşmıştır. Ulaşılan bu değer T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğünün, 1380 sayılı Su Ürünleri Kanuna göre, üzerinde olmaması gerektiği bildirilen 100mg/kg'ı aşmadığı gözlenmiş; ayrıca FDA tarafından 50mg/kg olarak kabul edilen toksik değerinin altında kalmıştır.

Veciana-Nogues ve ark. (1996) tarafından yapılan bir çalışmada yarı korunmuş hamside depolama ve olgunlaşma sırasında biyojenik aminlerin değişimi araştırılmış ve olgunlaşma esnasında biyojenik aminlerin artabileceği bildirilmiştir; yine aynı araştırmacıların yaptığı bir başka çalışmada spermidin ve sperminin gıdalarda doğal olarak oluşan biyojenik aminler olduğu, bunların oluşumunun bakteriyel bozulmayla ilişkili olmadığı ortaya koyulmuştur (Veciana-Nogues ve ark., 1997). Benzer şekilde Draisci ve ark. (1998), hamsilerde olgunlaşma sırasında biyojenik aminlerde artışın olabileceğini bildirmiştir. Cascado ve ark. (2005), sirkede marine edilmiş hamside depolama süresince biyojenik aminlerde (tyramin, serotonin, putresin, kadeverin ve histamin) artışının olduğunu bildirmiş, ancak hakkında az bilginin olduğu serotonin haricinde oluşan aminlerin balıklarda bozulmayla alakalı olduğunu ortaya koymuştur. Yine Marine edilmiş hamsinin depolama süresi boyunca histamin seviyesinin $1.37 \pm 0.63 \text{ mg/kg}$ 'ın üzerine kadar çıktığını bildirirken spermidin ve spermin seviyelerinin depolama süresince sabit kaldığını ortaya koymuştur. Söz konusu aminlerin balıklarda hücresel gelişmede rol oynayan fizyolojik biyojenik aminler olduğunu, bakteriyel bozulmayla herhangi bir ilgisi olmadığını bildirmiştir. Yine aynı araştırmacılar Avrupa Birliği kriterlerinin, C derecesindeki kaliteye ulaşana kadar, oda sıcaklığında beklettikleri hamsileri kullanarak yaptıkları çalışmada histamin ve kadeverinin başlıca bozulma aminleri olduğunu, bunu putresin ve tyraminin izlediğini, feniletilamin ve triptaminin daha düşük düzeylerde olduğunu bildirmiştir. Spermin ve spermidinin bakteriyel orijinli olmadığı için ekstra kalite hamsi ile benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular neticesinde tyramin, serotonin, putresin, kadeverin ve histamin değerlerinde başlangıça göre gözlenen artıştan dolayı, söz konusu araştırmacının ekstra kalite balıklar üzerinde yaptığı araştırmanın bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Bunların dışında su ürünlerinde, biyojenik amin oluşumlarına dair farklı işleme teknikleriyle yapılmış çeşitli çalışmalar da mevcuttur. Varlık (1994) soğukta depolanan sardalyalarda ilk iki gün toksik düzeyin altında bulunduğu histamin miktarının 3. günden itibaren hızla artarak 7. gününde 1448mg/kg'a ulaştığını bildirmiştir. Bununla birlikte, Yoshida ve Nakamura (1982), taze uskumruda histamin bulunmadığını rapor ederken, Frank ve ark., (1981) tarafından yapılan bir başka çalışmada yeni yakalanan taze ton balığının genellikle 1mg/kg'dan daha düşük ve önemsiz miktarlarda histamin içerdiğini bildirilmiştir. Özoğul ve ark. (2002a) buzda ve buzsuz ortamda, iç organları çıkarılmış bir şekilde soğukta (2°C) tutulan ringa balığı üzerine yaptığı çalışmada histamin içeriğinin depolama süresince artış gösterdiğini ve 16 günlük depolama sonunda sırasıyla 271.4mg/kg ve 396.4mg/kg 'a ulaştığını bildirmiştir. Çolak ve Aksu (2002)'un bildirdiğine göre Fier ve Goetsch (1993) tarafından yapılan çalışmada çeşitli hamsi örneklerinde ortalama histamin miktarının 659mg/kg olduğu bildirilmiştir. Marakchi ve ark.(1990) buzda muhafaza edilen sardalyalarda, kolorimetrik ve fluorimetrik yöntemlere göre belirledikleri histamin miktarların 3. günde sırasıyla 11.2mg/kg ve 12.5mg/kg olarak bildirirken 12. günde 117mg/kg ve 162mg/kg olarak bildirmiştir. 18 günlük muhafazanın sonunda toksik limit olarak bildirdiği 200mg/kg'ın altında bulunduğunu rapor etmiştir. Çalışmamızda, marine edilmiş hamsi örneğinde depolama süresi sonunda bulunan histamin miktarının (34.5±2.00mg/kg) söz konusu çalışmalarda elde edilen değerlerle mukayesesi yapıldığında, marinyasyonun işleme tekniği olarak uygun olduğu ve taze hammadde kullanıldığı taktirde ise risk arz etmediği sonucunu düşündürmektedir.

Klausen ve Lund (1986), 2°C ve 10°C'de vakum pakette depolanmış ringa ve uskumru balığında biyojenik amin üretimini araştırarak, uskumruda yüksek bir kadaverin içeriğini bildirirken, tüketilmez hale gelmeden önce ringadaki putresin seviyesinin 10mg/kg'ı aşmadığını, uskumruda ise bu seviyenin 40mg/kg'e ulaştığını bildirmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, Okuzumi ve ark. (1990) 5°C' de depolanan kıyılmış uskumru etinin bozulma evresinde yüksek bir putresin (540mg/kg) ve kadaverin (150mg/kg) değerini bildirmişlerdir. 30°C' de depolanan örneklerde ise daha yüksek bir kadaverin seviyesini (6120mg/kg) gözlemişlerdir. Palegous ve ark.

(2004) soğuk derecede buzda polietilen bir filme sarılmış şekilde depolanan levrekte, depolama süresince kadaverinin en fazla üretilen amin olduğunu ve bu aminin 16. günde yaklaşık 10.69mg/kg seviyesine çıktığını rapor etmişlerdir. Özoğul ve ark. (2002a) buzda ve buzsuz ortamda, iç organları çıkarılmış bir şekilde soğukta (2°C) tutulan ringa balığı üzerinde yaptığı çalışmada depolamanın 16. gününde putresin ve kadaverin miktarlarını buzlu ortamda sırasıyla 39.7mg/kg ve 237.2mg/kg olduğunu bildirirken buzsuz ortamdaki balıklarda 74.2mg/kg ve 329.3mg/kg olarak bildirmiştir. Çolak ve Aksu (2002)'un bildirdiğine göre Fier ve Goetsch (1993) tarafından yapılan çalışmada çeşitli hamsi örneklerinde ortalama putresin ve kadaverin miktarlarının 18mg/kg ile 107mg/kg olarak bildirmişlerdir. Draisci ve ark. (1998) tuzlanmış hamside depolamanın başlangıcında putresin ve kadaverin miktarlarını sırasıyla 34mg/kg ve 5mg/kg bildirirken depolamanın 180. gününde 264mg/kg ve 19mg/kg olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda bulduğumuz putresin ve kadaverin miktarlarının söz konusu çalışmadaki örneklerden daha düşük düzeylerde olduğu gözlenmiştir.

Ben-Gigirey ve ark. (1998) dondurulmuş beyaz ton balığı üzerine yaptıkları bir çalışmada, spermin içeriğinin depolama süresince arttığını, 9 aylık depolama sonucunda ise bu konsantrasyonun -18°C' de 9.5mg/kg'a, -25°C'de ise 10.27mg/kg'a ulaştığını bildirmiştir. Spermidin içeriğinin ise 9 aylık depolama sonunda -18°C' de 93.71mg/kg ve -25°C' de 81.89mg/kg olarak ortaya koymuştur. Özoğul ve ark. (2002b) ringanın bütün olarak depolama koşulları altında (2±2°C'de buzda, buzsuz ortamda ve modifiye atmosfer pakette), kaslarındaki spermin ve spermidin içeriğinin 10mg/kg' dan düşük olduğunu bildirmiştir.

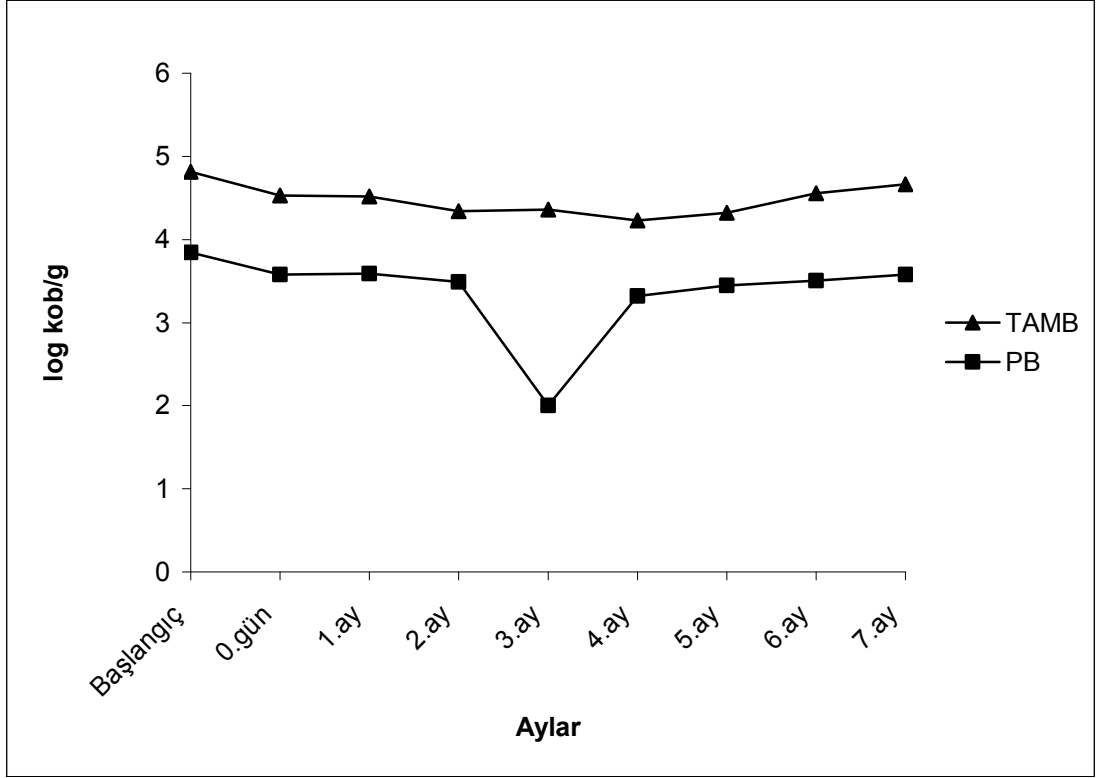
4.4. Mikrobiyolojik Değişimler

Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) toplam aerob mezofilik bakteri (TAMB), toplam psikrofil bakteri (TPB), maya-küf, koliform, *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus-Micrococcus* (SM), Histamin oluşturan bakteri sayıları (HOB) (kob/g) Çizelge 4.11.'de, aylara göre logaritmik değerlere bağlı değişim grafikleri ise Şekil 4.12., 4.13. ve 4.14.'de verilmiştir.

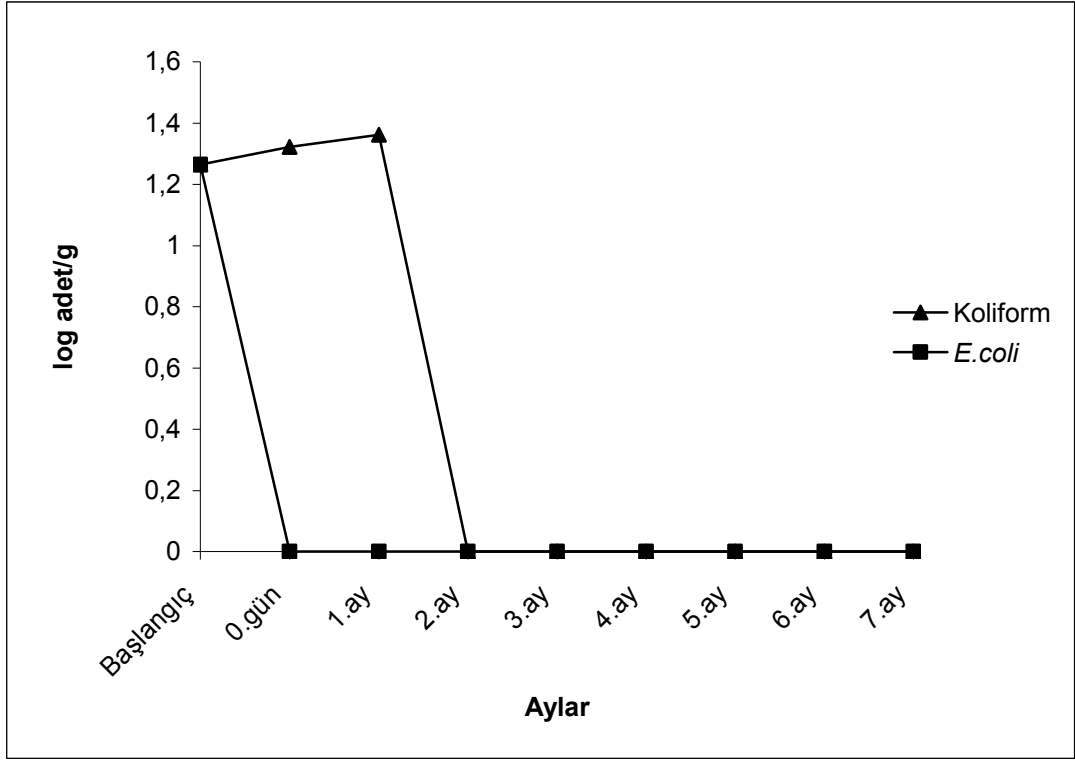
Çizelge 4.11. Marine edilerek 7 ay boyunca depolanan hamside (*Engraulis engrasicholus*) mikrobiyolojik değişimler

| Depolama Süresi | TAMB (kob/g) | TPB (kob/g) | Koliform (adet/g) | <i>E.coli</i> (adet/g) | HOB (kob/g) | SM (kob/g) | Maya-Küf (kob/g) | <i>Salmonella</i> (kob/g) |
|-----------------|---------------------|---------------------|----------------------|------------------------|---------------------|-------------------|------------------|---------------------------|
| Taze Balık | 6.5x10 ⁴ | 7x10 ³ | 1.84x10 ¹ | 1.84x10 ¹ | 7.2x10 ³ | 3x10 ² | - | - |
| 0.gün | 3.4x10 ⁴ | 3.8x10 ³ | 2.1x10 ¹ | - | 3.7x10 ³ | - | - | - |
| 1.Ay | 3.3x10 ⁴ | 3.9x10 ³ | 2.3x10 ¹ | - | 3.2x10 ³ | - | - | - |
| 2.Ay | 2.2x10 ⁴ | 3.1x10 ³ | - | - | - | - | - | - |
| 3.Ay | 2.3x10 ⁴ | 10 ² | - | - | - | - | - | - |
| 4.Ay | 1.7x10 ⁴ | 2.1x10 ² | - | - | - | - | - | - |
| 5.Ay | 2.1x10 ⁴ | 2.8x10 ² | - | - | - | - | - | - |
| 6.Ay | 3.6x10 ⁴ | 3.2x10 ² | - | - | - | - | - | - |
| 7.Ay | 4.6x10 ⁴ | 3.8x10 ² | - | - | - | - | - | - |

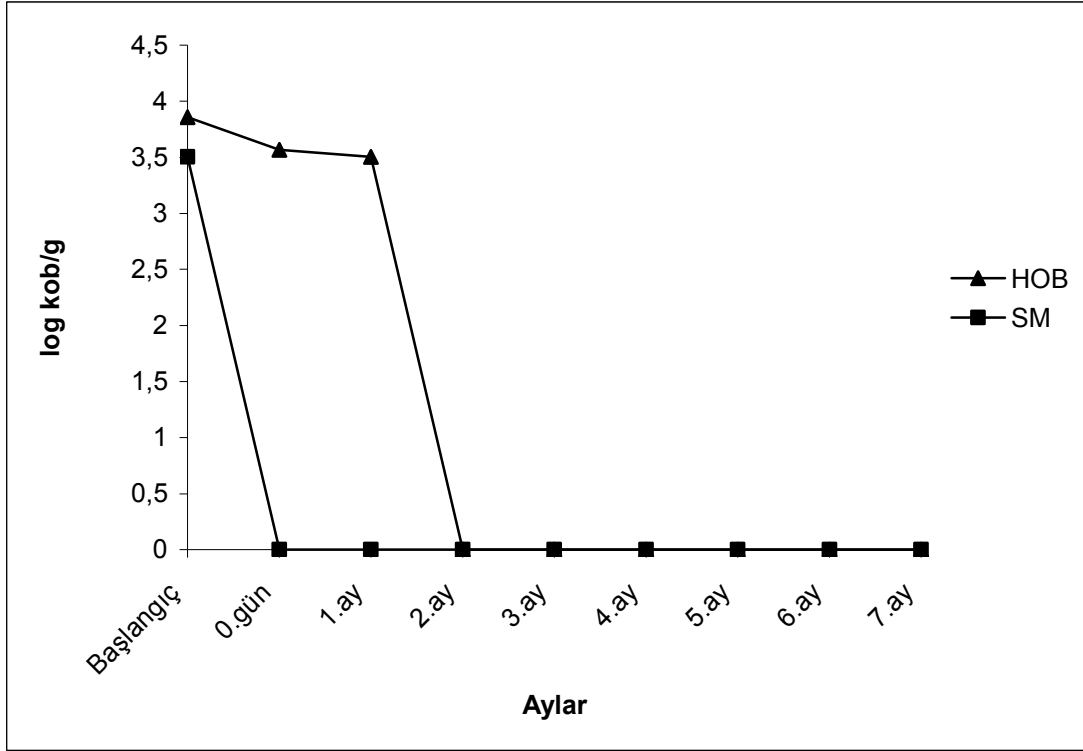
Örnek sayısı; n=3



Şekil 4.12. Toplam aerob mezofilik (TAMB) ve toplam psikrofilik bakteri (TPB), sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı değişimleri



Şekil 4.13. Koliform ve *E.coli* sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı değişimleri



Şekil 4.14. Histamin Oluşturan Bakteri sayılarının (HOB) ve *Staphylococcus* ve *Micrococcus* (SM) sayılarının aylara göre logaritmik değerlerine bağlı değişimleri

Gıdalarda bulunan mikroorganizmaları üç farklı kategori üzerinden kontrol edilmeleri gerekmektedir.

1. Gıda kökenli hastalık meydana getirebilme gücüne sahip patojenler
2. Gıdalarda bozulmalara sebep olabilen mikroorganizmalar
3. Gıdalarda gelişmeleri sonucu istenmeyen değişiklikler meydana

getirebilen mikroorganizmalar (Topal, 2003).

Balıkta başlangıç mikroflorası avlandığı sahaya, avlama metoduna, işleme ve depolama yöntemine bağlıdır. Balığın avlandığı sahadaki suyun kontaminasyonu, dip sedimenti ve avlandığı sahadaki suyun sıcaklığı balık mikroflorasını doğrudan etkiler. (Banwart, 1987). Mikroorganizma konsantrasyonlarının büyük bir çoğunluğu, balığın bağırsaklarında, solungaçlarında ve yüzeyinde bulunur (Nickelson II ve ark., 2001). Balık derisinin yüzeyinde yayılan mikroorganizma işleme süresince, ekipmana, işçiye, balıketi veya filetosuna geçebilir. Bundan dolayı normalde steril olan et bir anda milyonlarca bakteriyle inoküle olarak tüketiciye

ulaştığında bozulmuş olabilir. Diğer gıdalarda olduğu gibi deniz ürünlerinde de karışık flora, ürünün depolanması süresince belirli tip mikroorganizmalarca baskın hale gelir. Baskın hale gelen bu mikroorganizmalar uygun sıcaklıklarda gıda içinde veya üzerinde çoğalarak hayatta kalarak ürünü etkilerler (Banwart, 1987).

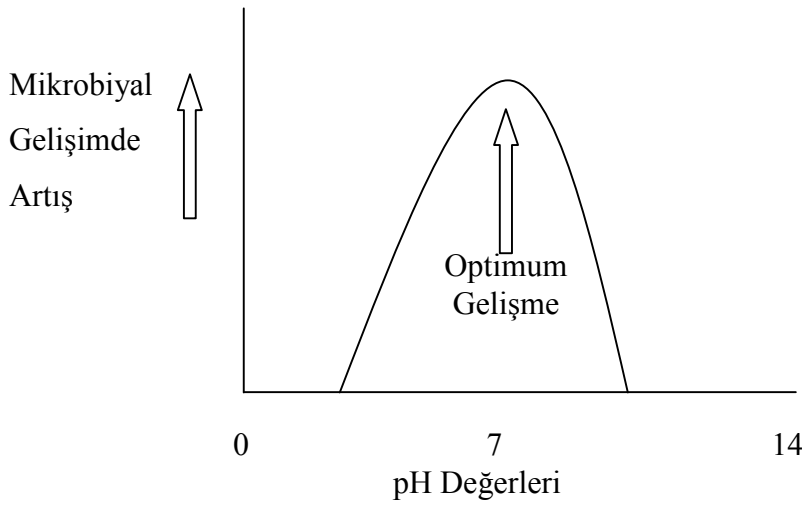
Aerobik bakteri sayısı, üründeki mikroorganizma seviyesini gösteren bir indekstir. Balık ve balık ürünlerindeki aerobik mikroorganizma sayısı kaliteyi, proses sonrası kontaminasyonu ve depolama ömrünü göstermesi açısından faydalı olmasına karşın her cm^2 ve her gram başına düşen mikroorganizma sayısı ile raf ömrü arasındaki ilişki tam anlamıyla güvenilir bir ilişki değildir. Balık ve balık ürünlerindeki toplam bakteri seviye çoğunlukla 10^4 ve 10^5 /g arasında olmasına rağmen g'da 10^6 ve 10^8 mikroorganizma bulunan deniz ürünleri de mevcuttur. Genellikle duyuşal açıdan ret edildiği durumda mikroorganizma seviyesi 10^6 'dan 10^7 kob/g yada kob/ cm^2 değişebilmektedir (FDA,1998; Barbosa ve ark., 2002).

Salmonella vakalarında açık denizlere göre kıyıya yakın sularda avcılığ yapılan balıklarda daha yüksek düzeyde rastlanılmaktadır ki bunun sebebi kıyıya yakın suların insan ve hayvan kirliliğinden etkilenmesinden kaynaklanmaktadır. *Vibriolar* ise kış aylarında sularda tespit edilememesine karşın sedimentte bulunabilmektedir. Su sıcaklıklarının artmasıyla birlikte hem plankton üretiminde artış hem de *V. parahaemolyticus* vakalarında artış gözlenmektedir (Nickelson II ve ark., 2001). *Salmonella* spp. *Shigella* spp. ve *E.coli* gibi birkaç mikroorganizma balıkta doğrudan bulunmayan ancak denizel orijinli gıdalara fekal kontaminasyon sonucu bulaşan mikroorganizmalardır. Bu bulaşma suların fekal yolla kirlenmesi ve işleme esnasında zayıf hijyen sonucu çapraz kontaminasyonla meydana gelmektedir. Ayrıca *Staphylococcus aureus*'unda bulaşması proses esnasında gerçekleşmekte özellikle de elle işleme söz konusu olduğu durumda risk daha da yüksek olabilmektedir. Özellikle *Staphylococci*'ler pişmiş gıdalarda dahi normal bozulma florası inaktive edilmiş olsa dahi risk taşıdığı belirtilmektedir (Nilsson ve Gram, 2002).

Gıda zehirlenmesine neden olan bakterilerin yanı sıra mantarlar ve virüsleri de dahil edeceğimiz mikroorganizma grupları da bulunmaktadır (Johnson ve Pariza,1987). Ancak tüm mikroorganizma gruplarının gelişmeleri için minimum,

maksimum ve optimum pH istekleri vardır. Bakteriler optimum gelişmeyi 7'ye yakın pH değerinde göstermesine karşın düşük pH değerine karşı toleransları zayıftır. Küflerin pH istekleri mayalara göre daha düşük olup, mayalar bakterilere göre daha düşük pH değerine toleranslıdır. Bakteriler düşük asitli ve nötre yakın ortamlarda mayalara göre daha hızlı çoğalma gösterir ama 5 ve daha düşük pH değerinde bakterilerle kolaylıkla rekabet edebilmektedirler. Organizmaların çoğalma gösterdikleri pH ile hayatta kaldıkları pH değerleri farklıdır. Bazı organizmalar 5.6 ile 6.5 düşük asidik ortamlarda hayatta kalmasına karşın 6.8 ile 7.3 arasında optimum gelişmeyi gösterirler. Mikroorganizmalar çoğalabilmek için çok düşük pH'daki asidik ortamda yada bazik ortamda hayatta kalabilirler (Banwart, 1987).

pH'ın mikrobiyal gelişim üzerine etkisi Şekil 4.15.'de verilmiştir.



Şekil 4.15. pH'ın mikrobiyal gelişim üzerine etkisi (Court, 2005)

Yaptığımız çalışmada toplam aerob mezofilik bakteri sayısının, psikrofil bakteri sayısının, koliform, *E. coli*, *S. auerus*, *Salmonella*, histamin oluşturan bakterilerin sayısının, maya ve küf sayısının, marinat pH'sı ile doğrudan ilişkili olduğu sonucunu doğurmaktadır.

Çizelge 4.11'da görüldüğü gibi başlangıçtaki toplam mezefolik aerob bakteri yükü taze materyalde olması gerektiği bildirilen sınırlar içerisinde yer almaktadır. Başlangıçtaki toplam mezofilik aerob bakteri yüküne benzer sonuçlar, Sen ve

Temelli (2003)'nin soslu ve sebzeli marine hamside mikrobiyal kaliteyi belirlemek üzere yaptığı çalışmada ortaya koyulmuş ve 2.7×10^5 kob/g olarak bildirilmiştir.

Yine araştırmamızdaki bulguları destekleyen sonuçlar Poligne ve Collignan (2000)'nin, hızlı marinasyon tekniği ile hamside (*Engraulis engrasicolus*) yaptığı çalışmada ortaya konulmuş ve taze materyaldeki toplam mezofilik aerob bakteri ve koliform bakteri sayıları sırasıyla 1.5×10^3 ve 2.1×10^1 kob/g olarak bildirilmiştir. Ayrıca bu değerlerin Fransa'da kabul edilebilir sınırlar içerisinde olduğu da bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada da mikrobiyal kaliteyi belirlemek üzere ortaya koyduğumuz sonuçlardan *S. aureus*, Koliform, *E. coli*, *Samonella* sp. ve Toplam mezofilik aerob bakteri sayısı gibi sonuçlar bu konuda bağlı olduğumuz T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü'nün Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabında Taze ve İşlenmiş Balık ve Balık Ürünleri için belirtilen maksimum sınır değerlerinin altında yer almıştır. Yine başlangıçtaki toplam mezofilik aerob bakteri, toplam psikrofil bakteri, koliform grubu bakteri sayısına benzer sonuçlar Varlık ve Heperkan (1990)'ın hamsinin buzda muhafazası üzerine yaptığı araştırmada, Fuselli ve ark.(1996)'nın, Dokuzlu (1996)'nun yaptığı çalışmalarda da bildirilmiştir.

Bilindiği üzere Koliform ve *E. coli* gibi mikroorganizmaların ürüne bulaşmasının önlenmesinde iyi hijyen ve üretim kuralları önem arz etmektedir. Başlangıçta mevcut olan bu grup organizmaların yetersiz hijyen uygulamalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Huss (1994) gıdalardaki *E. coli* bulaşmalarının genellikle kullanılan su veya gıdaların hijyenik olmayan şartlarda işlenmesinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Araştırmamızda marinasyonun ardından tüm mikroorganizma sayılarında bir düşüş yaşanmış ve depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$). Depolama sonunda ise *E. coli*, Koliform *Staphylococcus-Micrococcus*, Maya- Küf ve *Salmonella*ya rastlanmamıştır.

Fuselli ve ark. (1996), yaptığı çalışmada soğuk marine edilmiş hamside (*Engraulis anchoita*) depolama sonunda *Staphylococcus* spp., koliform, Enterobacteriaceae, maya ve küf, *E. coli*'ye rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Dokuzlu (1996), yaptığı çalışmada %2 asetik asit ve %12 tuz solüsyonunda

hazırlanan marinatta 50kob/g koliform grubu bakteriyi rapor etmiş; Sen ve Temelli (2003), soslu ve sebzeli marine hamside marinasyondan sonra mikroorganizma sayılarında düşüş meydana geldiğini ve meydana gelen bu düşüşün tuz ve asitlilikten kaynaklandığını bildirmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar asetik asitin bakteriler üzerine antibakteriyal bir etki yarattığını ortaya koymuş ve bu etkiyi Aksu ve ark. (1997)'nin farklı asit ve tuz konsantrasyonları kullanarak hazırladıkları salamurada olgunlaştırdıkları hamsinin raf ömrünü belirlemek üzere yaptıkları çalışmayla desteklemişlerdir. Söz konusu çalışmada, marinasyon prosesinin ilk gününde, %4 asetik asidin ve %12 tuz konsantrasyonunun, 10^6 kob/g mezofilik bakteri sayısında, 10^4 kob/g koliform bakteri sayısında 10^3 kob/g *Staphylococcus-Micrococcus* grup bakteri sayısında ve 10^3 kob/g maya-küf sayısında bir azalma meydana getirdiğini bildirmiştir. Yaptığımız bu çalışmada da marinasyon işleminin antibakteriyal etki yarattığı ve bu etkinin bir süre devam ettiği gözlenmiştir. Yaptığımız araştırmada elde ettiğimiz bulgular, söz konusu araştırmacıların bulgularıyla uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Bir başka araştırmada Çolakoğlu (2004), farklı işleme teknikleriyle elde edilen son ürünlerin mikrobiyal sayısında taze balık filetosuna kıyasla önemli ölçüde azalma olduğunu bildirirken özellikle en az bakteri içeriğinin marinat teknolojisinde olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışmamızda marinasyon işleminin yarattığı antibakteriyal etkinin histamin oluşturan bakteriler üzerinde de etkili olduğu görülmüş; 1. aydan sonra tespit edilmediği ancak histamin oluşumunun devam ettiği gözlenmiştir. Bunu nedenin histamin oluşturan bakterilerin sayısında gözlenen düşüşün ardından, sayıca az olmasından dolayı kullanılan besi yerinde ürememesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Nitekim Bremer ve ark. (2003) bakteriyel sayının histamin için iyi bir gösterge olduğunu bildirmesine karşın, yinede tek güvenilir yolun kimyasal analiz olduğunu ifade etmiştir. Yoshinaga ve Frank (1982) histamin oluşturan bakterilerin tespitinde kullanılan Niven's ortamı besi yerinin 5.3 gibi düşük pH'larda, histamin oluşturan bakterileri baskılayıcı yönde problemler teşkil ettiğini, Baranowski (1985) ise böyle durumlarda yanlış pozitif sonuçların alınmasının dahi mümkün olabileceğini bildirmiştir.

Su ürünlerinde değişik işleme tekniklerinin balıklarda mikrobiyal sayı üzerine etkilerini bildiren farklı çalışmalarda mevcuttur. Örneğin Timur ve Timur dondurularak saklanan *Melanogrammus aeglefinus* örneklerinin bir gramındaki toplam bakteri sayısını dondurulmadan önce 2.5×10^4 , dondurulduktan sonra 1.5×10^3 , -17.8°C 'de depolandıktan 1 ay sonra 9×10^2 , 6 ay sonra 7×10^2 olarak bildirmişleridir. Bennour ve ark. (1990)' uskumrunun (*Scomber scombrus*) buzda depolanmasına ilişkin çalışmasında depolama sonundaki toplam ve psikrofil bakteri sayısının 1.10^6 kob/g'a ulaştığını bildirirken, Marakchi ve ark. (1990) buzda muhafaza edilen sardalyalarda (*Sardina pilchardus*) başlangıçtaki toplam aerobik bakteri, psikrotrofik bakteri ve Enterobacteriaceae sayılarını sırasıyla 3.16×10^2 , 1.86×10^3 ve 2.20×10^1 kob/g olarak bildirmiş; 9. günde ise limit olarak bildirilen 10^6 - 10^7 kob/g ulaştığı rapor etmiştir. Altuğ (1998) Adana ilinde satılan işlem görmüş ve görmemiş hamsilerde (*E. engrasicholus*) yaptığı araştırmada, her iki grupta *Salmonella* spp. ve *Vibrio parahaemolyticus* rastlamadığını rapor ederken, işlem görmemiş hamsi örneklerindeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısını ortalama $7 \pm 0.17 \times 10^5$, Fekal *E.coli* sayısını ortalama $8 \pm 0.48 \times 10^6$ *S. aures* Koagulas (+) sayısını ortalama $5 \pm 0.44 \times 10^4$ olarak bildirirken, işlem görmüş hamsi örneklerindeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısını Fekal *E. coli* sayısını, *S. aures* Koagulas (+) sayısını sırasıyla ortalama $4 \pm 0.31 \times 10^3$, $2 \pm 0.14 \times 10^4$ ve 0 olarak bildirmiştir. Arslan ve ark. (1997) vakumlu ve vakumsuz aynalı sazanların mikrobiyolojik incelemesinde vakumlu sazan pastırmalarının $+4^\circ\text{C}$ 'de aerob genel canlı sayısını 8.1×10^4 - 9.6×10^5 kob/g; anaerobları 2.2×10^4 - 1.2×10^5 kob/g, psikrofillerin 3.6×10^2 - 7.6×10^4 , mikrokok-stafilokokların 5.5×10^3 - 1.6×10^5 kob/g maya ve küfleri 25 - 5.2×10^2 kob/g olarak rapor etmiş, vakumsuz pastırmalarda bu değerlerin sırasıyla 1.0×10^4 - 6.2×10^6 kob/g, 7.6×10^2 - 4.6×10^5 kob/g, 11 - 2.1×10^3 kob/g, 93 - 4.4×10^3 kob/g arsında olduğunu bildirmiştir. Maya ve küflerin ise vakumsuz pastırmalarda, koliform grubu mikroorganizmaların ise her iki örneklerde üremediğini bildirmiştir. Söz konusu araştırmalardaki örneklerle, ürünümüzün mukayesesi yapıldığında, depolama süresi sonunda mikrobiyolojik açıdan hala kabul edilebilir limitler dahilinde olması, dolayısıyla gıda güvenilirliğini sağlıyor olması insanların güvenle tüketebileceği bir gıda olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Mevcut projede, marine edilerek, 7 ay boyunca depolanan hamsi (*Engraulis engrasicholus*) filetolarında bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal değişimler incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular ve öneriler aşığıda belirtildiği şekilde sıra ile verilmiştir.

1. Araştırmamızda marine edilmiş hamside protein miktarı 18.07 ± 0.21 ; yağ miktarı ise 11.71 ± 0.53 bulunmuştur. Elde edilen besin öğelerine ait bulgular, farklı araştırmacılar tarafından bildirilen taze hamsideki protein miktarlarına yakınlık göstermiş olması nedeniyle, çok iyi bir protein kaynağı olduğunu düşündürmektedir. Nitekim marine edilmiş hamsinin doğrudan tüketime hazır gıda olduğu da göz önünde bulundurulursa, iyi bir enerji kaynağı olduğu da görülmektedir.
2. Özellikle doymamış yağ asitlerince zengin ($C_{18:1}$, $C_{20:5 \text{ n-3}}$, $C_{22:6 \text{ n-3}}$) bir gıda olması beslenme açısından diğer işlem görmüş gıdalara kıyasla daha üstün olabileceği sonucunu doğurmaktadır.
3. Çalışmamızda araştırmamızın başında elde edilen TVB-N, TBA, pH değerleri sırasıyla $11.90 \pm 0.70 \text{ mg/100g}$, $1.16 \pm 0.00 \text{ mg malonaldehit/1000g}$, 3.94 ± 0.01 olmuş ve araştırmamızın sonuna kadar düzenli bir artış göstererek araştırma sonu itibariyle, $16.91 \pm 0.66 \text{ mg/100g}$, $4.20 \pm 0.08 \text{ mg malonaldehit/kg}$, 4.24 ± 0.01 olarak bulunmuştur. Bulunan bu değerlerin tüketilebilirlik sınır değerlerini aşmadığı gözlenmiştir. Araştırma sonunda ürün TVB-N yönünden “çok iyi” özelliğini korumuş, TBA yönünden acılaşmanın başladığı, pH yönünden ise marine edilmiş ürünlerde kritik olarak bildirilen 4.5 değerine yaklaştığı gözlenmiştir.
4. Çalışmamızda elde edilen peroksit miktarı depolama başlangıcında çok iyi materyalde olması gereken değere yakın bir değerde bulunmuş ($1.48 \pm 0.45 \text{ meq/kg}$) ancak depolamaya birlikte gözlenen artış, duyuşal açıdan kendini ürünün tadında acılıkla hissettirmiş ve en yüksek değerine 6. ayda ulaşmıştır. 5. ayda ulaşılan kritik değerin ardından 6. ayda ulaşılan bu değer tüketilebilirlik sınırlarının üzerinde olmuştur ($25.83 \pm 2.19 \text{ meq/kg}$)

5. Özellikle balığın bozulma derecesini tahmin etmede en yaygın kimyasal kalite kriteri olarak kullanılan TVB-N' in, marine edilmiş hamsi için çok uygun bir kriter olmayacağı sonucuna varılmıştır. Çünkü araştırma sonunda ürünün TVB-N yönünden halen “çok iyi” özelliğini koruduğu gözlenmiştir. Oysa duyuşal bulgular bakımından 7.ay sonunda tüm özellikler yönünden “tüketilebilirlik” sınır değerine yakın bulunmuştur.
6. Çalışmamızda marine edilmiş hamsinin raf ömrünü belirlemede kimyasal kalite kriterlerinden pH, TBA ve peroksit sayısının, TVB-N'e kıyasla daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Özellikle peroksit sayısındaki artışın kaliteyi belirlemede daha güvenilir olduğu görülmüş ancak söz konusu kriterlerin duyuşal analizlerle desteklenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.
7. TBA ve peroksit sayısının ürünümüzde kalite kriteri olarak belirgin şekilde ortaya çıkmasının nedeni, materyal olarak kullanılan hamsinin yağlı balık olmasından dolayı hızlı bir şekilde oksidasyona maruz kalması ve ürünün ayçiçek yağı içerisinde muhafaza ediliyor oluşundan kaynaklanmaktadır.
8. Mikrobiyolojik açıdan marinasyon işleminin taze materyaldeki toplam aerob mezofilik bakteri sayısı (6.5×10^4 kob/g), toplam psikrofil bakteri sayısı, (7×10^3 kob/g), koliform (1.84×10^1 adet/g), *E.coli* (1.84×10^1 adet/g), *Staphylococcus-Micrococcus* (3×10^2 kob/g), histamin oluşturan bakteri sayıları (7.2×10^3 kob/g) üzerine azaltıcı yönde etkisi olduğu, bunun nedeninin ise hamsi filetoalarının olgunlaştırılmasında kullanılan alkol sirkesi, konsantrasyonu ve yaşanan ani düşük pH' tan kaynaklandığı düşünülmektedir.
9. Araştırmamızda depolama süresince mikrobiyolojik açıdan artışlar yaşanmamış; hatta marinasyon işleminin yarattığı antibakteriyal etkinin bir süre devam ederek çeşitli aylarda düşüşler dahi gözlenmiştir. 7. ay sonuna kadar toplam aerob mezofilik bakteri ve toplam psikrofil bakteri sayısında sabit bir trend izlenmiş ve mikroorganizma sayıları depolama sonunda taze materyaldekine kıyasla daha düşük kalmıştır. Bunun nedeninin ürünün depolama sıcaklığından ve ürünün depolama sonuna kadarki düşük pH' dan kaynaklandığı düşünülmektedir.
10. Taze materyalde var olan patojen mikroorganizmaların işleme sırasında yetersiz hijyen uygulamalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim balığın

avlanmasından, işlenip mamul haline getirilip depolanmasına kadar her aşamada hijyen kurallarına titizlikle uyulması gerektiği sonucuna bir kez daha varılırken, özellikle balıkların avlanmasında kullanılan teknelerin, motorların, nakil sırasında kullanılan kasa, sandık diğer alet ve ekipmanların birer kontaminasyon kaynağı olduğunun unutulmaması gerekmektedir.

- 11.** Marine edilmiş hamside depolama süresince belirlenen başlıca aminler putresin, kadaverin, spermin, triptamin, β -feniletilamin, spermidin, histamin, serotinin ve tyramin olmuştur. Araştırmamızda olgunlaşma tamamlandıktan sonra en düşük biyojenik amin konsantrasyonuna β -feniletilamin ($7.8 \pm 0.39 \text{mg/kg}$) spermidin ($8.1 \pm 0.93 \text{mg/kg}$) ve histaminde (8mg/kg) rastlanmıştır.
- 12.** Aminler içerisinde biyolojik olarak aktif olan histaminin depolama sonunda FDA tarafından toksik olarak bildirilen 50mg/kg 'ın altında olduğu tespit edilmiş ($34.5 \pm 2.00 \text{mg/kg}$) ve depolama sonuna kadar düzenli bir şekilde arttığı da gözlenmiştir. Dolayısıyla başlangıç materyali olarak kullanılacak balığın kalitesi, depolama sonuna kadar oluşacak olan histaminin miktarını doğrudan etkileyeceği; putresin ve kadaverin gibi diğer biyojenik aminlerin de histamin toksisitesini arttıracığı bir gerçektir. Sonuç olarak depolama süresince olduğu gözlenen histaminin marine edilmiş hamsi için kaliteyi belirlemede iyi bir indikatör olabileceği sonucunu doğurmaktadır.
- 13.** Marinasyon teknolojisi üzerine yapılmış bir çok araştırmada ürünlerin raf ömrünün 3 ile 6 ay arasında değiştiği bildirilmekte. Ancak yapmış olduğumuz çalışmada ürünün 7 ay gibi bir süre dayandığı, bozulmanın duyuşal açıdan ancak 7. aydan sonra görülebileceği sonucuna varılmıştır. Bunun nedeninin ise başlangıç materyali olarak kullanılan hamsinin kalitesi, depolama sıcaklığı ve antioksidan olarak kullanılan sitrik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir.
- 14.** Ürünün raf ömrünü doğrudan etkileyecek olan depolama sıcaklığı çalışmamızda $0-2 \text{ }^\circ\text{C}$ olarak uygulanmış ancak söz konusu ürünün marketlerde satışa sunulmak için bekletildiği ortamın sıcaklığı çalışmamızdaki sıcaklıktan daha yüksek olacağından, ürünün marketlerde uzunca bir süre bekletilemeyeceği sonucunu ortaya koymakta, bu anlamda tüketicilerin daha bilinçli olması gerektiği ortaya çıkmaktadır.

Özellikle geniş ihraç şansına sahip marine ürünler artık ülkemizde de tüketilme alışkanlığı kazanılmış ve hamsi dışında alternatif farklı su ürünlerinin marine edilerek değerlendirilmesine başlanmıştır. Ülkemizde, ticari anlamdaki işletmelerin marinasyon tekniğini uygulama biçimi su ürünlerini sezonunda alıp, ardından dondurup ve daha sonra marine etmek üzere çözdürme şeklindedir. Dolayısıyla yaptığımız bu çalışmada özellikle marine etmek üzere kullanılacak hamsinin başlangıç kalitesinin son derece önemli olduğunun ortaya koyulmuş olması; oluşması muhtemel biyogenik aminlerin belirlenmesi ile desteklenmiştir. Araştırmamızın sonucunda, yukarıda da değinildiği gibi marine edilmiş hamside histamin oluşumu ve artışı söz konusudur. Söz konusu bu artışın insan sağlığını tehdit eder boyutlara ulaşmaması için kaliteli hammaddenin kullanılması gerekmektedir. Unutulmamalıdır ki kaliteli ürünler ancak kaliteli hammaddenin kullanılmasıyla sağlanabilmektedir. Hamsinin sağlıklı koşullarda elde edilip ardından depolanıp, çözdürülüp, işlenerek pazara sunulması insan sağlığını doğrudan tehdit eder bir gıda olmasına neden olacaktır.

Ayrıca araştırmamızda iyi üretim uygulamaları çerçevesinde pH düzenleyici olarak kullanılan sitrik asidin (ticari E330) ürünün raf ömrü üzerindeki etkisinin ortaya konmuş olması, alternatif olarak geliştirilecek diğer marine edilmiş ürünlerdeki etkisine ışık tutmuş olacaktır.

Söz konusu çalışmamız, üretici firmalar için histamin riskinin ortaya konmuş olması ve marketlerde bekletme sıcaklığında 7 ay gibi bir süre dayanamayacağına ışık tutmuş olması açısından faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- AIDOS, I., SCHELVIS-SMIT, R., VELDMAN, M., LUTEN, J.B., VAN DER PADT, A., and BOOM, R.M., 2003. Chemical and Sensory Evaluation of Crude Oil Extracted from Herring By-products from Different Processing Operations J. Agric. Food Chem., 51, 1897-1903.
- ALLEN, D.G., Jr. 2004. Regulatory Control Of Histamine Production In North Carolina Harvested Mahi-Mahi (*Coryphaena Hippurus*) And Yellowfin Tuna (*Thunnus Albacares*): A HACCP-Based Industry Survey A thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science Department Of Food Science, 91 p.
- ALTUĞ, G., 1998. Adana İlinde Satılan *Engrailus encrasicholus* (*Engraulidae*) Üzerinde Bakteriyolojik Bir Çalışma. 7-10 Eylül XIV Ulusal Biyoloji Kongresi, Samsun, Cilt III, 12-18.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analysis Chemists. Association of Official Analytical Chemists, 15th edn. Washington, DC
- AOAS, 1994. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. American Oil Chemists Society, Champaign, IL
- ARSLAN, A., ÇELİK, C., GÖNÜLALAN, Z., ATEŞ, G., KÖK, F., KAYA, A., 1997. Vakumlu ve Vakumsuz Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Pastırmalarının Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesinin İncelenmesi. Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences, 21, 23-29.
- BANWART, G.J., 1987. Basic Food Microbiology. Second Edition. Department of Microbiology. The Ohio State University, 749 p.
- BARANOWSKI, J., 1985. Assay for histidine decarboxylase activity. In Histamine in marine products: Production by bacteria, measurement and prediction of formation, eds. B.S. Pan and D. James, FAO Fish Technology Paper, 252, 10-13.

- BARBOSA, A., BREMNER,H.A., BREMNER,A. and VAZ-PIRES P., 2002. The meaning of shelf-life. Safety and Quality Issues in Fish Processing. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 173-190.
- BARNETT, H.J., NELSONR.,W., 1991. A Comparative Study Using Multiple Indices to Measure Changes in Quality of Pink and Coho Salmon During Fresh and Frozen Storage. NOAA Technical Memorandum NMFS F/NWC.
- BEN-GIGIREY, B., J. VIEITES BAPTISTA DE SOUSA, M.T., VILLA, G., BARROS-VELAZQUEZ, J., 1998. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. J. Food Prot., 61, (5): 608-615.
- BENNOUR, M., EL MARRAKCHI, A., BOUCHRITI, N., HAMAMA,A., and EL OUADAA, M., 1991. Chemical and Microbiological of Mackarel (*Scomber scumbrus*) Stored in Ice Journal of Food Protection, 54, (10): 784, 789-792.
- BLIGH,E.G., and DYER,W.J.,1959. A Rapid Method of Total Lipid Ekstraction and Purification, Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911-917.
- BREMER, P.J., FLETCHER, G. C., OSBORNE, C., 2003. Scombrototoxin in Seafood. Crop Food Resarch,11p.
- CADUN,A.,2002. Çimçim Karidesten (*Parapenaeus longirostris*, Lucas,1846) Marinat Yapımı ve Kalitesi Üzerine Bir Çalışma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek Lisans Tezi, 95s.
- CADUN,A., CAKLI, S., KISLA D., 2005. A study of marination of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. Food Chemistry, 90, 53–59.
- CASCADO, S.P.S., VIDAL-CAROU, M.C., FONT, A.M., VECIANA-NOGUÉS, M.T., 2005. Influence of the Freshness Grade of Raw Fish on the Formation of Volatile and Biogenic Amines during the Manufacture and Storage of Vinegar-Marinated Anchovies. J. Agric. Food Chem., 53, 8586-8592.
- CASCADO, S.P.S., VIDAL-CAROU, M.C., NUNES, M.L., VECIANA-NOGUÉS,M.T., 2006. Sensory analysis to assess the frehness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. Food Control, 17, 564-569.

- COURT, A., 2005 Guidance Note No. 18. Determination of Product Shelf-Life
Food Safety Authority of Ireland
- ÇAKLI, Ş, KIŞLA, D., 2003. Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve
Önleme Yöntemleri E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20, (1-2): 239 – 245.
- ÇELİK, U., 2004. Marine Edilmiş Akivides (*Tapes decussatus* L., 1758)'in Kimyasal
Kompozisyonu ve Duyusal Analizi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21, (3-4): 219-
221.
- ÇOLAK, H., AKSU, H., 2002. Gıdalarda Biyojenik Aminlerin Varlığı ve amin
Oluşumunu Etkileyen Faktörler.YYÜ.Vet. Fak. Derg.,13, (1-2):35-40
- ÇOLAKOĞLU, F.A., 2004. Farklı İşleme Teknolojilerinin Kızılğöz (*Rutilus rutilus*)
ve Beyaz Balık (*Coregenus* sp.) Mikroflorası Üzerine Etkisi. Türk J Vet
Anim Sci., 28, 239-247.
- DİE, 2004. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistikleri.
Yayın No: 3005, 74s.
- DOKUZLU,C.,1996. Marinat Hamsi Üretimi Sırasında Kullanılan Asit-Tuz
Oranlarının Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkileri
ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. T.C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, 56s.
- DRAISCI, R., VOLPE, G., LUCENTINI, L., CECILIA, A., FEDERICO, R.,
PALLSCHI, G., 1998. Detrmination of biogenic bmines with an
electrochemical biosensor and its application to salted anchovies. Food
Chemistry, 62, (2):225-232.
- ERDEM, M.E., BİLGİN, S., ÇAĞLAK, E., 2005. Tuzlama ve Marinasyon
Yöntemleri İle İşlenmiş İstavrit Balığının (*Trachurus mediterraneus*)
Muhafazası Sırasındaki Kalite Değişimleri. OMÜ Zir.Fak.Dergisi, 20,(3):1-6.
- ERKAN, N., METİN, S., VARLIK, C., BAYGAR, T., ÖZDEN, Ö., 2000. Modifiye
Atmosferle Paketlemenin (MAP) Paneli Alabalık Marinatlarının Raf Ömrü
Üzerine Etkisi. Türk J Vet anim Sci., 24, 585-591.
- FDA GUIDELINES,1998. Potential Food Safety Hazard. Chapter 9: Aerobic Plate
Count. 1-13.

- FRANK, H. A., BARANOWSKI, J. D.M., CHONGSIRIWATANA, P. A., BRUST, PREMARATUE, R. J., 1985. Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi mahi after incubation at 0 and 32 °C. *Int. J. Food Microbiology*, 2, 331-340.
- FUSELLI, R., CASALES, M.R., FRITZ, R., YEANNES, M.L., 1996. Isolation and Characterization of Microorganism Associated with Marinated Anchovy (*Engraulis anchoita*). *Aquatic Food Product Technology*, 7, (3):29-38.
- GÖKOĞLU, N., VARLIK,C., 1995. Sardalya Konservelerinin Histamin Biyojen Amini Yönünden İncelenmesi. *Gıda*, (5), 273-279.
- GÖKOĞLU, N. , ÖZDEN Ö., ERKAN, N., TAÇNUR T., METİN, B., & METİN,S., 1999. Seasonal variation in fat content of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *International Journal of Food Science and Technology*, 34, 401–402.
- GÖKOĞLU, N., 2003. Changes in Biogenic Amines During Maturation of Sardine (*Sardina pilchardus*) Marinade. *Fisheries Science*, 69, 823-829.
- GÖKOĞLU, N., CENGİZ, E., YERLİKAYA, P., 2003. Determination of the Shelf Life of Marinated Sardine (*Sardina pilchardus*) Stored at 4 °C. *Food Control* in press.
- GRAM L., HUSS, H.H., 1996. Microbiological Spoilage of Fish and Fish Products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121-137.
- GRAM, L., DALGAARD, P., Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Environmental Biotechnology*, 13, 262-266.
- GRAM, L., RAVN, L., RASCH, M., BRUHN, J. B., CHRISTENSEN, A.B., GIVSKOV, M., 2002. Food Spoilage – Interactions Between Food Spoilage Bacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 78, 79-97.
- GUDMUNDSSON, M., HAFSTEINSSON, H., 2002. New non-thermal techniques for processing seafood. Safety and quality issues in fish processing. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 308- 330.

- HALKMAN,A.K., DOĞAN,H.B., NOVEIR,M.R.,1994. Gıda Maddelerinde *Salmonella* ve *E .coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü. Gıda Teknolojisi Derneği Yayını, Yayın No: 21, 93s
- HUSS, H.H.1988. Fresh Fish: Quality and Quality Changes.Rome:Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations,132p
- ,1994. Assurance of Seafood Ouality. FAO Fisheries Technical Paper 334, 147 p.
- ,1995. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO Fisheries Technical Paper. Food And Agriculture Organization of The United Nations, 348 p.
- HUSS, H.H., ABABOUC, L., GRAM, L., 2004. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. FAO Fisheries Technical Paper, 444, 230p.
- INGÓLFSDÓTTIR, S., STEFÁNSSON, G., KRISTBERGSSON, K., 1996. Seasonal Variations in Physicochemical and Textural Properties of North Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Mince. Aquatic Food Prouduct Technology, 7, (3):39-61.
- JEYASEKARAN, G. and SHAKILA, R., JEYA 2003. Occurrence of Biogenic Amine Forming Bacteria in cured fishery products of Thoothukkudi Region of Tamil Nadu, India Asian Fisheries Science, 16,195-202.
- JOHNSON, ERIC,A., PARIZA, MICHAEL,W.,1987. Microbiological Principles for the Safety of Foods. University of Wisconsin, Madison,Wisconsin, 135-173.
- KARA, C., 2001. Sır Baraj Gölü (Kahramanmaraş)’nde yaşayan *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843)’un dişi ve erkek bireylerinin kas dokusu yağ asitlerinin değişimi. Fen ve Mühendislik, Cilt 4, Sayı 1
- KARAÇAM, H., KUTLU, S., KÖSE, S., 2002. Effect of Salt Concentrations and Temperature on the Quality and Shelf-Life of Brined Anchovies. International Journal of Food Science and Technology, 37, 19-28.
- KILINÇ, B., 2003. Sardalya Balığından (*Sardina pilchardus* W.,1792) Marinat Üretimi ve Raf Ömrü Üzerine Bir Araştırma, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Doktora Tezi,139s.

- _____, 2004a. Marinat Teknolojisi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi,21,(1-2):153-156.
- _____, 2004b. Chemical, Microbiological and Sensory Changes in Thawed Frozen Fillets of Sardine (*Sardina pilchardus*) during Marination. Food Chemistry, 88, 275-280.
- _____,2005a. Determination of the Shelf Life of Sardine (*Sardina pilchardus*) Marinades in Tomato Sauce Stored at 4 °C. Food Control, 16, 639-644.
- _____,2005b. Chemical, Enzymatical and Textural Changes During Marination and Storage Period of Sardine (*Sardina pilchardus*) Marinades. Eur. Food Technol., 221, 821-827.
- KLAUSEN, N. K., HUSS, H. H., 1987. Growth and histamine production by *Morganella morganii* under various temperaturwe conditions. Int. J. Food Microbiol., 5 (2):147-156
- LAZOS, S., EVANGELOS, 1997. Freshwater Nase (*Chondrostoma nasus*): Thermally Processed as a Potential Food Resource. Aquatic Food. Product Technology, 6,(2):45-63.
- LIMA DOS SANTOS, C., JAMES, D., TEUTSCHER,F., 1981. Guidelines for Chilled Fish Storage Experiments. FAO. Fish.Tech.Pap., 210 p.
- LUDORFF,W. and MEYER,V.,1973. Fische und Fisherzeuge.Z.Auflage. Verlag Paul Parey In Berlin und Hamburg, 209-210.
- LUTEN, J.B., BOUQUET,W., SEUREN,L.A.J., BURGGAAAT,M.M., RIEKWEL-BOOY, G., DURAND,P., ETIENNE,M., GOUYOU,J.P., LANDREIN,A., RITCHIE, A., LECLERQ,M., and GUINET,R.,1992. Biogenic amines in fishery products: Standardization methods within EC. Quality Assurance in the Fish Industry, 427-439.
- LYHS, U., KORKEALA, H., VANDAMME, P., BJÖRKROTHJ., 2001. *Lactobacillus alimentarius*: A Specific spoilage organism in Marinated Herring. International Journal of Food Microbiology, 64, 355-360.

- MALLE, P., and POUMEYROL, M., 1989. A New Chemical Criterion for the Quality Control of Fish: Timethylamine/Total Volatile Basic Nitrogen. *Journal of Food Protection*, 52,(6): 419-423.
- MARRACHI, EL A., BENNOUR,M., BOUCHRIT,N., HAMAMA,A., and TAGAFAIT, H., 1990. Sensory, Chemical and Microbiological Assessments of Moroccan Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice. *Journal of Food Protection*, 53,(7):600-605.
- MATTISSEK,R., SHENGEL,F.M., and STEINER,G.,1988. *Lebensmittel-Analytick*. Springer Verlag Berlin, Tokyo, 440p.
- MCLAY.R., 1972. Marinades. Ministry of Agriculture,Fisheries and Food. Torry Advisory Note No. 56. 10 p.
- MERCK., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi'98. ORKİM Kimyevi Maddeler Tic.Ltd.Şti. 168s.
- NAGUIB, K., AYES, A. M., and SHALABY, A. R., 1995. Studies on the Determination of Biogenic Amines in Foods 1. Development of a TLC Method for the Determination of Eight Biogenic Amines in Fish. *J.Agric Food Chem.*, 43,134-139.
- NAKOVICH, L., 2003. Analysis of Biogenic Amines by GC/FID and GC/MS Thesis submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master Of Science In Chemistry, 81p.
- NICKELSON, LL R., MCCARTHY, S., and FINNE,G., 2001. Fish, Crustaceans, and Precooked Seafoods. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Forth Edition. Chapter 48. 497-507.
- NILSSON, L., and GRAM, L., 2002. Improving the control of pathogens in fish products. *Safety and quality issues in fish processing*. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 54-84.
- NIVEN,C.F., Jr., JEFFREY,M.B. and CORLETT, D.A., Jr., 1981. Different plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1): 321-322.

- OKUZUMI, FUKUMOTO, M., I., FUJII, T., 1990. Changes in bacterial flora and polyamines contents during the storage of horse mackerel meat. *Bullet. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 56 (8):1307-1312.
- OLAFSDOTTIR, G., NESVADBA, P., NATALE,C.D., CARECHE, M. OEHLENSCHLAGER, J., TRYGGVADOTTIR, S. V., SCHURING, R., KROEGER,M., HEIA,K., ESAIASSEN,M., MACAGNANO,A., JØRGENSEN, B. M., 2004. Multisensor For Fish Quality Determination. *Trends in Food Science and Tecnology*, 15,86-93.
- OVAYOLU, H., 1997. Marine Edilmiş Hamsilerde Depolama Süresinde Yağ Asitleri Değişimlerinin İncelenmesi.T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 71s.
- ÖLMEZ, H. K., 2000. Biyojenik Aminler. *Dünya Yayınları Gıda Dergisi*. 6, (5):51-57.
- ÖZDEN, Ö., BAYGAR, T., 2003. Farklı Paketleme Yöntemlerinin Marine Edilmiş Balıkların Bazı Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi. *Türk J.Vet.Anin.Sci.*, 27, 899-906.
- ÖZDEN,Ö., 2005. Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2015-2020.
- ÖZOĞUL, F., 2001. The Effect Packaging System on Quality and Safety of Herring. PhD Dissertation. Lincoln,U.K:Univ.of Lincoln.
- ÖZOĞUL, F., TAYLOR,K.D.A., QUANTICK,P., and ÖZOĞUL,Y., 2002a. Biogenic Amines Formation in atlantic Herring (*Clupea harengus*) Stored Under Modified Atmosphere Packaging Using a Rapid HPLC Method. *InternationalJournal of Food Science and Technology*, 37,(5):515-528.
- , 2002b. Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. *J. Food Sci.*, 67, 2497-2501.
- ÖZOĞUL, Y., ÖZOĞUL, F., OLGUNOĞLU A.I., 2005a. Fatty acid profile and mineral content of the wils snail (*Helix pomatia*) from the region of the South of the Turkey. *Eur Food Res. Technology*, 221, 547-549.

- ÖZOĞUL, Y., ÖZYURT, G., ÖZOĞUL, F., KULEY, E., POLAT, A., 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry, 92, 745-751.
- ÖZOĞUL, Y., ÖZOĞUL, F., ÖZKÜTÜK, S., KULEY, E., 2006. Hydrolysis and oxidation of European eel oil during frozen storage for 48 weeks. Eur. Food Res. Technology
- PALEOLOGOS, E. K., SAVVAIDIS, I. N., KONTOMINAS, M. G., 2004. Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Food Microbiol., 21, 549–557.
- POLIGNE, I., COLLIGNAN, A., 2000. Quick Marination of Anchovies (*Engraulis encrasicolus*) Using Acetic and Gluconic Acids. Quality and Stability of the Product. Lebensm.-Wiss.u.-Technol., 33, 202-209.
- RAMANATHAN, L., DAS N.P., 1992. Studies on the Control of Lipid Oxidation in Ground Fish by Some Polyphenolic Natural Products. J. Agric Food Chem., 40, 17-21.
- RAY, B., 2004. Fundamental Food Microbiology. Third Edition. CRC Press. Boca Raton London New York Washington, D.C. 608p.
- ROSSANO, R., MASTRANGELO, L., UNGARO, N., RICCIO P., 2006. Influence of storage temperature and freezing time on histamine level in the European anchovy *Engraulis encrasicolus* (L., 1758): A study by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography B., 830, 161–164.
- SALLAM, K.H.I., AHMED, A.M., ELGAZZAR, M.M., ELDALY, E.A., 2005. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4 °C. Food Chemistry. In press
- SEN, M.K.C., TEMELLI, S., 2003. Microbiological and Chemical Qualities of Marinated Anchovy Prepared with Different Vegetable Additives and Sauce. Revue Méd. Vét., 154,(11): 703-707.
- SHAKILA, R. JEYA and VASUNDHARA, T.S., 2002. Formation of Histamine and Other Biogenic Amines During Storage of Freshwater Fish Chunks. Asian Fisheries Science, 15, 1-6.

- SOYER, A.,1999. Balıkta Lipid Oksidasyonunda Rol Oynayan Hücresel Faktörler. Gıda Teknolojisi, 4, (2).
- SOYER, M., SAHİN, E., Dondurulmuş Kolyoz (*Scomber japonicus*) Balıklarındaki Lipid Oksidasyonuna Glazelemenin ve Depolama Süresinin Etkisi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 23, 575-584.
- SU ÜRÜNLERİ KALİTE KONTROL EL KİTABI, 2000. T.C.Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 229 s.
- ŞENGÖR, G.F., AKKUŞ, S., MALEKİ, R.H., 1999. Çeşitli Su Ürünlerinin Kolesterol İçerikleri ve Kimyasal Kompozisyonları Üzerine Bir Araştırma. X. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 137-150.
- TARLADGIS, B., WATTS,B.M., YONATHAN,M., DUGAN,L.Jr.,1960. Distillation Method for Determination of Malonaldehyde in Rancidty Food. J.American Oil Chem.Soc., 37,(1):44-48.
- TIRAKOĞLU,T., 2003. Farklı Yöntemlerle Depolanan ve Marinat Hamsi Üretiminde Kullanılan Hamsinin Tazeliğinin Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkilerinin Saptanması. T.C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, 47s.
- TİMUR, M., TİMUR,G., 1985. Dondurulmuş Balıkların Muhafazasında Renk ve Lezzet Değişimi. Su Ürünleri Dergisi, 2, (7-8):1-8.
- TOLEDO, R.T., 2001. Marination Technologies. Session36, Industry needs: New ingredient technologies for further processed meat products. Dept.of Food Science,Univ. Of Georgia,101 Food Science Bldg.
- TOPAL, Ş., 1993. Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarının Organizasyonu ve Çalışma İlkeler. TÜBİTAK- Marmara Araştırma Merkezi. Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü.Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları.Yayın No:124, 35-48.
- TS 1880 EN 13188 Mart 2003. (EN13188/AC:2002 dahil) Sirke-Tarım Kökenli sıvılardan elde edilen ürün-Tarifler, özellikler işaretleme TSE/Ankara 6 s.
- TURANTAŞ, F., ÖKSÜZ, A., 1998. Balık ve Balık Ürünlerinde Biyojenik Aminler ve Amin Üretiminde Rol Oynayan Bakteriler. Gıda Teknolojisi. 3,(5):58-65.

- TÜRK GIDA KODEKSİ-ET ÜRÜNLERİ TEBLİĞİ Tebliğ No:2000/4 yayın
10.02.2000 sayı 23960.
- TÜRK GIDA KODEKSİ YÖNETMELİĞİ Tebliğ No: 2001/29. Bitki Adı İle Anılan
Yemeklik Yağlar Tebliği 13.10.2001-24552
- TÜRK GIDA KODEKSİ YÖNETMELİĞİ Tebliğ No: 2003 / 44. Renklendiriciler ve
Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği: Yayın 22.12.2003-
25324
- XIONG, S., XIONG, Y.L., BLANCHARD, S.P., WANG, B., TIDWELL, J.H., 2002.
Evaluation of Tenderness in Prawns (*Machrobrachium rosenbergii*)
Marinated in Various salt and Acid Solutions. International Journal of Food
Science and Technology, 37, 291-296.
- VARLIK, C., HEPERKAN, D.,1990. Hamsinin Buzda Muhafazası. İstanbul
Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 4, (1): 53-58.
- VARLIK, C., GÖKOĞLU, N., GÜN, H., 1993a. Marinat Üretiminde Sıcaklığın
Sirke/Tuz Geçişi Üzerine Etkisi. Gıda ,18,(4): 223-228.
- VARLIK, C., UĞUR,M., GÖKOĞLU, N., GÜN, H., 1993b. Su Ürünlerinde Kalite
Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği. Gıda Teknolojisi
Yayın No: 17. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 173 s.
- VARLIK, C., 1994. Soğukta Depolanan Sardalyalarda Histamin Düzeyinin
Belirlenmesi. Gıda, 19, (2):119-124.
- VARLIK, C., ERKAN, N., METİN S., BAYGAR, T., ÖZDEN, Ö., 2000. Marine
Balık Köftesinin Raf Ömrünün Belirlenmesi. Türk J.Vet Anim Sci., 24, 593-
597.
- VECIANA-NOGUES, M.T., ALBALA, H. S., MARINE, F. A., VIDAL-CAROU,
M.C., 1996. Changes in Biogenic Amines During the Manufacture and
Storage of Semipreserved Anchovies. Journal of Food Protection, 59, 1218-
1222.
- VECIANA-NOGUES, M. T., MARINE-FONT, A., VIDAL-CAROU, M.C., 1997.
Biogenic amines as hygienic quality indicators of tunas. Relationships with
microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptik
changes. J. Agric. Food Chem., 45, 2036-2041.

- VORANUCH SUVANICH, DOUGLAS L. MARSHALL, 1997. Influence of Storage Time and Temperature on Quality of Catfish (*Ictalurus punctatus*) Frames Aquatic Food. Product Technology, 7, (1): 61-76.
- WHITTLE, K. J., HOWGATE, P., 2002. Glossary of Fish Technology Terms Prepared under contract to the Fisheries Industries Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 63 p.
- YAPAR, A., ERDÖL, M., 1999. Buzdolabında Muhafaza Edilen Mezgıt (*Merlangius merlangius euxinus* Nord., 1840) Karaciğer Yağının Bazı Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler. Tr.J. of Veterinary and Animal Science, 23, 333-336.
- YOSHIDA, A., NAKAMURA, A., 1982. Quantitation of histamine in fish and fish products by high performance liquid chromatography. J. Food Hyg. Soc. Jap., 23 (4): 339-343.
- YOSHINAGA, D.H. and FRANK, H.A., 1982. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Applied Environmental Microbiology. 44, (2): 447-52.
- ZLATANOS, S., LASKARIDIS K., 2006. Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis engrasicholus*) and picarel (*Spicara smaris*). Food Chemistry (In Press).

ÖZGEÇMİŞ

08.03.1974 tarihinde Almanyanın Augsburg şehrinde doğdum. İlköğrenimimi Almanya'da tamamladıktan sonra, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım.1992 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini kazanarak, 1996 yılında aynı bölümden mezun oldum. 1997 yılında aynı fakültenin Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümünde yüksek lisansa, 2001 yılında ise aynı bölümde doktora eğitimime başladım. Doktora eğitimimle birlikte alanımla ilgili olarak özel bir su ürünleri işleme fabrikasında mühendis olarak çalışmaya başladım. Evli ve bir çocuk babasıyım.