



T. C.

**RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI PAKETLEME YÖNTEMLERİNİN TİRSİ (*Alosa
immaculata*, Bennett, 1838) MARİNATININ KİMYASAL
MİKROBİYOLOJİK VE DUYUSAL KALİTE
DEĞİŞİMLERİNE ETKİSİ**

Sedef IŞIDAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

RİZE – 2011

T. C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI PAKETLEME YÖNTEMLERİNİN TİRSİ (*Alosa
immaculata*, Bennett, 1838) MARİNATININ KİMYASAL
MİKROBİYOLOJİK VE DUYUSAL KALİTE
DEĞİŞİMLERİNE ETKİSİ**

Sedef İŞİDAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Emin ERDEM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

RİZE 2011

T. C.
RİZE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

FARKLI PAKETLEME YÖNTEMLERİNİN TİRSİ (*Aloa immaculata*, Bennett, 1838)
MARİNATININ KİMYASAL MİKROBİYOLOJİK VE DUYUSAL KALİTE
DEĞİŞİMLERİNE ETKİSİ

Sedef İŞİDAN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 21/06/2011

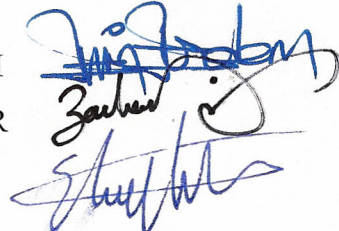

Tezin Sözlü Savunma Tarihi: 21/07/2011

Tez Danışmanı.....: Doç. Dr. Mehmet Emin ERDEM

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Barbaros DİNÇER

Jüri Üyesi.....: Yrd. Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK

Enstitü Müdürü...: Doç. Dr. Fatih YILMAZ

RİZE, 2011

ÖNSÖZ

“Farklı paketleme yöntemlerinin tirsi (*Alosa immaculata*, bennett, 1838) marinatinin kimyasal mikrobiyolojik ve duyusal kalite değişimlerine etkisi” adlı bu alışma R. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmanın deneysel aşamaları R. Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü ve K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans konu seçimimde ve yürütülmesinde bana yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Emin ERDEM, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve laboratuvar uygulamalarında benden yardımını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Serkan KORAL, ayrıca manevi destekleri için hocam Sayın Doç. Dr. Bülent VEREP ve laboratuvar analizlerinin gerçekleştirilmesi esnasında yardımlarını gördüğüm Sayın Arş. Gör. Barış KARSLI ve Sayın Arş. Gör. Z. Zehra İPEK’e teşekkürü bir borç bilirim.

Bana desteğini esirgemeyen her konuda yardımcı olan eşim Dr. Hakan İŞİDAN’a ve sevgili anneme, babama ve kardeşlerime bana bugüne kadar vermiş oldukları manevi ve maddi tüm desteklerinden dolayı bütün kalbimle teşekkür ederim.

Sedef İŞİDAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Marinasyon	1
1.3. Marinasyon Teknolojisi	2
1.4. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar.....	4
1.4.1. Fiziksel Bozulma	5
1.4.2. Kimyasal Bozulma.....	5
1.4.3. Biyolojik Bozulma.....	5
1.5. Önceki Çalışmalar.....	7
1.6. Araştırmada Kullanılan Balık Hakkında Genel Bilgi.....	16
1.7. Çalışmanın Amacı.....	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	19
2.1. Yöntem.....	19
2.1.1. Marinasyon İşlemi	19
2.2. Analiz Metotları	22
2.2.1. Biyokimyasal Analizleri	22
2.2.1.1. Ham Protein Tayini.....	22
2.2.1.2. Ham Yağ Tayini.....	23
2.2.1.3. Kuru Madde Tayini.....	23
2.2.1.4. Kül Tayini	23
2.2.2. Kimyasal Analizler	24
2.2.2.1. Toplam Uçucu Bazik Azot Tayini (TVB-N)	24
2.2.2.2. Trimetilamin Tayini (TMA-N)	24
2.2.2.3. Tiyobarbitürik Asit Tayini (TBA)	25

2.2.2.4.	Biyojenik Aminler	25
2.2.2.5.	Su Aktivitesi	26
2.2.2.6.	pH Ölçümü.....	26
2.2.2.7.	Salamurada Asitlik ve Tuz Tayini	26
2.2.2.8.	Balık Etinde Asitlik Derecesi Analizi.....	27
2.2.2.9.	Tuz Tayini.....	27
2.2.3.	Mikrobiyolojik Analizler	27
2.2.3.1.	Toplam Aerob Mezofilik ve Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı	27
2.2.3.2.	Koliform Grubu Bakteri Sayımı	28
2.2.3.3.	Maya Küf Sayımı.....	28
2.2.3.4.	Histamin Üreten Bakterilerin Aranması	28
2.2.4.	Bakterilerin İdentifikasyonu	28
2.2.4.1.	Biyokimyasal Testler	28
2.2.4.1.1.	Hücre morfolojisi	28
2.2.4.1.2.	Gram reaksiyonu.....	29
2.2.4.1.3.	Oksidaz testi.....	29
2.2.4.1.4.	Katalaz testi.....	29
2.2.4.1.5.	H ₂ S üretimi	29
2.2.4.1.6.	Sitrat testi	29
2.2.4.1.7.	İndol testi	30
2.2.4.1.8.	Oksidasyon- fermentasyon besiyeri (O/F)	30
2.2.4.1.9.	Jelatin hidrolizi	30
2.2.4.1.10.	Metil kırmızısı - voges proskauer (MR-VP).....	30
2.2.4.2.	Bakterilerin Moleküler İdentifikasyonu.....	31
2.2.4.2.1.	DNA ekstraksiyonu.....	31
2.2.4.2.2.	Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	31
2.2.4.2.3.	DNA dizi analizi	33
2.3.	Duyusal Analizler	33
2.4.	İstatistiksel Değerlendirme	33
3.	BULGULAR.....	35
3.1.	Biyokimyasal Değişimler	35
3.1.1.	Ham Protein	35
3.1.2.	Ham Yağ	36
3.1.3.	Kuru Madde	36
3.1.4.	Ham Kül.....	37
3.1.5.	Randıman	38

3.2.	Kimyasal Kalite Değişimleri	38
3.2.1.	Toplam Uçucu Bazik Azot(TVB-N).....	38
3.2.2.	Trimetilamin Azot (TMA-N).....	40
3.2.3.	Tiyobarbitürik Asit Sayısı (TBA).....	41
3.2.4.	Biyojenik Aminlerdeki Değişimler.....	42
3.2.5.	Su Aktivitesi	45
3.2.6.	pH' daki Değişimler.....	46
3.2.7.	Salamuradaki Asitlik ve Tuz Değişimleri.....	48
3.2.8.	Balık Etinde Kaydedilen Asit Değişimleri	48
3.2.9.	Balık Etinin Tuz Değişimi	49
3.3.	Mikrobiyolojik Değişimler	51
3.3.1.	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı ve Toplam Psikrofilik Bakteri Sayısı	51
3.3.2.	Histamin Üreten Bakteri Sayıları.....	53
3.4.	Bakterilerin identifikasyonu	55
3.5.	Duyusal Değişimler	59
3.5.1.	Marinatların Görünüş Değişimleri.....	59
3.5.2.	Marinatların Koku Değişimleri.....	61
3.5.3.	Marinatların Lezzet Değişimleri	62
3.5.4.	Marinatların Tekstür Değişimleri	63
4.	TARTIŞMA	65
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	80
	KAYNAKLAR	83
	ÖZGEÇMİŞ	91

ÖZET

Bu çalışmada, marine edilerek farklı paketlenip $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen tirsi (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838) filetolarında duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada balık eti kalitesini belirleyen biyokimyasal değerlerden protein, yağ, kuru madde, kül ve randıman, kimyasal kriterler olarak toplam uçucu bazik azot (TVB-N mg/N 100g), trimetilamin azot (TMA-N mg/N 100g), tiyobarbitürik asit (TBA, mg malonaldehit/100g), biyojenik aminler, asitlik, tuzluluk ve pH incelenmiştir. Mikrobiyolojik kriter olarak toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, maya-küf, koliform ve histamin üreten bakteri sayıları belirlenmiştir. Ayrıca bakterilerin moleküler ve biyokimyasal identifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

Farklı paketlenen marine tirsilerin 7 aylık depolamanın sonunda, sırasıyla salamura, yağda ve vakum paketlenen marinatların TVB-N sonuçları; 8,05, 16,81 ve 17,56 (mg/100g), TMA sonuçları; 2,28, 2,53 ve 2,73 (mg/100g), TBA sonuçları; 7,08, 7,13 ve 6,05 (mg malonaldehit/kg), histamin sonuçları; 2,19, 2,09 ve 2,41 (mg/kg), pH analiz sonuçları; 4,42, 4,72 ve 4,77, TAMB sayıları; 2,49, 2,75 ve 2,68 (log kob/g) olarak tespit edilmiştir. Histamin üreten bakterilerin sayıları 7. ayda, maya-küf ve koliform bakterileri sayıları ise depolama boyunca saptanabilir düzeyin altında kalmıştır. Ayrıca, mikrobiyolojik analizlerde bazı histamin üreten bakterilerden *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* tanımlanmıştır.

Araştırma sonunda salamura ve yağda paketlenen marine tirsinin 7 ay, vakum paketlenen marine tirsinin ise 6 aylık $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanabileceği sonucuna varılmıştır. Duyusal analizler bakımından uzun depolama şartlarında en çok beğenilen marinatın yağda, kısa depolama şartlarında ise vakum paket marinatlarının olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler; Tirsi, marinat, raf ömrü, histamin.

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIFFERENT PACKAGING METHODS ON CHEMICAL MICROBIOLOGICAL AND SENSORY QUALITY CRITERIA OF MARINATED SHAD (*Alosa immaculata*, B., 1838)

In this study, it was aimed to determine that the sensory, chemical and microbiological changes of shad (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838) fillets, which was marinated, differently packaged and stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

In the research study, it was investigated that total volatile basic nitrogen (TVB-N), trimethylamine nitrogen (TMA-N), thiobarbituric acid (TBA), biogenic amines, acidity, saltiness, pH and proximate analysis (crude protein, lipid, moisture, crude ash) as biochemical criteria, total aerobic count, psychrotrophic flora count, mould-yeast, coliform, and histamine forming bacteria as microbiological criteria indicating the quality of fish meat. In addition that biochemical and molecular identification of isolated bacteria were performed.

At the end of 7 months storage period for marinated shad of different packed with brine, oil and vacuum packed, in respective orders, TVB-N values were recorded as 8,05, 16,81 ve 17,56 (mg/100g). Similarly TMA values as 2,28, 2,53 and 2,73 (mg/100g), TBA values as 7,08, 7,13 and 6,05 (mg malonaldehit/kg), histamine values as 2,19, 2,09 and 2,41 (mg/kg), pH values as 4,42, 4,72 and 4,77, TAC values as 2,49, 2,75 and 2,68 (log kob/g) in the same order. Histamine producing bacteria at the end of 7 months and during storage of mould-yeast and coliform bacteria values were found to be lower than detection limits. In addition that some of histamine producing bacteria (*Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus*), were identified.

At the end of the study, it was determined that brine and oil recipe shad marinate can be stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 7 months, while vacuum packed can be stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 6 months. Most favorable marinade is oil recipe for long term storage conditions, and vacuum packed is for short term storage conditions on account of sensory analysis.

Key words; Shad, marinate, shelf life, histamine.

KISALTMALAR DİZİNİ

A	: Absorbans
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
AOAC	: Analitik Topluluklar Birliği
a_w	: Su aktivitesi
bç	: Baz çifti
Cu₂SO₄	: Bakır Sülfat
DAD	: Diyot Dizi Dedektörü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP's	: Deoksinükleotidler
E330	: Sitrik Asit
F	: Fermentatif
FA	: Yağ Asidi
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
H₂S	: Hidrojen Sülfür
H₂SO₄	: Hidrojen sülfat (Sülfürik asit)
H₃BO₃	: Borik Asit
HCHO	: Formaldehit
HCl	: Hidroklorik Asit
HDC	: Histidin Dekarboksilaz
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
K.T.Ü.	: Karadeniz Teknik Üniversitesi
K₂CO₃	: Potasyum Karbonat
K₂CrO₄	: Potasyum Dikromat
K₂SO₄	: Potasyum Sülfat
kob/g	: Her gramda koloni oluşturan bakteri
M	: Molarite
MAP	: Modifiye atmosferle paketlenme

MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MgO	: Magnezyum Oksit
ml	: Mililitre
mM	: Milimol
MR	: Metil Kırmızısı
N	: Normal
NaCl	: Sodyum Klorür
NaHCO₃	: Sodyum Bikarbonat
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
nm	: Nanometre
O	: Oksidatif
OF	: Oksidatif-Fermentatif
PCA	: Plate count agar
PCR	: Bkz. PZR
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
pmol	: Pikomol
ppm	: Milyonda Bir
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal deoksiribonükleik asit
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı
S	: Salamura
SFA	: Doymuş Yağ Asidi
Sn	: Saniye
sp	: Tür
spp	: Türler
subsp.	: Alt Türler
TAE	: Tris-Asetat-EDTA
TAMB	: Toplam Aerofilik Mezofilik Bakteri
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TMA-N	: Trimetilamin-Azotu
TPB	: Toplam Psikrofilik Bakteri
TSA	: Triptik Soy Agar

TSI	: Triple sugar iron
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TVB-N	: Toplam Uçucu Bazik - Azot
U	: Ünite
v/v	: Hacim/Hacim
VP'	: Vakum Paket
VP	: Voges Proskauer
VRB	: Violet red bile
Y	: Yağ
µl	: Mikrolitre
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µm	: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Tirsi (<i>Alosa immaculata</i>).	16
Şekil 2. Tirsi balığının 2002-2009 yılları arasında Türkiye'deki av miktarları (TÜİK, 2011)	17
Şekil 3. Araştırmada kullanılan tirsisi(a) ve filetosu (b).....	19
Şekil 4. Marinatın olgunlaştırma aşaması ve marine edilmiş tirsisi (<i>Alosa immaculata</i>) filetosu	20
Şekil 5. Olgunlaşan tirsisi filetolarının vakum paketlenme, yağda ve salamurada paketlenmesi	20
Şekil 6. Tirsisi marinatının yapım şeması.....	21
Şekil 7. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca TVB-N değerinin zamana bağlı değişimi.....	39
Şekil 8. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca TMA-N değerinin zamana bağlı değişimi.	41
Şekil 9. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca TBA değerinin zamana bağlı değişimi	42
Şekil 10. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca histamin değerinin zamana bağlı değişimi.....	44
Şekil 11. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca su aktivitesi (a_w) değerinin zamana bağlı değişimi	46
Şekil 12. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca pH değerinin zamana bağlı değişimi.	48
Şekil 13. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca asitlik (%) miktarının zamana bağlı değişimi.....	49
Şekil 14. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca tuz (%) miktarının zamana bağlı değişimi.....	51
Şekil 15. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca toplam mezofilik aerob bakteri (TAMB) sayılarının aylara göre değişimleri	52
Şekil 16. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca toplam psikrofilik bakteri (TPB) sayılarının aylara göre değişimleri.....	53
Şekil 17. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca histamin üreten mezofilik bakteri sayılarının aylara göre değişimleri.....	54
Şekil 18. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca histamin üreten psikrofilik bakteri sayılarının aylara göre değişimleri	55
Şekil 19. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca görünüş değerlerinin zamana bağlı değişimi.	60
Şekil 20. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca koku değerlerinin zamana bağlı değişimi	62
Şekil 21. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca lezzet değerlerinin zamana bağlı değişimi	63
Şekil 22. Marine edilerek farklı paketlenen tirsisi balığında depolama boyunca tekstür değerlerinin zamana bağlı değişimi	64

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. PZR amplifikasyonunda kullanılan primerler.....	31
Tablo 2. 16S rDNA genine spesifik universal bakteriyel belirleme primerleri kullanılarak çalışılan PZR reaksiyon bileşenleri ve ısı rejimi	32
Tablo 3. Histidin dekarboksilaz geni için spesifik primerler kullanılarak çalışılan PZR reaksiyon bileşenleri ve ısı rejimi.....	32
Tablo 4. Shormüller (1968)'in farklı paketlenen marine tirsye göre modifiye edilmiş duyusal değerlendirme şeması (Varlık ve ark, 1993)	34
Tablo 5. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham protein (%) değişimleri	35
Tablo 6. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham yağ (%) değişimleri.....	36
Tablo 7. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca kuru madde miktarında (%) değişimleri.....	37
Tablo 8. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham kül (%) değişimleri	38
Tablo 9. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TVB-N (mg/100g) değişimleri.....	39
Tablo 10. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TMA-N (mg/ 100g) değişimleri.....	40
Tablo 11. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TBA (mg malonaldehit/kg) değerindeki değişimleri.....	42
Tablo 12. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca biyojenik amin değişimleri	43
Tablo 13. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca su aktivitesi (a_w) değişimleri	45
Tablo 14. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca pH değişimleri	47
Tablo 15. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca asitlik (%) miktarının değişimleri.....	49
Tablo 16. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca tuzluluk (%) değişimleri	50
Tablo 17. Marinatlardaki toplam mezofilik aerob bakteri (TAMB) ve toplam psikrofilik bakteri (TPB) (log kob/g) sayılarındaki değişimler.....	52
Tablo 18. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca histamin üreten bakteri (log kob/g) sayılarının değişimleri.....	54
Tablo 19. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca Niven's agarda izole edilen bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri.	56
Tablo 20. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca Niven's agarda, psikrofilik ve mezofilik şartlarda izole edilen bakteriler	57
Tablo 21. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca görünüş değerleri değişimleri	60
Tablo 22. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca koku değerlerinin değişimleri	61

Tablo 23.	Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca lezzet değerlerinin değişimleri.....	62
Tablo 24.	Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca tekstür değerlerinin değişimleri	64

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Günümüzde sosyal, kültürel ve ekonomik açılardan çok hızlı bir değişim içinde olan dünyamızın, en önemli sorunlarından biri yeterli, dengeli ve sağlıklı gıdalarla beslenmedir. Bu bağlamda su ürünlerinin de sağlıklı beslenme, büyüme, gelişme ve yaşamı devam ettirme için dengeli biçim ve oranda protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineral içeren tek gıda olduğu bildirilmektedir. Ayrıca balık etinin yağ oranının, kolesterolünün ve kalorisinin düşük olması tüketiciler için tercih sebebi olmaktadır (Koral, 2006).

Balık eti, yüksek hayvansal protein değerinin yanı sıra ihtiva ettiği esansiyel aminoasitler, bağ dokusunun azlığı, kolay sindirilmesi ve doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermesi nedeniyle hazır yemek teknolojisinde önemli bir hammadde olma niteliği taşımaktadır (Varlık ve ark., 2004).

Günümüz insanın yaşam tarzlarının değişmesiyle beraber toplam tüketilen gıda maddeleri içerisinde işlenmiş gıda ürünlerinin payı da her geçen gün artmaktadır. İşlenmiş gıdalar uzun raf ömürleri ve uygun biçimde ambalajlanmış olmaları sebebiyle üretildikleri yerlerden çok uzaklarda da tüketilebilmektedirler. Bununla birlikte gıda işleme teknolojileri sayesinde çeşitli gıdalar geleneksel kullanım mevsimlerinin dışında da tüketiciyle buluşabilmektedir. Son yıllarda gelişen işleme teknolojileri hem bitkisel hem de hayvansal gıdalarda oldukça büyük bir kullanım alanı bulmuştur. Burada önemli bir yeri işlenmiş su ürünleri teşkil edilmektedir. Dünya genelinde en yaygın olarak kullanılan su ürünleri işleme teknikleri, kurutma, tuzlama, dumanlama, konserve ve marinasyon uygulamalarıdır (Ovayolu, 1997).

1.2. Marinasyon

Marinasyon en eski gıda muhafazası uygulamalarından biri olup tarihi M.Ö. 7. yüzyıla kadar dayanmaktadır. Marinasyon metodu kısaca limon, sirke, şarap ya da soya sosu gibi malzemelerle asitleştirilmiş su içerisinde çeşitli koku ve lezzet verici katkılarla birlikte etlerin olgunlaştırılması şeklinde tanımlanabilir. 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 (T.C Resmi Gazete, 2000).

1.3. Marinasyon Teknolojisi

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 yol açmaktadır (Poligne ve Collignan, 2000). Bununla birlikte değişik tatlar kazanması amacıyla şeker, baharatlar, salamura, sos ve sebzelerin de ilave edilerek cam şişe veya plastik kaplar içerisinde paketlenmektedir (Mclay, 1972).

Marinasyonun ilk aşaması olan olgunlaştırma işlemi karmaşık şekilde gerçekleşen fiziksel kimyasal reaksiyonlar sonucu meydana gelmektedir. Olgunlaşma işlemi sadece asetik asit etkisiyle değil aynı zamanda tuzun etkisiyle gerçekleşmektedir (Özden ve Baygar, 2003). Tuz ve asetik asit balık etinde aynı yönde ve birlikte etki etmekle beraber karşılıklı olarak birbirini engelleyen ve zıt kutuplu maddelerdir. Tuz materyale sertlik vermesine karşın, asetik asit yumuşaklık vermektedir (Kılınç ve Çaklı, 2004b). Olgunlaştırma işleminde, balık doku suyundaki tuz ve sirke ile çözeltinin tuz ve sirke oranı eşitleninceye kadar, karşılıklı tuz ve sirkenin geçişi devam eder. Bu geçiş sıcaklığa bağlı olup, süratle gerçekleşerek, iki gün içinde tamamlanır (Dokuzlu, 1997; Çelik, 2004).

İyi kalitede marine edilmiş bir üründe, pH değerinin 4,0–4,5 arasında olması gerekmektedir beraber, en uygun pH aralığı 3,8-4,3'tür. pH 4,5 altına düştüğü zaman bozulmaya neden olan pek çok bakterinin gelişimi ve gıda zehirlenmeleri önlenmektedir. (Kılınç ve Çaklı, 2004b).

Marine ürünlerde, asetik asit ve tuz etkisinin sonucu olarak üründe bulunan mevcut bakteriyel enzimlerin faaliyetinin kısmen veya tamamen durdurulması ile ürünün daha uzun bir raf ömrüne sahip olması sağlanmaktadır. Asetik asit ve tuz, balığın içerdiği enzimlerle beraber, balığın protein ve yağına etki ederek bunların belirli derecede yıkımı sonucu hoş, aromatik ve lezzetli ürünler oluşturmaktadır (Shenderyuk ve Bykowski, 1989).

Başarılı bir marinasyon sağlayabilmek için, marinasyon bileşenlerinin kaslar üzerinde etkileri iyi bilinmelidir (Toledo, 2001). Marinasyon bileşenlerinin enzim ve bakteriler üzerindeki engelleyici etkileri konsantrasyonlarının artışı ile ilgilidir (Fuselli ve ark., 1998). Marinatın daha çok dayanması amacıyla salamuradaki asitlik oranının yükseltilmesi ürünün lezzetini bozacağı için tercih edilen bir uygulama değildir (Çelik, 2004; Olgunoğlu, 2007).

Marinasyon işlemi ile oluşan ürün marinat olarak ifade edilmektedir (Fuselli ve ark., 1998; Poligne ve Collignan, 2000; Whittle, 2002). Marinatlar soğuk, pişirilmiş ve kızartılmış olarak üç gruba ayrılmaktadır;

a) Soğuk Marinatlar; Asetik asit ve tuz çözeltisinde, su ürünlerinin olgunlaştırılması işlemidir, isteğe bağlı olarak sos, krema, mayonez veya yağ gibi katkı maddeleriyle ısı uygulama işlemi uygulanmaksızın farklı lezzetler elde edilmektedir. 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, 2004b).

b) Pişirilmiş Marinatlar; Pişirilmiş marinatlar, donmuş veya taze balık ve küçük balık parçalarının 85°C'deki %1–2 asetik asit ile %4 tuz çözeltisinde 10–15 dakika bekletilmesi ile elde edilip, büyük balıklar ve balık parçaları için ise daha uzun süre gerekebilir. Isıya tabi tutulan ürünlerde bakterilerin çoğu öldürülür ve enzimler inaktive edilir. Bozulma, pişirme işlemi ile canlı kalan ısıya dayanıklı organizmalar ve daha sonra işleme, paketleme yöntemleri esnasında ürünün kontaminasyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca pişirilmiş marinatların üretiminde jelleştiriciler ve kaplama sosları da ilave edilebilir. 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 marinasyonlar yapılmaktadır (Kılınç ve Çaklı, 2004b).

c) Kızartılmış Marinatlar; Taze ya da dondurulmuş, balık veya balık parçaları, katı veya sıvı yağda kızartılarak salamura veya soslarla kaplanmaktadır. Yağda kızartma sıcaklıkları 160–180°C arasında olmalıdır. Kızartma süresi kızartma yağının sıcaklığına, balık etinin kalınlığına ve su içeriğine bağlı olarak 5–12 dakika arasında değişir. 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 absorbe etmektedir. Salamuranın asetik asit içeriği yaklaşık %2–3,5 ve tuz içeriği %3–5 arasındadır. Bu yüzdeler ürünün su içeriği ve mevsime bağlıdır. Ringa, yılan balığı, nehir yılan balığı ve yassı balıkların bazı tipleri kızartılmış marinat yapımında kullanılmaktadır. Kızartılmış marinatlar Avrupa ülkelerinde meze olarak veya sandviçlerin içine konularak tüketilmektedir (Tırakoğlu, 2003; Kılınç ve Çaklı, 2004b).

1.4. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar

İyi marinatlar iyi kalitede taze materyalden yapılabilir. Ancak materyal olarak iyi kalitede dondurulmuş ve çözdürülmüş balık kullanılabilir (Kılınç ve Çaklı, 2004b). Tüm gıdalarda olduğu gibi marinatların raf ömrünün belirlenmesinde de en önemli etmenlerden biri depolama sıcaklığıdır. Bu nedenle piyasaya kutular içinde sunulan marinatların etiketlerine “soğukta saklanmalıdır ve çabuk tüketilmelidir” ibaresinin belirtilmesi gereklidir (Dokuzlu, 1997). Gıdalarda, özellikle mikrobiyal aktivite sonucu meydana gelen bozulma, ürünün duyu özelliklerini etkileyerek, insanlar için tüketilemez hale dönüşmesine neden olmaktadır (Gram ve Huss, 1996; Gram ve Dalgaard, 2002).

Balık proteinlerinin bakteriyel ve otolitik enzim aktivitesi ile yıkımı sonucu kötü lezzet oluşumu meydana gelebilir. Baharatlar ve diğer şeker içeren katkı maddeleri kullanıldığında ise bakteriyel fermentasyon meydana gelebilir (Clucas ve Ward, 1991; Kılınç ve Çaklı, 2004b). Mikrobiyal bozulma, zamanla ürünün rengini değiştirerek yapışkanimsi hal almasına neden olarak da kendini göstermektedir. Gıdalarda başlıca bozulmaya neden olan mikrobiyal gelişme, aminlerin, sülfidlerin, alkollerin, aldehydlerin, ketonların ve organik asitlerin ortaya çıkışına neden olarak gıdalarda hoş gitmeyen ve kabul edilmeyen lezzetin oluşmasına neden olurlar. Mikrobiyal faaliyetlere ilaveten kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel zararlar da gıdalarda bozulmaya neden olmaktadır (Gram ve Dalgaard, 2002).

Gıdalardaki bozulmanın değerlendirilmesinde pek çok yöntem uygulanmaktadır. Bunlardan biri duyu analiz metodudur, bu metotta koku, tat ve yumuşaklık-sertlik (tekstür) dereceleri insan duyuları yardımıyla değerlendirilmekte, bu nedenle duyu özellikler kalite kontrolde önem taşımaktadır (Olafsdottir ve ark., 2004). Bununla beraber duyu analizler genellikle tazeliği belirlemede yeterli olmasına rağmen, bir kuşku durumunda laboratuvar analizleri zorunlu olup, kalitenin değerlendirilmesi için hızlı ve objektif veriler sağlanabilmektedir (Malle ve Pomeyrol, 1989).

1.4.1. Fiziksel bozulma

Depolama sırasında ambalajın bütünlüğünü bozan mekanik etkiler fiziksel bozulma altında değerlendirilebilir. Ayrıca paket dondurulursa içerik genişleyerek cam kavanoza veya konserve kutusuna zarar verebilmektedir (Kılınç ve Çaklı, 2004b).

1.4.2. Kimyasal bozulma

Depolanan marinatin ihtiva ettiği asetik asit kutu konserve metalini etkilemektedir. Metalde, asidin etkisiyle hidrojen açığa çıkarıp, konserve içerisinde çoğalarak asitte çözülmüş metaller ürünün tadını değiştirmektedir (Kılınç ve Çaklı, 2004b).

TVB-N analizleri marinat tipi ürünlerde direkt bir sonuç vermemekte olup sonuçlar sınır değerinin çok altında kalmakta ayrıca değişimler stabil olmamaktadır. Bu durum ortamın asidik yapısının ürünün bozulmasında etkili olan enzimatik ve mikrobiyolojik aktiviteyi durdurulmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Varlık ve ark., 2004).

Yağların parçalanmasıyla oluşan değişimlerden sorumlu olan TBA analizi marinat tipi işleme tekniklerinde etkili olmaktadır. Yağların bozulması sonucu asitlik değişimi meydana gelmekte, peroksitten, aldehit ve keton oluşumunu gerçekleştirmekte ve sonuçta da lezzet ve kokuda önemli değişimler olmaktadır (Varlık ve ark., 2004).

1.4.3. Biyolojik bozulma

Marine ürünlerin pH 4–4,5 aralığında olması gereklidir. 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 en düşük pH'nın 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 etki olmakla birlikte oldukça büyüktür ve tipik tat oluşumu da sağlamaktadır (McLay, 1972; Whittle, 2002; Ovayolu, 1997; Huss ve ark., 2003; Kılınç ve Çaklı, 2004b). Buna ilaveten pH düzeyi aminoasit dekarboksilasyonunu etkileyen önemli bir faktördür. Örneğin uskumruda yüksek tiramin 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 (Olgunoğlu, 2007).

Gökoğlu (2003) yaptığı çalışmada farklı sardalya marinatlarının 25±2°C depolanmasında histamin seviyesinin gıda emniyeti açısından riskli düzeylere ulaştığını tespit edilmiştir. Bunun yanında marine balık ürünlerinde histamin oluşumunun çeşitli faktörler tarafından etkilendiği belirtilmiştir (Gökoğlu, 2003). Bunlar;

- (i) Amino asit dekarboksilaz aktivitesinin asidik şartlarda daha yüksek olduğu (optimum pH 4.0-5.5) ve bakteriler bu şartlarda asitliğe koruma mekanizması olarak daha güçlü dekarboksilaz enzimi üretimine yöneldiği,
- (ii) Marinatların asidik ortamları, balık dokusunda bulunan katepsin enzimlerini daha aktif kılarak kas proteinlerinin parçalamalarını artırır ve peptitlerin bakterilerin dekarboksilaz aktivitesiyle amin oluşumuna kaynak olan amino asitlere dönüşümünü sağlarlar. Bu nedenle 2°C'nin altındaki sıcaklıklarda marinatların üretimi tavsiye edilir ve pek çok şirket tarafından uygulanır (Gökoğlu ve ark., 2004)

Biyojenik amin dekarboksilaz (özellikle histamini histidine yıkımını sağlayan) aktivitesine sahip *Enterobacteriaceae* familyasına ait pek çok bakteri türünün (*Morganella morganii*, *K. pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alvei* ile *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* ve *Photobacterium*'a ait türler), çeşitli gıdalarda yüksek oranda biyojenik amin ürettiğini kanıtlayan pek çok çalışma mevcuttur (Ababouch ve ark, 1991; Taylor, 1986; Lehane ve Olley, 2000; Marino ve ark., 2000; Flick ve ark., 2001). *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alvei* balık ve balık ürünlerinden histamin üreten bakteri türleri sıklıkla izole edilmişlerdir (Frank, 1985; Lehane ve Olley, 2000; Huss ve ark., 2003). *Vibrio*, *Pseudomonas* ve *Photobacterium* bakteri türlerinin doğal deniz ortamında ve balıklarda bulunabileceği, ancak mezofilik *Enterobacteriaceae* ve *C. perfringens*'in tipik olarak daha sonradan bu ürünlere bulaşabilecekleri belirtilmiştir. Bağırsak kökenli bakteriler (özellikle *Morganella morganii*) bu ürünlerde yaz aylarında daha çok ortaya çıkarken doğal ortamdan gelen biyojenik amin üreten bakteriler ise kış aylarında baskındır. Psikrotrofik laktik asit bakterisinin soğuk tütsülenmiş balıklarda histamin ürettiği tespit edilmiştir.

Bakterilerin çoğalmasının durdurulduğu anlarda dahi bakteri enzimleri işlenmiş ürünlerde aktivitelere devam ederler. Bu nedenle geleneksel yöntemlerle işlenen su ürünlerinde yüksek orandaki tuzun bakteri üremesini durdurmasına rağmen enzim faaliyetleri devam etmektedir (Lehane ve Olley, 2000). Çoğu histamin üreten bakterilerin 15°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda çoğalması nedeniyle, histamin miktarı bu sıcaklıklarda depolanan ürünlerde artar. Bu nedenle, ürünleri düşük sıcaklıklarda depolamak histamin ve

diğer biyogenik aminlerin oluşum riskini azaltır. Ancak az da olsa 0-4°C arasında da histamin üretilebileceği tespit edilmiştir (Lehane ve Olley, 2000).

1.5. Önceki Çalışmalar

Dokuzlu (1997) de yaptığı çalışmada, %4 asetik asit, %12 tuz içeren çözeltide, $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de olgunlaştırdığında hamsi marinatının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan sekiz ay çok iyi kalitede kaldıklarını bildirilirken, duyuşal açıdan 7. aydan sonra insan gıdası olarak tüketilemez durumda olduğunu ortaya koymuştur.

Yapar (1998), olgunlaştırma çözeltisi olarak iki farklı çözelti kullanıp grup 1: %10 tuz + %2 sirke ve grup 2: %15 tuz + %2 sirke olmak üzere hazırlanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*) marinatlarında bazı kalite değişimlerini incelemiştir. Sonuç olarak, her iki olgunlaştırma çözeltisi ile elde edilen hamsi marinatlarında kalite göstergesi olarak belirlenen özellikler açısından iyi kalitede ürünler sağlanabileceği, bu nedenle marinat yapımında tuz yüzdesinin yüksek tutulmasının kaliteyi korumada çok fazla etkili olmayacağını belirlemiştir. Ancak, kalitenin korunmasını sağlayacak en düşük tuz oranının da uygulanması gerektiğini bildirmişlerdir.

Toyohara ve ark. (1999) da yaptığı çalışmada, tuz-sirke kürünün uskumru etine etkisini incelemiştir. Tuzun etkisinin, ete sertlik sağlamakla birlikte kas yapısındaki değişikliklerle bağlantılı olarak sarkoplazmik proteinlerin büyük çoğunluğunu çökelttiği, sirke kürünün etkisinin ise sertlik ve bütünlüğü artırırken enolaz sarkoplazmik proteinlerin büyük çoğunluğunun, kreatin kinaz, aldolaz ve gliseraldehit fosfat dehidrogenazın çökelti miktarını arttırdığı belirlemiştir. Tuz-sirke ile kürlenmenin balık etinin sadece depolama periyodunu uzatmakla kalmayıp aynı zamanda lezzetini de arttırdığı bildirmişlerdir.

Poligne ve Collignan (2000), hamsinin (*Engraulis encrasicolus*) hızlı marinasyon tekniğiyle asetik asit, glukonik asit ve her iki asit solüsyonunu kullanarak, işlem süresinde yüksek tuz konsantrasyon kullanımının çözelti içerisindeki ürünü koruduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada kullanılan asit tipinin hamsinin mikrobiyal yükü üzerine etkisine bakılmış, yalnız glukonik asit kullanımının raf ömrü üzerine etkisi az iken, asetik asidin tek başına veya düşük oranlarda kullanımının glukonik asitin mikrobiyal gelişiminin önlenmesi üzerine iyi etkiye sahip olduğu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, asetik asit, glukonik asit ve karışımlarının ürünün mikrobiyal yükü ve raf ömrüne etkisine bakılmaksızın, ekşi ve tuzlu tadın yumuşatılmasında ürünün tüketici beklentilerine eleştirilmesinde kullanışlı bir seçenek olduğunu bildirmişlerdir.

Varlık ve ark. (2000)'nin çalışmasında, marine balık köftesinde kullanılan hamsi balığı önce haşlayıp, baharatlarla kızartıldıktan sonra %6 tuz -%1 sirke salamurası içinde soğukta ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) depolamıştır. Çalışma sonucunda, marine balık köftesinin 60. güne kadar çok iyi, 105. güne kadar iyi, 120. güne kadar tüketilebilir olduğu fakat 120. günden sonra bozulmanın başladığı rapor edilmişlerdir.

Cabrer ve ark. (2002), hamsi balığından elde edilen marinatu olgunlaşma boyunca belirli saat aralıklarıyla incelemişlerdir. Çalışmada, hamsi filetolarının nem, protein, tuz, asetik asit ve pH seviyesindeki en önemli değişikliklerin 0 ile 24 saat arasında gerçekleştiği, yapısal değişimler tamamlandığı zaman duyusal analizlerin sonucunda marinatin 9. günde (216 saat) olgunlaştığı belirtilmiştir.

Gökoğlu ve ark. (2004), marine edilmiş sardalya balığının iki farklı konsantrasyonda (%2 ve %4'lük) asetik asit ve %10'luk tuz'de 24 saat marine ettikten sonra, cam kavanoz içinde ayçiçeği yağında 4°C ' de depolamış, depolama esnasındaki, TVB-N ve TMA-N değerlerinin artışı yönünde önemli farklılıklar bulmuş ve %2'lik konsantrasyondaki artışın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca iki konsantrasyon değeri arasındaki pH farkının da önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmanın sonunda, duyusal açıdan her iki ürünün 120 günde kabul edilemez sınır ulaştığını ifade etmişlerdir.

Gökoğlu (2003), marine edilmiş sardalya balığında 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 tyramin, putresin, kadaverin, histamin, spermin ve spermidin gibi biyojenik aminleri tespit etmiştir. Sonuç olarak, biyojenik amin oluşumunun, asidik ortamlarda, bakteriler için koruyucu bir mekanizma olduğunu, dolayısıyla savunma mekanizmasının bir gereği olarak dekarboksilaz aktiviteyi teşvik edici bir durum sergilediği rapor etmiştir.

Niven ve ark. (1981) yılında yaptıkları çalışmada scomborid balık türlerinden ton, palamut, istavrit ve kral zargana balıklarında histamin üreten bakterileri araştırmış ve en baskın türlerin *Proteus morgani* ve *Klebsiella pneumonia* olduğunu tespit etmişlerdir.

Jorgensen ve ark. (2000)'de soğuk tütsülenip vakum paketlenmiş somon balıklarında, histamin oluşumuna neden olan bakterilerin tespiti amacı ile yaptıkları bir çalışmada *Photobacterium phosphoreum* ve *Lactobacillus curvatus* türlerinin histamin oluşturduklarını tespit etmişlerdir.

Kim ve ark. (2003), kolyoz balıklarında depolama sıcaklığına (4, 15 ve 25°C) bağlı olarak histamin üreten bakteri türlerini ve histamin miktarını araştırmış ve birinci günden itibaren 15, 25°C de en baskın türün *Morganella morganii* daha sonra ise *Pseudomonas putida* ve *Hafnia alvei* türlerinin olduğunu tespit etmişlerdir. 4°C de 8-10 günde ise *Actinobacillus ureae* ve *P. putida* türlerinin histamin ürettiklerini tespit etmişlerdir.

Tsai ve ark. (2005)'de 27 fermente (12 balık sosu, 9 balık ezmesi (hamsi), 6 karides ezmesi) balık ürünü üzerinde yaptıkları çalışmada, histamin üreten *Bacillus coagulans* ve *Bacillus megaterium* türlerini teşhis etmişlerdir.

Auerswald ve ark. (2006)' de yaptıkları çalışmada 17 taze ve işlenmiş balık ürünündeki (taze, tuzlanmış, tütsülenmiş, kurutulmuş) histamin miktarını araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, histamin miktarının taze balıkların genelinde 0-9 ppm arasında, işlenmiş ürünlerin genelinde ise düşük olmakla beraber 1-3 ppm arasında değiştiğini bununla beraber işlenmiş ürünlerden tuzlanmış tirsidede 47 ppm, tütsülenmiş kolyozda 50 ppm'den yüksek, kurutulmuş ton balığında da 8000 ppm olduğunu bulmuşlardır.

Mah ve ark. (2002)'de Kore'de geleneksel yöntemlerle yapılmış 11 farklı tuzlanmış ve fermente edilmiş su ürününün biyojenik amin içeriğinin belirlenmesi için yaptıkları çalışma sonunda dokuz örnekteki biyojenik amin (putresin, histamin, kadaverin, spermidin, tyramin, spermin) miktarlarının 0-70 ppm arasında değiştiğini bununla beraber 4, 10, 15°C'lerde 20 gün depolama sonucunda artışın az olduğunu ancak kadaverin, histamin ve spermidin miktarlarındaki 10. gün sonundaki artışın önemli olduğunu bildirmişlerdir.

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 konulmuştur (Veciana-Nogues ve ark., 1997).

Cascado ve ark. (2003), sirkede marine edilmiş hamside depolama süresince biyojenik aminlerde (tyramin, serotonin, putresin, kadaverin ve histamin) artışın olduğunu bildirmiş, ancak hakkında az bilginin olduğu serotonin haricinde oluşan aminlerin balıklarda bozulmayla alakalı olduğunu ortaya koymuşlardır. Yine marine edilmiş hamsinin depolama süresi boyunca histamin seviyesinin $1,37 \pm 0,63$ mg/kg'ın üzerine kadar çıktığını bildirirken, spermidin ve spermin seviyelerinin depolama süresince sabit kaldığını ortaya koymuşlardır.

Erdem ve ark. (2005), tuzlama ve marinasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığı'nın (*Trachurus mediterraneus*, Steindachner, 1868) farklı şekilde hazırlanan salamuralarında, birincisinin %10 tuz ve %4 sirke ile diğerinin ise baharat katkılı olarak $4^{\circ}\text{C}\pm 1$ 'de 120 gün boyunca depolandığını bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda marinat ürünlerin 60 ve 90 gün bozulmadan saklanabileceğini, duyu analizi sonuçlarında ise baharatlı ürünlerin diğer ürünlere göre daha iyi kalitede olduğu rapor etmişlerdir.

Olgunoğlu (2007) $0-2^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza ettiği, marine edilmiş hamsi (*Engraulis engrasicholus*) filetolarında, çalışmanın başında elde edilen TVB-N, TBA, pH değerlerini sırasıyla, 11,90 mg/100g, 1,16 mg malonaldehit/kg, 3,94 olarak saptamış, araştırmanın sonuna kadar değerlerin düzenli bir artış gösterdiğini bildirmiştir. Bu değerlerin tüketilebilirlik sınır değerlerini aşmadığı, araştırma sonunda ürünün TVB-N yönünden "çok iyi" özelliğini koruduğu, TBA yönünden acılaştırmanın başladığı belirtilmiştir. Mikrobiyolojik kaliteyi izlemek için toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, maya-küf, koliform, E.coli, Salmonella, Staphylococcus- Micrococcus ve histamin oluşturan bakteri sayıları incelenmiş ve taze materyaldeki toplam aerob mezofilik bakteri sayısı $6,5 \times 10^4$ kob/g, toplam psikrofil bakteri sayısı, 7×10^3 kob/g olarak belirlenirken, histamin miktarının $34,5 \pm 2,00$ mg/kg olduğu rapor edilmiş ve marinasyonun işleme tekniği olarak uygun olduğu ve taze hammadde kullanıldığı takdirde ise risk arz etmediği ve mikroorganizma sayılarının depolama sonunda taze materyaldekine kıyasla daha düşük kaldığı, maya ve küf üremesinin ise görülmediği belirtilmiştir.

Fuselli ve ark. (1998)'nin % 2,5 asetik asit ve % 10 tuz ile marine edilmiş hamsideki (*Engraulis anchoita*) mikroflorayı izole ve karakterize etmek üzere yaptıkları çalışmada, ayçiçek yağı içerisinde 23°C ' de 4 ay depolamışlardır. Sonuç olarak depolamada baskın gelen mikrofloranın *Lactobacillus spp.* özellikle *L. casei* subsp., *Micrococcus sp.* ve özellikle *M. varians* olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte *Staphylococcus spp.*, koliform, Enterobacteriaceae, maya ve küf, *E. coli*, *Pseudoaeruginosa* ve *Clostridia sp.* türü bakterilerin de bulunmadığını bildirmişlerdir.

Kılınç ve Çaklı (2004a), dondurulmuş daha sonra çözündürülmüş sardalya balığı (*Sardina pilchardus*) filetolarında kimyasal mikrobiyolojik ve duyu değişimlere bakmışlardır. Sardalya filetosunda, balık ve salamura oranı 1,5:1 olmak üzere, %7 asetik asit %14 tuz karışımı kullanılmıştır. Marinasyonun 4°C 'deki yapısal değişimlerinin tamamlanmasının 22. günde olduğu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, filetlardaki sardalya filetosunun, muhafazanın başlangıcı ve sonucundaki kimyasal analizlerinde istatistiksel

olarak farklılık görülmezken, toplam bakteri sayısında, laktik asit bakteri sayısında, psikrofilik bakteri sayısında ve maya ve küfte azalma olduğu tespit etmişlerdir.

Özden ve Baygar (2003), marine edilmiş hamsi, istavrit, kolyoz ve sardalya balığı filetoalarını cam kavanozda bitkisel yağ içerisinde ve polietilen torbalarda vakum paket tekniği kullanılarak $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ depolamışlardır. Depolama boyunca 15 günlük periyotlarda yapılan analizlerin sonucunda marine edilmiş balıkların 90 günlük bir raf ömrüne sahip olduğu ayrıca uygulanan paketlenme teknikleri arasında kalite değişimlerinde büyük farklılık görülmediği bildirmişlerdir.

Tırakoğlu (2003), Marmara ve Karadeniz'den avlanan hamsi balıklarının, dondurularak ve dondurulup glaze edilerek farklı yöntemlerle depolanan ve marinat üretiminde kullanıldıktan sonra, son ürünlerdeki kalite üzerine etkisini araştırmıştır. Altı aylık çalışma süresince iki bölgenin ve depolama şeklinin uygun kalite özellikleri gösterdiğini fakat 6. ay sonunda Marmara hamsisinin Karadeniz hamsisine göre fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan daha düşük kalite özellikleri gösterdiğini saptamıştır.

Sallam ve ark., (2005), marinat çözeltisini %12 tuzlulukta %2'lik ve %3'lük asetik asit kullanarak marine ettikleri Pasifik zargana (*Cololabis saira*)'nı vakum paketleyip 4°C 'de, kimyasal ve duyuşsal analizlerini değişimlerine bakmışlardır. Başlangıçta taze materyalde TVB-N miktarında, marinasyondan sonra önemli bir düşüşün yaşanmadığı bildirmişlerdir. Ancak depolamanın 30, 40 ve 50. gününde TVB-N miktarında yavaş bir artış yaşanırken, depolama sonlarına doğru önemli bir artışın olduğu gözlenmiş, başlangıçta taze materyalde pH miktarı 6,32 iken, marinasyon sonrası düşüş yaşandığı ancak depolama sonunda her iki grupta da önemli bir artış olduğu bildirmişlerdir. Mikrobiyolojik açıdan bakıldığında, psikrofilik bakteri sayısının başlangıçta 3,95 log kob/g olduğu, ayrıca marinasyon sonrası düşüş gösterirken depolama sonunda sırasıyla 5,16 ve 4,75 log kob/g olarak ölçüldüğü bildirmişlerdir. Duyusal açıdan ise renk, koku, yumuşaklık ve tat gibi kriterlerde depolama boyunca düşüş gözleendiği, depolama sonunda ise hem tadın hem de kokunun kabul edilemez durumda olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, buzdolabında muhafaza sırasında ürünlerin psikrofilik bakteri miktarında ve kimyasal indikatörlerde gözlenen artışlarının, duyuşsal özelliklerdeki düşüşle paralellik gösterdiği bildirilmiştir.

Özden (2005), marine edilmiş hamsinin (*Engraulis engrasicholus*) raf ömrü süresince yağ asitleri kompozisyonunu tespit etmeye çalışmıştır. Araştırmada, yağ asitleri kompozisyonunun soğukta depolanan marine balıkları için tazelik ve dekompozisyon indeksi

olarak iyi bir kriter olduğu ve SFA konsantrasyonlarındaki artış ile PUFA konsantrasyonlarındaki düşüşün oksidasyon neticesinden kaynaklandığını ve kalitede önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir.

Kılınç ve Çaklı (2005), 70°C’de 20 dakika pastörize olmuş ve pastörize olmamış domates soslu marine edilmiş sardalya balığının (*Sardina pilchardus*) raf ömrü üzerine etkisini araştırmışlardır. Marinasyon işleminden sonra sardalya filetoları, hazırlanan %2 asetik asit ve %4 tuz çözeltisinde, 4°C’de muhafaza edilerek 6 ay depolanmışlardır. Depolama sonunda pastörize edilmiş ve edilmemiş marinatlar arasında TBA, FA (serbest), FA (toplam) ve pH değerleri bakımından önemli bir fark ($p>0.05$) olmadığı bildirilirken, TVB-N, TMA-N, toplam bakteri ve laktik asit bakterileri sayısı açısından önemli bir farkın ($p<0.05$) olduğu bildirmişlerdir. Araştırma sonunda pastörizasyon sürecinin marinatın raf ömrü üzerine etkisi olmadığı ve pastörize edilmiş ve edilmemiş domates soslu marine edilmiş sardalyaların 4°C’deki raf ömrünün 6 ay olduğu ifade etmişlerdir.

Duyar ve Eke (2009), marine edilmiş hamsi (*Engraulis engrasicholus*) ve palamut (*Sarda sarda*) balıklarında, marinasyon çözeltisi olarak %4 asetik asit ile %10 tuz kullanılmış ve 170 gün boyunca 4°C’de depolanmıştır. Sonuç olarak duyu analizlere göre marine edilmiş palamut ve hamsi 130 güne kadar dayandığı rapor etmişlerdir.

Fuselli ve ark. (2003), soğuk marine edilmiş hamsideki (*Engraulis anchoita*) tipik mikroorganizmaları saptamak amacıyla yaptıkları çalışmalarda, % 2,5 asetik asit ve % 14 tuz solüsyonunda marine ettikleri hamsilerin bir grubunu mısır yağı içerisinde karabiber ve defne yaprağı ile diğer grubunu ise mısır yağı içerisinde kırmızı pul biber ve dövülmüş kırmızı biber ekleyerek iki farklı şekilde paketlemişlerdir. Her iki grupta, 3 ay boyunca hem $4\pm 1^\circ\text{C}$ ’de, hem de $18\pm 1^\circ\text{C}$ ’de depolanmıştır. Hamsi marinatına eklenen baharatların, marinatın mikro florası üzerine etkisini araştırmak amacıyla mikrobiyal analizler ham maddede, baharatlarda ve 3 aylık depolamanın sonunda yapılmış, hammaddede tespit edilen pek çok bakteri türünün marinasyonun tamamlandığı safhada bulunmadığı, buna karşılık baharat kullanımının mikrobiyal yükü arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca kırmızı pul biber ve dövülmüş kırmızı biberin kullanıldığı grubun, karabiber ve defne yaprağı kullanılan gruba göre her iki sıcaklıkta da mikrobiyal yükünün daha fazla olmasıyla birlikte kabul edilebilir kalitede olduğunu belirlemişlerdir.

Sen ve Temelli (2003), %4’lük asetik asit ve %7,5’luk tuz solüsyonunda, soslu ve sebzeli marine edilen hamside mikrobiyal kaliteyi belirlemek üzere koliform, toplam mezofilik aerob bakteri, koagülaz pozitif Staphylococcus, *Salmonella spp.* sülfid indirgeyen

anaerob bakteriler, maya ve küfleri tespit etmişlerdir. Ayrıca mikrobiyolojik analizler, hamsi filetolarıyla birlikte marinasyonda kullanılan çeşitli sebzeler ve sos gibi ilavelerle birlikte yürütülmüştür. Çalışma sonunda, katkı maddelerinin ürünün mikrobiyolojik kalitesine olumsuz etki yapmadığını ve halk sağlığı için tehdit oluşturabilecek patojen mikroorganizmalara rastlamadıklarını bildirirken, uygun şartlar altında muhafaza edildiği sürece marine hamsinin insanların güvenle tüketebilecekleri bir ürün grubu olduğunu ortaya koymuşlardır.

Vergara ve ark. (2003), marinasyon boyunca *Listeria monocytogenes* gelişimini incelemek amacıyla, örneklere marinasyon işlemi öncesinde $1,2 \times 10^7$ kob/g aşımış ve ardından olgunlaşan hamsi marinatlarını ayçiçek yağında, kıyılmış maydanoz ve sarımsak kullanarak 8°C 'de depolamışlardır. pH değeri 6,2 olarak kaydedilen taze hamsi örneklerinin 24 saatin ardından olgunlaştığı ve pH'ın 4,07 olarak kaydedildiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra ham materyalde 2×10^2 kob/g olarak saptadıkları psikrofil bakterilere, marinasyon işlemi uygulanmış ürünlerde rastlamadıklarını vurgulamışlardır.

Gökoğlu ve ark. (2009), buzdolabı koşullarında nar ekşisinin hamsi marinatının kalitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. Marinat solüsyonu olarak 30 g/L asetik asit ve 150 g/L tuz kullanarak örneklerin yarısı ayçiçeği yağında, diğer yarısı ise nar ekşisi eklendikten sonra cam kavanozlarda paketlenerek, 4°C 'de depolanmıştır. Depolama boyunca TVB-N ve TMA-N değerinin arttığı, nar ekşisinde paketlenen örneklerin daha kararlı oksidatif eğilim gösterdiği ve kalitenin muhafaza edilmesinde en az geleneksel ayçiçeği yağı kadar etkili olduğu, bunun yanı sıra istenilen tat ve koku oluşumu sağlamakla beraber farklı korelasyonların denenmesi gerektiği ifade etmişlerdir.

Erkan ve ark. (2000), paneli alabalık marinatlarının modifiye atmosferle paketlenme (MAP) teknolojisinin raf ömrü üzerine etkisini belirlemek üzere çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada fileto edilen balıklar %10 tuz, %2 sirke içeren salamurada olgunlaştırıldıktan sonra biri kontrol olmak üzere 3 grupta modifiye atmosferde paketlenmiş, $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ depolanmıştır. Sonuç olarak kontrol grubunun depolamanın 90. günde bozulmaya başladığı, modifiye atmosferle paketlenen grupların ise 120. günde bozuldukları buna göre modifiye atmosferle paketlenenlerin normal paketlenmeye göre raf ömrünü uzattığı bildirmişlerdir.

Giuffrida ve ark. (2007)'nin deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) marinatının hijyenik değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, filetosu çıkartılan 30 adet balığın hazırladıkları marinasyon salamurasında 1:1 oranında sirke ve su, her kg için 50 g sakaroz,

%0,1 sitrik asit ve %8 tuz kullanmışlardır. Olgunlaştırma işlemi 48 saat süre ile 4°C de gerçekleştikten sonra örneklerin suyu süzildükten sonra, vakum paketlenme yapıp, 36 gün boyunca 4°C depolamışlardır. Analizler 0, 3, 12, 24, 28 ve 36. günlerde yapılmış ve marinasyon işleminin 3. gününde enterobakteri ve H₂S bakterilerinin sayısında azalma gözlenirken, toplam aerobik mezofilik ve laktik asit bakterilerinin depolama boyunca yavaş bir şekilde arttığı, pH'ın ise başlangıç seviyesinden 4,5 değerine düşmesinin ardından depolama süresince 4,4 ile 4,9 arasında değiştiği vurgulanmıştır. Su aktivitesi ise ilk 3 saatte 0,987 değerinde kaydedilmiş, depolama boyunca 0,972 değerine azaldığı tespit edilmiştir.

Çolakoğlu (2004) çalışmasında, küp şeklinde doğranmış kızılöz (*Rutilus rutilus*) ve beyaz balık (*Coregenus sp.*) filetolarını %3 tuz ve %2 şarap sirkesinden oluşan, soğan ve çeşitli baharatlar ekleyerek 0°C'de 24 saat süreyle olgunlaştırılmış, bu marinasyon tekniğiyle birlikte dumanlama, kızartma ve salata teknikleri kullanmıştır. Sonuç olarak, balık etine uygulanan farklı işleme teknolojileri ile (sıcak dumanlama, marinasyon, salata ve kızartma) elde edilen ürünlerin mikrobiyal içeriğinin taze fileto balığa kıyasla önemli ölçüde azaldığı ve ürünler arasında kalitatif açıdan en fazla bakteri içeriğinin dumanlanmış beyaz balık türünde ve en az bakteri içeriğinin ise marine edilmiş kızılöz türünde olduğunu rapor etmiştir.

Kaya ve ark. (2010), afrika karabalığı (*Clarias gariepinus*, B, 1822) marinatının raf ömrünün ve kalite değişimlerini incelemiştir. Çalışmada, örnekler temizlendikten ve plastik buzdolabı poşetlerinde 3 ay süre ile 18°C'de dondurulduktan sonra 5 dakika boyunca kaynar suda pişirilmiş, ardından %3 asetik asit ve %8 tuz solüsyonunda marinat yapıldıktan sonra 4°C'de cam kavanozlarda saklanmıştır. Sonuç olarak, marinat ürünlerinde besin öğeleri değerlerinde bir değişiklik gözlenmezken, kimyasal analizler sonucunda ürünler iyi kalitede olmasına rağmen duyuşal açıdan kabul edilemez olduklarını rapor etmişlerdir.

Cadun (2002), çim çim karidesten (*Parapenaeus longirostris*) marinat yapımı ve raf ömrünün belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmada, karidesler iki gruba ayrılmıştır. İlk gruba sitrik asit, tuz ve raf ömrünü uzatmak için benzoik asit ve sorbik asit ilave edilmiştir. Diğer gruba ise mikrobiyal ajan olan benzoik asit ve sorbik asit konulmamış yalnızca sitrik asit ve tuz karışımı ilave edilmiştir. Karides marinatlarının raf ömrünün 40 gün olduğu ve TBA (mg malonaldehit/kg) miktarına artışıyla paralel olarak duyuşal analizlerde acılaşma şeklinde ortaya çıktığı bildirilmiştir.

Çelik (2004), akivadeslerin (*Tapes decussatu*, Lucas, 1758) marine edilmesiyle farklı bir lezzetin ortaya çıktığını bildirmiştir. Duyusal analizlere katılan panelistler tarafından genel olarak beğeni ile karşılandığının üzerinde durularak, hammaddede 6,51 olan pH'nın, marinasyon işleminden sonra 4,43 değerine ulaştığı, marinasyon işleminin akivades etlerinin kimyasal kompozisyonu üzerine fazla bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Özoğul ve ark. (2007)'nin kafadan bacaklılar, kabuklular ve karından bacaklılardan elde edilen marinatların bakteriyolojik ve biyokimyasal değerlendirilmesi için yaptıkları araştırmada, ahtapot (*Octopus vulgaris*), karides (*Parapenaeus longirostris*), kalamar (*Loligo vulgaris*), deniz salyangozu (*Rapana thomasi*) ve sübye (*Sepia officinalis*)'den hazırlanan karışık marinat salatası 4°C'de 24 hafta depolanmıştır. Yapılan analizler sonucunda depolamanın başlangıcında 6,05 mg/100g TVB-N değerinin depolamanın sonunda 11,19 mg/100g'a ulaştığı, pH seviyesinin başlangıç değeriyle önemli derecede farklılık göstermediği, bu aralıkların ise 3,57 ile 3,65 arasında olduğu bildirmişlerdir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre koliform, Salmonella, Escherichia coli ve Staphylococcus aureus saptanmazken, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının 3. ayın sonunda 4 log kob/g, depolamanın sonunda ise 3 log kob/g değerinin altında kaldığı bunun yanı sıra depolama boyunca biyojenik aminlerden olan histaminin tespit edilmediği fakat putresin ve kadevrin seviyelerinin arttığı kaydedilmiştir. Yapılan duyusal değerlendirmede ise, ürünün depolama süresince görünüş, koku, tat ve doku yapısında yavaş olarak bir artış gözlenmekle beraber depolamanın sonunda panelistler tarafından hala kabul gördüğü saptamışlardır.

Cadun ve ark. (2008), biberiye ekstraktı eklenmiş çim çim karides (*Parapenaeus longirostris*) marinatının raf ömrünü ve meydana gelen fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal kalite değişimlerini araştırmışlardır. Biberiye ekstraktı (deney grubu) eklenmiş ve eklenmemiş (kontrol grubu) olarak iki farklı formülasyon kullanarak hazırlanan örnekleri, 1°C'lik soğuk odada 75 gün süre ile depolamışlardır. Belirlenen kimyasal analiz sonuçlarına göre istatistiksel olarak bir farklılık belirlenmediği, duyusal analizlerin sonucunda ise iki grup arasında 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerde istatistiksel anlamda bir farklılığın olmadığı fakat 75. günde kontrol grubunda acılaşma görüldüğü kaydedilmiştir. Mikrobiyal yükün her iki grupta da tüketilebilir sınır değerlerinin altında kaldığı, TBA miktarının kontrol grubunun raf ömrünü belirlediği ancak deney grubunun depolama süresince tüketilebilir iyi kalite özelliğini koruduğu bildirmişlerdir.

Andrighetto ve ark. (2009), midye (*Mytilus galloprovincialis*), karides (*Pandalus borealis*), kalamar (*Dosidicus gigas*), sübye (*Sepia officinalis*), ahtapot (*Octopus vulgaris*) ve balık surimisinden (*Theragra chalcogramma*) oluşan karışık marinat salatasını önce pişirip ardından %33 beyaz şarap sirkesi (%6 asiditeye sahip) ve %2 tuz ile marine ettikten sonra, 4°C’de iki ay süre ile depolamışlardır. Laktik asit bakterilerinin biyolojik çeşitliliğini saptamışlar ve bunların *Listeria monocytogenes*’in gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, başlangıçta 5 log kob/g olan laktik asit bakteri sayısının 60 günün sonunda 8 log kob/g değerine ulaştığı, pek çok laktik asit bakteri türünün saptandığı bildirilmiştir. Bununla birlikte düşük pH ve buzdolabı koşullarında belirli oranlarda laktik asit bakterilerinin ve *Listeria monocytogenes* gibi patojen mikroorganizmaların gelişimini önlediği rapor edilmiştir.

1.6. Araştırmada Kullanılan Balık Hakkında Genel Bilgi

Clupeidae familyasından olan tirsi (*Alosa immaculata*) üçüncü periyoda ait (65 milyon yıl öncesine dayanan) eski form balıklardandır. Pelajik olan ve *Clupeidae* familyasını temsil eden türlerin çoğu deniz formları olup; tropikal ve subtropikal denizlerde yaşasalar da bazı formları akarsulara ve tatlısu göllerine uyum göstermişlerdir (Ciolac, 2004).

Genel olarak tirsinin üst çenesinde medyan bir çentik bulunur. Solungaç kapağının üst kısmında siyah bir benek vardır. Renk sırt kısımlarda yeşilimsi mavidir. Yanal çizgisi bulunmayan ve kısa sırt yüzgeci, vücutları yanlardan hafifçe yassılaştırmış pelajik balıklardır. Pulları genellikle gevşek yapılı, dokunulduğu zaman kolaylıkla dökülebilen özelliğe sahiptir (Şekil 1) (Ergüden, 2007).



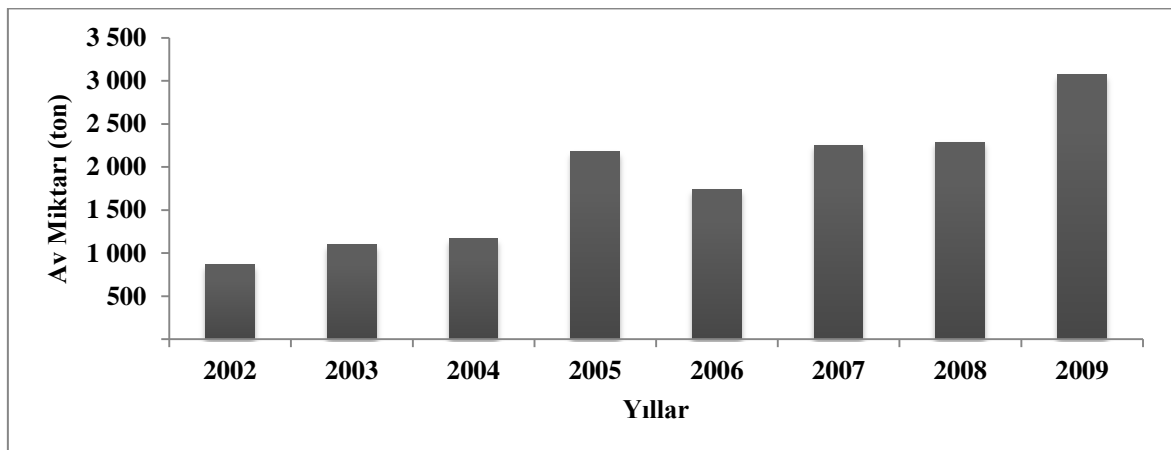
Şekil 1. Tirsi (*Alosa immaculata*)

Genellikle, fazla ışıklı günlerde suların berraklığına göre, alt tabakalarda (10-30 m veya daha altındaki derinliklerde), geceleri ve bulutlu günlerde ise suların üst tabakalarında geçirmektedirler. Denizlerimizde sahillere yakın sürüler halinde dolaşırlar, anadrom türlerdir, *A. fallax nilotica* haricindeki diğer türler kış aylarını Karadeniz'in uygun bölgelerinde geçirdikten sonra yaz aylarını da Azak Denizi ve çevresinde geçirmektedirler (Ergüden, 2007).

Nisan-Mayıs aylarından Eylül'e kadar, çeşitli zamanlarda aralıklı olarak üremelerini, sahillere oldukça uzaklarda, büyük sürüler halinde toplanarak sürdürürler. Yumurtadan çıkan yavrular, öncelikle besin depolarını tüketinceye kadar, kendi kendilerine dibe doğru inerler; sonra yüzeyin 2-3 m altına kadar yükselerek pelajik yaşamlarını, zooplanktonik canlıları avlayarak sürdürürler (Akşiray, 1987).

Cladoceranlar genç tirsilerin ana yem materyalini oluşturur. Olgun balıklar ise Clupeonella ve atherina gibi balıklar, bazı kabuklular ve böcek larvaları ile beslenirler (Whittle, 2002). Ekim ayından mart ayına kadar bolca avlanmaktadırlar. Formlara göre avcılığı gırgır, manyat, tarlakoz, uzatma, sürütme, serpme ve orta su trolü gibi ağlarla yapılmaktadır (Ergüden, 2007).

Tirsi balığı ülkemizde 2002-2004 yılları arasında ortalama 1328 ton avlanırken 2006-2009 yıllarında artan bir grafik göstererek 2009 yılındaki av miktarı 3070 ton olarak kaydedilmiştir (Şekil 2) (TÜİK, 2010).



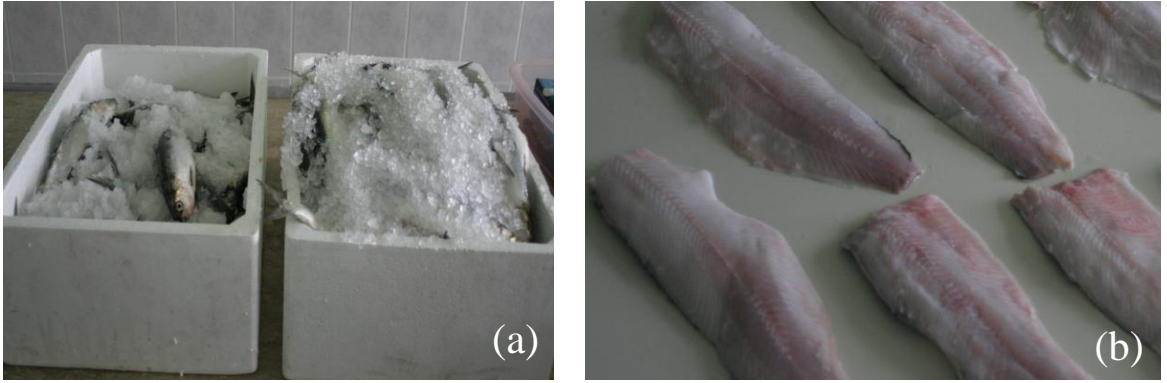
Şekil 2. Tirsir balığının 2002-2009 yılları arasında Türkiye'deki av miktarları (TÜİK, 2011)

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu tezin amacı ülkemizde özellikle Karadeniz’ de avcılığı yapılan tirsi balığından yapılan marinatın farklı paketleme yöntemleriyle paketlenen sonra, zamana bağlı olarak kaliteyi etkileyen duyuşsal özellikler ile birlikte fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin araştırılması ve elde edilen ürünlerin raf ömürlerinin belirlenmesi ve elde edilen bu ürün için en iyi paketleme yönteminin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Böylece marinat yapımında kullanılan diğer balık türlerine alternatif olarak tirsi balığının da değerlendirilebilme potansiyeli vurgulamaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Araştırmada, Trabzon balık halinden alınan 36,5 kg tirsi (*Alosa immaculata*, Bennett, 1838) balıkları strafor kutularda buzlanarak laboratuvara getirilmiş ve gerekli ölçümleri yapıldıktan sonra parazit riskinin ortadan kaldırılması amacıyla (EC, 2004) 24 saat süre ile dondurulmuştur ($-27\pm 2^{\circ}\text{C}$). Bir gün sonra dondurucudan çıkarılan balıklar buzdolabı koşullarında çözündürüldükten sonra filetoları çıkarılmış ve yine randımanın hesaplanması amacıyla gerekli tartımlar yapılmıştır. Başlangıçta yapılan ölçümler sonucunda toplam 186 adet tirsi balığının ortalama boyu $28,71\pm 1,58$ cm, ortalama ağırlığı ise $191,53\pm 33,63$ g olarak ölçülmüştür. Fileto çıkarma işleminden sonra yaklaşık 50 g'lık 372 adet fileto toplam 18,6 kg olarak tartılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Araştırmada kullanılan tirsi(a) ve filetosu (b)

2.1. Yöntem

2.1.1. Marinasyon İşlemi

Balıkların baş ve iç organları temizlendikten sonra fileto edilmiş ve şebeke suyu ile yıkandıktan sonra süzdürülmüş ve marinasyon işlemine tabi tutulmuştur. Başlangıç analizleri için ayrılan filetolar hariç, bütün filetolar %4,5'lük alkol sirkesi, %10 tuzluluk ve %0,2 sitrik asit ile hazırlanmış salamurada 48 saat süreyle $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik buzdolabında olgunlaştırmaya bırakılmıştır. Örnekler 25 L'lik plastik kaplara eşit olacak şekilde 1:1 oranında (balık:salamura suyu) yerleştirilmiş ve ardından buzdolabı koşullarında olgunlaştırılmaya bırakılmıştır (Şekil 4).



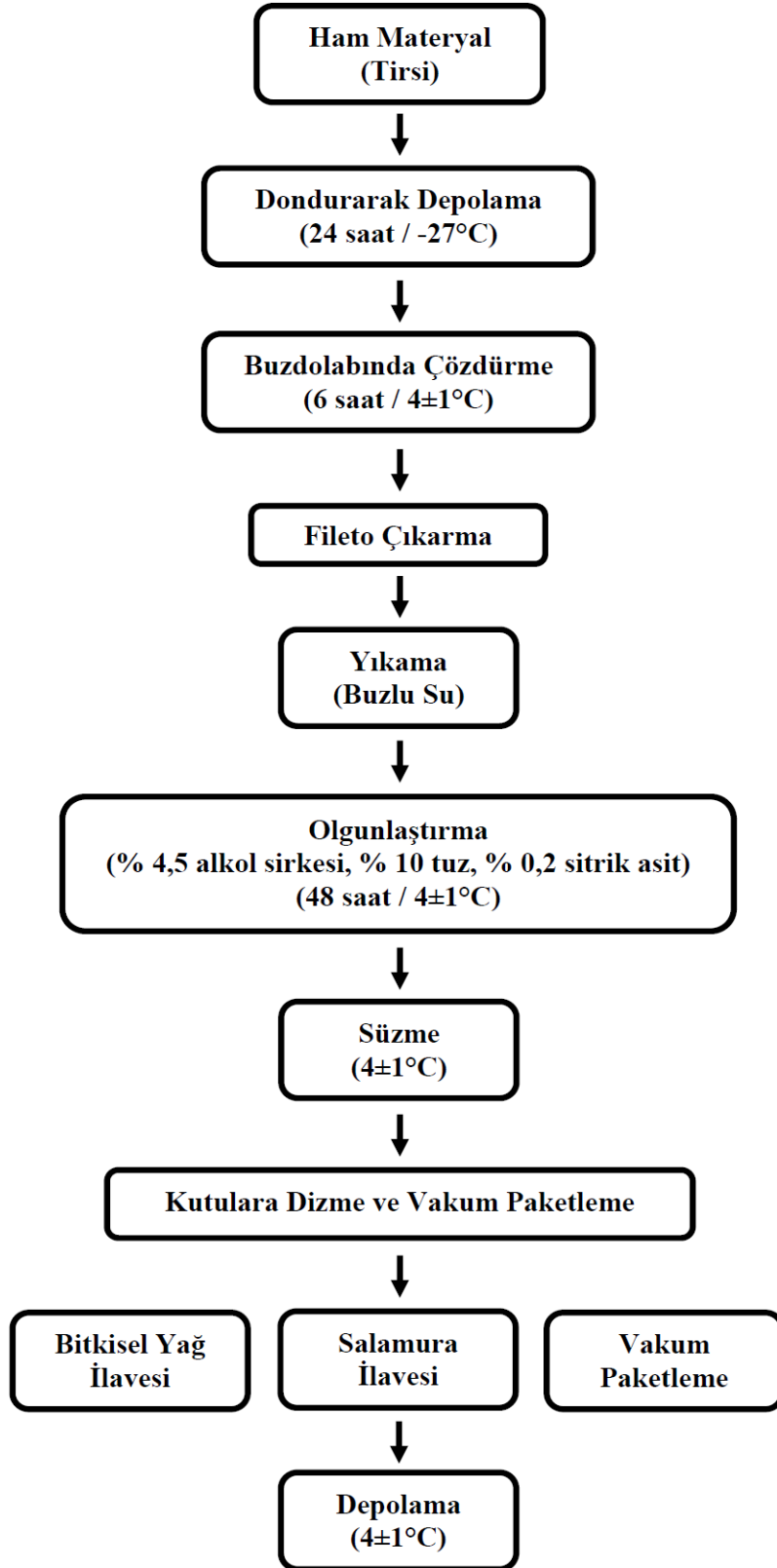
Şekil 4. Marinatın olgunlaştırma aşaması ve marine edilmiş tirs (*Alosa immaculata*) filetosu

Marinasyonda salamura veya turşularda kullanılan sanayi tuzu,, ticari olarak gıda üretiminde kullanılan alkol sirkesi (TS 1880 EN13188, 2003) ve ayçiçeği yağı kullanılmıştır. Balıkların temizlenmesi sırasında ve salamura suyu olarak şebeke suyu kullanılmıştır.

İki gün buzdolabında bekletildikten sonra salamura suyundan çıkarılan balıkların suları süzülerek 3 gruba ayrılmıştır. Daha sonra salamurada 145g fileto, 55g salamura sıvısı, yağda 160g fileto, 70g ayçiçek yağı 250g'lık şeffaf plastik kutulara ve vakum paket ise 167g fileto kullanılarak paketlenip $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır (Şekil 5). Marinatların yapım aşaması Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 5. Olgunlaşan tirs filetolarının (a) vakum paketlenmesi, (b) yağda ve (c) salamurada paketlenmesi



Şekil 6. Tirsı marinatının yapım şeması

2.2. Analiz Metotları

Çalışmada paketleme yapıldıktan sonra tüm örneklerde analizler, marinatin olduğu 0. günden itibaren 15. günde ve aylık periyotlarla devam edecek şekilde 7. aya kadar sürmüş ve bu aralıklarda biyokimyasal kompozisyon değişimleri izleme amacıyla, ham protein, ham yağ, ham kül, kuru madde analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik değişimleri belirlemek amacıyla toplam mezofilik aerobik ve psikofilik bakteri sayımı, koliform grubu bakteri sayımı, maya-küf sayımı, histamin üreten bakterilerin sayımı ve tür bazında teşhisi yapılmıştır. Kimyasal kalite değişimlerini izlemek amacıyla Tiyobarbitürik Asit (TBA), Toplam Uçucu Bazık-Azot (TVB-N), Trimetilamin-Azot (TMA-N), biyojenik aminler, pH, su aktivitesi (a_w), asitlik ve tuzluluk analizleri yapılmıştır. Duyusal analizler ise modifiye edilmiş değerlendirme formları hazırlanarak değişimleri izlenmiştir.

Analizler Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü ve K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Her analiz döneminde buzdolabında depolanan örneklerden üçer paket rastgele olarak alınıp, mikrobiyolojik analizler hariç, analizlerden önce filetoları süzdürülmesi sağlanıp homojenize edilmiş iki paralel olacak şekilde analizler yapılmıştır.

2.2.1. Biyokimyasal Analizleri

2.2.1.1. Ham Protein Tayini

Protein analizinde kullanılmak üzere homojenize edilmiş ve kurutulmuş balık örneğinden yaklaşık 0,5 g örnek hassas terazide tartılarak Kjeldahl tüplerine konulmuş, tüplerin içerisine 1 adet katalizör tablet ($K_2SO_4+Cu_2SO_4$) ve 25 ml derişik H_2SO_4 eklenerek, Kjeldahl yakma ünitesine yerleştirilmiştir. Tüpler $420^{\circ}C$ 'de 5-6 saat yakma işlemine yapılmıştır. Yakma işleminin ardından tüplere 50 ml saf su ilave edilerek 10 N NaOH ve saf su ile distilasyona tabi tutulmuştur. 50 ml % 4'lük borik asit içeren ve distilasyon ünitesinin çıkışına yerleştirilen dereceli bir erlen içinde destilat toplanmıştır. Erlen içerisindeki toplam hacim 150 ml oluncaya kadar distilasyon işlemine devam edilmiş, işlem tamamlandığında elde edilen destilata 10 damla belirteç çözeltisi (metil kırmızısı+bromokresol yeşili) damlatılarak destilat 0,1 N H_2SO_4 ile titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan H_2SO_4 miktarı aşağıdaki formülde yerine konularak, % ham protein miktarı hesaplanmıştır (Norwitz, 1970).

$$(\%) \text{Ham Protein} = \frac{((\text{Sarfiyat } 0,1 \text{ N H}_2\text{SO}_4 \text{ ml}) - (\text{Alınan } 10 \text{ N NaOH ml})) \times 0,14 \times 6,25}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (1)$$

2.2.1.2. Ham Yağ Tayini

Ham yağ analizlerinde etüvde kurutulan örneklerden 3'er gram alınarak ekstraksiyon kartuşlarına konulmuş, ekstraksiyon cihazına yerleştirilmeden önce cam balonlar hassas terazide tartılmıştır. Cihaza yerleştirilen örnekler petrol eteri ile 110 dakika yağ çözme işlemine tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda örnek içerisindeki cam balonlara toplanmış ve petrol eteri uçurmak için 30 dakika etüvde bekletilmiştir. Toplanan yağ cam balonlarla tartılmış, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Norwitz, 1970).

$$(\%) \text{Ham Yağ} = \frac{((\text{Son Tartım (g)} + \text{Lipit (g)}) - \text{İlk tartım (g)})}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.1.3. Kuru Madde Tayini

Kuru madde tayini Norwitz (1970)'e göre yapılmıştır. Krozelerin daraları alınarak içerisine $2 \pm 0,02$ gram örnek koyulmuş, 105°C 'de etüvde 12 saat sabit tartıma getirilmiş ve desikatöre alınarak oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuştur. Soğuduktan sonra krozeler tekrar tartılarak meydana gelen ağırlık farkından aşağıdaki formüle göre kuru madde miktarı belirlenmiştir.

$$(\%) \text{Kuru Madde} = \frac{\text{Yaş Örnek (g)} - \text{Kuru Örnek (g)}}{\text{Yaş Örnek (g)}} \times 100 \quad (3)$$

2.2.1.4. Kül Tayini

Örnek içerisindeki kül oranı, 550°C 'de 1 saat süre ile fırında yakılan porselen kroze, desikatörde soğutulduktan sonra darası alınmıştır. Balık eti 2 g tartılarak, kül fırınında 550°C 'de 12 saat yakıldıktan sonra desikatörde soğutulup tartımı yapılmış ve formülde yerine koyularak % kül miktarı olarak hesaplanmıştır (Norwitz, 1970).

$$(\%) \text{Ham Kül} = \frac{[\text{Dara (g)} + \text{Ham Kül (g)}] - \text{Dara (g)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100 \quad (4)$$

2.2.2. Kimyasal Analizler

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

Toplam uçucu bazik azot tayini (TVB-N) Lücke-Geidel metoduna göre yapılmıştır. Bir balonun içerisine $10 \pm 0,01$ g parçalanmış örnek konulmuştur. Üzerine 1 g magnezyum oksit (MgO) ve köpürmeyi önlemek için birkaç damla silikon yağı ve 100 ml saf su ilave edilmiştir. Titrasyon kabı olarak kullanılan 500 ml'lik erlenmayer içerisine %3'lük borik asitten (H_3BO_3) 10 ml, tashiro indikatör karışımından 8 damla ve soğutucunun çıkış borusuna daldırılacak kadar saf su ilave edilmiştir. İçerisinde örnek bulunan balon, geri soğutuculu destilasyon düzeneğine yerleştirildikten sonra 15–20 dakika destilasyona tabi tutulmuştur. Meydana gelen destilat, 0,1 N hidroklorik asitle (HCl) ile titre edilmiş ve aşağıdaki formüle göre TVB-N miktarı hesaplanmıştır (İnal, 1992; Varlık ve ark., 1993b).

$$\text{TVB - N mg/100g örnek} = \frac{\text{Harcanan HCl(ml)} * 140,08}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \quad (5)$$

2.2.2.2. Trimetilamin Tayini (TMA-N)

TMA-N değeri Dyer'in önerdiği yöntemle göre yapılmıştır (AOAC, 1990). TMA analizi için 100g örnek 200 ml %7,5'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan bu karışım ikili paraleller halinde santrifüj tüplerine konularak 3000 devirde 5 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra süzüntüden 4 ml boş olan tüplere alınmıştır. Standart çözeltiler için 4 adet kapaklı tüpe 0 (kör), 1, 2, 3 ml TMA çalışma çözeltisi (TMA stok çözeltisi için 0,682 g $(CH_3)_3.HCl$, 1 ml HCl(1+3) ile 100 ml saf suda çözülmüş, çalışma çözeltisi ise 1 ml stok çözeltisi 1 ml HCl (1+3) ile 100ml saf suda çözünerek hazırlanmıştır) konulup tüplerin her biri saf su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Bu işlemlerden sonra standartlar ve örneklere 1'er ml formaldehit (%20'lik formaldehit çözeltisi), 10'ar ml toluen, 3'er ml doymuş potasyum karbonat (K_2CO_3) çözeltisi katılmış ve tüplerin ağzı kapatılarak 30 sn vortekslenmiştir. Sıvı fazın ayrılması için 10 dakika beklendikten sonra kapaklı boş tüplere 0,1'er g sodyum sülfat (Na_2SO_4) konulmuş üzerine örnek ve standart çözeltilerden ayrı ayrı olmak üzere, üst fazdan 8 ml alınıp ve tüpler çalkalanmıştır. Boş kapaklı tüplere 5'er ml aktarılıp üzerine 5'er ml pikrik asit çalışma çözeltisi (Stok pikrik asit için 2 g kuru pikrik asit 100 ml susuz toluende çözülmüş, çalışma çözeltisi için ise 1ml stoktan alınarak 100 ml susuz toluende çözülerek hazırlanmıştır) ilave edilmiş, oluşan çözeltiler spektrofotometrede köre karşı 410

nm dalga boyunda okunmuştur. Okunan absorbans değerinden aşağıdaki formül kullanılarak TMA-N miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{TMA} - \text{N} \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \text{örnek} = \frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{standart}}} * \frac{\text{mgTMA-N}}{\text{ml Standart Çözelti}} \times \text{ml standart çözelti} \times 75 \quad (6)$$

$A_{\text{örnek}}$ = Örneğin absorbans değeri

A_{standart} = Örneğe en yakın standardın absorbans değeri

ml standart çözelti = Örneğe en yakın standardın ml 'si

2.2.2.3. Tiyobarbitürik Asit Tayini (TBA)

Tiyobarbitürik asit tayini Tarladgis (1960) yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde, örnek $10 \pm 0,1$ g tartılmış, 50 ml destile su ile homojenize edildikten sonra 47,5 ml saf su ilave edilerek Kjeldahal balonuna aktarılmış ve üzerine 2,5 ml 4 N HCl ilave edilmiştir. Bu işlemlerden sonra balon destilasyon ünitesine yerleştirilip ve soğutucu çıkış borusunun ucuna erlenmayer koyulmuştur. Erlenmayer içerisine 50 ml destilat toplayıncaya kadar, yaklaşık 10 dk işleme devam edilmiş, destilattan ağzı kapaklı tüplere 5 ml alınıp, üzerine %90'lık glasiyalasetik asitle hazırlanmış olan 0,02 M tiyobarbitürik asit ayırıcından 5 ml ilave edilerek, 35 dk. kaynar su banyosunda tutulmuştur. Tüpler soğutulularak, 538 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede okunmuştur (Smith ve ark., 1992; Varlık ve ark., 1993b).

$$\text{TBA mg malonaldehit/kg} = A_{538} * 7,8 \quad (7)$$

A_{538} = Örneğin absorbans değeri

2.2.2.4. Biyojenik Aminler

Analiz metodu Eorola ve ark., (1993) tarafından uygulanmış, Senöz ve ark., (2000) tarafından modifiye edilmiştir. Örnek ekstraksiyonu, türevlendirme ve HPLC' ye enjekte aşamalarından oluşmaktadır. Balığın kaslı bölümlerinin hepsi alınıp ve blendırda homojenize edilmiş, homojenize örnekten 5 g alınıp üzerine 10 ml perklorik asit solüsyonu (40 ml perklorik asit saf su 1000 ml ye tamamlanmış) eklenerek blendırda homojenize edildikten sonra örnek 10 dakika 3000 devirde santrifüj edilmiştir. Üst tabaka süzülerek

alınıp tekrar 10 ml perklorik asit solüsyonu ilave edilerek vortekste 1 dakika karıştırılıp ve son hacim perklorik asit solüsyonu ile 25'ye ml tamamlanmıştır.

Türevlendirmede aşamasında ekstrakte edilen örnekten 0,5 ml alınır üzerine 100 µl 2 M NaOH ve 150 µl doymuş NaHCO₃ (20 g NaHCO₃ ile 60 ml saf su çözüldü) eklenmiştir. Daha sonra bütün örnekler 1 ml dansyl klorid solüsyonu eklenip ve vortekste karıştırılmıştır. Karışım 45 dakika 40°C inkübe edilip ve 10 dakika oda sıcaklığında soğutulmuştur. Dansyl klorid kalıntılarını uzaklaştırmak için 50 µl %25 lik amonyak solüsyonu eklenip ve vortekste karıştırılmıştır. 30 dakika bekledikten sonra amonyum asetat asetronitril (0.1 M v/v 1:1) karışımı ile 5 ml ye tamamlanıp, vortekste karıştırılmıştır. Karışım 0,45 µm filitreden geçirilip ve enjekte edilmiştir. Kromotografik koşulları ise, enjeksiyon miktarı 20 µl, akış hızı 1,3 ml/dk, kolon tipi C 18, dedektör tipi DAD, sıcaklık, 40°C, taşıyıcı faz A amonyum asetat, taşıyıcı faz B, Asetonitril (%50-90 19 dakika), dalga boyu, 254 nm, süre, 30 dk olarak belirlenmiştir.

2.2.2.5. Su Aktivitesi

Su aktivitesi tayini Aqualab 3TE (0,100-1,000±0,003), USA marka cihaz ile ölçüldü. Ölçüm kaplarınıın yarısına kadar homojenize edilmiş balık eti koyuldu ve değer kaydedildi. Yağ içerisinde saklanan marinatlar ürün üzerindeki yağı süzdürülmüş, salamura ürünlerde ise salamuradan alınan ürünlerin üzerindeki salamura solüsyonu giderildikten sonra ölçüm yapılmıştır.

2.2.2.6. pH Ölçümü

pH değeri Curran ve ark., (1980)'e göre yapılmıştır. Ölçümler balık etinde 1:1 oranında saf su ile sulandırılarak yapılmıştır.

2.2.2.7. Salamurada Asitlik ve Tuz Tayini

Salamura suyunda asitlik ve tuzluluk aynı materyalde çalışılmıştır. 20 ml salamura suyu üzerine 100 ml kaynamış destile su ilave edilerek 5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra bu karışım 250 ml'lik balon jöjeye falten filtre kağıdından süzöldükten sonra 250 ml'ye destile su ile tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 20 ml alınarak, 3 damla % 1'lik fenolftalein ilave edildikten sonra 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir (Varlık ve ark., 1993b). Salamuranın asitlik derecesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$(\%) \text{Asitlik Miktarı} = 0,1 \text{ N NaOH Sarfiyatı (ml)} \times 0,375 \quad (9)$$

NaOH ile n t rleŐme sağlandıktan sonra aynı  zeltiye 2,5 ml % 10'luk K₂CrO₄ ilave edilip, kiremit kırmızısı renk oluŐana kadar 0,1 N'lik AgNO₃ ile titre edildi (Karl, 1994).

$$(\%) \text{NaCl} = \frac{0,1 \text{ N AgNO}_3 \text{ Sarfiyatı(ml)} \times 0,00585 \times 100 \times 500}{\text{Alınan  rnek (g)} \times 50} \quad (10)$$

2.2.2.8. Balık Etinde Asitlik Derecesi Analizi

Asitlik tayini için 20 g homojenize edilmiş balık eti 100 ml ısıtılmıŐ distile su ile 5 dakika karıştırıldıktan sonra ve distile su ile 250 ml'ye tamamlanıp, falten filtreden s z lmüŐt r. 20 ml süzüntüye 3 damla % 1'lik fenolftalein belirteci eklendikten sonra 0,1 N NaOH  zeltisi ile titre edilmiştir (Formül 9) (Varlık ve ark., 1993b).

2.2.2.9. Tuz Tayini

Tuz tayini için, asitlik yüzdesinin tayini için kullanılan aynı  zeltiye 2,5 ml % 10'luk K₂CrO₄ ilave edilip, kiremit kırmızısı renk oluŐana kadar 0,1 N'lik AgNO₃ ile titre edilmiştir harcanan AgNO₃  zeltisi hacmini kullanarak tuz miktarı (%) hesaplanmıştır (Formül 10) (Karl, 1994).

2.2.3. Mikrobiyolojik Analizler

Her paketleme yöntemi için aseptik koŐullarda alınan 25 g balık eti örneğine 225 ml dilüsyon sıvısı (dilüsyon sıvısı=8,5 g NaCl + 1 lt distile su) ilave edilerek 10⁻¹ dilüsyon oluŐturulmuŐ, steril stomacher poŐetine konularak homojen hale getirilmiştir. Elde edilen 10⁻¹'lik dilüsyondan diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmış, toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofilik bakteri, koliform grubu, maya-küf ve histamin oluşturan bakteri sayıları için kullanılmıştır.

2.2.3.1. Toplam Aerob Mezofilik ve Toplam Psikrofil Bakteri Sayımı

Toplam aerob mezofilik ve psikrofil bakterilerin sayımı için PCA (Plate Count Agar) besi yeri kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine uygun dilüsyonlarda 0,1 ml alınarak yayma yöntemiyle 2 paralel olacak Şekilde ekim yapılmıştır. Toplam aerob mezofilik bakteri sayımı için 37°C'de 48 saat, toplam psikrofil aerob bakteri sayımı için ise 8°C'de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler

sayılmıştır. Sonuçlar logaritmik değerlere çevrilmiş ve log kob (koloni oluşturan birim)/g ifade edilmiştir. (Harrigan, 1976).

2.2.3.2. Koliform Grubu Bakteri Sayımı

Koliform grubu bakteri sayımı için VRB (Violet Red Bile) besi yeri kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine uygun dilüsyonlarda 0,1 ml dökme yöntemiyle ekim yapılmış ve mezofilik koliform grubu bakteri sayımı için 37°C’de 24 saat ve psikrofilik koliform grubu bakteri sayımı için ise 8°C’de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılmış, sonuçlar logaritmik değerlere çevrilmiş ve log kob/g ifade edilmiştir (Halkman, 2005).

2.2.3.3. Maya Küf Sayımı

Maya ve küf için Potato Dextrose Agar besi yeri kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan besiyerlerine uygun seyreltmelerde 0,1 ml yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Mezofilik maya küf sayımı için 37°C’de 24 saat ve psikrofilik maya küf sayımı için ise 8°C’de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılmış, sonuçlar logaritmik değerlere çevrilmiş ve log kob/g ifade edilmiştir (Harrigan, 1976).

2.2.3.4. Histamin Üreten Bakterilerin Aranması

Histamin üreten bakterilerin izolasyonu için Niven’s besi yeri kullanılmış uygun dilüsyonlarda 0,1 ml yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Histamin üreten mezofilik bakterilerin sayımı için 37°C’de 24 saat, histamin üreten psikrofilik bakteri sayımı için ise 8°C’de 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılmış, sonuçlar logaritmik değerlere çevrilmiş ve log kob/g ifade edilmiştir (Niven ve ark., 1981).

2.2.4. Bakterilerin İdentifikasyonu

2.2.4.1. Biyokimyasal Testler

2.2.4.1.1. Hücre morfolojisi

Niven’s agarda üreyen tüm koloniler tek kolonilerden preparat hazırlanarak kristal violet ile basit boyama yapılmış. 1 dakika bekleme periyodundan sonra preparat yıkanarak

kurutulmuştur. Daha sonra mikroskopta immersiyon objektifi ile incelenerek morfolojik özellikleri ortyaya konulmuştur (Arda, 2000).

2.2.4.1.2. Gram reaksiyonu

Gram özelliğinin belirlenmesi amacıyla, izolatların 24 saatlik genç kültürlerinden Gram boyama yapılmıştır. Mor boyanan koloniler Gram (+) olarak, menekşe renkli boyanan koloniler ise Gram (-) olarak değerlendirilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.3. Oksidaz testi

İzole edilen bakterilerinin oksidaz enzimi açısından durumlarını ortaya koyma amacıyla genç kültürlerden tek bir koloni alınarak Bactident oksidaz test kâğıdına (Merck 113300, Darmstadt, Almanya) sürülmek suretiyle mavi renk oluşturanlar oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.4. Katalaz testi

İzole edilen bakterilerinin katalaz enzimi açısından durumlarını ortaya koyma amacıyla genç kültürlerden tek bir koloni alınarak %3'lük H₂O₂ (Merck, 1998) ile muamele edilmiş ve kabarcık oluşturanlar pozitif olarak kaydedilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.5. H₂S üretimi

Triple Sugar Iron (TSI) Agar (Oxoid CM 277, Cambridge, İngiltere) hazır besiyerinden 65 g alınarak 1 L distile su içerisinde çözündürülmüş ve pH değeri 7,4±0,2'ye ayarlanmıştır. Su banyosunda kaynatılarak eritilmiş ve sıvı halde iken tüplere 8 ml olacak şekilde dağıtılmış. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra yatık agar şeklinde hazırlanıp ve 4°C'de muhafaza edilmiştir. Genç kültürlerden alınan koloninin test tüpüne ekiminin ardından 24°C'de 2 günlük inkübasyona bırakılmış, inkübasyonun ardından tüpte siyah renk oluşumu H₂S pozitif olarak değerlendirilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.6. Sitrat testi

Simmons Citrate agar hazır besi yeri kullanılarak yatık şekilde hazırlanan tüplere test edilecek bakteriden bir öze dolusu alınarak ekim yapılmış ve 24°C'de 2 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından mavi pigmentasyon pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.7. İndol testi

SIM medium kullanılarak hazırlanan tüplere test edilecek bakteriden bir öze dolusu alınarak ekim yapılmış ve 24°C'de 2 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından tüplere birkaç damla indol ayıracı (15 ml İsoamylalkol, 1 g p-dimethylaminobenzaldehyt ve 5 ml derişik HCl (1 M)) ilave edilmiştir. Üst kısımda pembemsi pigmentasyon oluşturanlar pozitif olarak kaydedilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.8. Oksidasyon- fermentasyon besiyeri (O/F)

Öncelikle Hugh–Leifson besiyerinden 11 g tartılmış ve 1000 ml distile suya karıştırılarak, 45°C'deki su banyosuna bırakılmıştır. Daha sonra tüplere 4'er ml aktararak 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

Hazırlanan besiyerlerinden her bakteri için iki tüpe ekim yapılmıştır. Bakteri ekiminin hemen ardından tüplerden birisine mineral yağ damlatılarak anaerobik ortam sağlanmış. Testin sonucunda yeşil rengin sarıya dönmesi, yağ damlatılan tüpte olduğunda, fermentatif (F), diğerinde olduğunda, oksidatif (O) ve her ikisinde olduğunda ise hem oksidatif hem fermentatif (OF) olarak değerlendirilmiştir (Arda, 2000).

2.2.4.1.9. Jelatin hidrolizi

Jelatin broth besi yerine ekilen bakterilerin 48 saat 24°C'de inkübasyonunun ardından jelatinin hidrolize olup olmadığı test edilmiştir. Bu amaçla hazırlanan jelatin broth; 10 g sığır ekstraktı, 10 g pepton, 5 g NaCl 1000 ml distile su, % 10 oranında jelatin ilave ilave edilerek eriyene kadar su banyosunda bekletilmiştir. Kapaklı deney tüplerine 5 ml miktarında paylaştırıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. Genç kültürlerinden steril bir öze yardımıyla bol miktarda alınıp, % 4 jelatin içeren TYES besiyerine ekim yapılarak 15°C'de 5–7 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bu besiyerinde üreyen kolonilerin üzerine amonyum sülfat çözeltisi dökülmüş. Jelatini hidrolize eden kolonilerin etrafında açık-şeffaf bir zon oluşumu, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan 1995).

2.2.4.1.10. Metil kırmızısı - voges proskauer (MR-VP)

Metil Kırmızısı - Voges Proskauer (MR-VP) besi yerinden 17 g tartılarak 1000 ml distile su ilave edilerek eriyene kadar 45°C'ye ayarlı su banyosuna konulmuştur. Bu

karışımdan tüplere 4'er ml aktarıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir (Arda, 2000).

Test için bakteri kolonisinden alınarak iki adet içerisinde MR-VP besi yeri bulunan tüpe ekim yapılmıştır. 48 saat 24°C'de inkübasyonun ardından tüplerden birisine metil kırmızısı (MR) diğereine ise VP ayırıcı ilave edilmiştir. Beş dakika içerisinde oluşan kırmızımsı renk pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.2. Bakterilerin Moleküler İdentifikasyonu

2.2.4.2.1. DNA ekstraksiyonu

Nivens agarda üretilen ve saflaştırılan bakteri kolonileri öze yardımıyla doğrudan alınarak steril serum fizyolojik tuzlu su içeren 1,5 ml'lik ependorf tüplerine geçilmiş ve vorteks yardımıyla homojenizasyonun ardından 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant kısmı dökülerek bakteri peleti 180µl enzimatik lizis buffer içerisinde 37°C'de bir buçuk saat inkübe edilmiştir. Enzimatik lizis aşamasının ardından DNA ekstraksiyonu, Qiagene DNA easy Mini Kit kullanılarak ve üretici talimatları uyarınca gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Bakterilerden elde edilen DNA ekstraktları hem moleküler identifikasyon amacıyla 16S rDNA genine spesifik universal bakteriyel identifikasyon primerler kullanılarak, hemde histamin oluşturan bakterilerin tespiti için histidin dekarboksilaz geni spesifik primerler kullanılarak PZR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan primerler Tablo 1'de, reaksiyon bileşenleri ve ısı rejimleri ise Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 1. PZR amplifikasyonunda kullanılan primerler

Primer Adı	Primer Dizini (5'-3')	Hedef Gen	Ürün Büyüklüğü	Kaynak
27-F	5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'	16S rDNA	1465 bç.	James, 2010
1492-R	5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'			
Hdc-F	5'-TCHATYARYAACTGYGGTGACTGGRG-	Histidine Decarboxylase	709 bç.	Takahashi ve ark. 2003
Hdc-R	5'-CCCACAACATBARWGGDGTRTGRC-			
Hdc-1	5'-TTGACCGTATCTCAGTGAGTCCAT-3'	Histidine Decarboxylase	174 bç	Fernández ve ark. 2006
Hdc-2	5'-ACGGTCATACGAAACAATACCATC-3'			

Tablo 2. 16S rDNA genine spesifik universal bakteriyel belirleme primerleri kullanılarak çalışılan PZR reaksiyon bileşenleri ve ısı rejimi

Bileşen	Miktar	Kullanılan Program	
5xPCR Buffer	10 µl		
dNTP mix (10 mM)	1 µl	95°C'de 10 dk.	1 döngü
Taq DNA Polymeraz	0,25 µl		
MgCl ² (25 mM)	3 µl	95°C'de 45 sn.	} 35 döngü
İleri primer (20 pmol/µl)	1 µl	62°C'de 45 sn.	
Geri primer (20 pmol/µl)	1 µl	72°C'de 45 sn.	
DNA Template	2 µl		
Nuclease free water	31,75 µl	72°C'de 10 dk.	1 döngü
Toplam	50 µl		

Tablo 3. Histidin dekarboksilaz geni için spesifik primerler kullanılarak çalışılan PZR reaksiyon bileşenleri ve ısı rejimi

Bileşen	Miktar	Kullanılan Program	
5x PCR Buffer	10 µl		
dNTP mix (10 mM)	1 µl	95°C'de 5 dk.	1 döngü
Taq DNA Polymerase	0,25 µl		
MgCl ² (25 mM)	4 µl	95°C'de 45 sn.	} 35 döngü
İleri primer (20 pmol/µl)	1 µl	60°C'de 60 sn.	
Geri primer (20 pmol/µl)	1 µl	72°C'de 90 sn.	
DNA Template	2 µl		
Nuclease free water	30,75 µl	72°C'de 10 dk.	1 döngü
Toplam	50 µl		

Uygulanan PZR çalışmalarında *Taq* DNA polimeraz (Promega M3005, Madison, ABD) 500 U (5 U/µl), PZR Buffer (Promega M8901) 10X, MgCl₂ (Promega A3511) 25 mM ve dNTP's (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Promega U1515) 10 mM kullanılmıştır.

Elektroforez için TAE buffer [40 mM Tris-acetate (pH 8,0) 1 mM EDTA] kullanılmıştır. Aynı buffer içerisinde %2'lik olarak agaroz jel (Sigma, Steinheim, Almanya) hazırlanmıştır. Elde edilen PZR ürünlerinden 9 µl alınıp 1,5 µl 6X Loading Dye (Promega, Madison, Wisconsin, ABD) ile karıştırıldıktan sonra kuyucuklara yüklenip elektroforez cihazında (Mupid2Plus, Takara Mirus Bio, Madison, Wisconsin, ABD) 50 volt elektrik akımına maruz bırakılmıştır. Ürünün 25-35 dk. jel boyunca ilerlemesinin

ardından etidyum bromür (Sigma, Steinheim, Almanya) banyosunda 15-20 dk. bekletilmiştir. Ardından jel görüntüleme sisteminde (DH-30/32, BMG Labtech GmbH, Offenburg, Almanya) UV ışığı altında görüntülenmiştir.

2.2.4.2.3. DNA dizi analizi

PZR ürünleri herhangi bir klonlama yapılmadan doğrudan dizi analizi için Macrogen laboratuvarına gönderilmiştir. Bakteri izolatlarına ait 16S rDNA geninin 1465 bazlık korunmuş bir bölgesini hedef alan 27-F ve 1492-R primerleri ve gram negatif bakteriler için histidin dekarboksilaz geninin 709 bazlık korunmuş bir bölgesini hedef alan Hdc-F ve Hdc-R ve gram pozitif bakterilerin histidin dekarboksilaz geninin 174 bazlık bir bölgesini hedef alan Hdc-1 ve Hdc-2 primerleri kullanılarak Makrogen Inc. laboratuvarlarında (World Meridian Venture Center 10F, 60-24, Gasan-dong, Geumcheon-gu, Seoul, Korea) çift yönlü olarak diziletildi. Elde edilen DNA dizileri GenBank, NCBI (National Center for Biotechnology Information) üzerinden BLAST programı kullanılarak analiz edilmiştir.

2.3. Duyusal Analizler

Varlık ve ark. (1993b) tarafından modifiye edilmiş olan Shormüller (1968) tarafından kullanılan şemanın farklı paketlenme yapılan marine edilmiş tirsie göre modifiye edilip oluşturulmasıyla yapılmıştır. Marine edilmiş örnekler 5 deneyimli panelist görünüş, koku, lezzet, tekstür gibi duyusal kriterler dikkat alınarak 1-9'a kadar puan üzerinden yapılmıştır. Puanlama sisteminde 9-7 arası "çok iyi", 6,9-4,1 arası "iyi", 4 "tüketilebilirliği", 3,9-1 arası ise kabul edilemezliği göstermektedir. Duyusal analizler için panelistlere sunulan örnekler Tablo 4'de gösterilen modifiye edilmiş form şeklinde hazırlanmıştır.

2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmada elde edilen veriler, sonuçların paralellerinin (n:2-3) ortalaması \pm standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen verilere göre depolama süresinin artışına bağlı ve gruplar arası farkı saptamak amacı ile varyansları homojen bulunan grupların önemlilik testi One Way Anova ve Tukey testi uygulanmış, önem derecesi $p < 0,05$ olarak kullanılmıştır. İstatistikî analizde JMP 5.0.1. SAS (SAS Institute Inc, NC, ABD) paket programı kullanılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu 2000).

Tablo 4. Shormüller (1968)'in farklı paketlenen marine tirskiye göre modifiye edilmiş duyuşal değerlendirme Şeması (Varlık ve ark, 1993)

GÖRÜNÜŞ		VERİLEN PUAN								
		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kutu içerisinde balık veya etinin uygun renkte oluŐu	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
Kutu içerisindeki balığın yerleŐme durumu, parça ve tane büyüklüğünün uygunluğu	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
Kutu içerisindeki yağ veya sosun kıvam ve berraklığı	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
KOKU		VERİLEN PUAN								
		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Balık eti kendine özgü hoŐa giden kokuda	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
Balık eti kendine özgü, çeŐnili, hoŐa giden kokuda	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
LEZZET		VERİLEN PUAN								
		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Dolgu sıvısı kendine özgü hoŐa giden lezzette	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									
TEKSTÜR		VERİLEN PUAN								
		9	8	7	6	5	4	3	2	1
Balık etinin Sertliği	Kendi Salamurası									
	Yağda									
	Vakum Paket									

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Değişimler

3.1.1. Ham Protein

Çalışmada, marine edilerek farklı yöntemlerle paketlenen tirsi filetoalarının yüzde ham protein oranları Tablo 5’te verilmiştir. Ham materyaldeki %17,41±0,51 belirlenirken marinasyon tamamlandığında 0. günde paketlenen gruplarda 18,65±0,74 olarak ölçülmüş grup içi farklılık istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Marinasyon sonrası 0. gündeki ham protein oranı balık etinindeki su çıkışı sebebiyle artış göstermiş, depolama boyunca ise belirgin bir fark gözlenmemiştir. Depolama sonunda ise salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla %18,83±0,28, %18,06±0,33 ve %18,16±0,15 olarak ölçülmüştür.

Farklı paketlenen gruplar arasında depolama süresine bağlı olarak karşılaştırıldığında 4. ayda istatistiksel olarak anlamlı olarak gözlenirken ($p<0,05$) diğer dönemler arasındaki istatistiksel farkın önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir.

Tablo 5. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham protein (%) değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	17,41±0,51 ^a	17,41±0,51 ^a	17,41±0,51 ^a
0.gün	18,65±0,74 ^{b_A}	18,65±0,74 ^{b_A}	18,60±0,74 ^{b_A}
15.gün	18,05±0,91 ^{b_A}	18,61±0,41 ^{b_A}	18,84±0,08 ^{b_A}
1.ay	18,58±0,28 ^{b_A}	18,77±1,63 ^{b_A}	18,45±0,32 ^{b_A}
2.ay	18,17±0,18 ^{b_A}	18,17±0,18 ^{b_A}	18,12±0,18 ^{b_A}
3.ay	18,84±0,22 ^{b_A}	18,83±0,04 ^{b_A}	18,72±0,35 ^{b_A}
4.ay	18,05±0,35 ^{b_B}	17,59±0,45 ^{b_A}	18,26±0,46 ^{b_B}
5.ay	18,26±0,46 ^{b_A}	18,84±0,22 ^{b_A}	18,45±0,40 ^{b_A}
6.ay	18,50±0,29 ^{b_A}	18,75±0,11 ^{b_A}	18,87±0,05 ^{b_A}
7.ay	18,83±0,28 ^{b_A}	18,06±0,33 ^{b_A}	18,16±0,15 ^{b_A}

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

3.1.2. Ham Yağ

Çalışma süresince ham yağ oranları Tablo 6’da verilmiştir. Tablo incelendiği zaman ham materyaldeki yağ oranı $18,98\pm 0,66$ olarak verilirken, 0. günde artış olduğu 2. aydan 7. aya kadar ise bu artışın sabit şekilde devam ettiği görülmektedir. Grup içi depolama periyodu boyunca karşılaştırıldığında ham materyalde, 0. günde 15. günde ve 1. ayda paketleme şekline bakılmaksızın istatistiksel farkın önemli ($p<0,05$) olduğu görülürken, diğer aylarda ise istatistiksel fark önemsiz ($p>0,05$) olduğu saptanmıştır.

Araştırmada depolama boyunca paketleme şekillerine göre birbirleriyle yapılan karşılaştırmada istatistiksel farkın önemsiz ($p> 0,05$) olduğu kaydedilmiştir.

Tablo 6. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham yağ (%) değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	$18,98\pm 0,66^a$	$18,98\pm 0,66^a$	$18,98\pm 0,66^a$
0.Gün	$19,34\pm 0,84^{b_A}$	$19,44\pm 0,48^{b_A}$	$19,56\pm 0,76^{b_A}$
15.gün	$19,38\pm 0,49^{b_A}$	$19,77\pm 0,24^{b_A}$	$19,79\pm 0,26^{b_A}$
1.ay	$20,63\pm 0,11^{c_A}$	$20,11\pm 1,79^{c_A}$	$20,89\pm 0,14^{c_A}$
2.ay	$20,25\pm 0,02^{c_A}$	$20,19\pm 0,00^{c_A}$	$20,19\pm 0,36^{c_A}$
3.ay	$20,58\pm 0,33^{c_A}$	$20,48\pm 0,22^{c_A}$	$20,64\pm 0,54^{c_A}$
4.ay	$20,32\pm 0,17^{c_A}$	$20,74\pm 0,62^{c_A}$	$20,04\pm 0,28^{c_A}$
5.ay	$20,10\pm 0,35^{c_A}$	$20,45\pm 0,34^{c_A}$	$20,91\pm 0,57^{c_A}$
6.ay	$20,92\pm 0,13^{c_A}$	$20,62\pm 0,07^{c_A}$	$20,50\pm 0,21^{c_A}$
7.ay	$20,14\pm 0,11^{c_A}$	$20,30\pm 0,19^{c_A}$	$20,21\pm 0,33^{c_A}$

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

3.1.3. Kuru Madde

Tirsi filetolarının marinasyon öncesi ve depolama boyunca yüzde kuru madde değerleri Tablo 7’de verilmiştir. Ham materyaldeki % kuru madde $39,15\pm 0,15$ olarak hesaplanırken bu değer olgunlaştırmanın hemen ardından su çıkışına bağlı olarak 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette $47,13\pm 0,16$ olarak bulundu. Depolama periyodu boyunca salamura, yağ ve vakum pakette yüzde kuru madde değeri sabit şekilde kalırken depolama sonunda sırasıyla $47,11\pm 0,16$, $47,05\pm 0,70$ ve $47,05\pm 0,02$ olarak ölçülmüştür. Çalışmada salamura yağ ve vakum pakette grup içi kuru madde değerlerine bakıldığında ham materyal değeri ile 0. gün arasında fark önemli ($p<0,05$) bulunurken,

depolama sonuna kadar istatistiksel anlamda bir farkın olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Bununla birlikte paketleme şekline göre gruplar arası istatistiksel farkın anlamlı ($p>0,05$) olmadığı saptanmıştır.

Tablo 7. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca kuru madde miktarında (%) değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	39,15±0,15 ^a	39,15±0,15 ^a	39,15±0,15 ^a
0.Gün	47,13±0,16 ^{b_A}	47,13±0,16 ^{b_A}	47,13±0,16 ^{b_A}
15.gün	47,12±0,19 ^{b_A}	47,11±0,17 ^{b_A}	47,27±0,97 ^{b_A}
1.ay	47,55±0,15 ^{b_A}	47,08±0,70 ^{b_A}	47,45±0,97 ^{b_A}
2.ay	47,25±0,13 ^{b_A}	47,67±0,17 ^{b_A}	47,17±0,63 ^{b_A}
3.ay	47,13±0,13 ^{b_A}	47,55±0,97 ^{b_A}	47,45±0,17 ^{b_A}
4.ay	47,07±0,17 ^{b_A}	47,23±0,06 ^{b_A}	47,63±0,75 ^{b_A}
5.ay	47,85±0,11 ^{b_A}	47,15±0,31 ^{b_A}	47,17±0,35 ^{b_A}
6.ay	47,25±0,16 ^{b_A}	47,17±0,17 ^{b_A}	47,15±0,66 ^{b_A}
7.ay	47,11±0,16 ^{b_A}	47,05±0,70 ^{b_A}	47,05±0,02 ^{b_A}

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

3.1.4. Ham Kül

Marine edilerek farklı paketlenen tirsilerde filetoalarının ham külden meydana gelen değişimleri Tablo 8’de verilmiştir. Çalışmanın başlangıcında ham materyaldeki ham kül %2,17±0,16 olarak hesaplanırken bu değer olgunlaştırmayı takiben 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla %8,43±0,24, %8,11±0,18 ve %8,26±0,01 olarak ölçülmüştür. Salamurada ham materyalde, 0. günde ve 15. günde istatistiksel fark önemli ($p<0,05$) bulunurken diğer aylarda ise istatistiksel fark önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. Yağ ve vakum pakette ise ham materyalde ve 0. günde istatistiksel değerlendirmeye göre grup içi farkın önemli olduğu bulunmuş ($p<0,05$), depolama sonuna gelindiğinde ise bu değerler sırasıyla % 8,68±0,11 ve % 8,12±0,07 saptanmış olup, yağda ve vakum pakette grup içi istatistiksel değerlendirmeye göre 15. günden depolama sonuna kadar farkın önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir. Gruplar arası istatistiksel değerlendirmeye göre 0. günde farkın önemsiz olduğu ($p>0,05$), diğer aylarda ise farkın önemli ($p<0,05$) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 8. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca ham kül (%) değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	2,17±0,16 ^a	2,17±0,16 ^a	2,17±0,16 ^a
0.Gün	8,43±0,24 ^b _A	8,11±0,18 ^b _A	8,26±0,01 ^b _A
15.gün	10,16±0,04 ^c _A	8,52±0,00 ^b _B	8,78±0,01 ^b _B
1.ay	10,22±0,00 ^c _A	8,94±1,15 ^b _B	8,68±0,53 ^b _B
2.ay	10,67±0,56 ^c _A	8,49±0,44 ^b _B	8,81±0,08 ^b _B
3.ay	10,05±0,08 ^c _A	8,88±0,19 ^b _B	8,84±0,01 ^b _B
4.ay	10,15±0,01 ^c _A	8,71±0,01 ^b _B	8,81±0,09 ^b _B
5.ay	10,55±0,61 ^c _A	8,10±0,04 ^b _B	8,30±1,12 ^b _B
6.ay	10,16±0,17 ^c _A	8,24±0,71 ^b _B	8,07±0,05 ^b _B
7.ay	10,28±0,04 ^c _A	8,68±0,11 ^b _B	8,12±0,07 ^b _B

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

3.1.5. Randıman

Araştırmada kullanılmak üzere toplam 36,5 kg (186 adet) tirsi balığı kullanılmıştır. İç organları temizlendikten sonra 25 kg buna göre iç organları temizlenmiş tirs balığının randımanı %68,50 olarak hesaplanmıştır. Ardından filetoları çıkartıldıktan sonra 19,075 kg tartılmıştır, fileto randımanı ise %52,26 hesaplanmıştır. Marinasyon işlemi sonrası 18,6 kg (372 adet fileto) olarak tartıldı. Marinasyondaki toplam kayıp miktarı %49,04 olarak bulunmuştur. Böylece ağırlık üzerinden marinasyon randımanı %50,96 olarak hesaplanmıştır.

3.2. Kimyasal Kalite Değişimleri

3.2.1. Toplam Uçucu Bazik Azot(TVB-N)

Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) değerlerinde meydana gelen değişimler mg/100g cinsinden Tablo 9’da ve Şekil 7’de verilmiştir. Ham materyalde TVB-N değeri 14,01±0,00 olarak ölçülürken bu değer salamurada olgunlaştırma sonrası 0. günde 8,40±0,23 15. günde 5,60±0,00 depolama sonunda ise artış göstererek 8,05±0,49 değerine ulaşırken tüm paketleme şekillerinde grup içi istatistiksel fark depolama boyunca önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. Yağda paketlemede 2. aydan sonra artış gözlemlendiği depolama sonunda ise TVB-N değeri 16,81±0,00 olarak kaydedilmiştir. Farklı paketlenen marine tirs filetolarının gruplar arasında depolama süresine bağlı olarak karşılaştırıldığında 0. günde

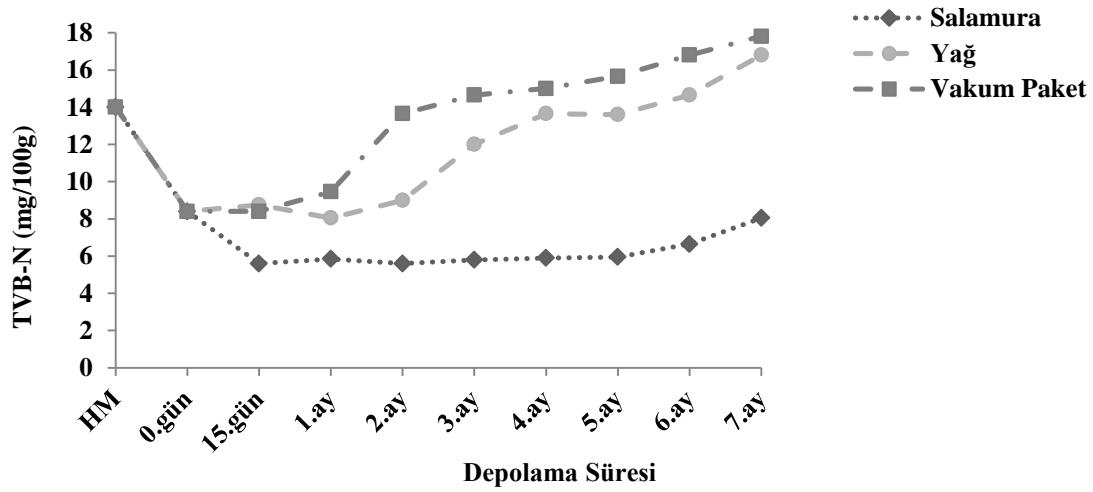
istatistiksel farkın önemsiz ($p>0,05$) olduğu diğer dönemler arasında ise istatistiksel farkın önemli ($p<0,05$) olduğu saptanmıştır.

Tablo 9. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TVB-N (mg/100g) değişimleri.

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	14,01±0,00 ^a	14,01±0,00 ^{bc}	14,01±0,00 ^b
0.Gün	8,40±0,23 ^b _A	8,55±0,89 ^d _A	8,56±0,50 ^a _A
15.gün	5,60±0,00 ^{de} _B	8,76±0,50 ^d _A	8,40±0,00 ^a _A
1.ay	5,85±0,49 ^{cd} _C	8,05±0,49 ^d _B	9,46±0,49 ^a _A
2.ay	5,60±0,00 ^{de} _C	9,00±0,00 ^c _B	13,66±0,49 ^b _A
3.ay	5,80±0,00 ^e _C	12,01±0,00 ^b _B	14,16±0,49 ^{bc} _A
4.ay	5,90±0,00 ^{de} _C	13,66±0,49 ^{bc} _B	15,01±0,00 ^{bc} _A
5.ay	5,95±0,49 ^{cd} _C	13,61±0,00 ^c _B	15,66±0,49 ^{cd} _A
6.ay	6,65±0,49 ^c _C	14,66±0,49 ^a _B	16,81±0,00 ^{de} _A
7.ay	8,05±0,49 ^b _C	16,81±0,00 ^a _B	17,56±0,00 ^e _A

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).



Şekil 7. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TVB-N değerinin zamana bağlı değişimi.

3.2.2. Trimetilamin Azot (TMA-N)

Depolama boyunca trimetilamin azot (TMA-N) değerlerindeki değişimler mg/100g cinsinden Tablo 10'da ve Şekil 8'de verilmiştir. Ham materyaldeki TMA-N miktarı $0,63\pm 0,01$ mg/100g olarak hesaplanırken bu değer 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $0,58\pm 0,02$, $0,60\pm 0,02$ ve $0,61\pm 0,02$ mg/100g olarak ölçülmüştür.

Salamurada depolama süresi boyunca Tablo'da görüldüğü gibi 1. aya kadar fazla değişim göstermemiş 5. ayda sonra artış göstererek depolama sonunda $2,28\pm 0,04$ mg/100g değerine ulaşmıştır. Elde edilen verilerin yapılan istatistiksel değerlendirilmesinde aylar arasındaki fark önemli ($p<0,05$) olduğu bulunmuştur.

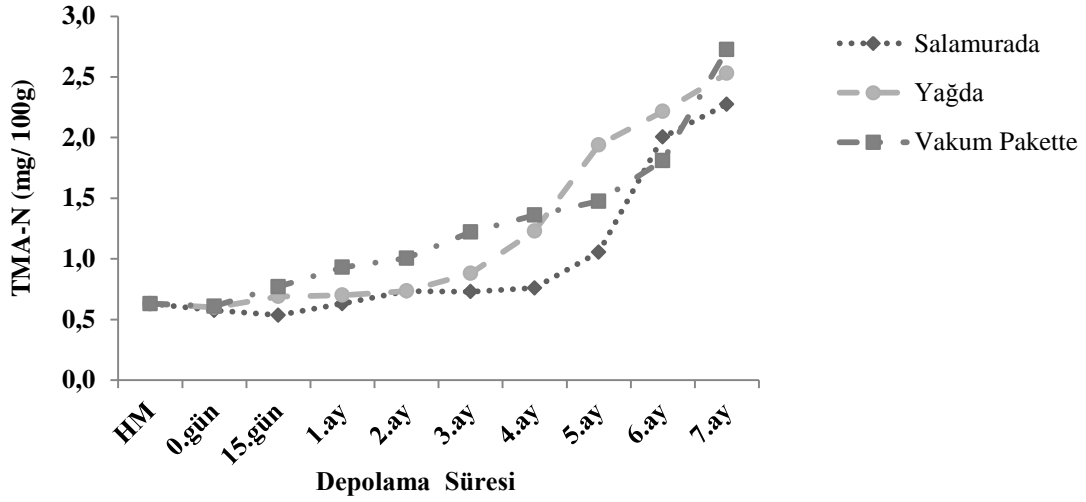
Yağda paketlenen marine tirsiler, 2. aya kadar sabit değerde, istatistiksel fark ise önemsiz ($p>0,05$) olarak bulunurken 3. aydan depolama sonuna kadar yükseliş göstererek $2,53\pm 0,03$ değerine ulaşmıştır. Yağda ve vakum pakette depolama süresine bağlı olarak grup içi, istatistiksel fark aylar arasındaki önemli ($p<0,05$) olduğu bulunmuştur

Tablo 10 Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TMA-N (mg/100g) değişimleri.

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	$0,63\pm 0,01^a$	$0,63\pm 0,01^a$	$0,63\pm 0,01^a$
0.Gün	$0,58\pm 0,02^a_A$	$0,60\pm 0,02^a_A$	$0,61\pm 0,02^a_A$
15.gün	$0,54\pm 0,02^a_C$	$0,69\pm 0,01^a_B$	$0,77\pm 0,03^b_A$
1.ay	$0,63\pm 0,03^a_C$	$0,70\pm 0,01^a_B$	$0,93\pm 0,03^c_A$
2.ay	$0,74\pm 0,01^b_B$	$0,74\pm 0,02^a_B$	$1,01\pm 0,04^c_A$
3.ay	$0,73\pm 0,01^b_C$	$0,88\pm 0,01^{ab}_B$	$1,22\pm 0,03^d_A$
4.ay	$0,76\pm 0,01^b_B$	$1,23\pm 0,01^b_A$	$1,36\pm 0,04^{cd}_A$
5.ay	$1,06\pm 0,04^c_C$	$1,94\pm 0,04^c_A$	$1,48\pm 0,02^e_B$
6.ay	$2,01\pm 0,04^d_B$	$2,23\pm 0,05^{cd}_B$	$1,81\pm 0,01^f_A$
7.ay	$2,28\pm 0,04^e_A$	$2,53\pm 0,03^d_A$	$2,73\pm 0,04^e_A$

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p<0,05$).



Şekil 8. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balıĝında depolama boyunca TMA-N değerinin zamana bağlı değişimi.

3.2.3. Tiyoarbitürîk Asit Sayısı (TBA)

Tirsî filetolarının tiyoarbitürîk asit (TBA) değerlerinde meydana gelen değişimler depolama süresince ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar mg malonaldehit/kg cinsinden Tablo 11’de ve Şekil 9’da verilmiştir.

Ham materyaldeki TBA miktarı $0,99\pm 0,01$ mg malonaldehit/kg olarak hesaplanırken bu değer 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $1,03\pm 0,02$, $1,18\pm 0,09$ ve $1,10\pm 0,03$ mg malonaldehit/kg olarak ölçülmüştür. Depolamanın sonunda ise giderek artan TBA değeri salamura, yağda sırasıyla, $7,08\pm 0,06$ ve $7,13\pm 0,06$ mg malonaldehit/kg olarak ölçülmüştür. Vakum pakette ise 1. aya kadar artış gözlenmediği fakat depolama sonuna kadar artış gözlendiği bu artışın en belirgin 7. ayda olduğu belirlenmiştir.

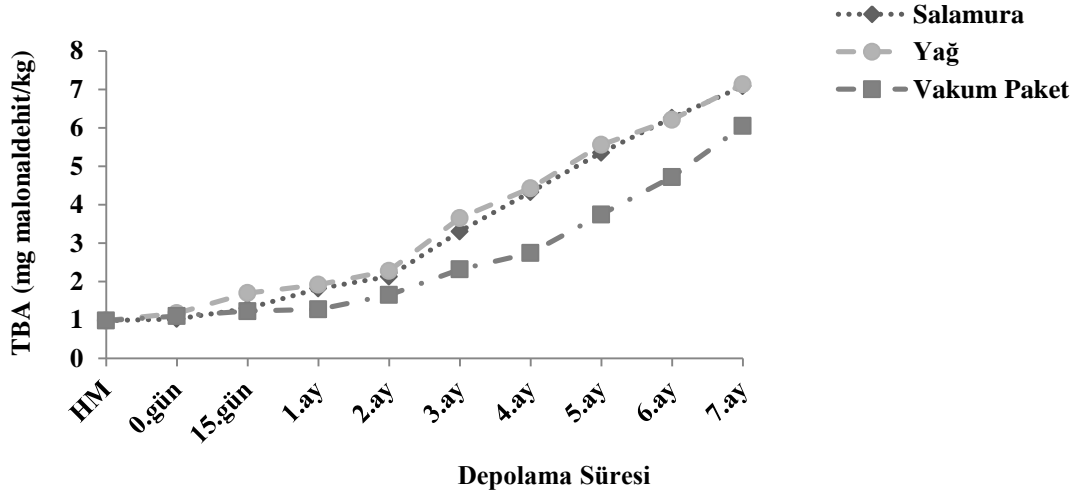
Çalışmada elde edilen verilerin yapılan istatistiksel değerlendirilmesinde, depolama boyunca grup içi istatistiksel fark önemli ($p < 0,05$) olarak bulunmuştur. Salamura, yağ ve vakum pakette paketlenen tirsî marinatları 0. günde ve 1. ayda farkın önemsiz ($p > 0,05$) olduğu, diğer aylarda ise gruplar arasındaki istatistiksel fark önemli ($p > 0,05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 11. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TBA (mg malonaldehit/kg) değerindeki değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	0,99±0,01 ^a	0,99±0,01 ^a	0,99±0,01 ^a
0.Gün	1,03±0,02 ^a _A	1,18±0,09 ^a _A	1,10±0,03 ^a _A
15.gün	1,30±0,07 ^b _B	1,70±0,07 ^b _A	1,23±0,01 ^a _B
1.ay	1,82±0,06 ^{bc} _A	1,92±0,06 ^{bc} _A	1,28±0,04 ^a _A
2.ay	2,13±0,11 ^c _A	2,28±0,10 ^c _A	1,65±0,21 ^{ab} _B
3.ay	3,31±0,36 ^d _A	3,66±0,15 ^d _A	2,32±0,12 ^{cb} _B
4.ay	4,33±0,47 ^e _A	4,43±0,18 ^e _A	2,74±0,20 ^c _B
5.ay	5,36±0,18 ^f _A	5,56±0,18 ^f _A	3,75±0,21 ^d _B
6.ay	6,26±0,07 ^g _A	6,21±0,14 ^g _A	4,72±0,24 ^e _B
7.ay	7,08±0,06 ^h _A	7,13±0,06 ^h _A	6,05±0,35 ^f _B

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).



Şekil 9. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca TBA değerinin zamana bağlı değişimi

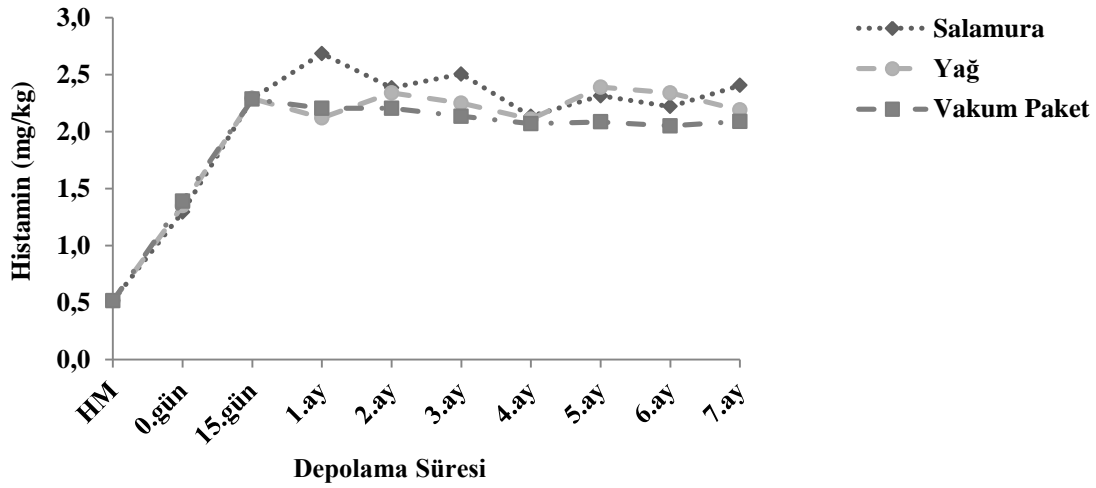
3.2.4. Biyojenik Aminlerdeki Değişimler

Marine edilerek salamura, yağ ve vakum pakette paketlenen tirsi filetoalarının biyojenik amin değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 12’de verilmiştir. Ayrıca depolama süresince histamin miktarında görülen değişiklikler de Şekil 10’te gösterilmiştir.

Tablo 1. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca biyojenik amin değişimleri

Depolama Süresi		Triptamin	Feniletilamin	Putresin	Kadeverin	Histamin	Tiramin	Spermidin	Spermin
HM		6,35±0,22	24,46±0,29	0,85±0,00	1,95±0,06	0,52±0,02	23,51±0,24	17,26±0,13	4,37±0,17
Dond.		5,65±0,07	20,82±0,25	0,42±0,04	1,90±0,01	1,24±0,04	24,77±0,33	16,98±0,03	2,64±0,16
0.Gün		7,90±0,12	11,40±0,24	0,42±0,04	1,54±0,05	1,30±0,08	9,60±0,28	6,40±0,21	1,42±0,04
15.Gün	S	7,07±0,08 ^c _B	5,20±0,11 ^{ab} _C	0,37±0,03 ^e _C	0,92±0,04 ^{ab} _B	2,29±0,01 ^{cd} _A	7,61±0,22 ^f _C	3,02±0,01 ^{cd} _C	0,93±0,02 ^e _B
	Y	7,24±0,03 ^e _{AB}	14,86±0,07 ^a _A	1,76±0,01 ^{cd} _B	0,83±0,02 ^d _B	2,29±0,00 ^a _A	16,19±0,14 ^f _B	8,38±0,14 ^b _B	2,72±0,05 ^d _A
	VP [†]	7,55±0,14 ^h _A	13,54±0,20 ^a _B	2,06±0,06 ^{bc} _A	1,42±0,05 ^c _A	2,29±0,11 ^a _A	18,17±0,11 ^e _A	10,95±0,08 ^a _A	2,56±0,06 ^c _A
1. Ay	S	5,77±0,14 ^d _A	5,75±0,14 ^a _C	0,50±0,04 ^e _C	0,96±0,01 ^a _B	2,69±0,05 ^a _A	8,59±0,19 ^e _C	3,09±0,08 ^{bcd} _C	1,14±0,04 ^d _C
	Y	6,28±0,10 ^f _B	12,50±0,09 ^b _A	2,09±0,07 ^b _B	1,78±0,09 ^{bc} _A	2,12±0,14 ^a _A	17,59±0,14 ^e _A	9,35±0,07 ^a _A	3,13±0,10 ^{cd} _A
	VP [†]	9,67±0,08 ^g _C	10,99±0,11 ^b _B	2,80±0,19 ^a _A	1,57±0,10 ^c _A	2,21±0,13 ^a _A	13,26±0,29 ^f _B	8,44±0,18 ^b _B	2,74±0,14 ^b _B
2. Ay	S	6,11±0,14 ^d _A	5,27±0,37 ^{ab} _C	0,68±0,04 ^d _B	0,94±0,01 ^c _B	2,39±0,02 ^{bc} _A	9,77±0,15 ^d _C	3,13±0,02 ^{bcd} _C	1,24±0,04 ^c _B
	Y	9,22±0,16 ^d _B	12,84±0,08 ^b _A	2,65±0,12 ^a _A	1,95±0,07 ^{dc} _A	2,34±0,07 ^a _A	19,32±0,14 ^d _B	8,33±0,07 ^b _A	3,49±0,11 ^{ab} _A
	VP [†]	11,42±0,21 ^f _C	7,72±0,09 ^c _B	2,70±0,07 ^a _A	2,16±0,09 ^a _A	2,21±0,11 ^a _A	21,48±0,32 ^{ab} _A	7,44±0,14 ^c _B	3,64±0,00 ^a _A
3. Ay	S	11,43±0,11 ^b _A	5,16±0,08 ^{ab} _B	0,93±0,04 ^c _C	0,74±0,05 ^c _C	2,51±0,06 ^{ab} _A	10,92±0,08 ^c _C	2,98±0,03 ^{cd} _C	1,31±0,04 ^{bc} _B
	Y	13,73±0,23 ^c _B	8,55±0,12 ^c _A	2,48±0,10 ^a _B	1,87±0,08 ^{bc} _B	2,25±0,14 ^a _A	21,91±0,11 ^b _A	7,41±0,14 ^c _A	3,44±0,14 ^{ab} _A
	VP [†]	16,48±0,13 ^d _C	7,32±0,13 ^d _C	2,83±0,04 ^{ab} _A	2,62±0,08 ^a _A	2,14±0,06 ^a _A	19,75±0,11 ^d _B	5,45±0,09 ^e _B	3,32±0,21 ^{ab} _A
4. Ay	S	12,32±0,15 ^a _A	5,03±0,04 ^b _C	0,90±0,01 ^c _B	0,95±0,05 ^a _C	2,14±0,06 ^d _A	11,43±0,17 ^c _C	2,77±0,14 ^d _C	1,34±0,01 ^{bc} _B
	Y	16,22±0,13 ^b _C	7,95±0,08 ^d _A	2,10±0,12 ^b _A	1,68±0,04 ^c _B	2,11±0,07 ^a _A	18,07±0,07 ^e _B	5,18±0,07 ^f _A	3,17±0,07 ^{bc} _A
	VP [†]	14,79±0,16 ^e _B	7,00±0,08 ^d _B	2,36±0,01 ^{abc} _A	2,73±0,08 ^a _A	2,07±0,08 ^a _A	20,90±0,13 ^{bc} _A	6,18±0,14 ^d _B	3,45±0,14 ^{ab} _A
5. Ay	S	12,60±0,10 ^a _A	5,39±0,04 ^{ab} _B	1,13±0,04 ^b _B	0,84±0,06 ^{abc} _C	2,32±0,05 ^{bcd} _A	13,79±0,15 ^b _C	3,47±0,12 ^{bc} _C	1,36±0,01 ^{ab} _B
	Y	14,31±0,43 ^c _B	7,78±0,14 ^{de} _A	1,88±0,08 ^{bc} _A	2,36±0,08 ^a _A	2,39±0,07 ^a _A	21,20±0,21 ^c _B	6,01±0,11 ^e _A	3,74±0,14 ^a _A
	VP [†]	19,69±0,09 ^c _C	5,67±0,08 ^e _B	1,90±0,11 ^{cd} _A	2,06±0,07 ^b _B	2,09±0,08 ^a _A	20,70±0,13 ^c _A	5,30±0,14 ^e _B	3,56±0,08 ^{ab} _A
6. Ay	S	12,12±0,19 ^a _A	5,42±0,03 ^{ab} _B	1,19±0,06 ^b _B	0,79±0,04 ^{bc} _C	2,22±0,06 ^{cd} _A	14,21±0,08 ^b _C	3,62±0,11 ^b _C	1,40±0,01 ^{ab} _B
	Y	16,40±0,23 ^b _B	7,32±0,16 ^e _A	1,71±0,08 ^{cd} _A	2,46±0,06 ^a _A	2,34±0,14 ^a _A	22,00±0,07 ^b _A	6,68±0,14 ^d _A	3,34±0,14 ^{ab} _A
	VP [†]	21,39±0,13 ^b _C	4,07±0,07 ^f _C	1,49±0,05 ^d _A	1,94±0,01 ^b _B	2,05±0,06 ^a _A	21,15±0,08 ^{bc} _B	5,50±0,14 ^e _B	3,34±0,18 ^{ab} _A
7. Ay	S	12,65±0,28 ^a _A	5,74±0,09 ^a _B	1,50±0,07 ^a _A	0,98±0,04 ^a _C	2,19±0,07 ^{bc} _A	16,41±0,04 ^a _B	4,34±0,32 ^a _C	1,45±0,00 ^a _B
	Y	17,40±0,23 ^a _B	7,73±0,23 ^{de} _A	1,51±0,08 ^d _A	2,28±0,04 ^a _A	2,09±0,08 ^a _A	22,55±0,14 ^a _A	6,23±0,07 ^e _A	3,09±0,07 ^{bcd} _A
	VP [†]	23,65±0,39 ^a _C	3,76±0,08 ^f _C	1,43±0,18 ^d _A	1,89±0,03 ^b _B	2,41±0,08 ^a _A	22,10±0,13 ^a _A	5,11±0,14 ^e _B	3,13±0,11 ^b _A

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05). “A, B, C” aynı sütundaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).



Şekil 10. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca histamin değerinin zamana bağlı değişimi

Araştırmada ham materyaldeki putresin, kadaverin ve histamin değerinin sırasıyla, $0,85\pm 0,00$ mg/kg, $1,95\pm 0,06$ mg/kg, $0,52\pm 0,02$ mg/kg olarak ölçülmüş, olgunlaştırma sonrası 0. günde putresin ve kadaverin değerleri düşüş göstermiş fakat histamin değeri yükselmiştir. Depolama sonuna ise kadar putresin değerleri artış göstererek salamura yağda ve vakum pakette sırasıyla $1,50\pm 0,07$ mg/kg $1,51\pm 0,08$ ve $1,43\pm 0,18$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Kadaverin, salamura yağda ve vakum pakette aylar içinde değişkenlik gösterse de depolama sonunda sırasıyla $0,98\pm 0,04$, $2,28\pm 0,04$ ve $1,89\pm 0,03$ mg/kg değerlerine yükselmiştir. Histamin değeri depolama sonunda salamura yağ ve vakum pakette sırasıyla $2,41\pm 0,08$, $2,19\pm 0,07$ ve $2,09\pm 0,08$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Triptamin değeri ham materyalde $6,35\pm 0,22$ mg/kg olarak hesaplanırken depolama sonuna kadar artmış ve salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $12,65\pm 0,28$ mg/kg, $17,40\pm 0,23$ mg/kg ve $23,65\pm 0,39$ mg/kg olurken tiramin değeri ham materyalde $23,51\pm 0,24$ mg/kg, 0. günde $9,60\pm 0,28$ mg/kg, 7.ayın sonunda ise salamura, yağda ve vakum pakette sırasıyla $16,41\pm 0,04$ mg/kg, $22,55\pm 0,14$ mg/kg ve $22,10\pm 0,13$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Spermidin ham materyalde $17,26\pm 0,13$ mg/kg değerinde, 0. günde $6,40\pm 0,21$ mg/kg değerine düşerken, depolamanın sonu olan 7. aya gelindiğinde ise çok değişkenlik göstermemiş ve bu değerler salamura, yağda ve vakum pakette sırasıyla, $4,34\pm 0,32$, $6,23\pm 0,07$ ve $5,11\pm 0,14$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Spermin ise ham materyalde $4,37\pm 0,17$ mg/kg, 0. günde $1,42\pm 0,04$ mg/kg depolama sonunda ise salamura, yağda ve vakum pakette sırasıyla, $1,45\pm 0,07$, $3,09\pm 0,07$ ve $3,13\pm 0,11$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Ayrıca histamin, feniletilamin ve putresin değerleri dışındaki biyojenik aminlerin salamurada depolanan tirsı

marinatında, diğer gruplara kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra farklı paketlenen marinatlarda tüm biyogenik amin yönünden incelendiğinde grup içi depolama boyunca karşılaştırıldığında istatistiksel fark anlamlı ($p < 0,05$) olarak saptanmıştır.

Farklı paketlenen marinatlarda gruplar arasında depolama süresine bağlı olarak karşılaştırıldığında putresin değerlerinin 7. ayda, histamin değerlerinin ise depolama süresince istatistiksel olarak anlamsız olarak gözlenirken ($p > 0,05$), diğer dönemler arasındaki istatistiksel farkın önemli ($p < 0,05$) olduğu belirlenmiştir.

3.2.5. Su Aktivitesi

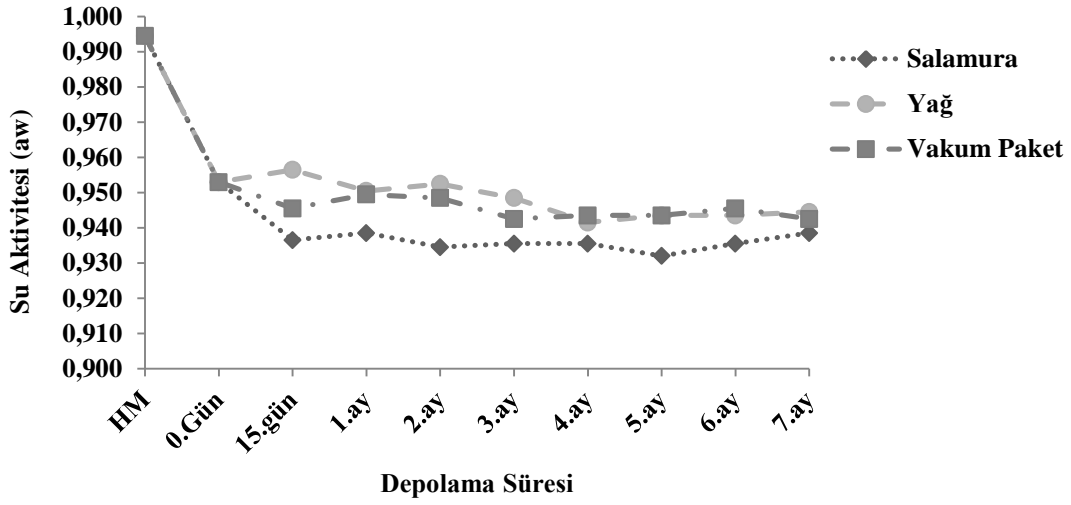
Marine edilen tirsilerde filetoalarının su aktivitesi Tablo 13 ve Şekil 11’de verilmiştir. Ham materyaldeki su aktivitesi değeri $0,995 \pm 0,001$ olarak ölçülmüştür. Farklı paketlenen gruplarında olgunlaştırma sonrası düşüş yaşanmış ve bu değer $0,953 \pm 0,001$ olarak ölçülmüştür. Bunun yanı sıra farklı paketlenen marinatlarda grup içi depolama boyunca karşılaştırıldığında istatistiksel fark anlamlı ($p < 0,05$) olarak saptanmıştır. Depolama sonuna kadar çok değişkenlik göstermemiş depolama sonunda ise salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $0,939 \pm 0,001$, $0,945 \pm 0,001$ ve $0,943 \pm 0,001$ olarak ölçülmüştür.

Tablo 13. Marine edilerek farklı paketlenen tirsilerde balıkta depolama boyunca su aktivitesi (a_w) değerindeki değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
HM	$0,995 \pm 0,001^a$	$0,995 \pm 0,001^a$	$0,995 \pm 0,001^a$
0.Gün	$0,953 \pm 0,001^{b_A}$	$0,953 \pm 0,001^{cb_A}$	$0,953 \pm 0,001^{b_A}$
15.gün	$0,937 \pm 0,001^{cd_C}$	$0,957 \pm 0,001^{b_A}$	$0,946 \pm 0,001^{d_B}$
1.ay	$0,939 \pm 0,001^c_B$	$0,951 \pm 0,001^{de_A}$	$0,950 \pm 0,001^c_A$
2.ay	$0,935 \pm 0,001^{de_B}$	$0,953 \pm 0,001^{cd_A}$	$0,949 \pm 0,001^c_A$
3.ay	$0,936 \pm 0,001^d_B$	$0,949 \pm 0,001^e_A$	$0,943 \pm 0,001^e_A$
4.ay	$0,936 \pm 0,001^d_B$	$0,942 \pm 0,001^f_A$	$0,944 \pm 0,001^{de_A}$
5.ay	$0,932 \pm 0,001^e_B$	$0,944 \pm 0,001^f_A$	$0,944 \pm 0,001^{de_A}$
6.ay	$0,936 \pm 0,001^d_B$	$0,944 \pm 0,001^f_A$	$0,946 \pm 0,001^d_A$
7.ay	$0,939 \pm 0,001^c_B$	$0,945 \pm 0,001^f_A$	$0,943 \pm 0,001^e_B$

“a, b, c” aynı sütündeki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 11. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığına depolama boyunca su aktivitesi (a_w) zamana bağlı değişimi

Marine tirsîye ait 0. günde su aktivitesi değeri paketleme şekillerine göre karşılaştırıldığında fark anlamsız ($p>0,05$) olduğu, 15. günde ve 7. ayda farkın anlamlı ($p<0,05$), geri kalan aylarda ise yağ ve vakum pakette arasındaki farklılığın anlamsız ($p>0,05$) diğer paketlemeye göre ise anlamlı ($p<0,05$) olduğunu saptanmıştır.

3.2.6. pH' daki Değişimler

İşlenen tirsî filetoalarının ham materyalde, olgunlaştırma sonrasındaki ve depolama boyunca pH değerlerindeki değişimleri Tablo 14'de ve Şekil 12'de verilmiştir.

Tablo 14. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca pH değişimleri

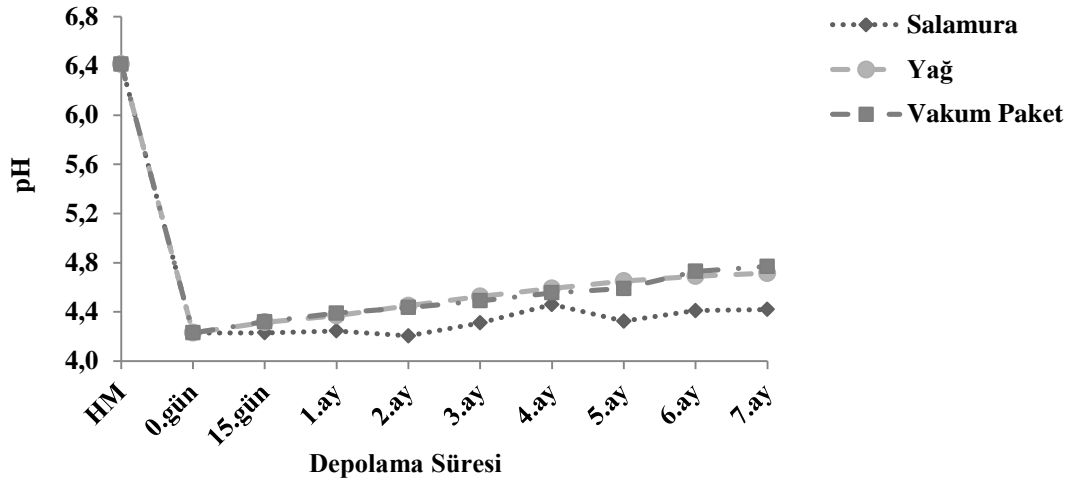
Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	6,42±0,02 ^a	6,42±0,02 ^a	6,42±0,02 ^a
0.Gün	4,23±0,04 ^d _A	4,23±0,04 ^h _A	4,23±0,04 ^h _A
15.gün	4,23±0,04 ^d _B	4,32±0,02 ^{gh} _A	4,32±0,01 ^g _A
1.ay	4,25±0,01 ^{cd} _B	4,37±0,01 ^{fg} _A	4,39±0,01 ^{fg} _A
2.ay	4,21±0,11 ^d _B	4,45±0,01 ^{ef} _A	4,44±0,02 ^{ef} _A
3.ay	4,31±0,03 ^{bcd} _B	4,53±0,04 ^{de} _A	4,49±0,01 ^{de} _A
4.ay	4,46±0,03 ^b _B	4,59±0,01 ^{cd} _A	4,56±0,01 ^{cd} _A
5.ay	4,33±0,04 ^{bcd} _B	4,65±0,01 ^{bc} _A	4,59±0,01 ^c _A
6.ay	4,41±0,01 ^{bc} _B	4,69±0,01 ^b _A	4,73±0,02 ^b _A
7.ay	4,42±0,03 ^b _B	4,72±0,01 ^b _A	4,77±0,01 ^b _A

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

Ham materyaldeki pH değeri 6,42±0,02 olarak hesaplanırken, marinasyon sonrası salamura, yağda ve vakum pakette pH değerleri sırasıyla pH 4,23’den depolama boyunca 4,42±0,03, 4,72±0,01 ve 4,77±0,01 değerlerine yavaş, fakat kesintisiz şekilde yükselmiştir. Bu değerlerin istatistiksel olarak grup içi farkın anlamlı (p<0,05) olduğu bulunmuştur.

Depolama sonuna kadar giderek artan pH değeri 7. aya gelindiğinde yağ ve vakum pakette sırasıyla 4,72±0,01 ve 4,77±0,01 değerlerine ulaşırken, salamuradaki marinatlar ise 4,42±0,03 olarak ölçülmüştür. Araştırmada gruplar arası istatistiksel farka bakıldığında yağ ve vakum paket marinatlarda depolama boyunca önemsiz (p>0,05) fakat salamura grubundaki farklılık ise diğer paketleme yöntemlerine göre istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) bulunmuştur.



Şekil 12. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca pH değerinin zamana bağlı değişimi.

3.2.7. Salamuradaki Asitlik ve Tuz Değişimleri

Bu araştırmada balık etinde tespit edilen % asitlik miktarı marinatin olgunlaştığı 0. günden itibaren 7.aya kadar kaydedilirken, salamuradaki asitlik miktarı ise olgunlaşma işlemi tamamlandıktan sonra 1 defaya mahsus kaydedilmiştir.

Olgunlaştırma sonrası salamuradaki asitlik miktarı 1.95 ± 0.16 olarak, tuz miktarı ise 6.98 ± 0.68 olarak kaydedilmiştir.

3.2.8. Balık Etinde Kaydedilen Asit Değişimleri

Tirsı filetolarının asit değerindeki değişimler Tablo 3.11'de ve Şekil 3.7'de verilmiştir.

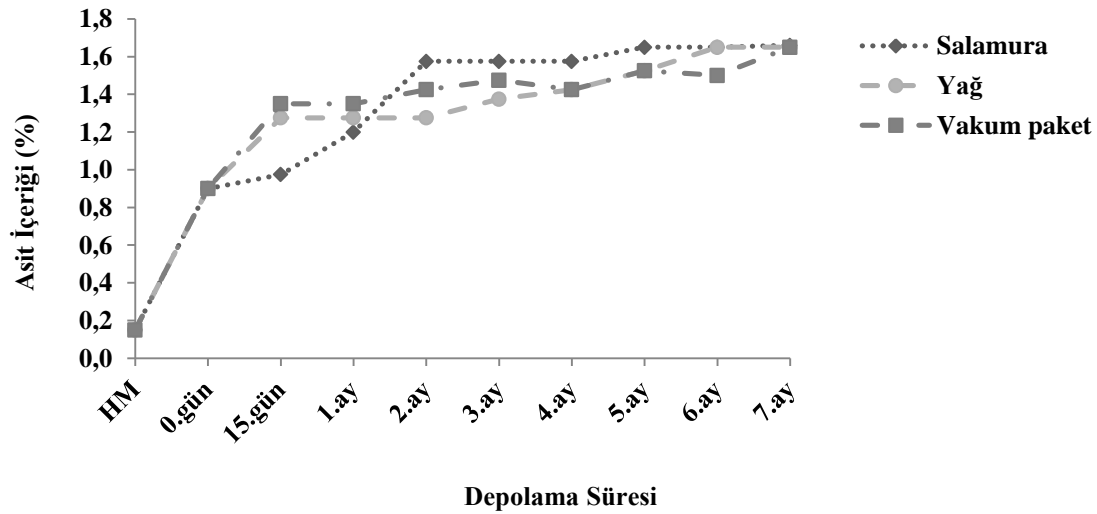
Ham materyaldeki asit miktarı 0.15 ± 0.00 olarak hesaplanırken bu değer 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette 0.90 ± 0.00 olarak ölçülmüştür. Yağda ve vakum pakette grup içi değişimin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Salamurada ise 0. günde, 15. günde ve 1. ayda değişim anlamlı ($p < 0.05$) fakat diğer aylarda değişim anlamsız ($p > 0.05$) olduğu bulunmuştur. Depolamanın sonuna kadar yavaş yükseliş gösteren asit miktarı 7. aya gelindiğinde yağda ve vakum pakette de 1.65 ± 0.00 , salamurada ise 1.66 ± 0.01 değer olarak ölçülmüştür. Depolama süresine bağlı olarak paketleme grupları arasında yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel fark 0. günde, 6. ayda ve 7. ayda önemsiz ($p > 0.05$), diğer aylarda ise anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Tablo 15. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca asitlik (%) miktarının değışimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	0,15±0,00 ^a	0,15±0,00 ^a	0,15±0,00 ^a
0.Gün	0,90±0,00 ^b _A	0,90±0,00 ^b _A	0,90±0,00 ^b _A
15.gün	0,98±0,11 ^{bc} _B	1,28±0,11 ^c _A	1,35±0,00 ^c _A
1.ay	1,20±0,00 ^c _A	1,28±0,11 ^c _A	1,35±0,00 ^c _B
2.ay	1,58±0,11 ^d _A	1,28±0,11 ^c _C	1,43±0,11 ^{cd} _B
3.ay	1,58±0,11 ^d _A	1,38±0,11 ^{cd} _B	1,48±0,11 ^d _C
4.ay	1,58±0,11 ^d _B	1,43±0,11 ^{cd} _A	1,43±0,11 ^{cd} _A
5.ay	1,65±0,00 ^d _B	1,53±0,11 ^{cd} _A	1,53±0,11 ^d _A
6.ay	1,65±0,00 ^d _A	1,65±0,00 ^d _A	1,50±0,00 ^{ed} _A
7.ay	1,66±0,01 ^d _A	1,65±0,00 ^d _A	1,65±0,00 ^e _A

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).



Şekil 13. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca asitlik (%) miktarının zamana bağlı değışimi.

3.2.9. Balık Etinin Tuz Değişimi

Depolama boyunca yüzde tuz değerleri incelenmiş ve araştırmada elde edilen sonuçlar Tablo 16’da ve Şekil 14’de verilmiştir.

Ham materyaldeki tuz miktarı %0,27±0,12 olarak hesaplanırken bu değer marinasyon sonrası salamura, yağ ve vakum pakette %4,15±0,00 olarak ölçülmüştür.

Tirsi marinatlarının salamurada paketleme yönteminde marinasyon sonrasında 15. günde artış göstermiş, depolama sonuna kadar ise artış göstermemiş ve bu değer $6,32 \pm 0,00$ olarak ölçülürken, istatistiksel farka bakıldığında ham materyalde, 0. günde ve 15. günde anlamsız ($p > 0,05$), fakat diğer aylarda ise anlamlı ($p < 0,05$) olarak bulunmuştur.

Yağda ve vakum pakette olgunlaştırma sonrası depolama sonuna kadar artış göstermemiş, sırasıyla $4,39 \pm 0,08$ ve $4,51 \pm 0,04$ olarak ölçülmüş, grup içi istatistiksel olarak ham materyalde ve depolama başlangıcı olan 0. günde anlamlı ($p < 0,05$), depolama sonuna kadar ise istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0,05$) olarak saptanmıştır.

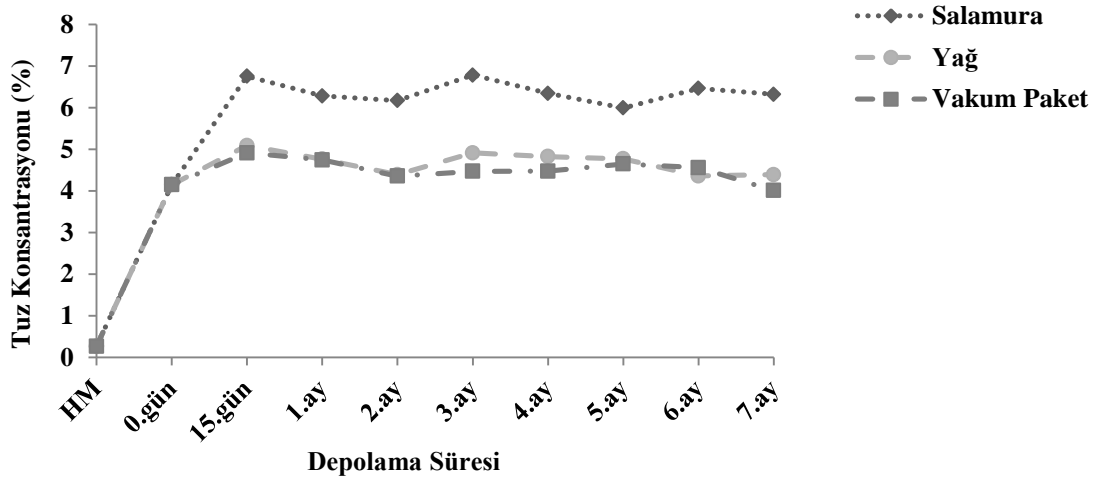
Depolama süresine bağlı olarak paketleme yöntemleri arasında yapılan karşılaştırmada; tüm paketleme gruplarında 0. günde anlamsız ($p > 0,05$), yağda ve vakum pakette sonuçları benzer ($p < 0,05$) iken salamura ile diğer paketleme grupları arasında sonuçlar farklı ($p > 0,05$) olarak bulunmuştur.

Tablo 16. Marine edilerek farklı paketlenen tirs balığında depolama boyunca tuzluluk (%) değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
Ham Materyal	$0,27 \pm 0,12^a$	$0,27 \pm 0,12^a$	$0,27 \pm 0,12^a$
0.Gün	$4,15 \pm 0,00^b_A$	$4,15 \pm 0,00^b_A$	$4,15 \pm 0,00^b_A$
15.gün	$6,76 \pm 0,12^c_A$	$4,09 \pm 0,25^b_B$	$4,92 \pm 0,25^b_B$
1.ay	$6,29 \pm 0,29^c_A$	$4,77 \pm 0,21^b_B$	$4,75 \pm 0,42^b_B$
2.ay	$6,17 \pm 0,71^c_A$	$4,39 \pm 0,41^b_B$	$4,36 \pm 0,29^b_B$
3.ay	$6,79 \pm 0,16^c_A$	$4,92 \pm 0,50^b_B$	$4,47 \pm 0,04^b_B$
4.ay	$6,35 \pm 0,87^c_A$	$4,83 \pm 0,37^b_B$	$4,48 \pm 0,21^b_B$
5.ay	$6,00 \pm 0,37^c_A$	$4,77 \pm 0,04^b_B$	$4,65 \pm 0,37^b_B$
6.ay	$6,47 \pm 0,21^c_A$	$4,36 \pm 0,13^b_B$	$4,56 \pm 0,49^b_B$
7.ay	$6,32 \pm 0,00^c_A$	$4,39 \pm 0,08^b_B$	$4,51 \pm 0,04^b_B$

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 14. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca tuz (%) miktarının zamana bağlı değişimi

3.3. Mikrobiyolojik Değişimler

Araştırmada marine edilerek 7 ay boyunca depolanan tirsı filetoalarının toplam toplam aerob mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, maya-küf, koliform ve histamin üreten bakteri sayıları (kob/g) ham materyalde, farklı paketlenildikten sonra 0. günde ve depolama boyunca incelenmiş ve elde edilen sonuçlar kob/g cinsinden verilmiştir. Çalışma süresince maya ve küf ve koliform grubu bakteri sayısı saptanabilir (<30 kob/g) düzeyin altında bulunmuş diğer bakterilere ait değişimler ise aşağıda verilmiştir.

3.3.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı ve Toplam Psikrofilik Bakteri Sayısı

Marine edilerek farklı paketleme yöntemleri ile paketlenen tirsı filetoalarının toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında meydana gelen değişimler Tablo 17’de ve Şekil 15 ve Şekil 16’da verilmiştir.

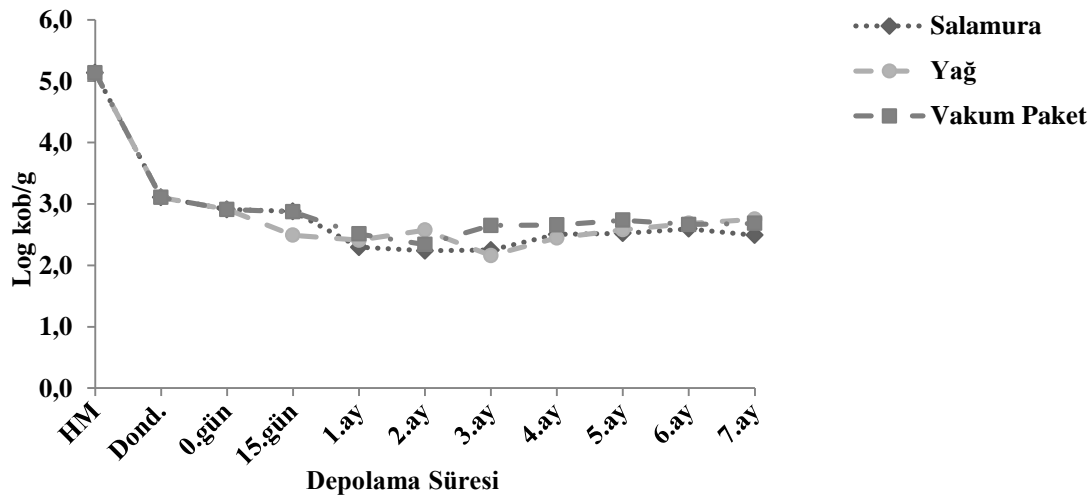
Ham materyalde TAMB sayısı $5,14 \pm 0,03$ log kob/g olurken, dondurulduktan sonra ve olgunlaştırma sonrası sırasıyla $3,11 \pm 0,01$ ve $2,91 \pm 0,03$ log kob/g olarak kaydedilmiştir. Salamura, yağ ve vakumla paketlenen marinatların marinyasyon sonrası TAMB sayısı $2,91 \pm 0,03$ olurken depolama sonuna kadar tüm paketleme şeklinde farklılık gözlenmemiş ve bu değerler sırasıyla $2,49 \pm 0,02$, $2,75 \pm 0,02$ ve $2,68 \pm 0,02$ log kob/g olarak kaydedilmiştir.

Ham materyalde dondurulduktan sonra ve marinyasyon sonrası toplam psikrofilik bakteri açısından $4,36 \pm 0,02$, $2,97 \pm 0,01$ ve $2,27 \pm 0,03$ log kob/g olarak ölçülmüştür. Yağda

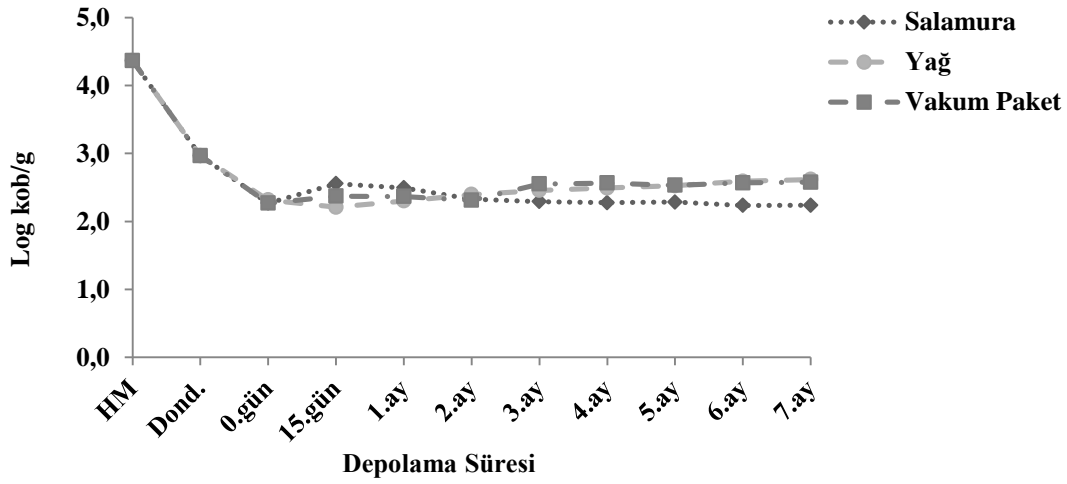
ölçülen TPB sayılarının depolamanın ilk 3 aylık periyodunda azalırken ardından 7. aya gelindiğinde yavaş şekilde artarak $2,62 \pm 0,04$ log kob/g olarak hesaplanmıştır.

Tablo 17. Marinatlardaki toplam mezofilik aerob bakteri (TAMB) ve toplam psikrofilik bakteri (TPB) (log kob/g) sayılarındaki değişimler.

Depolama Süresi	Paketleme Şekli					
	Salamura		Yağ		Vakum Paket	
	Mezofilik	Psikrofilik	Mezofilik	Psikrofilik	Mezofilik	Psikrofilik
H.M.	5,14±0,03	4,36±0,02	5,14±0,03	4,36±0,02	5,14±0,03	4,36±0,02
Dond.	3,11±0,01	2,97±0,01	3,11±0,01	2,97±0,01	3,11±0,01	2,97±0,01
0.Gün	2,91±0,03	2,27±0,03	2,91±0,03	2,27±0,03	2,91±0,01	2,27±0,03
15.gün	2,88±0,01	2,55±0,01	2,49±0,27	2,21±0,03	2,87±0,01	2,37±0,03
1.ay	2,30±0,09	2,49±0,01	2,41±0,10	2,30±0,06	2,51±0,03	2,37±0,13
2.ay	2,24±0,09	2,33±0,01	2,57±0,04	2,39±0,01	2,34±0,04	2,31±0,9
3.ay	2,25±0,03	2,29±0,03	2,16±0,17	2,45±0,03	2,65±0,01	2,55±0,15
4.ay	2,50±0,12	2,27±0,03	2,45±0,04	2,49±0,01	2,66±0,04	2,57±0,13
5.ay	2,52±0,06	2,28±0,02	2,58±0,10	2,52±0,02	2,74±0,02	2,53±0,16
6.ay	2,59±0,01	2,24±0,04	2,68±0,04	2,59±0,03	2,66±0,04	2,57±0,19
7.ay	2,49±0,02	2,24±0,06	2,75±0,02	2,62±0,04	2,68±0,02	2,58±0,12



Şekil 15. Marine edilerek farklı paketlenen tirsı balığında depolama boyunca toplam mezofilik aerob bakteri (TAMB) sayılarının aylara göre değişimleri.



Şekil 16 Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca toplam psikrofilik bakteri (TPB) sayılarının aylara göre değişimleri.

3.3.2. Histamin Üreten Bakteri Sayıları

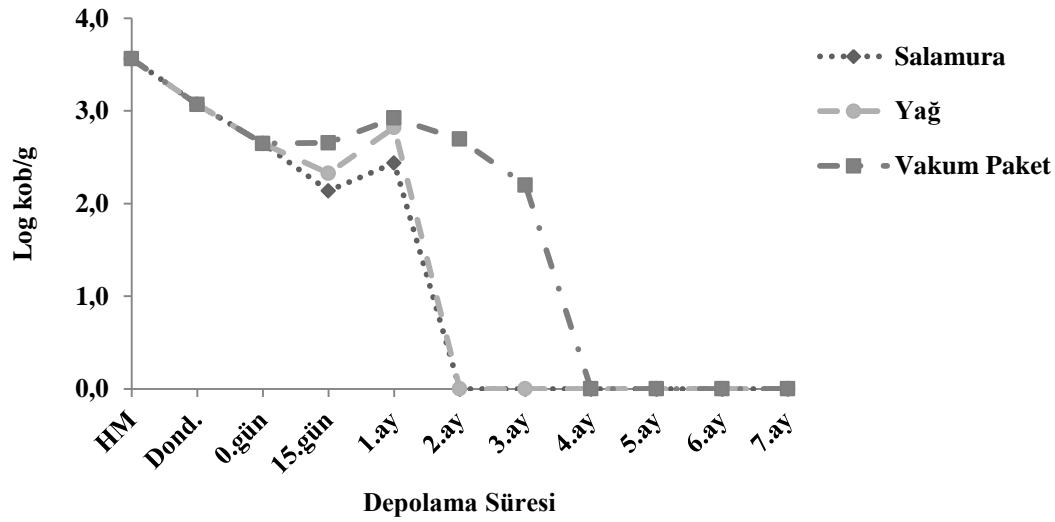
Niven's agardaki üremeler değerlendirilmek suretiyle tirsi filetoalarının histamin üreten bakteri sayısında meydana gelen değişimler ham materyalde, dondurulmuş materyalde, farklı paketlenildikten sonra 0. günde ve depolama boyunca incelenmiş ve araştırmada elde edilen sonuçlar Tablo 19, Şekil 17 ve Şekil 18'de verilmiştir.

Ham materyalde mezofilik histamin değeri $3,56 \pm 0,04$ log kob/g olarak kaydedilmiştir. Dondurulduktan sonra ve marinasyon işlemi sonra değerler hızlı bir şekilde düşmüş göstermiş, bu değerler ise $3,07 \pm 0,11$ ve $2,65 \pm 0,15$ log kob/g olarak kaydedilmiştir. Depolama boyunca farklı paketlenen tirs marinatlari salamura ve yağda 1. aydan sonra, vakum pakette 3. aydan sonra üreme sayılabilir değerin altında kaldığı belirlenmiştir.

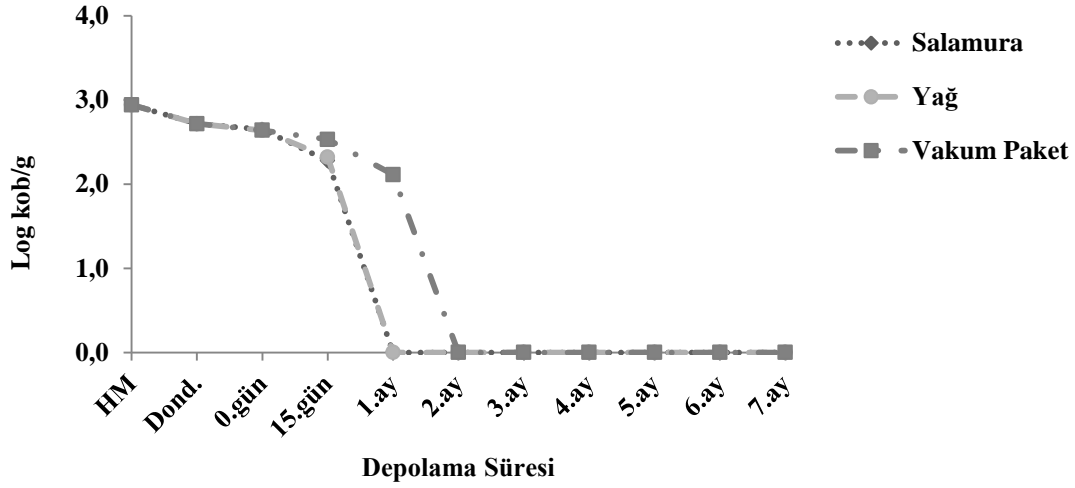
Psikrofilik histamin üreten bakteri sayısına bakıldığında ham materyalde $2,94 \pm 0,04$ log kob/g olarak hesaplanırken dondurulduktan sonra ve olgunlaştırma sonrası bu değerler azalarak $2,72 \pm 0,12$ ve $2,64 \pm 0,16$ log kob/g değerlerine ulaşmıştır. Vakum pakette 1. ayda $2,11 \pm 0,11$ olarak ölçülmüş diğer paketleme yöntemlerinde 15. günden sonra üreme gerçekleşmediği kaydedilmiştir.

Tablo 18. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca histamin üreten bakteri (log kob/g) sayılarının değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli					
	Salamura		Yağ		Vakum Paket	
	Mezofilik	Psikrofilik	Mezofilik	Psikrofilik	Mezofilik	Psikrofilik
H.M.	3,56±0,04	2,94±0,04	3,56±0,04	2,94±0,04	3,56±0,04	2,94±0,04
Dond.	3,07±0,11	2,72±0,12	3,07±0,11	2,72±0,12	3,07±0,11	2,72±0,12
0.Gün	2,65±0,15	2,64±0,16	2,65±0,15	2,64±0,16	2,65±0,15	2,64±0,16
15.gün	2,14±0,06	2,28±0,18	2,33±0,11	2,32±0,08	2,66±0,04	2,53±0,13
1.ay	2,44±0,14	-	2,82±0,12	-	2,92±0,08	2,11±0,11
2.ay	-	-	-	-	2,69±0,11	-
3.ay	-	-	-	-	2,20±0,10	-
4.ay	-	-	-	-	-	-
5.ay	-	-	-	-	-	-
6.ay	-	-	-	-	-	-
7.ay	-	-	-	-	-	-



Şekil 17. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca histamin üreten mezofilik bakteri sayılarının aylara göre değişimleri



Şekil 18. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca histamin üreten psikrofilik bakteri sayılarının aylara göre değişimleri

3.4. Bakterilerin identifikasyonu

Niven's agarda üreyen tüm koloniler pigmentasyonuna bakılmaksızın TSA'da subkültüre alınarak saflaştırıldı. Saflaştırılan bakteriler doğrudan biyokimyasal ve moleküler identifikasyon çalışmalarına alındı. Moleküler identifikasyon için saf kültürden alınan bakteriler steril serum fizyolojik tuzlu su içeren 1,5 ml'lik ependorf tüplerine geçilmiş ve vorteks yardımıyla homojenizasyonun ardından 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant kısmı dökülerek bakteri peleti 180µl enzimatik lizis buffer içerisinde 37°C'de bir buçuk saat inkübe edilmiştir. Enzimatik lizis aşamasının ardından DNA ekstraksiyonu, Qiagen DNA easy Mini Kit kullanılarak ve üretici talimatları uyarınca gerçekleştirilmiştir. DNA ekstraktları dizi analizi için 16S rDNA üniversal bakteri primerleri (27F ve 1492R) kullanılarak, Histamin üreten bakterilerin tespiti içinse gram negatif bakteriler için (Hdc-F ve Hdc-R) ve gram pozitif bakteriler için (Hdc-1 ve Hdc-2) HDC geni spesifik primerleri kullanılarak çalışıldı.

Biyokimyasal ve moleküler identifikasyon çalışmaları sonucunda Nivan's agarda üreyen ve saf olarak izole edilen toplam 68 adet farklı koloninin 37 farklı bakteri türüne ait olduğu ortaya konuldu. İdentifikasyonu tamamlanan bakterilerin biyokimyasal test sonuçları Tablo 3.16'te, depolama süresi boyunca farklı paketlerden izole edilen bakteriler ise Tablo 3.17'da verilmiştir.

Tablo 19. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca Niven's agarda izole edilen bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri.

Tür	Gram	Oksidaz	Katalaz	Sitrat	İndol	H ₂ S	Gelatin	MR	VP	OF
<i>Acinetobacter venetianus</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-
Uncultured bacterium*	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	OF
Pantoea agglomerans*	-	+	+	-	-	-	+	-	-	OF
Pseudomonas putida*	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Corynebacterium medionlanum</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	-	OF
<i>Bacillus pseudofirmus</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Vibrio vulnificus</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	+	+	+	-	+	+	-	OF
Uncultured bacterium	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Shewanella baltica*	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Microbacterium paraoxydans</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Vibrio ichthyoenteri</i>	+	-	+	+	+	-	+	+	-	OF
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	+	-	-	+	+	-	+	+	-	OF
<i>Rothia mucilaginosa</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Brevundimonas diminuta*	-	-	+	+	-	-	+	-	-	F
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Psychrobacter luti</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	-	F
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-	OF
<i>Streptosporangium roseum</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-	F
<i>Methanocorpusculum labreanum</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	F
<i>Chitinophaga pinensis</i>	-	-	+	+	-	-	+	+	-	F
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	+	-	+	+	-	-	+	+	-	OF
<i>Marine snow associated bacterium</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Psychrobacter sp.</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	OF
<i>Mycobacterium sp.</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Acinetobacter xiamenensis</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus sp.</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	O
Acinetobacter calcoaceticus*	+	-	+	+	+	-	-	+	-	OF
<i>Pantoea agglomerans</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	O

Tablo 19'un devamı

<i>Mycobacterium marinum</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>Uncultured Firmicutes bacterium</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>Bacteroides fragilis*</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	-	O
<i>Myxococcales bacteria</i>	-	+	+	+	-	-	+	+	-	OF
<i>Enterobacter hormaechei</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

“*” histamin oluşturan bakterilerdir. “O”; oksidatif, “F”; fosforilatif, “OF”; hem oksidatif hemde fosforilatif, “-”; negatif sonuç, “+” ise pozitif sonucu göstermektedir.

Tablo 20. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca Niven's agarda, psikrofilik ve mezofilik şartlarda izole edilen bakteriler

	Mezofil	Psikrofil
Taze Balık	<i>Acinetobacter venetianus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
	<i>Uncultured bacterium*</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Uncultured Firmicutes bacterium</i>
	<i>Pantoea agglomerans*</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus*</i>
	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
	<i>Corynebacterium medionlanum</i>	<i>Brevundimonas diminuta*</i>
	<i>Bacillus pseudofirmus</i>	<i>Acinetobacter xiamenensis</i>
	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
	<i>Uncultured bacterium</i>	<i>Bacteroides fragilis*</i>
	<i>Shewanella baltica*</i>	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Brevundimonas diminuta*</i>	<i>Pantoea agglomerans*</i>
	<i>Citrobacter freundii</i>	
<i>Psychrobacter luti</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
Dondurulmuş Balık	<i>Pseudomonas putida*</i>	<i>Pantoea agglomerans*</i>
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Mycobacterium sp.</i>
	<i>Brevundimonas diminuta*</i>	<i>Psychrobacter sp.</i>
	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Shewanella baltica*</i>
	<i>Psychrobacter luti</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Vibrio ichthyenteri</i>	

Tablo 20'nin devamı

Marinasyon Sonrası	<i>Streptosporangium roseum</i> <i>Methanocorpusculum labreanum</i> <i>Chitinophaga pinensis</i> <i>Macrocooccus caseolyticus</i> <i>Myxococcales bacteria</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Mycobacterium sp.</i> <i>Shewanella baltica</i> <i>Leclercia adecarboxylata</i> <i>Marine snow associated bacterium</i> <i>Pantoea agglomerans</i> <i>Psychrobacter sp.</i> <i>Pseudomonas putida</i>*	<i>Psychrobacter sp.</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Acinetobacter xiamenensis</i> <i>Brevundimonas diminuta</i>* <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Shewanella baltica</i> *
15. Gün Salamura	<i>Macrocooccus caseolyticus</i> <i>Myxococcales bacteria</i> <i>Enterobacter hormaechei</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>* <i>Leclercia adecarboxylata</i>
15. Gün Vakum Paket	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Mycobacterium sp.</i> <i>Shewanella baltica</i>* <i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Mycobacterium sp.</i> <i>Macrocooccus caseolyticus</i>
15. Gün Yağda	<i>Marine snow associated bacterium</i> <i>Pantoea agglomerans</i>* <i>Psychrobacter sp.</i> <i>Pseudomonas putida</i>*	<i>Shewanella baltica</i>* <i>Staphylococcus pasteurii</i> <i>Psychrobacter sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i>
30. Gün Salamura	<i>Myxococcales bacteria</i> <i>Enterobacter hormaechei</i>	-
30. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i>* <i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
30. Gün Yağda	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Pantoea agglomerans</i>*	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Psychrobacter sp.</i>
60. Gün Salamura	<i>Myxococcales bacteria</i> <i>Enterobacter hormaechei</i>	-
60. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i>* <i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
60. Gün Yağda	<i>Pseudomonas putida</i>*	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Psychrobacter sp.</i>
90. Gün Salamura	-	-
90. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i>*	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
90. Gün Yağda	<i>Pseudomonas putida</i>*	<i>Psychrobacter sp.</i> <i>Citrobacter freundii</i>

Tablo 20'nin devamı

120. Gün Salamura	-	-
120. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i> *	-
120. Gün Yağda	<i>Pseudomonas putida</i> *	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Psychrobacter sp.</i>
150. Gün Salamura	<i>Enterobacter hormaechei</i>	-
150. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i> *	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
150. Gün Yağda	-	<i>Psychrobacter sp.</i>
180. Gün Salamura	-	-
180. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i> *	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
180. Gün Yağda	<i>Pseudomonas putida</i> *	-
210. Gün Salamura	-	-
210. Gün Vakum Paket	<i>Shewanella baltica</i> *	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
210. Gün Yağda	<i>Pseudomonas putida</i> *	<i>Psychrobacter sp.</i>

“*” histamin oluşturan bakterilerdir. “-” üreme yok.

3.5. Duyusal Değişimler

Çalışmada, farklı paketlenme yapılan marine edilmiş tirsinin çalışmanın başlangıcından 7. ay sonuna kadar değişim gösteren görünüş, koku- lezzet ve tekstür gibi duyu özelliklerinde gözlenen değişimler yapılan anket çalışmasına göre değerlendirilmiş ve bu bölümde incelenmiştir.

3.5.1. Marinatların Görünüş Değişimleri

Araştırmada farklı paketlenen tirs marinatlarının depolama başlangıcından, 7. aya kadar kaydedilen görünüş değerleri Tablo 20’de ve Şekil 19’da verilmiştir.

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesine göre, görünüş açısından her bir paketlenme şeklinin arasındaki farklılığın önemli olmadığı fakat depolama süresine bağlı olarak başlangıç puanına göre gerilemenin olduğu saptanmış ve istatistiksel olarak 7. ayda anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur.

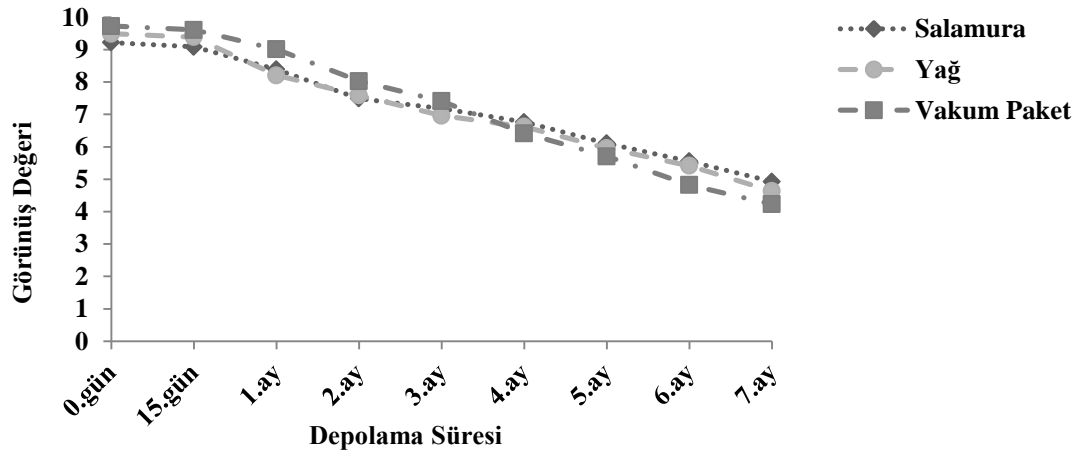
Tablo 21. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca görünüş değerleri değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
0.gün	9,55±0,38 ^a _A	9,57±0,41 ^a _A	9,65±0,35 ^a _A
15.gün	9,25±0,27 ^a _A	9,33±0,41 ^a _A	9,33±1,21 ^a _A
1.ay	9,00±0,63 ^a _A	8,50±0,55 ^a _A	9,33±0,61 ^a _A
2.ay	7,55±0,76 ^b _A	7,68±0,58 ^b _A	8,08±0,20 ^b _A
3.ay	7,05±0,69 ^b _A	7,13±0,52 ^b _A	7,47±0,41 ^b _B
4.ay	6,83±0,75 ^{bc} _A	6,53±0,52 ^c _A	6,33±0,45 ^c _A
5.ay	6,40±0,98 ^c _A	6,04±0,49 ^{cd} _A	5,81±0,32 ^d _A
6.ay	5,58±0,86 ^d _A	5,08±0,49 ^{de} _A	4,80±0,27 ^{de} _A
7.ay	5,00±0,32 ^e _A	4,53±0,52 ^e _B	4,20±0,32 ^e _B

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

Çalışmada saptanan görünüş değerlerinin grup içi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde salamura, yağ ve vakum paket tirs marinatlarında 0. günde, 15. günde ve 1. ayda grup içindeki farkın istatistiksel anlamda önemli olmadığı (p>0,05) fakat diğer aylarda istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) olduğu saptanmıştır. Görünüş açısından panelistlerin puanlamalarına göre en çok kabul gören paketlemenin salamura, en az kabul görenin ise vakum paketlemenin olduğu belirlenmiştir.



Şekil 19. Marine edilerek farklı paketlenen tirs balığında depolama boyunca görünüş değerlerinin zamana bağlı değişimi.

3.5.2. Marinatların Koku Değişimleri

Araştırmada farklı yöntemlerle paketlenen tirsi marinatının depolama süresince kaydedilen koku değişimleri Tablo 21’de ve Şekil 20’de verilmiştir.

Koku bakımından 0. gün salamura, yağ ve vakum pakette değerler sırasıyla $9,25 \pm 0,25$, $9,52 \pm 0,61$ ve $9,61 \pm 0,41$ olarak kaydedilmiştir. Koku 0. günde itibaren salamura, yağ ve vakum pakette depolanan marinatların, giderek azalmış ve 7. aya gelindiğinde sırasıyla $4,28 \pm 0,35$, $4,57 \pm 0,75$ ve $3,91 \pm 0,27$ değerleri kaydedilmiştir.

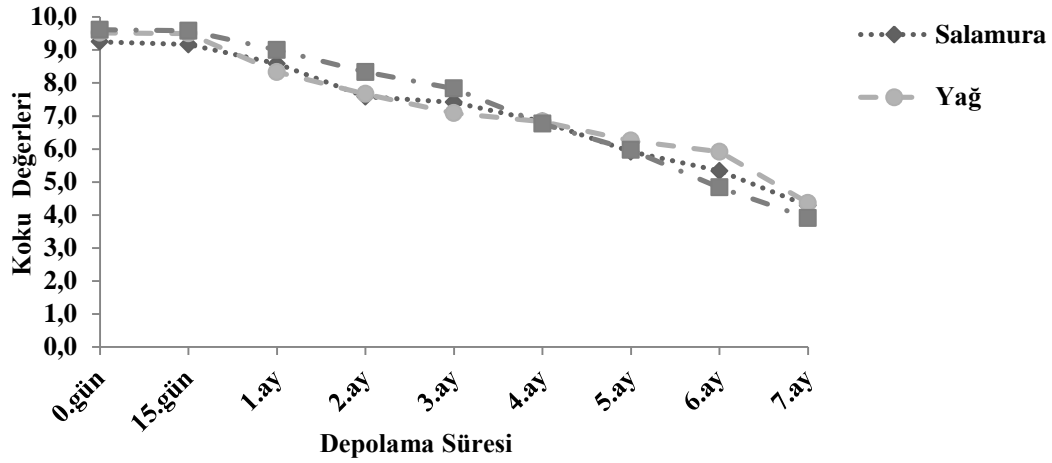
Farklı paketlenen marinatlar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre gruplarda farklılığın 7. ayda önemli ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır. Tabloda da görüldüğü gibi araştırmaya konu olan bütün marinatların puanlarının depolamaya bağlı olarak azaldığı saptanmıştır. Bununla birlikte en çok beğeni gören marinatın yağda tirsi marinatı, en az kabul görenin ise vakum paket olduğu belirlenmiştir.

Tablo 22. Marine edilerek farklı paketlenen tirsi balığında depolama boyunca koku değerlerinin değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
0.gün	$9,25 \pm 0,25^a_A$	$9,52 \pm 0,61^a_A$	$9,61 \pm 0,41^a_A$
15.gün	$9,17 \pm 0,41^a_A$	$9,50 \pm 0,45^a_A$	$9,58 \pm 0,38^a_A$
1.ay	$8,58 \pm 0,49^{ab}_A$	$8,60 \pm 0,41^{ab}_A$	$8,70 \pm 0,32^{ab}_A$
2.ay	$7,58 \pm 0,49^{ab}_A$	$7,67 \pm 0,61^{bc}_A$	$8,33 \pm 0,75^{bc}_A$
3.ay	$7,42 \pm 1,02^{bc}_A$	$7,08 \pm 0,92^{bcd}_A$	$7,83 \pm 0,41^{cd}_A$
4.ay	$6,83 \pm 0,75^{cd}_A$	$6,83 \pm 0,61^{cd}_A$	$6,76 \pm 0,31^d_A$
5.ay	$5,92 \pm 0,92^d_A$	$6,25 \pm 0,76^d_A$	$5,97 \pm 0,26^e_A$
6.ay	$5,33 \pm 0,98^e_A$	$5,92 \pm 0,80^{de}_A$	$4,84 \pm 0,26^f_A$
7.ay	$4,28 \pm 0,35^e_A$	$4,57 \pm 0,75^e_A$	$3,91 \pm 0,27^g_B$

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 20. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığına depolama boyunca koku değerlerinin zamana bağlı değişimi

3.5.3. Marinatların Lezzet Değişimleri

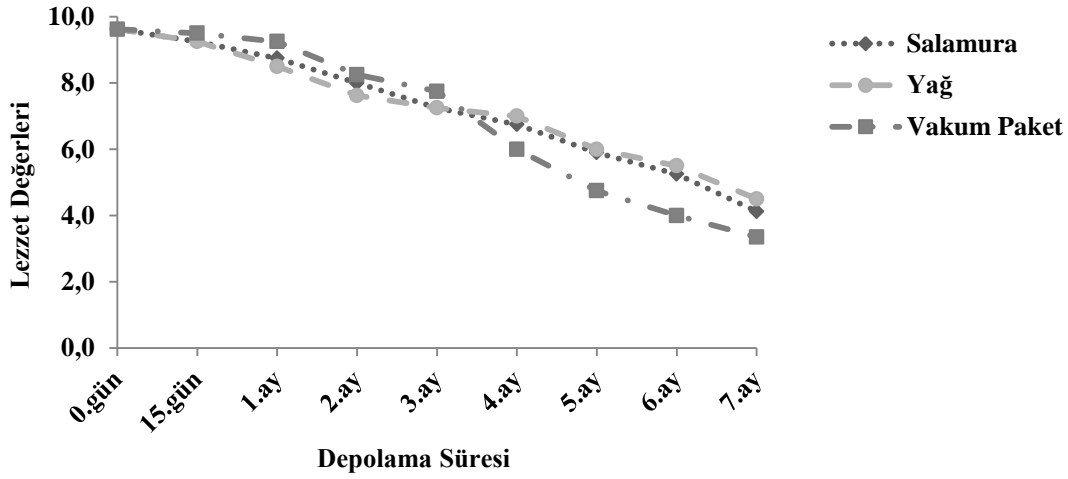
Çalışmada salamura yağ ve vakum paketteki marine edilmiş tirsî marinatlarının depolama süresince kaydedilen lezzet değişimleri Tablo 22’de ve Şekil 21’de verilmiştir. Depolama süresince panelistler tarafından yapılan değerlendirmeye göre salamura ve yağda paketlenen marine tirsîler 7. aya kadar yavaş bir şekilde azalış gösterirken vakum paket 3. aydan sonra hızlı bir düşüş gerçekleştirmiş ve depolama sonunda $3,50\pm 0,00$ değeri ölçülmüştür. Lezzet bakımından panelistlerin puanlamalarına göre en çok beğenilen paketlemenin yağda, en az beğenilenin ise vakum paketlemenin olduğu belirlenmiştir.

Tablo 23. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığına depolama boyunca lezzet değerlerinin değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
0.gün	9,63±0,05 ^a _A	9,63±0,05 ^a _A	9,63±0,05 ^a _A
15.gün	9,25±0,18 ^{ab} _A	9,25±0,25 ^{ab} _A	9,50±0,15 ^a _A
1.ay	8,75±0,35 ^{ab} _A	8,50±0,20 ^{abc} _A	9,25±0,09 ^a _B
2.ay	8,00±0,26 ^{bc} _A	7,63±0,12 ^{abc} _B	8,25±0,05 ^{ab} _A
3.ay	7,25±0,15 ^c _A	7,25±0,20 ^{abc} _A	7,75±0,18 ^{ab} _B
4.ay	6,75±0,25 ^{cd} _A	7,00±0,16 ^{bcd} _A	6,00±0,20 ^{bc} _B
5.ay	5,90±0,10 ^{de} _A	6,00±0,15 ^{cd} _A	4,75±0,15 ^{cd} _B
6.ay	5,25±0,15 ^{ef} _B	5,50±0,05 ^{cd} _A	4,00±0,05 ^{cd} _C
7.ay	4,13±0,18 ^f _B	4,50±0,06 ^d _A	3,50±0,00 ^d _C

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir ($p < 0,05$).



Şekil 21. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığında depolama boyunca lezzet değerlerinin zamana bağlı değişimi

Araştırmada grup içinde yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucu her üç paketleme yönteminde marinasyon başlangıcından depolama sonuna kadar istatistiksel anlamda fark önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur. Bununla birlikte araştırmada saptanan lezzet değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesinde, paketleme şekillerine göre 2, 6 ve 7. aylar aralarındaki farklılığın istatistiksel anlamda önemli olduğu ($p < 0,05$) ancak diğer aylarda istatistiksel olarak farkın önemli olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır.

3.5.4. Marinatların Tekstür Değişimleri

Yapılan anket çalışmasında marine edilerek farklı paketlenen tirsî filetoalarının tekstür açısından değerlendirmesi Tablo 23’de ve Şekil 22’de verilmiştir.

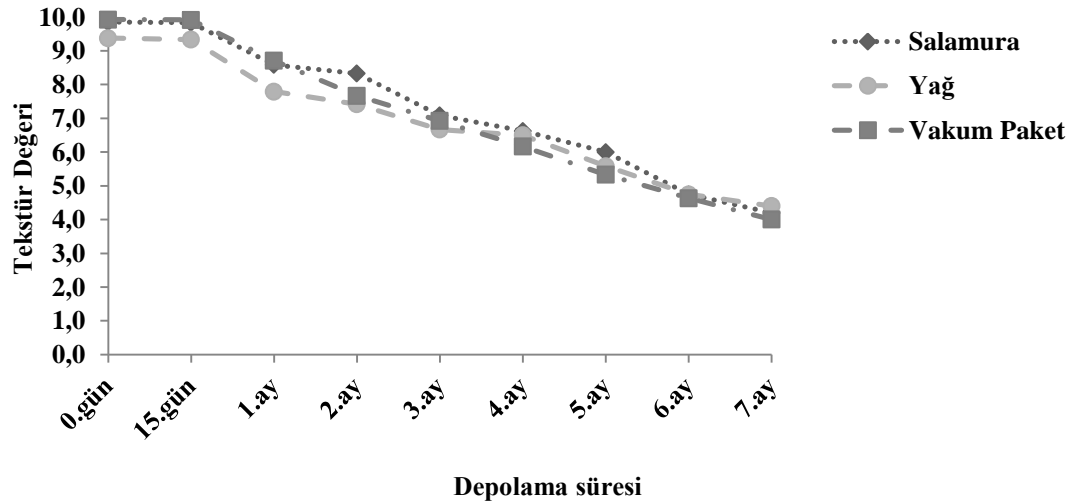
Tekstür bakımından 0.gün salamurada, yağ ve vakum pakette değerler sırasıyla $9,85 \pm 0,39$, $9,88 \pm 0,37$ ve $9,93 \pm 0,23$ olarak kaydedilmiştir. 0. günde itibaren salamura, yağ ve vakum paket depolanan marinatların, giderek azalmış ve 7. aya gelindiğinde sırasıyla $4,20 \pm 0,13$, $4,40 \pm 0,15$ ve $4,00 \pm 0,21$ değerleri kaydedilmiştir. Tekstür açısından panelistlerin puanlamasına göre, en çok kabul gören marinatın yağda, en az kabul görenin ise vakum paket olduğu belirlenmiştir.

Tablo 24. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığında depolama boyunca tekstür değerlerinin değişimleri

Depolama Süresi	Paketleme Şekli		
	Salamura	Yağ	Vakum Paket
0.gün	9,85±0,39 ^a	9,88±0,37 ^a	9,93±0,23 ^a
15.gün	9,83±0,37 ^a _A	9,83±0,16 ^a _A	9,92±0,08 ^a _A
1.ay	8,58±0,41 ^{ab} _A	8,79±0,20 ^b _A	8,71±0,26 ^b _A
2.ay	8,33±0,24 ^b _A	8,42±0,20 ^b _A	8,67±0,21 ^b _A
3.ay	7,08±0,44 ^b _A	7,67±0,21 ^c _A	7,93±0,24 ^c _A
4.ay	6,63±0,15 ^{bc} _A	6,50±0,17 ^d _A	6,17±0,23 ^d _A
5.ay	6,00±0,33 ^c _A	5,58±0,27 ^d _B	5,33±0,15 ^e _B
6.ay	4,75±0,13 ^d _A	4,75±0,18 ^f _A	4,63±0,15 ^f _A
7.ay	4,20±0,13 ^d _A	4,40±0,15 ^f _A	4,00±0,21 ^f _A

“a, b, c” aynı sütundaki farklı harfler grup içi istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).

“A, B, C” aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtir (p<0,05).



Şekil 22. Marine edilerek farklı paketlenen tirsî balığında depolama boyunca tekstür değerlerinin zamana bağlı değişimi

Araştırma sonucunda elde edilen aylık tekstür değişimlerinin istatistiksel değerlendirme yapıldığında depolama süresine bağlı olarak grup içindeki değişim 0. günde ve 15. günde önemsiz (p>0,05) bulunmuştur. Farklı paketlenen gruplar arasında depolama süresine bağlı olarak karşılaştırıldığında 5. ayda istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05), diğer dönemler arasındaki istatistiksel farkın önemsiz (p>0,05) olduğu belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Tirsi balığı (*Alosa immaculata*) özellikle Karadeniz’de avcılığı yapılan bir tür olup giderek artan bir av potansiyeline sahiptir. Günümüzde işlenmiş ürünlere olan talep ve duyulan ihtiyaç sebebiyle tirsi balığının da işlenmiş ürün olarak değerlendirilmesi söz konusu olmaktadır. Bu tezde, tirsi balığından yapılan marinatin farklı paketleme yöntemleriyle pakettikten sonra zamana bağlı olarak kaliteyi etkileyen duyuşal özellikler ile birlikte fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimleri doğrultusunda raf ömürleri ortaya konuldu.

Tirsi balığının besin değerleri üzerine yapılmış çalışma 1998 yılında gerçekleştirilmiş olup, av sezonunda tirsinin ham protein oranı %22,42 olarak bulunmuştur (Güner ve ark. 1998). Diğer bir çalışmada ise tirsi balığının Ekim ve Kasım aylarında ham protein oranı sırasıyla, %19,80±0,06 ve 19,25±0,11 olduğu belirtilmektedir (Boran ve Karaçam, 2011). Yapılan tez çalışmasında kullanılan 186 adet tirsi balığından alınan ilk örneklerde ham protein oranı %17,41±0,51 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan tirsi balıkları Ekim ayında alındığından Boran ve Karaçam’ın bulgularıyla uyumlu görünmektedir. Ayrıca Güner ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada bulunan verilerin çalışmadaki bulgulara göre biraz yüksek olduğu göze çarpmaktadır. Bu farkın çalışmada örnekleme dönemine ilişkin veriler mevcut olmadığından ve yıl içerisinde balığın kompozisyonundaki farklılıklar düşünüldüğünde bu farklılığın mümkün olabileceği değerlendirilmektedir.

Yüzde ham yağ oranı Güner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada %15,91 olarak ifade edilmekteyken Boran ve Karaçam tarafından yapılan çalışmada ekim ayında %9,34±0,29 oranında olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada marinasyon işlemi öncesi ölçülen ham yağ oranı %18,98±0,66 olarak ölçülmüştür. Eldeki veriler değerlendirildiğinde hiçbir çalışmaların birbiriyle uyum göstermediği görülmektedir. Bununla beraber Boran ve Karaçam tarafından yapılan çalışmada, av sezonu ortalama ham yağ oranı %19,70 olarak verilmiştir.

Çalışmada, taze balıktaki ham protein ve ham yağ değerleri sırasıyla %17,41±0,51 ve %18,98±0,66 olarak bulunmuştur. Yedinci ayda ölçülen ham protein ve yağ değerleri ham materyaldeki değerlerle kıyaslandığında önemli farklılıklar görülmemektedir. Bununla birlikte kuru madde oranı ham materyalde %39,15 depolama sonunda ise su çıkışına bağlı olarak bu değer yükselmiş salamura yağ ve vakum pakette sırasıyla %47,11±0,16,

47,05±0,70 ve 47,05±0,05 olarak ölçülmüştür. Kül oranına ise ham materyalde %2,17±0,16 iken tuz miktarından dolayı artış göstermiş fakat depolama boyunca değişiklik göstermemiştir. Ayrıca marinasyon işleminin ardından geçen yedi aylık dönem boyunca herhangi bir protein ve yağ, kuru madde ve kül değerlerinde kaybın olmadığı görülmektedir. Marinasyonda olgunlaştırmada işleminin balıkta en az düzeyde protein kaybına neden olabileceği düşüncesini ortaya koyan Kılınç (2003) sardalya balığından marinat yaptığı çalışmada bildirilmiştir. Özden (2005) marine edilmiş hamsinin, taze filetolarında ham protein %18,02±0,92, ham yağ oranlarını ise %10,32±0,75 olduğunu bildirirken marinasyon sonrası ham protein %19,10±1,04 ve ham yağ içeriğinin %11,51±0,98 olduğunu bildirilmiştir. Sonuç olarak araştırmacıların protein ve yağ içeriği bakımından taze balık için bildirdikleri değerlerle marinasyon sonrası değerlerin arasındaki farkın önemsiz olduğuna dair bulguları bu çalışmadaki bulgularla örtüşmektedir. Bununla birlikte

Toplam uçucu bazik azotun (TVB-N) belirlenmesi ilk olarak 1935'te Boury tarafından önerilmiş, günümüzde ise balığın bozulma derecesini tahmin etmede kullanılan en yaygın yöntemdir. Bununla birlikte TVB-N kalite analizi olarak bilinirken sağlık uzmanlarını tamamen tatmin etmemesine rağmen, birçok araştırmacı tarafından güvenli bir analiz olarak kabul edilmektedir (Malle ve Poumeyrol, 1989). TVB-N değerini balığın cinsi, avlanma mevsimi, beslenme durumu cinsiyeti ve yaşı gibi faktörler etkilemektedir (Özden ve Baygar, 2003).

Bazı araştırmacılar, TVB-N değerlerine göre su ürünlerinin kalite kriterlerini ortaya koymuşlardır. Buna göre 25 mg/100g “çok iyi”, 30 mg/100g “iyi”, 35 mg/100g “pazarlanabilir” ve 35 mg/100g’den fazla TVB-N içeren örnekler ise “bozulmuş” olarak tanımlanmıştır (Huss,1995; Keitzman ve ark.1969). Bunun yanı sıra, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından 1380 sayılı Su Ürünleri Kanunu’na istinaden hazırlanmış olan “Su Ürünleri Yönetmeliğinde”, taze ve soğutulmuş su ürünleri için TVB-N muhtevası 20 mg/100g’a kadar “uygun”, 20-28 mg/100g arası “kabul edilebilir” ve 28 mg /100g’dan yukarısı ise “kabul edilemez” değer olarak belirlenmiştir.

Aksu ve ark. (1997), marine edilmiş hamside 8,3 mg/100g olan TVB-N değerinin 150 günlük depolama sonunda 15,2 mg/100g değerine ulaştığını, benzer şekilde Dokuzlu (1997) hamsi marinatında 9,8 mg/100g olan TVB-N miktarının 8 ay ve 4°C yapılan depolama sonunda 14 mg/100g değerine ulaştığını kaydetmişlerdir.

Olgunoğlu (2007) ise hamsi marinatlarda yapmış olduğu çalışmasında depolama başlangıcında $11,90 \pm 0,70$ mg/100g olan TVB- N değerinin 7 aylık depolamanın sonunda $16,91 \pm 0,66$ mg/100g değerine ulaştığını bildirilmiştir.

Gökoğlu ve ark. (2004) iki farklı oranda olgunlaştırdığı marinatlarda, 1. grup marinatlarda TVB-N değerinin $9,3$ mg/100g'dan depolamanın 150. gününde $30,2$ mg/100g değerine, 2. grup marinatlarda ise $10,3$ mg/100g değerinden $23,3$ mg/100g değerine ulaştığını ve 150 günün sonunda tüketilebilir sınır değerler içinde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mevcut çalışmada ham materyaldeki TVB-N miktarı $14,01 \pm 0,00$ mg/100g olarak hesaplanırken bu değer 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $8,40 \pm 0,23$, $8,55 \pm 0,89$, $8,56 \pm 0,50$ olarak ölçülmüştür. Depolamanın sonunda ise depolanan marinatlarda salamurada, yağda ve vakum pakette sırasıyla $8,05 \pm 0,49$, $16,81 \pm 0,00$ ve $17,56 \pm 0,00$ mg/100g olarak ölçülmüştür. Bu değerler, su ürünleri kalite sınıflandırmasına göre 'çok iyi' durumda olduğu ve sınır değerlerinin çok altında kaldığı tespit edilmiştir. Bunun temel sebebi ise Özden ve Baygar (2003), Kılınç ve Çaklı (2004a), Varlık ve ark. (2000) ve Cadun ve ark (2008) tarafından belirtildiği gibi marinat tipi ürünlerde direkt bir sonuç vermemekte olup sonuçlar sınır değerinin çok altında kalmakta ve ortamın asidik yapısı ürünün bozulmasından sorumlu bir çok enzimatik ve mikrobiyolojik aktiviteyi durdurduğundan dolayı olabileceği ve bu tip ürünler için TVB-N analizi indikatör analiz olmadığı bildirilmiştir (Varlık ve ark., 2004).

Balıkların kaslarında doğal olarak bulunan Trimetilaminoksit (TMA-O), osmoregulator görevi yapan önemli bir bileşiktir. Deniz kökenli su ürünlerinde önemli olmasına karşın tatlı su kökenli su ürünlerinde yok denecek düzeydedir. Trimetilaminoksit (TMA-O) su ürünlerinin depolanmasında mikroorganizmaların ve trimetilaminmetilaz enziminin etkisi ile trimetilamin-azotuna (TMA-N) indirgenir. Trimetilamin (TMA-N) genellikle balıksı diye tanımlanan bir kokuya sahiptir ve bozulmayla paralel olarak miktarı artarak ürünün kokusunu ağırlaştırır (Kietzman, 1969). Şengör (2000) ise, TMA-N bileşiğinin balıksı koku ile ilişkisi olmasına rağmen tek başına bu kokuyu vermediği, ancak balıksı kokunun, TMA-N'nin balık kasındaki yağ ile reaksiyona girmesi sonucunda oluştuğunu belirtmektedir.

Taze su ürünlerinde TMA-N değerinin yaklaşık 1 mg/100g, bozulmuş örneklerde ise 8 mg/100g'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir (FAO, 1986). Bunun yanı sıra, su ürünlerinin TMA-N değerine göre kalite sınıflandırılmasında, 4 mg/100g TMA-N değerine kadar iyi,

10 mg/100g TMA-N'ya kadar pazarlanabilir, 12 mg/100g TMAN ve üzeri ise bozulmuş olarak sınıflandırılmaktadır (Nickerson ve Sinskey, 1972)

Yapar (1998) çalışmasında, 10 hafta süre ile depoladığı hamsi marinatlarda, 1. grupta TMA-N başlangıç miktarı 1,11 mg/100g olurken, depolama sonunda 4,07 mg/100g miktarına ulaşmış, 2. grupta ise başlangıç miktarı 1,26 mg/100g depolama sonunda 3,44 mg/ 100g olduğunu bildirilmiştir.

Aksu ve ark. (1997)'nin yaptıkları marine edilen hamside üç farklı asit-tuz derişimleri kullanılmış, A grubunda 4,37 mg/100g, B grubunda 3,70 mg/100g, C grubunda ise 3,60 mg/100g TMA-N değerine ulaştığını bulmuşlardır. Duyar ve Eke (2009) marine edilmiş hamsi ve palamut filetolarının TMA-N miktarının 0.günde sırasıyla 0,83ve 1,17 mg/100g olarak bulurken,170. günde ise $0,50\pm 0,13$ ve $0,80\pm 0,05$ mg/100g rapor etmişlerdir.

Sallam ve ark. (2005), %12 tuzlulukta %2'lik ve %3'lük asetik asit kullanarak marine etikleri Pasifik zarganası (*Cololabis saira*)'nın, TMA-N değerinin marinasyondan sonra gruplarda, 0,84, 0,69 ve 0,72 mg/100g olarak saptamışlardır. TMA-N seviyesindeki artışın oldukça yavaş olduğunu, 30., 40. ve 50. günlerde 2 mg/100g değerini aşmadığını, fakat depolamanın son periyodu olan 90. günde gruplarda 8,37, 5,52 ve 4,47 mg/100g seviyesine ulaştığını belirtmişlerdir.

Varlık ve ark. (2000) tarafından marine balık köftesinin raf ömrünü belirlemek için yapılan bir çalışmada ise, depolama başlangıcında 1,85 mg/100g olan TMA-N değerinin 150. günde 2,85 mg/100g'a ulaştığını bildirmişlerdir.

Kaya (2009)yaptığı çalışmada, 0. Günde, marine edilmiş soslu levrek, çipura ve karabalıkta sırasıyla, 1,87 mg/100g, 2,81 mg/100g, 2,77mg/100g TMA-N değerine ulaşırken, sade levrek, çipura ve karabalıkta marinatlarda sırasıyla 1,88, 2,83 ve 2,66 mg/100g TMA-N değerine ulaştığı bildirilmiştir. Depolamanın 200. gününde ise TMA-N değerleri, soslu marinatlarda yukarıdaki sıraya göre, 3,07, 3,12 ve 3,86 mg/100g seviyelerindeyken, sade marinatlarda ise sırasıyla 2,81, 2,97 ve 4,09 mg/100g olarak kaydedilmiştir.

Çalışmada taze tirsidede TMA-N miktarı $0,63\pm 0,01$ mg/100g olarak hesaplanırken bu değer 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $0,58\pm 0,02$, $0,60\pm 0,02$ ve $0,61\pm 0,02$ mg/100g olarak ölçülmüştür. Depolama sonuna kadar giderek artan TMA-N miktarı 7. aya gelindiğinde salamura, yağda ve vakum pakette sırasıyla $2,28\pm 0,04$, $2,53\pm 0,03$ ve $2,73\pm 0,04$ mg/100g olarak ölçülmüştür. Yukarıda belirtilen kalite kriterlerine

göre her üç paketleme yönteminin de gerek ham materyal kalitesinin, gerekse ham materyallerden elde edilen marinatların “iyi kalite” özelliği taşıdığı ortaya konulmuştur.

Çalışmada bazı araştırmacılarla farklılık göstermesini nedeni olarak, balıkların içerdiği TMA-N miktarı, mevsim ve yakalandığı bölge, tür, kas tipi ve işleme tekniklerine bağlı olarak değiştiği (Serdaroğlu ve Deniz, 2001) düşünülmektedir.

Yağlardaki acılaştırmanın belirlenmesi için kullanılan tiyobarbitürik asit (TBA) değerinin çok iyi bir materyalde 3'ten az, iyi bir materyalde 5'ten fazla olmaması gerektiği, TBA'nın balık etinde 4 mg malonaldehit/kg aştığı durumda acılaştırmanın başladığı tüketilebilirlik sınır değerinin ise 7–8 mg malonaldehit/kg arasında olduğu bildirilmiştir (Varlık ve ark., 1993a; Curran ve ark., 1980).

Olgunoğlu (2007) hamsi marinatlarında depolama başlangıcında 1,16 mg malonaldehit/kg olarak ölçtükleri TBA değerinin depolama boyunca düzenli bir artış gösterdiği, 7 aylık depolama sonunda ise 4,20 mg malonaldehit/kg seviyesine ulaştığını bildirmektedir.

Kılınç ve Çaklı (2005) domatesli pastörizasyonlu ve domatesli pastörizasyonsuz sardalye marinatlarını 4°C'de depolamışlar, başlangıç TBA değerlerini, domatesli ve domatesiz marinatta sırasıyla, 4,33 mg malonaldehit/kg ve 4,47 mg malonaldehit/kg olarak bildirmişlerdir. Çalışmanın 6 ay sonundaki TBA miktarlarının domatesli ve domatesiz marinatta sırasıyla 8,14 mg malonaldehit/kg ve 8,21 mg malonaldehit/kg'a kadar yükseldiğini ortaya koymuşlar. Erdem ve ark. (2005) marine ettikleri istavrit balığında, ham materyalde 0,54 mg malonaldehit/kg olarak belirledikleri TBA değerinin ürünün 90. gününde 4,09 mg malonaldehit/kg değerine ulaştığını ve iyi kalitede olduğunu, ancak depolamanın 120. gününde 8,97 mg malonaldehit/kg seviyesine çıktığını ve ürünün bozulduğunu belirtmişlerdir.

Sallam ve ark. (2005) farklı asit solüsyonlarında marine ettikleri pasifik zarganasının ham materyaldeki TBA değeri olarak buldukları 0,37 mg malonaldehit/kg seviyesinin, 90 günlük depolama boyunca 2,82 mg malonaldehit/kg değerini aşmadığı ve düzenli bir artışın olmamasına rağmen, ürünün iyi kalite niteliği taşıdığı vurgulanmıştır. Kaya (2009) ham materyalde TBA değerleri, levrek için 1,05, çipura için 0,19 ve karabalık için 1,24 mg malonaldehit/kg olarak bildirmiştir. Depolamanın 200. gününde ise, 7,99 mg malonaldehit/kg değeri ile soslu çipuranın en yüksek TBA değerine ulaştığı ve bunu 7,06 mg malonaldehit/kg değeriyle sade çipura marinatının izlediği kaydetmişlerdir.

Çalışmada elde edilen TBA değeri ham materyalde $0,99 \pm 0,01$ mg malonaldehit/kg, 0. günde salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla $1,03 \pm 0,02$, $1,18 \pm 0,09$ ve $1,10 \pm 0,03$ mg malonaldehit/kg olarak depolama sonunda ise sırasıyla $7,08 \pm 0,06$, $7,13 \pm 0,06$, $6,05 \pm 0,35$ mg malonaldehit/kg olarak hesaplanmıştır. Çalışmada elde edilen TBA değeri salamura ve yağdaki değerler tüketilebilirlik sınırını aşarken vakum paket marinatlarında bu değere ulaşmadığı görülmektedir. Bunun muhtemel sebebinin ise vakum paket uygulamasıyla sağlanan anaerobik ortam olduğu düşünülmektedir.

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

Gökoğlu (2003), marine edilmiş sardalya da (*Sardina pilchardus*) biyojenik amin değişimini belirlemek üzere yaptığı çalışmada, sardalya filetolarını %15 tuz ve %2 ile %4'lük asetik asit içerisinde oda sıcaklığında ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) 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 82,37 mg/kg, 127,21 mg/kg, 20,14 mg/kg ve 14,23 mg/kg olarak bildirmiştir. Filetolar %2'lik ve %4'lük solüsyonlarda 1 saat bekletildikten sonra, biyojenik amin içeriklerinde azalma gözlenmiş, ancak olgunlaşma tamamlandıktan sonra biyojenik amin seviyelerinin başlangıçtaki ve taze balıktaki miktara göre daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. %4'lük asetik asit içerisinde olgunlaştırılan filetolardaki en yüksek tyramin seviyesine 8. saatte ulaşılırken, daha sonra olgunlaşma bitene 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 en yüksek noktaya ulaşarak 1564 mg/kg olduğu bildirilmiştir. %4'lük asetik asit içerisindeki filetolarda putresin miktarında 4. ve 8. saatlerde artışın gözlendiği, 12. ve 16. saatlerde tekrar bir düşüşün yaşandığı ve olgunlaşma sonunda ise tekrar arttığı bildirilmiştir. Kadaverindeki değişimin de putresine benzer özellik taşıdığı ortaya konulmuştur. 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 sergilediği rapor edilmektedir.

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 ve salamurada paketlenen hamsi balıklarının yağda paketlenen hamsi balıklarına göre biyojenik amin değerlerinin daha sabit olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacıların yaptığı bir başka çalışmada spermidin ve sperminin gıdalarda doğal olarak oluşan biyojenik aminler olduğu, bunların oluşumunun bakteriyel bozulmayla ilişkili olmadığı ortaya konulmuştur (Veciana-Nogues ve ark., 1997).

Cascado ve ark. (2003), sirkede marine edilmiş hamside depolama süresince biyojenik aminlerde (tyramin, serotonin, putresin, kadaverin ve histamin) artışın olduğunu bildirmiş, serotonin haricinde oluşan aminlerin balıklarda bozulmayla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Marine edilmiş hamsinin depolama süresi boyunca histamin seviyesinin 1.37 ± 0.63 mg/kg'ın üzerine kadar çıktığını bildirirken, spermidin ve spermin seviyelerinin depolama süresince sabit kaldığı ortaya konulmuştur.

Auerswald ve ark., (2006)'de yaptıkları çalışmada, 17 farklı taze ve işlenmiş balık ürünündeki (taze, tuzlanmış, tütsülenmiş, kurutulmuş) histamin değerlerine bakılmıştır. Taze balıkların genelinde histamin değerinin 0-9 ppm arasında, işlenmiş ürünlerin genelinde ise 1-3 ppm arasında değiştiğini bununla beraber işlenmiş ürünlerden tuzlanmış tirsidede 47 ppm, tütsülenmiş kolyozda 50 ppm'den yüksek, kurutulmuş ton balığında da 8000 ppm seviyesinde olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada histamin değerinin sıcaklık ve zamana bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Mah ve ark., 2002'de Korede geleneksel yöntemlerle yapılmış 11 farklı tuzlanmış ve fermente edilmiş su ürününün biyojenik amin içeriğinin belirlenmesi için yaptıkları çalışma sonunda dokuz örnekteki biyojenik amin (putresin, histamin, kadaverin, spermidin, tyramin, spermin) miktarlarının 0-70 ppm arasında değiştiğini bununla beraber 4, 10, 15°C'lerde 20 gün depolama sonucunda artışın az olduğunu ancak 10. gün sonundaki kadaverin, histamin ve spermidin miktarlarındaki artışın önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Olgunoğlu (2007) marine edilmiş hamside, olgunlaştırma sonrası putresin, kadaverin ve histamin değerlerini sırasıyla $8,4 \pm 0,19$, $13,4 \pm 0,41$ ve $13,4 \pm 0,41$ mg/kg, 7 aylık depolama sonunda ise artış göstererek $17,0 \pm 0,19$, $25,6 \pm 0,12$ ve $34,5 \pm 2,00$ mg/kg olarak ölçüldüğünü belirtmiştir. Histamin konsantrasyonunun FDA tarafından toksik olarak

bildirilen 50 mg/kg'ın altında kaldığı ve marine edilmiş hamside kaliteyi belirlemede iyi bir indikatör olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte olgunlaştırma tamamlandıktan sonra spermin (8,4±0,74 mg/kg) ve spermidin (8,1±0,93 mg/kg) değerlerinde depolama sonuna kadar başlangıç değerlerini aşmadıkları kaydedilmiştir.

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

Çalışmada analiz edilen biyojenik amin değerlerinin ham materyalden 7. aya uzanan periyotta önemli ölçüde değişim göstermediği ortaya konulmuştur. Ham materyaldeki putresin, kadaverin ve histamin değerinin sırasıyla, 0,85±0,00 mg/kg, 1,95±0,06 mg/kg, 0,52±0,02 mg/kg olarak ölçülmüş, olgunlaştırma sonrası 0. günde putresin ve kadaverin değerleri düşüş göstermiş fakat histamin değeri yükselmiştir. Depolama sonuna ise kadar putresin değerleri artış göstererek salamura yağda ve vakum pakette sırasıyla 1,50±0,07 mg/kg 1,51±0,08 ve 1,43±0,18 mg/kg olarak ölçülmüştür. Kadaverin, salamura yağda ve vakum pakette aylar içinde değişkenlik gösterse de depolama sonunda sırasıyla 0,98±0,04, 2,28±0,04 ve 1,89±0,03 mg/kg değerlerine yükselmiştir. Histamin değeri depolama sonunda salamura yağ ve vakum pakette sırasıyla 2,41±0,08, 2,19±0,07 ve 2,09±0,08 mg/kg olarak ölçülmüştür. Depolama sonunda her üç paketleme yönteminde de histamin düzeyinin 3 mg/kg aşmadığı ortaya konmuştur. Elde edilen bu histamin değerlerinin, T.C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün, 1380 sayılı Su Ürünleri Kanuna göre belirlenen düzeyi (100 mg/kg) ve FDA tarafından kabul edilen toksik değer (50 mg/kg) oldukça altında kaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmadaki bulgular, tyramin, putresin, kadaverin ve histamin değerlerinde başlangıca göre gözlenen artış değerlendirildiğinde, araştırmacıların çeşitli balıklar üzerinde yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Tuzun su çekme özelliğinden dolayı balık etinin su aktivitesi (a_w) değeri düşmekte, böylece mikroorganizmaların ihtiyaç duyacağı su ortamda uzaklaşmaktadır. Bu etki kurumaya sebep olmaktadır. Aynı etki tuzlama başlangıcında osmotik basınçla suyun uzaklaşmasıyla meydana gelmektedir (Varlık ve ark., 2004). Çalışmada ham materyalde a_w değeri 0,995±0,001, 0. günde tüm paketleme yöntemlerinde a_w değeri 0,953±0,001 olarak hesaplanmıştır. Marinasyon sonrası a_w değerinin düşmesinin çoğu bakterilerde pH değerine de bağlı olarak üremenin durdurduğu veya sınırladığı bildirilmiştir (Huss ve ark., 2003). Depolama boyunca bu değerler çok fazla değişkenlik göstermemiş, depolama

sonunda ise salamura, yağda ve vakum pakette sırasıyla $0,939\pm 0,001$, $0,945\pm 0,001$ ve $0,943\pm 0,001$ olarak kaydedilmiştir. Yapılan bir çalışmada marine edilmiş levrek filetolarının, marine edildikten 3 gün sonra a_w değeri 0,987, 35 gün depolama sonunda ise a_w değeri düşerek 0,972 olarak bildirilmiştir (Giuffrida ve ark., 2007). Çalışmada elde ettiğimiz bulgular araştırmacıların elde ettiği bulgularla benzerlik göstermektedir.

Gıda endüstrisinde pH'nın belirlenmesi ve serbest değerde tutulması kalite kontrol ve işleme için önemli bir kriterdir (Olgunoğlu, 2007). Buna göre bir ürünün asiditesinin veya alkalinitesinin ölçüsü pH olarak bilinirken gıdalarda bu değer farklılık gösterir (McLay,1972). Gıdalar pH değerine göre 3,7 ile 5,3 arasında olan asitli gıdalar, 5,3'ün üzerinde olan düşük ya da asitsiz gıdalar olarak sınıflandırılmaktadır (Olgunoğlu, 2007).

Karl ve ark., (1995)'ne göre pH değeri mikrobiyal ve enzimatik aktiviteyi etkileyen önemli bir faktördür. Marinasyon sırasında taze balığın pH değeri önemli ölçüde düşmektedir. McLay (1972)'e göre çoğu gıdalarda bozulmalara ve zehirlenmelere neden olan bakterilerin çoğalması 4, 8 pH'da önlenir. Ludorf ve Meyer (1973) göre marine ürünlerde pH 4-4,5 arasındadır. Marinatlarda pH 4-4,5 aralığında tutulduğu zaman bozulmadan sorumlu bakteriler etkili bir şekilde engellenirse de mayaların, küflerin ve laktik asit bakterilerinin gelişebileceği ortam devam etmektedir. pH 2,5'ta küfler, 3,5'te laktik asit bakterileri, 4,2'de asideye dayanıklı saprofit çubuk şeklindeki bakteriler 4,5'te *Clostridium botulinum* ve aside duyarsız *Coli-aerogenes* gelişebilmektedir (Varlık ve Çaklı, 2004). Marinatlardaki asetik asit etkisiyle pH değeri 4,3 civarında olduğu için bu pH değeri proteazlar, özellikle de katepsin tipi enzimler için çok uygundur. Balık etine özel bu enzimlerin marinata özgü aromanın oluşumunda etkisi oldukça büyüktür (Özden ve Baygar, 2003).

Özden ve Baygar (2003), farklı paketledikleri marine edilmiş balıklardaki pH'nın olgunlaştırma işleminden 15 gün sonra $4,30\pm 0,01$ olduğunu tespit etmiş, 120.gün sonunda ise $4,54\pm 0,01$ olduğunu bildirmişlerdir. Poligne ve Collignan (2000) asetik asit içerisinde olgunlaştırdığı hamsi örneklerinde pH'nın 3,90'dan 4,21'e yükseldiğini ve daha sonra sabit kaldığını saptamışlardır. Yapar (1998) iki farklı olgunlaştırma çözeltisi kullandığı çalışmasında 1 grupta 1. haftada pH 4,50 olarak, depolama sonunda ise artarak 10. haftada 5,08 değerine, 2. grupta ise pH değerinin depolama başlangıcında 4,55'ten depolama sonu olan 10. haftada 5,02 değerine yükseldiğini bildirmiştir.

Çalışmada başlangıçta taze tirsidedeki pH değerleri $6,42\pm 0,02$ olarak hesaplanırken bu değer olgunlaştırma sonrası $4,23\pm 0,04$ değerinde, daha sonra salamura, yağ ve vakum

pakette depolanan marinatlarda depolama sonuna kadar bir miktar artmış bunlar sırasıyla $4,42\pm 0,03$, $4,72\pm 0,01$ ve $4,77\pm 0,01$ olarak ölçülmüştür. Çalışmada elde ettiğimiz bulgular ve değişimler araştırmacıların elde ettiği bulgular ve değişimlerle benzerlik göstermektedir.

Marinat yapımında kullanılan asetik asit, ürüne tipik ekşi lezzet ve aroma vermesinin yanı sıra materyalin olgunlaşması ve pH'nın dengesini sağlayarak mikroorganizma gelişimini engellemektedir. Asitlik derecesine göre 1.5'tan az asetik asit içeren marinatlar hafif ekşi, %1.5-2.0 asetik asit içeren normal, %2.0- 3.0 asetik asit içeren tam ekşi ve %3'ten fazla asetik asit içerenler ise aşırı ekşi olarak sınıflandırılmaktadır (Varlık ve ark., 2004)

Varlık ve ark. (1993a) tuz ve sirkenin balık etine geçişinin ilk 24 saat içerisinde hızlı bir şekilde gerçekleştiği bu geçişin daha sonraki saatlerde yavaş olarak gerçekleştiği vurgulanmışlardır. Bu geçiş süresinin genel olarak iki gün içerisinde tamamlanabileceği, fakat sıcaklığa ve et kalınlığına bağlı olarak değişim gösterebileceği bildirilmiştir (Dokuzlu, 1997).

Dokuzlu (1997), %12 tuz ve %4 asetik asit kullanarak $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat süreyle marine edilmiş hamsi filetoalarının depolama başlangıcında etteki asit oranı %1,34 olduğunu, 8 aylık depolamanın sonunda ise %1,48 değerine düştüğünü aynı zamanda depolama başlangıcında etteki tuz miktarı %4,07 olarak bildirilirken, depolama sonu olan 8. ayda %3,95 olduğu rapor edilmiştir. Erkan ve ark. (2000), paneli alabalık marinatlarının %10 tuz ve %2 sirke içeren salamurada 4°C 'de 24 saatte olgunlaştığını, balık etindeki asit miktarının başlangıçta %1,99 iken depolama sonunda %2,10 olarak değiştiğini bildirmişlerdir.

Cabrer ve ark. (2002), marine edilmiş hamsi balığında olgunlaşma süresi boyunca meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimlerin, tuz ve asetik asit seviyesindeki en önemli değişikliklerin 0 ile 24 saat arasında gerçekleştiğini rapor edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise alabalık marinatının olgunlaşma süresinin 4°C 'de 26 saat olduğu saptanmıştır (Gün, 1994).

Kılınç (2003)'nın %14 tuz ve %7 asetik asit kullanarak elde ettiği sardalya marinatlarında depolama başlangıcında %2,27 olan etteki asit oranının, depolama süresine bağlı olarak azaldığını ve 6 aylık depolamanın sonunda %1,85 değerine düştüğünü bildirmiştir. Aynı çalışmada %5,76 olarak bildirdikleri etteki tuz miktarının depolama boyunca azaldığı ve depolama sonu olan 6. ayda %5,27 olarak kaydedildiği belirtilmiştir.

Çalışmada, tirsı filetoları %4,5'lük alkol sirkesi, %10 tuzluluk ve %0,2 sitrik asit içeren salamurada $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat süreyle olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşma sonrası ve depolama süresince işlenen balık etlerinde kaydedilen asitlik miktarları başlangıçta %0,94 iken depolama sonu olan 7. ayda salamurada $1,6\pm 0,01$ iken yağ ve vakum pakette %1,65 olarak kaydedilmiştir. Bu değer, Varlık ve ark. (2004)'nın yaptığı sınıflandırmaya göre %1-2 arasında olduğu saptanmış olup, normal ekşi sınıfında yer aldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte balık etindeki tuz miktarı $4,15\pm 0,00$ iken depolama sonunda salamurada, yağda ve vakum pakette $6,32\pm 0,00$, $4,39\pm 0,08$ ve $4,51\pm 0,04$ olarak kaydedilmiştir. Olgunlaştırma sonrası salamuradaki asitlik miktarı $1,95\pm 0,16$ olarak kaydedilirken, olgunlaştırma sonrası salamuradaki tuz miktarı ise $6,98\pm 0,68$ olarak belirlenmiştir.

Çolakoglu (2004), farklı işleme teknikleriyle elde edilen son ürünlerin mikrobiyal sayısında, taze balık filetosuna kıyasla önemli ölçüde azalmalar olduğunu belirtirken, en az bakteri içeriğinin özellikle marinat teknolojisi ile elde edilen ürünlerde kaydedildiğini tespit etmişlerdir. Aerobik bakteri sayısı, ürünlerdeki mikroorganizma seviyesini gösteren bir indekstir. Balık ve su ürünlerindeki aerobik mikroorganizma sayısı kaliteyi, işleme sonrası kontaminasyonu ve depolama ömrünü göstermesi açısından faydalı olmasına karşılık, her cm^2 ve her gram başına düşen mikroorganizma sayısı ile raf ömrü arasındaki ilişki tam anlamıyla gıda güvenilirliği ile ilişkili değildir. Balık ve su ürünlerindeki toplam bakteri seviyesi çoğunlukla 10^4 - 10^5 kob/g arasında olmasına rağmen 10^6 - 10^8 kob/g mikroorganizma bulunan deniz ürünleri de mevcuttur (Nickelson ve Finne, 1992).

Sen ve Temelli (2003), soslu ve sebzeli marine hamside, marinasyondan sonra mikroorganizma sayılarında düşüş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Aksu ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada, marinasyon işleminin ilk gününde, 10^6 kob/g mezofilik bakteri sayısının 10^4 kob/g'a gerilediğini rapor etmişlerdir. Poligne ve Collignan (2000)'nin asetik asit, glukonik asit ve her iki asit çözeltilerinin birlikte kullanıldığı hızlı marinasyon tekniği ile hamside (*Engraulis engrasicolus*) yaptığı çalışmada, taze materyaldeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısını $1,5\times 10^3$ kob/g olarak bildirmişlerdir.

Özoğul ve ark. (2007)'nin kafadan bacaklılar, kabuklular ve eklem bacaklılardan elde edilen marinanatın bakteriyolojik değerlendirilmesi için yaptıkları araştırmada, TAMB sayısının 3 ayın sonunda 4 log kob/g, depolamanın sonunda ise 3 log kob/g değerinin altında kaldığını bildirmişlerdir. Cadun ve ark. (2008)'nin 40 gün süre ile

depoladıkları çimçim karides marinatında TAMB sayısını, antimikrobiyal ajan eklenmemiş marinatlarda $4,03 \pm 0,06$ log kob/g olarak bildirmişlerdir.

Fuselli ve ark. (2003), soğuk marine edilmiş hamsideki (*Engraulis anchoita*) tipik mikroorganizmaları saptamak için yaptıkları çalışmada ham maddede TAMB sayısını $2,2 \times 10^4$ kob/g ve TPB sayısını $1,9 \times 10^4$ kob/g olarak belirlemesine karşılık marinasyonun tamamlandığı safhada mikroorganizma yüküne rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Kılınç ve Çaklı (2005)'nin sardalyadan elde ettikleri marinatların raf ömrünü belirlemek için yaptıkları çalışmalarında, 6 aylık depolamanın sonunda pastörizasyon işlemi uygulanmamış grupta TAMB sayısını 6,36 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Olgunoğlu (2007), marine edilmiş hamsi balığında, ham materyalde TAMB sayısını 4,81 log kob/g olarak kaydederken depolama sonunda ise 4,66 log kob/g olarak rapor etmiştir.

Çalışmada ham materyalde toplam aerobik mezofilik ve piskrofilik bakteri sayısı sırasıyla $5,14 \pm 0,03$ ve $4,36$ log kob/g olarak kaydedilmiştir. Dondurulmuş ve marinasyon sonrası ise azalma göstermiş ve bu değerler aerobik mezofilik bakterilerde sırasıyla $3,11 \pm 0,01$ ve $2,91 \pm 0,03$ log kob/g piskrofilik bakterilerde ise $2,97 \pm 0,01$ ve $2,27 \pm 0,03$ log kob/g olarak kaydedilmiştir. Meydana gelen bu düşüşün tuz ve asitlilikten kaynaklandığını ve asetik asidin bakterileri azaltıcı etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Salmura, yağ ve vakum pakette 3 aydan sonra yükselişe geçmiş, depolama sonunda ise mezofilik bakteri sayısı salamura, yağ ve vakum pakette sırasıyla, $2,49 \pm 0,02$, $2,75 \pm 0,02$ ve $2,69 \pm 0,02$ log kob/g, piskrofilik bakteri sayısı ise aynı sırayla $2,24 \pm 0,06$, $2,62 \pm 0,04$ ve $2,58 \pm 0,12$ log kob/g, olarak kaydedilmiştir. Çalışmada elde edilen bakteriyel üreme kinetiği değerlendirildiğinde önceki çalışmalarla benzer nitelikte olduğu görülmektedir.

Fuselli ve ark. (1998)'nin marine edilmiş hamside, Cadun ve ark. (2008) marine çimçim karidesde, Kılınç ve Çaklı (2005) domates soslu marine sardalyede ve Olgunoğlu (2007) marine edilmiş hamside yaptıkları çalışmalarda depolama boyunca maya ve küf üremesinin görülmediğini rapor etmişlerdir.

Çalışmada mikrobiyal kaliteyi belirlemek üzere toplam aerop mezofilik ve psikrofilik bakteri, koliform ve maya küf sayıları bakımından 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.

Çalışmada ham materyallerde ve depolama süresince maya-küf izole edilmemiştir. Bunun nedeninin marinasyon işleminin pH aralığı ve su aktivitesi değerleri bakımından

maya ve küflerin üreyebileceği optimum şartlarda olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Nivens agarda üreyen bakterilerin identifikasyonu, 16S rDNA üniversal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR çalışmasından elde edilen ürünlerin dizi analizi yaptırılarak gen bankasında BLAST fonksiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. BLAST sonuçlarının biyokimyasal verilerle de örtüştüğü gözlenirken sonuç olarak 37 farklı bakteri türünün varlığı ortaya konulmuştur. Buna ilaveten HDC (histidine decarboxylase) geni spesifik primerler kullanılarak yapılan PZR çalışmalarına göre 5 farklı türün HDC genine sahip olduğu, dolayısıyla histidin amino asidini histamine dönüştürebildiğini ortaya koydu. Bu bakterilerin *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve bir adette kültür alınarak tanımlanmamış bir bakteri (uncultured bacterium) olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan identifikasyon çalışmaları ve HDC spesifik PZR çalışmaları, Niven's agarda üreyen tüm bakterilerin histamin üretmediğini ortaya koymuştur. Bu nedenle kültürde yapılan bakteri sayımının doğrudan histamin üreten bakteri olarak değerlendirilmesinin çok gerçekçi olmadığı düşünülmektedir.

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

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

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

Genel olarak 'kalite' balığın tazeliğini, bozulmaya uğramış balığın bozulma derecesini ya da estetik görünüşünü ifade etmektedir (Huss, 1995). Gıdaların kalite kontrolünde duyu analizi, 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, duyu özellikleri açısından kabul edilemez nitelik taşıyorsa bu ürün tüketilemez olarak değerlendirilir (Huss, 1995; Özden ve Baygar, 2003).

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. Ayrıca lezzetin tekstüre göre çok daha önemli olduğu bildirilmiştir. (Olgunoğlu, 2007).

Görünüş açısından panelistlerin puanlamalarına göre en çok kabul gören paketlemenin salamura, en az kabul görenin ise vakum paket ise vakum paketlemenin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca koku, lezzet ve tekstür bakımından en çok beğeni gören yağda en az kabul gören ise vakum paket olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte

Duyusal analiz sonuçlarına göre, lezzet bakımından salamura tirsisi marinatının depolama başlangıcında 3. aya kadar, 'çok iyi' kalite özelliğini koruduğu, 4 aydan 6. aya kadar 'iyi' kalitede, depolama sonu olan 7. ayda ise tüketilebilir olduğu saptanmıştır.

Yağda tisi marinatlarının ise 4 ay kadar ‘çok iyi’ kalitede olduğu ve 5. aydan sonra ise ‘iyi’ kalitede ürün niteliği taşıdığı belirlenmiştir. Vakum paket tirsı marinatlarında ise 3. aya ‘çok iyi’ kalite özelliğini koruduğu, 4. aydan 5. aya kadar ise “iyi” kalitede 6. ayda tüketilebilir değerde olduğu 7. ayda ise kabul edilemez kalitede olduğu kaydedilmiştir.

Yapılan bir çok araştırmada marine ürünlerin raf ömrünün 3 ile 6 ay arasında olduğu bildirilirken (Erdem ve ark., 2005; Erkan ve ark., 2000; Varlık ve ark., 2000; Özden ve Baygar, 2003; Kılınç ve Çaklı, 2005) elde edilen bulgular Türk Gıda Kodeksinin Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliğine (T.C Resmi Gazete, 2000).göre uygun olarak kullanılan pH düzenleyici ve kullanılan materyalin iyi kalitede olması, bununla birlikte depolama sıcaklığının, raf ömrüne etkisinin önemli olduğu ortaya konulmuş ve marine edilerek farklı paketlenen tirsı marinatlarının yağda ve salamura paketlemenin 7 aylık raf ömrünün olduğu vakum paketin ise 6 aylık raf ömrünün olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte lezzet bakımından 7 aylık uzun depolama şartlarında en çok beğenilen marinatin yağda olduğu, 3 aylık kısa depolama şartlarında ise vakum paket marinatlarının beğenildiği belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada marine edilerek farklı paketlenen tirsi (*Alosa immaculata*) filetolarında bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal değişimler incelenmiştir. Bu çalışma ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda belirtilmiştir.

Elde edilen besin değerleri farklı araştırmacılar tarafından bildirilen taze tirsidedeki oranlarla benzerlik göstermekte ve verilen bu değerler hazır yiyecek sınıfında protein bakımından tirsi balıklarının çok iyi bir besin kaynağı olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmada verilen brüt ağırlık üzerinden randıman değeri %50,96 olarak bulunmuştur.

Çalışmada ham materyalde TMA-N değeri ‘çok iyi’ ürün kalitesinde olduğu belirlenmiştir. TMA-N miktarı, marinat işleminde sonra giderek artan 7. aya gelindiğinde ise her üç paketlenme yönteminin 3 mg/100g değerini aşmadığı buna bağlı olarak belirtilen kalite kriterlerine göre “iyi kalite” özelliği taşıdığı ortaya konmuştur.

Araştırmada TBA değerlerindeki artışın depolama başlangıcından çalışmanın sonuçlandığı aya kadar artışın devam ettiği, depolama sonunda ise salamurada ve yağda paketlenen marinatların vakum paket marinatlarından daha yüksek olduğu ayrıca salamurada ve yağda paketlenen marinatların tüketilebilir sınır değerde olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada su aktivitesi değerleri olgunlaştırma sonrası oldukça düşmüştür. Bununla birlikte depolama süresi boyunca a_w 'nin değişmediği görülmektedir.

Marinasyon işleminde sonra asetik asit etkisiyle balık etinde pH değeri hızlı bir düşüş göstermiştir. Farklı paketlenme yapılan marinatlarda depolama boyunca pH değeri yükseldiği bulunmuştur.

Çalışmamızda elde edilen balık etindeki % asit ve % tuz için bulgular araştırmacıların yaptıkları çalışmalarla örtüşmediği görülmüştür. Bunun nedeninin, marinatın olgunlaşmasında kullanılan asit-tuz derişimleri, kullanılan materyalin farklılığı ve işleme yöntemi olabileceği düşünülmektedir.

Marine edildikten sonra üç farklı yöntemle paketlenen tirsi filetolarında ham materyalde ve depolama boyunca belirlenen biyojenik aminler triptamin, β -feniletülin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin olmuştur. Çalışmada analiz

edilen biyojenik amin değerlerinin ham materyalden 7. aya uzanan periyotta önemli ölçüde değişim göstermediği ortaya konulmuştur.

Çalışma başlangıcında, histamin $0,52 \pm 0,02$ mg/kg değerde olup, depolama sonunda her üç paketleme yönteminde de histamin düzeyinin 3 mg/kg aşmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak başlangıç materyali olarak kullanılacak balığın kalitesi ve depoma sıcaklığı, depolama sonuna kadar oluşacak histamin konsantrasyonunu doğrudan etkileyeceği ve bununla diğer aminler üzerinde etki yaptığı ortaya konmuştur.

Mikrobiyolojik açıdan bakıldığında marinatin ham materyaldeki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, psikrofil bakteri sayısı ve histamin üreten bakteriler üzerine azaltıcı etkisinin olduğunu, bunun temel sebebi marinasyon işleminde kullanılan asetik asidin etkisi sonucunda gözlenen hızlı pH düşüklüğünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte çalışma süresince maya ve küf sayısı ve koliform bulunmamıştır.

Çalışmada izole edilen ve HDC genine sahip bakteriler incelendiğinde zayıf HDC aktivitesine sahip olan türler oldukları görülmektedir. Bakteriyolojik bulgular biyojenik amin değerlerinin ölçümüyle de desteklenmektedir. Bununla birlikte ham materyaldeki bakteriyel floranın değişkenlik gösteren bir faktör olduğu her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak yapılan çalışmada zayıf HDC aktivitesine sahip *Pantoea agglomerans*, *Shewanella baltica*, *Brevundimonas diminuta*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter calcoaceticus* ve bir adette kültür alınarak tanımlanmamış bir bakteri (uncultured bacterium) izole edilmiştir. Bu yönüyle ülkemizde yapılan ilk çalışma niteliğindedir.

Marine edilerek farklı paketlenen tirsli marinatlarının yağda ve salamura paketlemenin 7 aylık raf ömrünün olduğu vakum paketin ise 6 aylık raf ömrünün olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tirsli balığının genel özelliği olan kılçıklı yapısı marinatla tamamen kaybolmuş lezzet bakımından 7 aylık uzun depolama şartlarında en çok beğenilen marinatin yağda olduğu, 3 aylık kısa depolama şartlarında ise vakum paket marinatlarının beğenildiği belirlenmiştir.

Son yıllarda milli gelir artışı ve tüketicinin alım gücünün artması, kırsal kesimden göçler sonucu hızla artan şehir nüfusu ve değişen yaşam tarzları, ayrıca hemen hemen her yerleşim biriminde açılan büyük alışveriş merkezlerinde etkisiyle, taze ya da işlenmiş balık tüketimi ülkemizde giderek artmaktadır. Buna ilaveten ülkemiz su ürünleri üretimi bakımından her geçen yıl üretim miktarını artırmaktadır. İşlenmiş balık ürünleri önceki

yıllara oranla çok daha fazla ve çeşitli olarak tezgâhlarda boy göstermektedir. Bu bağlamda değerlendirildiğinde tirsî marinatı da önemli bir alternatif olabilme potansiyeline sahiptir.

Farklı bir tat ve uzun süreli bozulmadan dayandığı için tirsî marinatları iyi bir ürün olarak işleme sektöründe kullanılabilir. Çalışmada denenen metotlardan farklı olarak marinyon oranlarının denenerek kalite üzerindeki etkileri araştırılabilir. Bununla birlikte tirsî marinatlarına farklı sos ve sebzeler kullanılarak kalite değişimleri ve raf ömrü çalışmalarda yapılabilir.

Balık işleme sektöründe, alternatif türlerin gerekliliği ve raf ömrü çalışmalarında farklı paketlenme ve muhafaza teknikleri kullanım ve potansiyellerinin iyi değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca bu çalışmanın, bu alanda faaliyet gösteren işletmelere ve konu ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı, böylece ülkemize faydalı bir kaynak oluşturacağı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Ababouch L., Afilal M., Benabdeljelil H., and Busta F., 1991. Quantitative Changes in Bacteria, Amino Acids and Biogenic Amines in Sardine (*Sardine Pilchardus*) Stored at ambient temperature (25–28°C) and in ice, Int. J. Food Sci. Tech., 26, 297–306.

Akşiray, F., 1987. Türkiye Deniz Balıkları ve Tayin Anahtarı. İstanbul: İ. Ü. Rektörlüğü Yayınları 2. Baskı No: 3490 811 s.

Aksu, H., Erkan, N., Çolak, H., Varlık, C., Gökoğlu, N., Uğur, M., 1997. Farklı Asit Tuz Konsantrasyonlarıyla Hamsi Marinatı Üetimi Esnasında Oluşan Bazı Değişiklikler ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8, 83-87.

Andrighetto, C., Lombardi, A., Ferrati, M., Guidi, A., Corrain, C., Arcangeli, G., 2009. Lactic Acid Bacteria Biodiversity in Italian Marinated Seafood Salad and Their Interactions on the growth of *Listeria Monocytogenes*. Food Control, 20, 462-468.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. Association of Analytical Chemists. Washington DC., 14th Edition, pp., 162

Arda, M., 2000. Temel Mikrobiyoloji; Genişletilmiş İkinci Baskı. Medisan Yayın Serisi No 46, Ankara, 358 s.

Auerswald, L., Morren, C., and Lopata, A. .L., 2006. Histamine Levels in Seventeen Species of Fresh and Processed South African Seafood. Food Chemistry, 98, 231–239.

Bilgehan, H., 1995. Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Baskı, Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, Ankara, 641–705 s.

Boran, G. ve Karaçam H., 2011. Seasonal Changes in Proximate Composition of Some Fish Species from The Black Sea. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 11, 01-05.

Cabrer, A.I., Casales, M.R., Yeannes, M.I., 2002. Physical and Chemical Change İn Anchovy (*Engraulis Anchoita*) Flesh during Marination. Journal of Aquatic Food Product Technology, 11, 19-31.

Cadun, A., 2002. Çimçim Karidesten (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) Marinat Yapımı ve Kalitesi Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Cadun, A., Kışla, D., and Çaklı, Ş., 2008. Marination Of Deep-Water Pink Shrimp with Resemary Extract and The Determination of its Shelf-Life. Food Chemistry, 109, 81-87.

Cascado, S.P.S., Veciana-Nogues, M.T. and Vidal-Carou, M.C., 2003. Effect of delayed gutting on biogenic amine contents during ripening of European anchovies. European Food Research and Technology, 216, 489–493.

Çelik, U. 2004. Marine Edilmiş Akivides (*Tapes decussatus* Lucas, 1758)'in Kimyasal Kompozisyonu ve Duyusal Analizi. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 21 (3-4), 219-221.

Ciolac, A., 2004. Migration of fishes in Romania Danube River. Applied Ecol. Environ. Res., 2, 143-163.

Clucas, I.J. and Ward A.R. 1991. Marinades. Post-Harvest Fisheries Development: A Guide to Handling Preservation Processing and Quality. Natural Resources Institute (NRI), Chatham, UK., pp., 443.

Çolakoğlu, F.A., 2004. Farklı İşleme Teknolojilerinin Kızılğöz (*Rutilus rutilus*) ve Beyaz Balık (*Coregenus sp.*) Mikroflorası Üzerine Etkisi. Turk. J.Vet.Anim. Sci, 28, 239-247.

Curran, C.A., Nicoladies, L., Poulter, R.G., and Pors, J., 1980. Spoilage of Fish from Hong Kong at Different Storage Temperatures. Trop Sci, 22, 367-382.

Dokuzlu, C. 1997. Marinat Hamsi Üretimi Sırasında Kullanılan Asit-Tuz Oranlarının Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkileri ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 28, 81-90.

Duyar, H.A., and Eke, E., 2009. Production and Quality Determination of Marinade from Different Fish Species. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8, 270-275.

EC, 2004. Corrigendum to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004. Laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Section VIII, L 226/67.

Erdem, M.E., Bilgin, S. ve Çağlak, E., 2005. Tuzlama ve Marinasyon Yöntemleri İle İşlenmiş İstavrit Balığının (*Trachurus mediterraneus*) Muhafazası Sırasındaki Kalite Değişimleri. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 20, 1-6.

Ergüden, D., 2007. Türkiye Denizlerindeki Tirsilerin (*Alosa spp.*) Moleküler Sisitematiği. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Erkan, N., Mol, S., Varlık, C., Baygar, T., Özden, Ö., Gün, H., ve Kalafatoğlu, H., 2000. Modifiye Atmosferle Paketlemenin (MAP) Paneli Alabalık Marinatlarının Raf Ömrü Üzerine Etkisi. Turk. J.Vet.Anim. Sci, 24, 585-591.

FAO., 1986. Food and Nutrition Paper Manuals of Food Quality Control Food Analysis: Quality, Adulteration, and Tests of Identity. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Fernández, M.B.D.R., Linares, D.M., Martín, M.C. and Álvarez, M.A., 2006. Real-Time Polymerase Chain Reaction for Quantitative Detection of Histamine-Producing Bacteria: use in Cheese Production. Journal of Dairy Science, 89, 3763-3769.

Flick, G.J., Oria P., and Douglas L., 2001. Potential Hazards in Cold-Smoked Fish: Biogenic Amines. Journal of Food Science, 66, 1088-1099.

Frank, H.A., 1985. Histamine-Forming Bacteria in Tuna and other Marine Fish, Histamine in Marine Products: Production by Bacteria, Measurement and Prediction of Formation. eds: Pan B.S and James D, FAO Fish Technical Paper, Rome.

Fuselli, S.R., Casales, M.R., Fritz, R., and Yeannes, M.I., 1998. Isolation and Characterization of Microorganisms Associated with Marinated Anchovy (*Engraulis anchoita*). Journal of Aquatic Food Product Technology, 7, 29-38.

Fuselli, S.R., Casales, M.R., Fritz, R., and Yeannes, M.I., 2003. Typical Microorganisms in Cold Marinated Anchovies (*Engraulis anchoita*) Fillet with Corn Oil and Spices. Journal of Aquatic Food Product Technology, 12, 55-64.

Giuffrida, A., Ziino, G., Orlando, G., and Panebianco, A., 2007. Hygienic Evaluation of Marinated Sea Bass and Challenge Test for *Listeria monocytogenes*. Veterinary Research Communications, 31, 367-371.

Gökoğlu, N., 2003. Changes in Biogenic Amines during Maturation of Sardine (*Sardina pilchardus*) Marinade. Fisheries Science, 69, 823-829.

Gökoğlu, N., Cengiz, E., and Yerlikaya, P., 2004. Determination of The Shelf Life of Marinated Sardine (*Sardina pilchardus*) Stored at 4 °C. Food Control, 15, 1-4.

Gökoğlu, N., Topuz, O.K., and Yerlikaya, P., 2009. Effects of pomegranate sause on quality of marinated anchovy during refrigerated storage. LWT- Food Science and Technology, 42, 113-118.

Gram, L., and Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria -problems and solutions. Environmental Biotechnology, 33, 262-266.

Gram, L., and Huss, H.H, 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology, 33, 121-137.

Gün, H., Gökoğlu, N., ve Varlık, C., 1994. Alabalık (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1972) Marinatlarda Olgunlaşma Süresinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 22, 1-2.

Güner, S., Dinçer, B., Alemdag, N., Colak, A. and Tufekci, M. 1998. Proximate composition and selected mineral content of commercially important fish species from the Black Sea. Journal of the Science of Food and Agriculture, 78, 337-342.

Halkman, A., 2005. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları. Merck, Başak Matb., Ankara 358 s.

Harrigan, W.F., McCance, M.E., 1976. "Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology". Academic Press Inc., London, pp., 464 .

Huss, H.H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. Rome, pp., 132.

Huss, H.H., Ababouch, L., and Gram, L., 2003. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO, Rome, pp., 230.

İnal, T., 1992. Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset. Genişletilmiş 2. Baskı İstanbul, 783 s.

James, G., 2010. PCR for Clinical Microbiology. Springer Netherlands, Dordrecht, pp., 212.

Jørgensen, L.V., Dalgaard, P. and Huss, H.H., 2000. Multiple Compound Quality Index for Cold-Smoked Salmon (*Salmo salar*) Developed by Multivariate Regression of Biogenic Amines and pH. J. Agric. Food Chem., 48, 2448-2453.

Karl, H., 1994. "Überlegungen zur Berechnung der Salz – und Sauregehalte im Fishgewebewasser von Marinierten Fischereierzeugnissen". Infn Fischw, 47-59.

Karl, H., Roepstorf A., Huss H.H and Bloemsma B., 1995. "Survival of *Anisakis* Larvae in Marinated Herring Fillets", Int. J. Food Sci. Teechn, 29: 661-670.

Kaya, G.K., 2009. Marine Edilmiş Levrek (*Dicentrarchus labrax* (L., 1758)), Çipura (*Sparus aurata* (L., 1758)) ve Karabalıkta (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) depolama Süresince Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.

Kaya, G.K., Gözü, B.B., and Baştürk, Ö., 2010. The Investigation of Quality Changes in Marinades Obtained from Frozen African Catfish. Journal of Food Technology, 8, 200-203.

Kietzman, U., Priebe, K., Rakov, D., and Reichstein, K., 1969. Seefisch als Lebensmittel. Paul Parey Verlag, Berlin, pp., 100.

Kılınç, B., 2003. Sardalya Balığından (*Sardina pilchardus*, W., 1792) Marinat Üretimi ve Raf Ömrü Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Kılınç, B., and Çaklı, S., 2004. Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. Food Chemistry, 88, 275-280.

Kılınç, B., ve Çaklı, Ş., 2005. Determination of the shelf life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4 ° C. Food Control, 16, 639 – 644.

Kılınç, B., ve Çaklı, Ş., 2004. Marinat Teknolojisi. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 21(1-2), 153-156.

Kim, S.H., Barros-Velazquez J, Ben-Gigrey B, Eun JB, Jun SH, and Wie CI, HJ., 2003. Identification of the main bacteria contributing to histamine formation in seafood to ensure product safety. Food Science and Biotechnology, 12, 451-460.

Koral S., 2006. Tütsülenmiş ve tütsülenmemiş kefal (*Mugil so-iuy*, Basilewski,1855) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch, 1838) balıklarının oda ve buzdolabı koşullarındaki kalite değişimlerinin belirlenmesi. KTÜ Fen Bilimleri Enst., Yüksek Lisans Tezi

Lehane L., and Olley, J., 2000. Histamine (scombroid) fish poisoning. A review in a risk-assessment framework. National office of animal and plant health, Canberra 1999.

Ludorff, W., and Meyer,V., 1973. *Fishe und Fisherzeuge.Z.Auflage*. Verlag Paul Parey In Berlin und Hamburg, pp., 209-210.

Mah, J.H., Han, H.K., Oh, Y.J., Kim, M.G., and Hwang, H.J., 2002. Biogenic amines in jeotkals, korean salted and fermented fish products. Food Chemistry, 79, 239–243.

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, 419-423.

Marino, M., Maifreni, M., Moret, S., and Rondinini, G., 2000. The capacity of enterobacteriaceae species to produce biogenic amines in cheese. Letters in Applied Microbiology, 31, 169-173.

Masson, F., Lebert, A., Talon, R., and Montel, M. C., 1997. Effects of physico-chemical factors influencing tyramine production by *Carnobacterium divergens*. J.App. Microbiol. 83, 36-42.

Mclay, R.T., 1972. Marinades. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Torry Advisory Note.

Nickerson, T. N., and Sinskey, A. J. 1972. *Microbiology of Foods and Food processing* American Elsevier Pub. Co., New York, pp., 306.

Nickelson, R., and Finne, G., 1992. Fish, crustaceans, and precooked seafoods Ch. 47. In *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd ed., C. Vanderzant and D. F. Splittstoesser (Ed.). American Public Health Association, Washington, DC., pp., 875-895.

Niven, C.F.Jr., Jeffrey, M.B., and Corlett, D.A.Jr., 1981. Different plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 41, 321-322.

Norwitz, W., 1970. Drained weight determination of frozen glazed fish and other marine products. *Method of Analysis of the AOAC.*, pp., 339.

Olafsdottir, G., Nesvadba, P., Natale, C.D., Careche, M., Oehlenschläger, J., Tryggvadóttir, S.V., Schubring, R., Kroeger, M., Heia, K., Esaiassen, M., Macagnano, A.,

and Jørgensen, B.M., 2004. MultiSensor For Fish Quality Determination. Trends in Food Science and Tenology, 15, 86-93.

Olgunoğlu, I., 2007. Marine edilmiş hamside (*Engraulis engrasicholus*) duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimleri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Ovayolu, H., 1997. Marine Edilmiş Hamsilerde Depolama Süresinde Yağ Asitleri Değişimlerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

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.

Özden, Ö., and Baygar, T., 2003. The Effect of Different Packaging Methods on Some Quality Criteria of Marinated Fish. Türk J.Vet.Anin.Sci, 27, 899-906.

Özoğul, F., Taylor,K.D.A., Quantick,P., and Özoğul,Y., 2002. Changes in Biogenic Amines in Herring Stored under Modified Atmosphere and Vacuum Pack. J. Food Sci., 67, 2497-2501.

Özoğul, Y., Özoğul, F., Olgunoğlu,İ., and Esmeray, K., 2007. Bacteriological and Biochemical Assessment of Marinating Cephalopods, Crustaceans and Gastropoda During 24 week of Storage. International J. of Food Sciences and Nutrition, 59, 465-476.

Poligne, I., and Collignan, A., 2000. Quick Marination of Anchovies (*Engraulis enchrasicolus*) Using Acetic and Gluconic Asids. Ouality and Stability of the Product. Lebensm.-Wiss.u.-Technol., 33, 202-209.

Rodriguez-Jerez, J.J, Lopez-Sabater, E.I., Roig-Sagues, A.X., and Mora-Ventura, M.T., 1994. Histamine, Cadaverine and Putrescine Forming Bacteria from Ripened Spanish Semi-preserved Anchovies. Journal of Food Science, 59, 998-1001

Sallam, Kh.I., Ahmed, A.M., Elgazzar, M.M., and Eldaly, E.A., 2005. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4 °C. Food Chemistry, 102, 1061-1070.

Schormüller, J. (1968). Handbuch der lebensmittelchemie (Band III/2). Berlin–Heidelberg–New York: Springer-Verlag, pp.,1341-1397.

Sen, M.K.C., and Temelli, S., 2003. Microbiological and chemical qualities of marinated anchovy prepared with different vegetable additives and sauce. Revue Méd. Vét., 154, 703-707.

Senöz, B., Isıklı, N., and Çoksöyler, N., 2000. Biogenic Amines in Turkish Sausages (Sucuks). JFS: Food Chemistry and Toxicology. 65, 764-767.

Serdaroğlu, M. ve Deniz, E.E., 2001. Balıklarda ve Bazı su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 3-4, 575-581.

Shenderyuk, V.I., and Bykowski, P.J., 1989. Salting and Marinating of Fish. In: *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*, Sikorski, Z.E. (Ed.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp., 147-162.

Smith, G., Hole, M., and Hanson, S.W., 1992. Assessment of lipid oxidation in Indonesian salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 51, 193-205.

Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı, 2000. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 229 s.

Sümbüloğlu, K. ve Sümbüloğlu, V., 2000. Biyoistatistik, Hatiboğlu Yayınları:53, 9. Baskı, Ankara, 269 s.

Şengör, G.F., 2000. Buzdolabı Koşullarında Depolanan İstavrit Balığı (*Trachurus trachurus*)'nın Tazeliğinin ve Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi. Turk J. Vet. Anim. Sci., 24, 187-193.

Takahashi, H., Kimura, B., Yoshikawa, M., and Fujii, T., 2003. Cloning and sequencing of the histidine decarboxylase genes of gram-negative, histamineproducing bacteria and their application in detection and identification of these organisms in fish. Applied and Environmental Microbiology, 69, 2568–2578.

Tarladgis, B.G., Margaret B.M., Younathan, T., and Dugan, L., 1960. Distillation method for the determination of manolaldehyde in rancid foods. J. Amer. Oil. Chem. Soc., 37, 44-48.

Taylor S.L., 1986. Histamine poisoning: Toxicology and clinical aspects. CRC Crit. Rev. Toxicol., 17, 91–128.

Taylor, S.L., Guthertz, L.S., Leatherwood, M., and Lieber, E.R., 1979. Histamine Production by *Klebsiella pneumoniae* and an Incident of Scombroid Fish Poisoning. Applied and Environmental Microbiology, 37, 274-278.

T.C Resmi Gazete, 2000. Türk Gıda Kodeksi-Et Ürünleri Tebliği. (23960 mükerrer), 10.02.2000, 4-5.

T.C. Resmi Gazete, 2003. Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği.(25324 Mükerrer), 22.12.2003 10-11.

Tırakoğlu, T. (2003). Farklı Yöntemlerle Depolanan ve Marinat Hamsi Üretiminde Kullanılan Hamsinin Tazeliğinin Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkilerinin Saptanması. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

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.

Toyohara, M., Murata, M., Ando, M., Kubota, S., Sakaguchi, M., and Toyohara, H., 1999. Texture Changes Associated with Insolubilization of Sarcoplasmic Proteins during Salt-Vinegar Curing of Fish. Journal of Food Science, 64, 804-807.

Tsai, Y.H., Kung, H.F, Lee, T.M., Chen, H.C., Chou, S.S., Wei, C.I. and Hwang, D.F., 2005. Determination of histamine in canned mackerel implicated in a food borne poisoning. Food Control, 16 (7), 579–585.

TS 1880 EN13188, 2003. Sirke-Tarım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün-Tarifler, Özellikler, İşaretleme. T.S.E., Ankara, 6 s.

TÜİK, 2011. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

Varlık, C., Erkan, N., Metin, S., Baygar, T., ve Özden, Ö., 2000. Marine Balık Köftesinin Raf Ömrünün Belirlenmesi. Türk J.Vet Anim Sci, 24, 593-597.

Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., ve Baygar, T., 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul 456 s.

Varlık, C., Gökoğlu, N., ve Gün H., 1993a. Marinat Üretiminde Sıcaklığın Sirke/Tuz Geçiş Üzerine Etkisi. Gıda, 18, 223-228.

Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., ve Gün, H., 1993b. Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:17, İstanbul, 174 s.

Veciana-Nogues, M. T., Mariné-Font, A., and Vidal Carou, M. C., 1997. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes. Journal of Agricultural Food Chemistry, 45, 2036–2041.

Veciana-Nogues, M.T., Albala, H. S., Marine, F. A., and Vidal-Carou,M.C., 1996. Changes in Biogenic Amines During the Manufacture and Storage of Semipreserved Anchovies. Journal of Food Protection, 59, 1218-1222.

Vergara, A., Ianieri, A., Colavita, G., and Paparella, A., 2003. Behaviour of *Listeria monocytogenes* in anchovies during marination. Vet Res Commun, 1, 319-321.

Whittle, K.J., 2002. Glossary of Fish Technology Terms. Prepared under contract to the Fisheries Industries Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, pp., 63.

Yapar, A. 1998. İki farklı olgunlaştırma çözültisi kullanılarak hazırlanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linn.,1758) marinatlarında bazı kalite değişimleri. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 15, 1-7.

ÖZGEÇMİŞ

30 Temmuz 1984 yılında Kerkük/IRAK'ta doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2007 eğitim öğretim yılında K.T.Ü Rize Su Ürünleri Fakültesini bittirdi. 2007 yılında R.Ü. Su Ürünleri Fakültesinde Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2010 yılında R.Ü. Su Ürünleri Fakültesinde araştırma görevlisi olarak atandı. Halen aynı fakültede araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir. Evlidir.