

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ BALIK  
MARİNATINDA PSİKROTOLERANT BİYOJEN AMİN ÜRETEN  
BAKTERİLER VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

İLKNUR UÇAK

DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2015

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ BALIK  
MARİNATINDA PSİKROTOLERANT BİYOJEN AMİN ÜRETEEN  
BAKTERİLER VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

İLKNUR UÇAK

DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez TUBİTAK 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı,  
DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst-German Academic Exchange  
Service) Doktora Araştırma Bursu ve FDK-2015-273 proje numarasıyla Akdeniz  
Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

2015

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ BALIK  
MARİNATINDA PSİKROTOLERANT BİYOJEN AMİN ÜRETEN  
BAKTERİLER VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

İLKNUR UÇAK

DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 01/12/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof Dr. Nalan GÖKOĞLU (Danışman) 

Prof Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN 

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN 

Doç. Dr. Pınar YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU 

Doç. Dr. Nermin BERİK 

## ÖZET

# YÜKSEK HİDROSTATİK BASINÇ UYGULAMASININ BALIK MARİNATINDA PSİKROTOLERANT BİYOJEN AMİN ÜRETEEN BAKTERİLER VE BİYOJEN AMİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

İLKNUR UÇAK

Doktora Tezi, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU

Aralık 2015, 153 sayfa

Bu çalışmada yüksek hidrostatik basınç uygulamasının ringa (*Clupea harengus*) marinatında psikrotolerant biyojen amin üreten bakteriler ve biyojen amin üretimi üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, farklı asit konsantrasyonları (%2 ve %4) ile hazırlanan ringa marinatlarına *Morganella psychrotolerans* ve *Photobacterium phosphoreum* bakterileri inoküle edilerek vakum paketlenmiş ve yüksek hidrostatik basınç (100 MPa, 300 MPa ve 500 MPa 5-10 dk) uygulanmıştır. Yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatları 4°C'de 3 ay boyunca depolanarak kalitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

*Morganella psychrotolerans* gelişiminin baskılanmasında %4 asit konsantrasyonu ile birlikte 300 MPa 10 dk ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulamasının önemli derecede ( $P<0.05$ ) etkili olduğu tespit edilmiştir. *Photobacterium phosphoreum* inaktivasyonunda %4 asit konsantrasyonu ile 300 MPa ve üzeri yüksek hidrostatik basınç uygulamasının önemli derecede ( $P<0.01$ ) etkili olduğu ve depolama süresince bakteri gelişiminin olmadığı gözlenmiştir. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilen %4 asit konsantrasyonlu ringa marinatlarında 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulamasının laktik asit bakterileri (LAB) ve toplam psikrofil bakteri gelişimini önlemede tamamen etkili olduğu tespit edilmiştir. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen %2 asit konsantrasyonlu gruplarda 500 MPa, %4 asit konsantrasyonlu gruplarda ise 300 MPa ve üzeri yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB ve toplam psikrofil bakteri gelişimini baskılamada etkili olduğu bulunmuştur. Hidrojen sülfür üreten bakteriler ve maya-küf gelişimi sadece *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen %2 asit konsantrasyonlu gruplarda gözlenirken, *P. phosphoreum* ile inoküle edilen marinatlarda depolama boyunca hidrojen sülfür üreten bakteriler ve maya-küf gelişimi gözlenmemiştir.

Ringa marinatlarında yüksek hidrostatik basınç uygulaması biyojen amin oluşumunu önemli derecede ( $P<0.01$ ) etkilemiştir. *Morganella. psychrotolerans* ile

inoküle edilen %2 asitli ringa marinatında 500 MPa 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulaması histamin oluşumunu tamamen engellerken, %4 asit gruplarında depolama süresince histamin oluşumu gözlenmemiştir. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen %2 asitli marinat gruplarında depolama süresince histamin oluşumu tespit edilmiş ancak 300 MPa ve üzeri basınç gruplarında bu oluşum önemsiz düzeyde kabul edilmiştir. Histamin oluşumu %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan *P. phosphoreum* inokülasyon gruplarında depolama boyunca önemsiz bulunmuştur. *M. psychrotolerans* inokülasyon gruplarında her iki asit konsantrasyonunda da putresin oluşumu gözlenmiş ancak farklı asit konsantrasyonları ve yüksek hidrostatik basınç uygulaması putresin oluşumunun baskılanmasında önemli derecede etkili olmuştur. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarda %2 asitli gruplarda putresin oluşumu önemsiz düzeyde iken, %4 asit konsantrasyonunda depolama boyunca putresin oluşumu gözlenmemiştir. Kadaverin oluşumunda yüksek hidrostatik basınç uygulaması düşük asitli *M. psychrotolerans* inokülasyon gruplarında oldukça başarılı olurken, %4 asitli gruplarda ise depolama boyunca oluşum görülmemiştir. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilmiş her iki asit grubunda da önemsiz düzeyde kadaverin oluşumu gözlenmiştir. Tiramin oluşumunu engellemede yüksek hidrostatik basınç uygulaması düşük asit konsantrasyonlarında etkili olmayıp her iki bakteri grubunda da %4 asit kombinasyonu ile oldukça etkili sonuçlar vermiştir.

TVB-N değerleri *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen kontrol gruplarında depolamanın 15. gününde sınır değerlere ulaşmıştır. Depolama boyunca TVB-N değerleri %4 asitli ve 500 MPa yüksek basınç uygulanmış marinatlarda ‘çok iyi kalite’ özelliğini korumuştur. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarda depolama süresince %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanmış gruplarda TVB-N değerleri önemli derecede ( $P<0.01$ ) düşük bulunurken, yüksek hidrostatik basınç uygulamasıyla TVB-N oluşumu azalmış ve depolama süresince sınır değere ulaşmamıştır. Depolama süresince *M. psychrotolerans* inokülasyonlu her iki asit konsantrasyonunda kontrol grupları ve yüksek basınç uygulanan gruplar arasında TMA-N değerleri açısından önemli derecede farklılıklar tespit edilmiştir. Düşük asit konsantrasyonunda 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması TMA-N oluşumunu önlemede oldukça etkili olurken, %4 asit gruplarında 100 MPa ve üzeri tüm basınç uygulamalarının başarılı olduğu tespit edilmiştir. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen gruplarda farklı asit konsantrasyonları TMA-N oluşumunda önemli derecede ( $P<0.01$ ) etkili olmuştur. Her iki asit grubunda da kontrol grupları daha yüksek değerlere ulaşırken, 300 MPa ve üzeri yüksek hidrostatik basınç uygulaması TMA-N oluşumunu baskılamada oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması ile her iki bakteri grubunda da %2 asit konsantrasyonunda pH değerleri kontrol grubuna göre düşük kalmıştır. Ancak yüksek asit konsantrasyonlu gruplarda pH değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar gözlenmiştir. TBA değerleri tüm gruplarda depolama boyunca artış göstermiş ancak basınç uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük bulunmuştur. Yüksek hidrostatik basınç uygulanan grupların duyuşsal genel beğenisi depolama boyunca kontrol gruplarından daha iyi olmuştur.

Yapılan çalışma sonunda, *M. psychrotolerans* ve *P. phosphoreum* ile inoküle edilen farklı asit konsantrasyonlarındaki ringa marinatlarda mikroorganizma gelişiminin baskılanması ve biyojen amin oluşumunun kontrol altına alınmasında yüksek hidrostatik basınç uygulamasının oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Psikrotolerant biyojen amin üreten bakterilerinin gelişiminin önlenmesi ve dolayısıyla

biyojen amin üretiminin kontrol altına alınması için en uygun asit konsantrasyonunun %4, en etkin yüksek hidrostatik basınç uygulamasının ise 500 MPa olduğu tespit edilmiştir. Gerçekleştirilmesi planlanan ileriki çalışmalarda yüksek hidrostatik hidrostatik basınç uygulamasının balık marinatında endüstriyel kullanıma sunulması uygun görülmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Biyojen amin, yüksek hidrostatik basınç uygulaması, marinat, *Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum*.

**JÜRİ:** Prof Dr. Nalan GÖKOĞLU (Danışman)

Prof Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Doç. Dr. Pınar YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU

Doç. Dr. Nermin BERİK

## ABSTRACT

# INHIBITORY EFFECTS OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE PROCESSING ON PSYCHROTOLERANT BIOGENIC AMINE PRODUCING BACTERIA AND BIOGENIC AMINE FORMATION IN MARINATED FISH

İLKNUR UÇAK

PhD Thesis in Fisheries Faculty

Supervisor: Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU

December, 2015, 178 pages

The aim of this study was to investigate the inhibitory effects of high hydrostatic pressure (HHP) processing on psychrotolerant biogenic amine producing bacteria and biogenic amine formation in marinated herring (*Clupea harengus*). For this purpose, marinated herring fillets prepared with different acid concentrations (2% and 4%) were inoculated with *Morganella psychrotolerans* and *Photobacterium phosphoreum*, then treated with HHP (100 MPa, 300 MPa, 500 MPa 5-10 min.) and packed under vacuum. Samples treated with HHP were stored at 4°C for 3 months in order to evaluate the alterations in quality parameters. It was observed that 300 MPa 10 min and 500 MPa HHP processing had significant effects ( $P<0.05$ ) in suppression of *M. psychrotolerans* growth in marinated herring prepared with 4% acid. HHP processing over 300 MPa was significantly effective ( $P<0.05$ ) to inactivate *P. phosphoreum* (in 4% acid concentration) and no bacteria growth was observed during the storage period.

Application of HHP over 500 MPa was efficient in preventing the growth of lactic acid bacteria (LAB) and total psychrophilic bacteria in marinated herring (4% acid) inoculated with *M. psychrotolerans*. 300 MPa and higher HHP was effective to inhibit LAB and total psychrophilic bacteria growth in 4% acid groups inoculated with *P. phosphoreum*, while 500 MPa HHP was effective in 2% acid groups inoculated with *P. phosphoreum*. Hydrogen sulphide ( $H_2S$ ) producing bacteria and yeast-mold growth were observed in only 2% acid groups inoculated with *M. psychrotolerans*, whereas there was no growth of  $H_2S$  producing bacteria and yeast-mold in groups inoculated with *P. phosphoreum*.

HHP processing significantly ( $P<0.05$ ) affected the formation of biogenic amines in marinated herring. Histamine formation was prevented with 500 MPa 10 min HHP treatment in 2% acidic marinade inoculated with *M. psychrotolerans*, while no histamine formation was observed in 4% acidic marinade. During the storage period,

histamin formation was found in 2% acid groups inoculated with *P. phosphoreum*, however this formation was considered as insignificant at 300 MPa and higher HHP treatment. Histamin was found insignificant in 4% acid groups inoculated with *P. phosphoreum* throughout the storage period. In *M. psychrotolerans* inoculation groups HHP treatment was significantly effective for prevention of the formation of putrescine, while observed in both acid concentration groups. Putrescine formation was found insignificant in 2% acid groups inoculated with *P. phosphoreum*, while this biogenic amine was not observed in 4% acid concentration during the storage period. Kadaverine was not observed in marinades inoculated with *P. phosphoreum* and *M. psychrotolerans* inoculation groups with 4% acid. HHP treatment was effective to suppress tyramine formation in high acid concentration groups inoculated with both bacteria culture.

TVB-N values were reached to limit values at 15<sup>th</sup> day of storage in control groups of *M. psychrotolerans* inoculated marinades. 4% acid groups treated with 500 MPa HHP maintained their "good quality" throughout the storage. HHP treatment significantly reduced the TVB-N formation in 4% acid concentration groups inoculated with *P. phosphoreum* and TVB-N values were significantly lower than those of 2% acid concentration marinades. During the storage period, considerable differences were found between controls and HHP treated groups in *M. psychrotolerans* inoculated marinades in terms of TMA-N values. 500 MPa HHP treatment was quite efficient to prevent TMA-N formation in low acid concentration, while pressure over 100 MPa was successful in 4% acid groups. Different acid concentrations were significantly ( $P < 0.01$ ) effective to prevent TMA-N formation in *P. phosphoreum* inoculation groups. While control groups reached higher values in both acid concentrations, pressure over 300 MPa resulted in suppression of TMA-N formation. pH values remained lower in HHP treatment groups prepared with 2% acid concentration. However, pH values showed fluctuations in higher acid concentration groups during the storage time. TBA değerleri tüm gruplarda depolama boyunca artış göstermiş ancak basınç uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük bulunmuştur. Yüksek hidrostatik basınç uygulanan grupların duyuşsal genel beğenisi depolama boyunca kontrol gruplarından daha iyi olmuştur. TBARS values showed increasing in all groups during the storage period, however remained lower in pressure treated groups than the control groups. In high pressure treated groups, sensory quality (general acceptance) found better than control groups throughout the storage.

In this study, it was observed that HHP processing has significant effect to control growth of *M. psychrotolerans* and *P. phosphoreum* and biogenic amine formation in herring marinades. In order to prevent growth of psychrotolerant biogenic amine producing bacteria and formation of biogenic amine in herring marinades, 4% acid concentration and 500 MPa pressure treatment is most effective. The results showed that, HHP treatment can be used in herring marinades for sustain the good quality.

**KEYWORDS:** Biogenic amine, high hydrostatic pressure processing, marinade, *Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum*



COMMITTEE: Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU (Supervisor)

Prof Dr. Nuray ERKAN ÖZDEN

Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN

Assoc. Prof. Dr. Pınar YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU

Assoc. Prof. Dr. Nermin BERİK



## ÖNSÖZ

Su ürünlerinin tüketilmesiyle beraber insan sağlığı için risk oluşturacak potansiyel tehlikelerin önlenmesi esastır. Histamin zehirlenmesi de bu tehlikelerden biri olup, balık ve balık ürünleri de adından en sık söz edilen gıdalardır. Balık marinatında asidik koşullar nedeniyle proteinlerin parçalanması ve serbest aminoasitlerin meydana gelmesi biyojen amin oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Marinasyon işleminin ısı olmayan bir muhafaza tekniği olması nedeniyle, olgunlaşma süresince yetersiz asit ve tuz uygulaması dekarboksilaz aktivitesine sahip ve biyojen amin üretiminden sorumlu bakterilerin gelişimi için ortam hazırlayabilmektedir. Su ürünlerinin avlanması ile tüketime sunulması süresince soğuk zincir kırılabilen, biyojen amin oluşumu enzimatik ve mikrobiyolojik olarak tetiklenmektedir. Ayrıca balık kaslarında histamin bir kez oluştuğunda balığın pişirilmesi ve kızartılmasıyla histamin aktivitesi engellenememektedir. Geleneksel ısı işlem uygulamaları sırasında gıdanın maruz kaldığı sıcaklığın istenmeyen kalite değişimlerine yol açması nedeniyle ısı olmayan ileri muhafaza tekniklerinin geleneksel yöntemlere birlikte veya tamamen geleneksel yöntemlere alternatif olarak kullanılması oldukça yaygın bir teknoloji haline gelmiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulamaları bu muhafaza tekniklerinden olup termal yıkımları ortadan kaldırarak gıdaların ‘tazelik’ karakterinde minimum değişimlere neden olmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda ısı olmayan muhafaza teknolojisi olarak geniş bir kullanım alanına sahip olmuştur. Bu çalışmanın amacı, yüksek hidrostatik basınç uygulamasının balık marinatında biyojen amin üreten psikrotolerant bakteriler ve biyojen amin üretimi üzerine olan etkilerinin incelenmesi olmuştur. Böylece ürün kalitesinde minimum değişimlerle insan sağlığı için risk oluşturan histamin zehirlenmesinin önlenmesi sağlanmıştır.

Tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde bilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nalan GÖKOĞLU’na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca tez çalışmam boyunca desteklerini her zaman hissettiğim hocalarım Sayın Prof. Dr. Ahmet KÜÇÜKÇETİN, Sayın Doç. Dr. Pınar YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU ve Sayın Yard. Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ, sevgili arkadaşım Uzman H. Aydan YATMAZ’a teşekkür ediyorum. Almanya’da çalışmalarımı yürüttüğüm süre boyunca her türlü maddi, manevi ve bilimsel desteği gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Stefan TOEPFL, değerli arkadaşım Martina KIESSLING, German Institute of Food Technologies CEO’su Volker HEINZ ve enstitü çalışanlarına teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamı destekleyen ve çalışmalarımı yürütmem konusunda yolumu açarak burs almamı sağlayan TÜBİTAK (2214-A Yurtdışı Doktora Araştırma Burs Programı) ve DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst, Alman Akademik Değişim Programı) doktora araştırma programlarına teşekkür ediyorum. Ayrıca FDK-2015-273 proje numarasıyla tez çalışmamı destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birine teşekkür ediyorum.

Öğrenim hayatım boyunca bana hep inanan ve güvenen, tez çalışmam süresince maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan anneme, babama, kardeşlerime özellikle kardeşim Dilan’a en derin şükranlarımı sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iv
ÖNSÖZ .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Marinasyon Teknolojisi.....	1
1.2. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar.....	2
1.2.1. Kimyasal bozulmalar.....	2
1.2.2. Mikrobiyolojik bozulmalar.....	3
1.3. Biyojen Amin Oluşumu.....	4
1.4. Histamin Zehirlenmesi.....	5
1.5. Biyojen Amin Oluşumundan Sorumlu Bakteriler.....	6
1.6. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması.....	7
1.7. Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri.....	8
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI .....	10
2.1. Marinat Teknolojisi İle İlgili Çalışmalar.....	10
2.2. Biyojen Amin Oluşumuyla İlgili Çalışmalar.....	13
2.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması İle İlgili Çalışmalar.....	15
3. MATERYAL ve METOT .....	2
3.1. Materyal .....	20
3.2. Metot .....	20
3.2.1. Bakteri kültürleri.....	20
3.2.2. Marinat üretimi.....	20
3.2.3. İnokülasyon işlemi.....	20
3.2.4. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması.....	20
3.2.5. Mikrobiyolojik analizler.....	26
3.2.6. Biyojen amin analizi.....	27
3.2.7. Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) tayini.....	27
3.2.8. Trimetilamin (TMA-N) analizi.....	27
3.2.9. Tiyobarbütirikasit (TBA) analizi.....	28
3.2.10. Duyusal analiz.....	28
3.2.9. pH ölçümü.....	28
3.2.10. İstatistiksel analiz.....	28
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	29
4.1. Taze Ringa Filetosuna Ait Bulgular.....	29
4.2. Ham Marinat Kontrol Grubuna Ait Bulgular.....	30
4.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının <i>Morganella psychrotolerans</i> Gelişimi Üzerine Etkileri.....	32
4.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının <i>Photobacterium phosphoreum</i> Gelişimi Üzerine Etkileri.....	37
4.5. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) Gelişimi Üzerine Etkileri.....	42

4.6. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Hidrojen Sülfür (H <sub>2</sub> S) Üreten Bakterilerin Gelişimi Üzerine Etkileri.....	50
4.7. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Toplam Psikrofil Bakteri Gelişimi Üzerine Etkileri.....	53
4.8. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Toplam Maya-Küf Gelişimi Üzerine Etkileri.....	62
4.9. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkileri.....	66
4.9.1 Histamin.....	66
4.9.2. Putresin.....	74
4.9.3. Kadaverin.....	81
4.9.4. Tiramin.....	88
4.10. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Oluşumu Üzerine Etkileri.....	96
4.11. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Trimetilamin (TMA-N) Oluşumu Üzerine Etkileri.....	104
4.12. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Tiyobarbütirik (TBA) Üzerine Etkileri.....	113
4.13. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Duyusal Kalite Üzerine Etkileri.....	121
4.14. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında pH Değişimi Üzerine Etkileri.....	127
5. SONUÇ.....	136
6. KAYNAKLAR.....	138
ÖZGEÇMİŞ	

## **SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>atm</b>	Atmosfer
<b>FDA</b>	Gıda ve ilaç kuruluđu
<b>kob</b>	Koloni oluđuurma birimi
<b>MDA</b>	Malonaldehit
<b>MPa</b>	Megapaskal
<b>TBARS</b>	Tiyobarbutirik asit
<b>TMA-N</b>	Trimetilamin
<b>TMAO</b>	Trimetilaminoksit
<b>TVB-N</b>	Toplam Uçucu Bazik Azot
<b>YHB</b>	Yüksek Hidrostatik Basınç

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Amino asitlerin dekarboksilasyonu.....	5
Şekil 1.2. Yüksek hidrostatik basıncın etkisi.....	8
Şekil 3.1. Bakteri inokülasyon grupları.....	21
Şekil 3.2. İşlem basamakları akış şeması.....	22
Şekil 3.3. İşlem basamaklarına ait fotoğraflar.....	25
Şekil 3.4. Biyojen amin analiz metodu.....	27
Şekil 4.1. Ringa marinatında depolama süresince LAB gelişimi.....	30
Şekil 4.2. Ringa marinatında depolama süresince toplam psikrofil bakteri gelişimi.....	30
Şekil 4.3. Ringa marinatında depolama süresince histamin oluşumu.....	30
Şekil 4.4. Ringa marinatında depolama süresince kadaverin oluşumu.....	30
Şekil 4.5. Ringa marinatında depolama süresince putresin oluşumu.....	30
Şekil 4.6. Ringa marinatında depolama süresince tiramin oluşumu.....	30
Şekil 4.7. Ringa marinatında depolama süresince TVB-N oluşumu.....	31
Şekil 4.8. Ringa marinatında depolama süresince TMA-N oluşumu.....	31
Şekil 4.9. Ringa marinatında depolama süresince pH değişimi.....	31
Şekil 4.10. Ringa marinatında depolama süresince TBA değişimi.....	31
Şekil 4.11. Ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının <i>M. psychrotolerans</i> gelişimi üzerine etkileri.....	35
Şekil 4.12. Ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının <i>M. psychrotolerans</i> gelişimi üzerine etkileri.....	35

Şekil 4.13. Ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının <i>M. psychrotolerans</i> gelişimi üzerine etkileri.....	36
Şekil 4.14. Ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının <i>P. phosphoreum</i> gelişimi üzerine etkileri.....	40
Şekil 4.15. Ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının <i>P. phosphoreum</i> gelişimi üzerine etkileri.....	40
Şekil 4.16. Ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk ve 10 dk yüksek basınç uygulamasının <i>P. phosphoreum</i> gelişimi üzerine etkileri.....	41
Şekil 4.17. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	46
Şekil 4.18. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	46
Şekil 4.19. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	47
Şekil 4.20. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	47
Şekil 4.21. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	48
Şekil 4.22. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	48
Şekil 4.23. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkiler.....	49

Şekil 4.14. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri.....	49
Şekil 4.25. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının H <sub>2</sub> S üreten bakterilerin gelişimi üzerine etkileri.....	52
Şekil 4.26. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının H <sub>2</sub> S üreten bakterilerin gelişimi üzerine etkileri.....	52
Şekil 4.27. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri.....	58
Şekil 4.28. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri.....	58
Şekil 4.29. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri.....	59
Şekil 4.30. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri.....	59
Şekil 4.31. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri.....	60
Şekil 4.32. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri.....	60
Şekil 4.33. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri.....	61



Şekil 4.34. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış )10 dk yüksek basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri.....	61
Şekil 4.35. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri.....	64
Şekil 4.36. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri.....	64
Şekil 4.37. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri.....	65
Şekil 4.38. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri.....	65
Şekil 4.39. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	71
Şekil 4.40. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	71
Şekil 4.41. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	72
Şekil 4.42. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış )10 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	72
Şekil 4.43. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	73

Şekil 4.44. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri.....	73
Şekil 4.45. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	78
Şekil 4.46. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	78
Şekil 4.47. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	79
Şekil 4.48. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	79
Şekil 4.49. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış ) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	80
Şekil 4.50. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış ) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri.....	80
Şekil 4.51. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	85
Şekil 4.52. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	85
Şekil 4.53. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	86

Şekil 4.54. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	86
Şekil 4.55. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	87
Şekil 4.56. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	87
Şekil 4.57. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	92
Şekil 4.58. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri.....	92
Şekil 4.59. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	93
Şekil 4.60. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	93
Şekil 4.61. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	94
Şekil 4.62. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	94
Şekil 4.63. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	95

Şekil 4.64. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri.....	95
Şekil 4.65. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	101
Şekil 4.66. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	101
Şekil 4.67. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatında (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	102
Şekil 4.68. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatında (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	102
Şekil 4.69. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	103
Şekil 4.70. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri.....	103
Şekil 4.71. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	109
Şekil 4.72. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatında (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	109
Şekil 4.73. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	110

Şekil 4.74. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	110
Şekil 4.75. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	111
Şekil 4.76. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	111
Şekil 4.77. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	112
Şekil 4.78. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatında (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri.....	112
Şekil 4.79. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	117
Şekil 4.80. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	117
Şekil 4.81. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	118
Şekil 4.82. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	118
Şekil 4.83. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	119

Şekil 4.84. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	119
Şekil 4.85. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	120
Şekil 4.86. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri.....	120
Şekil 4.87. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri.....	125
Şekil 4.88. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri.....	125
Şekil 4.89. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri.....	126
Şekil 4.90. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri.....	126
Şekil 4.91. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	132
Şekil 4.92. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	132
Şekil 4.93. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	133

Şekil 4.94. <i>M. psychrotolerans</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	133
Şekil 4.95. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	134
Şekil 4.96. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	134
Şekil 4.97. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	135
Şekil 4.98. <i>P. phosphoreum</i> ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri.....	115

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Taze ringa filetosuna ait bulgular.....	29
Çizelge 4.2. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında <i>M. psychrotolerans</i> gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	32
Çizelge 4.3. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında <i>M. psychrotolerans</i> gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	34
Çizelge 4.4. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında <i>P. phosphoreum</i> gelişiminin varyans analiz sonuçları .....	37
Çizelge 4.5. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında <i>P. phosphoreum</i> gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	39
Çizelge 4.6. <i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.7. <i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	43
Çizelge 4.8. <i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.9. <i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	45
Çizelge 4.10. <i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında H <sub>2</sub> S üreten bakterilerin gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	50



Çizelge 4.11.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında H <sub>2</sub> S üreten bakterilerin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	51
Çizelge 4.12.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	53
Çizelge 4.13.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	54
Çizelge 4.14.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	55
Çizelge 4.15.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları..	56
Çizelge 4.16.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam maya-küf gelişiminin varyans analiz sonuçları.....	62
Çizelge 4.17.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam maya-küf gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	63
Çizelge 4.18.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	66
Çizelge 4.19.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	67
Çizelge 4.20.	<i>Photobacaterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	67

Çizelge 4.21.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	68
Çizelge 4.22.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	74
Çizelge 4.23.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	75
Çizelge 4.24.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	75
Çizelge 4.25.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresinin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	76
Çizelge 4.26.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	81
Çizelge 4.27.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	82
Çizelge 4.28.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	82
Çizelge 4.29.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	83
Çizelge 4.30.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	88

Çizelge 4.31.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	89
Çizelge 4.32.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	89
Çizelge 4.33.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	90
Çizelge 4.34.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	96
Çizelge 4.35.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	97
Çizelge 4.36.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	98
Çizelge 4.37.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	100
Çizelge 4.38.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	104
Çizelge 4.39.	<i>Morganella. psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	105
Çizelge 4.40.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun varyans analiz sonuçları.....	106

Çizelge 4.41.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	107
Çizelge 4.42.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin varyans analiz sonuçları.....	113
Çizelge 4.43.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	114
Çizelge 4.44.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin varyans analiz sonuçları.....	115
Çizelge 4.45.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	116
Çizelge 4.46.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyusal değişiminin varyans analiz sonuçları.....	121
Çizelge 4.47.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyusal değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	122
Çizelge 4.48.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyusal değişiminin varyans analiz sonuçları.....	123
Çizelge 4.49.	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyusal değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	124
Çizelge 4.50.	<i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin varyans analiz sonuçları.....	127

Çizelge 4.51. <i>Morganella psychrotolerans</i> ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	128
Çizelge 4.52. <i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin varyans analiz sonuçları.....	129
Çizelge 4.53. <i>Photobacterium phosphoreum</i> ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	130



## 1. GİRİŞ

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 vd 2004). Uygun işleme tekniği ve muhafaza yöntemlerinin uygulandığı, belirli bir dayanma süresine sahip, doğrudan veya yeme sıcaklığında ısıtılıp, tek başına veya bazı maddeler ile işlenerek tüketilen ürünler için “hazır yemek” tanımı kullanılmaktadır (Pala vd 1987). Hayatın hızlı akışına ayak uydurmak amacıyla hazır gıdalara yöneldiğimiz bu günlerde, toplam tüketilen gıda maddeleri içerisinde işlenmiş su ürünlerinin payı da her geçen gün artmaktadır. İşlenmiş su ürünlerinin uzun raf ömürlü ve uygun biçimde ambalajlanmış olmaları sebebiyle, tüketim alışkanlığının sadece avcılığın yapıldığı sahil bölgeleriyle sınırlı kalmaması sağlanarak tüketiciye alternatif ürünler sunmak ve mevsim dışında da tüketiciyle buluşmasını sağlamak mümkündür.

Su ürünleri üretiminde yaygın olarak kullanılan işleme teknolojileri, dondurma, konserve, dumanlama, tuzlama, kurutma ve marinat teknolojileridir. Bu teknolojiler, ürünün kalitesinin korunmasının yanında, ürünün dayanıklı hale gelmesini sağlamakta, balığa farklı aroma ve lezzet kazandırarak değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır.

### 1.1. Marinasyon Teknolojisi

Marinat, gıda muhafazasının bilinen en eski işleme yöntemlerinden biri olup geçmişi milattan önce 7. yüzyıla kadar dayanmaktadır. Terim olarak marinat, ilk defa 1957 yılında Alman Su Ürünleri Endüstrisi Federal Birliği'nin su ürünlerini açıkladığı bildirisinde, resmi olarak yer almıştır (Meyer 1965, Tırakoğlu 2003). Marinat teknolojisinin gelişimi ise özellikle 19. yüzyılda ringa balıklarının bol miktarda avlanması ile başta Almanya olmak üzere bütün Avrupa ülkelerinde yaygınlaşmış ve buradan tüm dünyaya yayılmıştır (Shenderyuk ve Bykovski 1990). Marine ürünler özellikle İskandinavya, Almanya, Britanya, Kuzey Amerika ve İspanya gibi ülkelerde sevilerek tüketilen ürünler arasında yer almaktadır (Shenderyuk ve Bykowski 1990, Fuselli vd 1996).

Balık ve balık parçaları (taze, donmuş, tuzlanmış) ile kabuklu ve yumuşakça etlerinin ısı etkisi olmaksızın (Gün vd 1994) sirke (asetik asit veya diğer organik asitler) ve tuz çözeltisinde enzimatik reaksiyonlar sonucu olgunlaştırılması prensibine dayanan işleme marinasyon (Meyer 1965, McLay 1972), oluşan ürüne de marinat denilmektedir. Değişik tatlar kazanması amacıyla da şeker, baharat, salamura, sos ve sebzeler ilave edilerek, cam şişe veya plastik kaplar içerisinde paketlenmektedirler (McLay 1972). Marinatın ilk aşaması olan olgunlaşma işlemi karmaşık bir şekilde gerçekleşen fiziksel ve kimyasal bir olaydır. Olgunlaşma işlemi, balığın sirke ve tuz salamurasına alınması ile başlamakta, balık dokusundaki ve salamuradaki sirke-tuz konsantrasyonu eşitleninceye kadar devam etmektedir (Karl vd 1995, Özden ve Baygar 2003, Kılıç 2007). Bu süre içerisinde olgunlaşma işlemine bağlı olarak balık etinde birtakım fiziksel ve kimyasal değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler; sirke, tuz, olgunlaşma sıcaklığı ve kullanılan katkı maddelerine bağlıdır (Varlık vd 1993, Tülsner 1994, Eke 2007). Olgunlaşma işlemi; ortam sıcaklığına, salamuranın sirke-tuz miktarına ve balık türüne göre 24 saat ile birkaç hafta arasında değişebilmektedir (McLay 1972, Varlık vd

1993, Tülsner 1994, Kılınç 2003). Balık etinin salamuraya girmesi ile, sirke difüzyon, tuz ise ozmos yolu ile balık etine nüfuz ederek, balığın vücudundaki enzimlerle birlikte protein ve yağları belirli bir dereceye kadar yıkararak, aromatik kokulu ve lezzetli ürünler oluşmasını sağlamaktadırlar (Meyer 1965, Tülsner 1994, Sikorski vd 2000, Çaklı 2007, Olgunoğlu 2007). Ürünün olgunlaştırılması ve korunmasında asıl etki sirke tarafından gerçekleştiğinden, balık etinin mümkün olduğunca hızlı ve homojen bir şekilde sirke ile temas etmesi sağlanmalıdır (Varlık vd 2004). Sirke, marinata tipik ekşi lezzeti ve aromayı vererek ürünün olgunlaşmasından sorumludur (Poligne ve Collignan 2000). Sirkenin asidik etkisi ile balık etinin pH'sı, proteolitik enzimlerden özellikle lizozomal katepsin tipi enzimler için gerekli olan optimum seviyelere düşmekte (pH 3,8-4,3) ve proteinlerin marinata özgü tipik tadını oluşturan amino asitlere yıkımını sağlamaktadır (Clucas ve Ward 1991, Tülsner 1994, Özoğul vd 2008). Bu amino asitler; glutamik asit, aspartik asit, alanin ve glisin gibi aminlerdir (Whittle ve Howgate 2002, Huss vd 2004, Kılınç ve Çaklı 2004b, Özden 2005). İyi kalitede marine edilmiş bir üründe, pH değerinin 4,0–4,5 arasında olması gerekmektedir. 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). Marinat teknolojisinde balığın olgunlaştırılması sırasında tuzun etkisi sirkeye göre daha az önemli olmakla birlikte, tuz miktarının sirke içeriğinden fazla olması gerekmektedir. Böylece ürün çok yumuşak olup dağılmamakta ve deri etten kolay ayrılmamaktadır. Tuz, ürün dayanıklılığını sağladığı gibi uygun sertliğe ulaşıncaya kadar doku suyunun ayrılmasına da sebep olmaktadır (Karl ve Schreiber 1990).

## **1.2. Marinatlarda Meydana Gelen Bozulmalar**

Balık eti, besleyici değeri yüksek bir gıda olmasına karşın bozulmaya karşı oldukça duyarlıdır. Balık kasında bağ doku yapısının zayıf olması, yüksek enzim aktivitesi, pH değerinin nötre yakın olması ve su aktivite değerinin yüksek olması balık etini bozulmaya karşı hassas kılmaktadır (Özden ve Gökoğlu 1996).

Tüm gıdalar gibi marinatların da raf ömrünün belirlenmesinde depolama sıcaklığı en önemli etmenlerden biridir. Bu nedenle piyasaya sunulan marinatların etiketlerinde “soğukta saklanmalıdır ve çabuk tüketilmelidir” ibaresinin belirtilmesi gereklidir (Dokuzlu 1997). Marinatlarda, mikrobiyolojik faaliyetler sonucu meydana gelen bozulmalar, ürünün duyuşal olarak tüketilemez hale dönüşmesine neden olmaktadır. Gıdalarda başlıca bozulmaya neden olan mikrobiyal gelişme, aminlerin, sülfidlerin, alkollerin, aldehitlerin, ketonların ve organik asitlerin ortaya çıkışına neden olarak gıdalarda hoşla gitmeyen ve kabul edilmeyen lezzeti oluşturmaktadır. Mikrobiyal faaliyetlerin yanı sıra kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel zararlar da gıdalarda bozulmalara neden olmaktadır (Gram ve Dalgaard 2002).

### **1.2.1. Kimyasal Bozulmalar**

Marinatlarda asetik asit ve tuzun etkisi ile proteinler amino asitlere, yağlar ise yağ asitleri ve gliserine kadar parçalanarak aromatik bir tat ve hoş bir kokunun oluşumu sağlanırken, depolanma sırasında üründeki mevcut amino asit ve yağ asitlerinde yıkıma uğramaya başlaması ile birlikte kimyasal bozulmalar meydana gelmektedir. Balık proteinlerinin parçalanması, öncelikle enzim (peptidaz, amidaz, imidaz) aktiviteleri ve mikrobiyolojik faaliyetler sonucunda gerçekleşmektedir. Proteinlerin

parçalanması sonucunda oluşan yıkım ürünleri depolama süresinin ileriki aşamalarında ortaya çıkmaya başlamaktadır. Bu maddeler, azotlu maddelerin parçalanması sonucu açığa çıkan uçucu bazlar, amonyak, mono, di ve trimetilamin, uçucu asitler, hipoksantin ve malonaldehit gibi redüktan maddeler olarak kendini göstermektedir (Schormüller 1968, Ludorff ve Meyer 1973, Malle ve Poumeryol 1989, Özden ve Baygar 2003). Bu maddelerin açığa çıkması ile birlikte ürünün kokusunda (balıksı, bayat, küf kokulu, ransit, ekşimsi, amonyaklı, mayamsı, tatlı ve asidik) değişimler meydana gelmektedir (Banwart 1987). Ayrıca marine ürünlerde, proteinlerin parçalanması sonucunda yukarıda adı geçen bileşiklerin yanı sıra biyojen aminler de oluşabilmekte ve bu aminler arasında, özellikle kara etli balıklarda, histaminin büyük öneme sahip olduğu bilinmektedir (Varlık vd 2004). Marine balığın bozulmasında meydana gelen diğer bir olumsuzluk da yağlarda meydana gelen kalite değişimleridir. Bu değişimler acılaşma şeklinde olup, daha çok yağlı balıklarda görülmektedir (Kietzmann vd 1969). Yağların hidrolizi ve oksidasyonu sonucu asitlik değişimi meydana gelmekte, peroksitten, aldehit ve keton oluşumu gerçekleşmekte ve sonuçta lezzet ve kokuda arzu edilmeyen önemli kalite değişimleri meydana gelmektedir (Varlık vd 2004).

### 1.2.2. Mikrobiyolojik Bozulmalar

Marine ürünlerde pH 4–4.5 aralığında olmalıdır. pH 4.5 altında gıda zehirlenmesi ve bozulma yapan bakterilerin çoğunun gelişimi önlenmektedir. Ayrıca bu pH derecesi proteazlar, özellikle de lizozomal katepsin tipi enzimler için optimumdur. Bu enzimler marinata özgü aromanın oluşumunda etkili olmakla birlikte tipik tat oluşumu da sağlamaktadır (McClay 1972, Whittle 2002, Ovayolu 1997, Huss vd 2003, Kılınç ve Çaklı 2004b). Aynı zamanda pH düzeyi aminoasit dekarboksilasyonunu etkileyen önemli bir faktördür. Böyle bir ortamda mikroorganizmalar asiditeye karşı savunma mekanizmasının bir gereği olarak dekarboksilaz aktiviteyi teşvik edici bir durum sergilemektedir (Olgunoğlu 2007). Bunun yanında marine balık ürünlerinde biyojen amin oluşumunun çeşitli faktörler tarafından etkilendiği belirtilmiştir (Gökoğlu 2003). Bunlar;

(i) Amino asit dekarboksilaz aktivitesi asidik şartlarda daha yüksektir (optimum pH 4.0-5.5) ve bakteriler bu şartlarda asitliğe koruma mekanizması olarak daha güçlü dekarboksilaz enzimi üretir,

(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.

Biyojenik amin dekarboksilaz aktivitesine sahip *Enterobacteriaceae* familyasına ait pek çok bakteri türü (*Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* ve *Hafnia alvei* ile *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* ve *Photobacterium*'a ait türler), çeşitli gıdalarda yüksek oranda biyojenik amin üretmektedir. Marine ürünlerde normal flora, tuza dayanıklı halofilik mikroorganizmalar, düşük pH değerlerinde yaşayabilen mayalar, küfler, ve laktik asit bakterilerinden oluşmaktadır (Tülsner 1994). Marine ürünlerdeki, mikrobiyolojik bozulmalarda genellikle heterofermentatif laktobasillerin rol oynadığı, maya ve küflerin de bozulmayı önemli derecede etkilediği belirtilmekte, aerob ve sıcak seven



mikroorganizmaların ise üründe kırmızı renk değişimleri ve kötü koku oluşumlarına sebep oldukları bildirilmektedir (Tülsner 1994). Bazı laktik asit bakterileri türleri (*Betabacterium buchneri* ve *Betabacterium breve*) üründe karbonhidrat ve aminoasitleri dekarboksilasyona uğratarak pH'yı yükseltmekte, ayrıca bombajlara ve az da olsa proteolitik aktiviteye sebep olarak ekonomik kayıplara neden olabilmektedirler (Meyer 1965, Tülsner 1994).

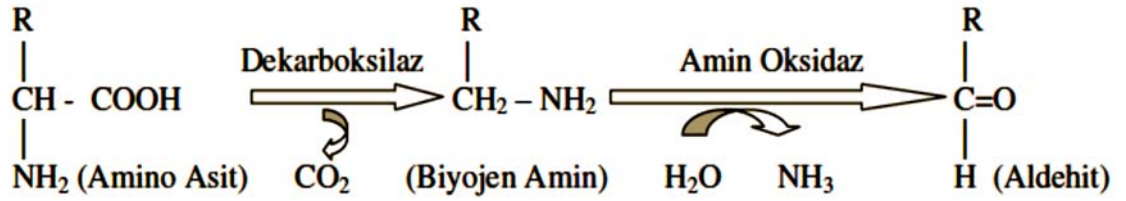
### 1.3. Biyojen Amin Oluşumu

Protein bakımından önemli bir besin kaynağı olan balık ve balık ürünleri, hasat aşamasından tüketim noktasına kadar uygun koşullarda bulunmadığı takdirde insan sağlığı için tehlikeli bir gıda haline gelmektedir (Özogul vd 2004). Su ürünleri başta olmak üzere, özellikle protein içeriği yüksek fermente gıdalarda bulunabilen ve depolama ile miktarı artan biyojen aminler, alerjik bünyeli bireylerde olduğu kadar sağlıklı bireyler için de sorun yaratabilmektedir. Biyojenik aminler arasında histamin, potansiyel olarak tehlikeli görülmekte ve histamin zehirlenmesine yol açmaktadır.

Marinasyon işlemi ısı olmayan bir muhafaza tekniği olup, olgunlaşma süresince yetersiz asit ve tuz uygulaması dekarboksilaz aktivitesine sahip ve biyojen amin üretiminden sorumlu bakterilerin gelişimi için ortam hazırlayabilmektedir. Bununla beraber balık marinatında, asidik koşulların doku katepsinlerini daha aktif hale getirmesiyle, amino asit dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar kas proteinlerinin amino asit ve peptidlere yıkımını gerçekleştirmektedir. Ortamda bulunan serbest amino asit varlığı dekarboksilasyon işlemi için zemin hazırlamakta ve biyojen amin oluşum hızını arttırmaktadır.

Biyojen aminler, gıda kalitesini olumsuz etkilemesi ve insan sağlığı için risk oluşturması nedeniyle istenmeyen bileşiklerdir. Balıkların yapısında bulunan aminoasitlerin enzimatik dekarboksilasyonu ile amin bileşikleri oluşmaktadır. Dekarboksilaz enzimi için gerekli olan substrat serbest aminoasitlerdir. Bu nedenle balığın bozulması veya ayrışması süresince, bakteriyel üretim, aminoasit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalmakta ve biyojenik amin üretilmektedir (Eitenmiller ve De Souza 1984).

Aminler, amonyaktaki 1., 2. veya 3. hidrojen atomun alkil veya aril grupların yerini almasıyla oluşan temel nitrojenli bileşiklerdir. Biyojen aminlerin kimyasal yapısı alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin, feniletilamin) ve heterosiklik (histamin, triptamin) olarak değişiklik gösterir (Silla-Santos 1996). Bu aminler amino asitlerin dekarboksilasyonu ile bakteri faaliyeti sonucu üretildiği zaman, biyojenik olarak adlandırılmaktadır (Shalaby 1996). Biyojenik aminler düşük molekül ağırlıklı organik bazlardır ve mikrobiyal, bitki ve hayvan metabolizması tarafından sentezlenmektedirler (Brink vd 1990). Balık ve balık ürünlerindeki biyojenik amin formasyonu direkt olarak balıktaki serbest aminoasit içeriği ile bağlantılıdır. Bakteriyel biyojenik amin dekarboksilaz ve uygun çevresel koşulların varlığında biyojenik amin formasyonu bakteri gelişimine ve dekarboksilaz enzimlerin üretimine izin vermektedir (Özoğul 2001).



Şekil 1.1. Amino asitlerin dekarboksilasyonu

Şekil 1.1’de aminoasitlerden mikrobiyal dekarboksilasyon sonucu biyojen aminlerin oluşumu reaksiyonu görülmektedir. Şekilde’de görüldüğü gibi aminoasit dekarboksilasyonu;  $\alpha$ -karboksil grubunun ilgili amini verecek şekilde aminoasitten ayrılması ile oluşmaktadır (Shalaby 1996). Bu aminler, hammaddeye özgü dekarboksilaz aktivitesi sonucunda oluşabildikleri gibi, dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların uygun koşullar altında gerçekleştirdikleri enzim aktivitesi ile de meydana gelmektedir.

#### 1.4. Histamin Zehirlenmesi

Histamin zehirlenmesi, *Scombridae* (ton, uskumru), *Clupeidae* (ringa, sardalya) ve *Coryphaena hippurus* (lambuka) ya da *Belone belone* (zargana) (Hungerford 2010) gibi deniz balıklarında yüksek konsantrasyonlarda üreyen ve balık etinde histidin dekarboksilasyonu ile histamin oluşturan spesifik bozulma bakterilerinin neden olduğu bir olaydır (Dalgaard ve Emborg 2009). Histamin zehirlenmesi yüksek seviyelerde histamin içeren gıdaların sindirimiyle oluşan kimyasal intoksikasyondur. İntoksikasyon olduğu için inkübasyon periyodu kısadır. Balık kaslarında histamin bir kez oluştuğunda balığın pişirilmesi ve kızartılması histamin aktivitesini engellememektedir.

Biyolojik olarak aktif bir amin olan histamin, insan vücudu içerisinde birçok tepkimeye yol açabilmektedir. Histamin kalp-damar sistemi ve çeşitli salgı bezlerindeki hücre membran reseptörlerine bağlanarak etkisini göstermektedir (Joosten 1988). Histamin böbrek üstü bezlerindeki etkisinin bir sonucu olarak kalbi harekete geçirip, uterus, bağırsak ve solunum bölgelerindeki düz kasları, duyu ve motor sistemini harekete geçirmekte, gastrik asit salgısını kontrol altına almaktadır (Joosten 1988). Histamin zehirlenmesi genellikle geniş bir semptom çeşitliliğiyle ortaya çıkmaktadır ve en yaygın semptomlar; mide bağırsak bölgesi semptomları (ishal, mide bulantısı, kusma), deri semptomları (kızarıklık, ödem), haemodinamik (gerginlik) ve sinirsel semptomlar (kaşıntı, kızarıklık, çınlama, baş ağrısı) olmaktadır. Histamin balık zehirlenmesi sonucu oluşan semptomlar toksik miktarların emiliminden birkaç dakika veya birkaç saat sonra görülmektedir. Tipik olarak hastalık birkaç saat sürmekle birlikte bu süre birkaç güne kadar uzayabilmektedir (Özoğul 2001). Gıdalardaki histamin her zaman tehlikeli olmamaktadır. Küçük miktardaki histamin amin oksidaz veya konjugasyon faaliyeti ile kolayca tolere edilebilmektedir. Sindirilen ve bağırsak bakterileri tarafından oluşturulan histamini metabolize etmek için bağırsak bölgelerinde oldukça etkili bir detoksifikasyon sistemi bulunmaktadır. Detoksifikasyon sisteminde diamin oksidaz, monoamin oksidaz, *N*-metil transferaz gibi enzimler histamini toksik olmayan ürünlere dönüştürmektedir. Detoksifikasyon sistemi normal diyetle alınan histamini kontrol etmek için yeterli olmaktadır. Fakat allerjenik bireyler için monoamin

oksidaz inhibitörleri uygulanırsa veya çok yüksek histamin seviyeleri tüketilirse bu detoksifikasyon sistemi bozulmakta ve zehirlenme ortaya çıkmaktadır (Shalaby 1996; Hornero-Mendez ve Garrido 1997). Bozulmuş veya fermente olmuş ürünlerin sindiriminde bu sistem başarısız olmaktadır (Brink vd 1990). Histamin tek başına balık bozulmasının göstergesi olmayıp, kadaverin ve putresinle birlikte balıkta bozulma indeksi olarak kullanılmaktadır (Veciana-Nogues vd 1997a, Mietz 1977).

Her 100 g balık için histamin miktarı 5 mg'dan düşük ise balığın tüketimi güvenli, 5-20 mg arasında ise balık muhtemelen toksik, 20-100 mg arasında ise balık büyük olasılıkla toksik, 100 mg'dan fazla ise balık toksik ve tüketimi tehlikeli olarak belirlenmiştir (Bartholomew vd 1987). Su ürünleri yönetmeliğine göre konserve balıklarda maksimum histamin miktarı 200 mg/kg, işlenmiş balık ürünlerinde ise 400 mg/kg olarak belirlenmiştir ([http://www.bsgm.gov.tr/mevzuat/su\\_ürünleri\\_yönetmeliği.pdf](http://www.bsgm.gov.tr/mevzuat/su_ürünleri_yönetmeliği.pdf)). Avrupa Birliği (EU) 1 kg balıkta histamin yasal limitini 100 mg belirlerken, FDA (Food and Drug Administration) bu limiti 50 mg olarak belirlemiştir (FDA 1996).

### 1.5. Biyojen Amin Oluşumundan Sorumlu Bakteriler

Aminoasit dekarboksilaz enzimi bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* cinsi mikroorganizmaların yanı sıra *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptir (Ten-Brink vd 1990). Depolama sırasında balık kasındaki serbest aminoasitleri dekarboksile eden bazı bakteriler bulunmaktadır. *Scombridae* (uskumru ve ton gibi) ve *Scomberesocidae* familyalarına ait scombroid balıklar, histamin balık zehirlenmesiyle ilgili en yaygın türlerdir. Fakat bu zehirlenmeye, kaslarında yüksek düzeyde serbest aminoasit bulunduran scombroid olmayan balık türleri de (ringa, sardalya, hamsi) neden olabilmektedir (Shalaby 1996). Scombroid zehirlenmesine dahil edilen balıklarda histamin oluşturan bakteriler; *Morganella morganii* (Arnold ve Brown 1978), *Klebsiella pneumoniae* (Taylor vd 1979), *Hafnia alvei* (Havelka 1967)'dir. Aynı zamanda *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio alginolyticus*'in de histamin ürettiği belirlenmiştir (Frank vd 1985).

2004 yılına kadar histamin zehirlenmesinin, mezofilik histamin üreten bakterilerin faaliyetleri sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Ancak artık hem mezofilik bakterilerin (*M. morganii*, *H. alvei* ve *R. planticola*) hemde psikrofilik bakterilerin (*Morganella psychrotolerans* ve *Photobacterium phosphoreum*) 0-5°C'lerde histamin ürettiği bilinmektedir (Okuzumi vd 1982, Van Spreekens 1987, Kanki vd 2004, Emborg vd 2005, Dalgaard vd 2006). Son zamanlarda Japonya ve Danimarka'da yapılan çalışmalar psikrotolerans histamin üreten bakterilerden *M. psychrotolerans* ve *P. phosphoreum*'un, bilinen diğer mezofil histamine üreten bakterilerden daha fazla histamin zehirlenmesine neden olduğunu göstermektedir (Dalgaard vd 2008). *Photobacterium phosphoreum*, denizel ortamda yaygın olan, 4°C'de gelişebilen fakat 25-30°C'nin üzerinde gelişim göstermeyen psikrotrof ve halofilik histamin üreten bir bakteridir (Fujii vd 1997). Yüksek CO<sub>2</sub> direncinden dolayı anaerobik koşullar bakteri gelişimini hızlandırmaktadır (Dalgaard 2000). *Morganella psychrotolerans* 2°C hatta 0°C'de bile gelişim gösterebilmektedir.

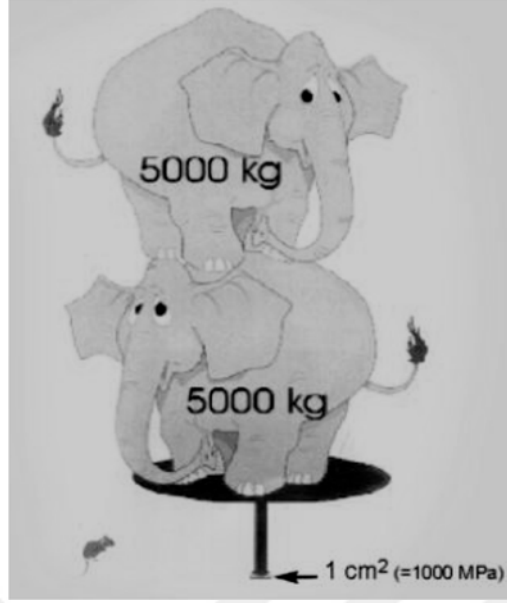
## 1.6. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması

Geleneksel ısı işlem uygulamaları sırasında gıdanın maruz kaldığı sıcaklığın istenmeyen kalite değişimlerine yol açması nedeniyle ısı olmayan ileri muhafaza tekniklerinin geleneksel yöntemlere birlikte veya tamamen geleneksel yöntemlere alternatif olarak kullanılması yaygın hale gelmiştir. Gıdaların muhafazasında genel olarak yapılması gereken iki temel uygulamadan birincisi mikrobiyolojik aktivitenin durdurulmasıdır. Bu uygulama mikroorganizmaların tamamen uzaklaştırılması, gelişmelerinin engellenmesi veya öldürülmesi ile mümkün olmaktadır. Diğeri ise dokulardaki kimyasal olayların (enzimatik reaksiyonlar, su aktivitesi, oksidatif olaylar vb.) kontrol altına alınmasıdır. Bu kimyasal olaylar hem gıdaya bulaşan mikroorganizmalardaki hem de gıdadaki tabii enzimler ve kimyasal reaksiyonlardan ileri gelmektedir. Bu noktada gıda teknolojisi açısından en önemli husus gıda kalitesindeki ve besleyicilik değerindeki en az değişim ile gıda güvenliğinin en üst noktaya ulaştırılmasıdır.

Yüksek hidrostatik basınç uygulamaları (YHB), termal yıkımları ortadan kaldırarak gıdaların 'tazelik' karakterinde minimum değişimler sağlamaktadır. Isıl işlemlere kıyasla, YHB uygulamaları gıdalarda daha taze lezzet, daha iyi görünüş, tekstür ve besin değeri ile sonuçlanmaktadır. Tüketici tarafından gıdanın kabul edilebilirliğinde, ürünün duyu özellikleri büyük bir rol oynamaktadır. YHB uygulamaları ortam ya da buzdolabı sıcaklıklarında gerçekleştirilebildiği için ısı işlemler sonucu ortaya çıkan istenmeyen kötü değişimleri elimine etmektedir.

Yüksek hidrostatik basınç (YHB), katı veya sıvı gıdaların ambalajlı veya ambalajsız olarak düşük sıcaklıklarda 100–1000 MPa basınca maruz bırakılmasıyla mikrobiyal inaktivasyonun sağlandığı bir teknolojidir (Cheftel ve Culioli 1997, Crehan vd 2000). Gıdaların basınçla işlenmesi ABD'de Hite (1899) ve Hite vd (1914) gibi araştırmacılar tarafından ilk olarak 19. Yüzyılın sonlarında çalışılmıştır. Yüksek hidrostatik basınçın bakterileri öldürdüğüne dair ilk rapor Roger tarafından 1895 yılında açıklanmış olmasına rağmen, gıda endüstrisinde yüksek hidrostatik basınç ile mikrobiyal inaktivasyonu açıklayan önemli çalışma Bert Hite'in Temmuz 1899'da yayımlanan makalesidir. Hite ilk çalışmasında oda sıcaklığında 1 saat 600 MPa'lık basınca maruz bırakılan çiğ sütün raf ömrünün 4 gün uzadığını göstermiştir. Bununla beraber, sütte asitlik artışı da 200 MPa'lık bir uygulama ile 24 saat geciktirmeyi başarmıştır. Hite vd (1914), 400 ve 820 MPa arasında değişen basınç işlemine tabi tutulan çoğu meyve suyunun, işlemden sonra en az 5 yıl boyunca ticari olarak steril kaldıklarını göstermişlerdir.

Yüksek basınç işleminin oda sıcaklığında uygulanabilmesi, kovalent bağları ve küçük molekülleri fazla etkilememesinden dolayı tat, aroma, vitaminler, pigmentler, fenoller ve diğer benzer bileşenler üzerinde önemli değişikliklere neden olmamaktadır. Kovalent ve kovalent olmayan bağları etkileyen ısı uygulamalarının aksine, oda sıcaklığında YHB uygulamaları sadece nispeten zayıf kimyasal bağları (hidrojen, hidrofobik ve iyonik bağlar) etkilemektedir (Hendrickx vd 1998). Bu nedenle gıdanın doğal görünümü ve lezzeti korunmuş olmaktadır. Yüksek basınç işlemi sırasında 1000 MPa'lık basınçın etkisini anlatmak için 10000 kg'lık ağırlığın aynı anda 1 cm<sup>2</sup>'lik alana yaptığı etkiye eşit olmasıyla açıklanabilir (Özlü 2006). (1 atm=0.1 MPa=1 bar).



Şekil 1.2. Yüksek hidrostatik basıncın etkisi (Moraru 2008 )

Yüksek hidrostatik basınç işlemi iki temel prensibe dayanmaktadır. Paskal izostatik prensibine göre; yüksek hidrostatik basınç ürünün hacmine, şekline ve büyüklüğüne bağlı olmaksızın ürünün her tarafına eşit şekilde etki gösterir. Le Chatelier prensibine göre de; ürünü çevreleyen sıvıya uygulanan kuvvetle sıvının sıkıştırılması ilkesine dayanmaktadır. Yüksek basıncın inaktivasyon mekanizması fiziksel olarak Le Chatelier prensibi ile açıklanabilir. Kuvvetten kaçış olarak bilinen yasaya göre, dengede olan bir fiziksel sisteme dışarıdan bir etki yapıldığında, sistem bu etkiyi en aza indirecek şekilde kendini değişikliğe uğratar. Basınç artarsa hacim azalır ve yoğunluk artar, dolayısıyla denge mol sayısı az olan tarafa kayar ve sistemin kimyasal dengesi değişir.

Tipik bir YHB sistemi basınç kabini, düşük basınç pompası, YHB pompası (intensifiyer), kapak, kapak aparatları, vanalar ve kontrol ünitesinden (basınç ve sıcaklık ölçümü) oluşmaktadır (Singh 2001). YHB sisteminde uygulanan basıncın gıdaya iletilmesinde basınçlama sıvısı olarak özel hidrolik yağlar, hidrokarbonlar veya su kullanılmaktadır (Chefteland ve Culioli 1997). Fakat pratikte hacim azalması, gazlara oranla daha az ve ucuz olmasından dolayı su en çok kullanılan basınçlama sıvısıdır.

### 1.7. Yüksek Hidrostatik Basıncın Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

Yüksek hidrostatik basıncın etkisi öncelikli olarak uygulanan basınca ve uygulanan süreye bağlıdır. Basınç uygulaması boyunca mikroorganizma sayısındaki azalma, hücrelerdeki yaralanmaların kombinasyonu sonucu meydana gelmektedir (Rendules vd 2011). Basınç artışıyla beraber önemli olan hücre fonksiyonları tehlike altına girer ve mikroorganizmaların bu zor koşullara dayanması gittikçe imkansız hale gelir (Mota vd 2013). Yüksek hidrostatik basıncın mikroorganizmalar üzerindeki yıkıcı etkisi; enzimlerin inaktivasyonu, DNA, RNA ve ribozomda meydana gelen hasar, hücre zarı ve hücre duvarının bozulmasına dayanmaktadır. Özellikle hücre zarının, YHB uygulamalarında bakteri inaktivasyonunun temel hedefi olduğu düşünülmektedir (Smelt 1998).

Mikroorganizmaların yüksek basınca direnci, mikroorganizmanın türü ve gıdanın içeriği ve pH'ya bağlı olarak değişim göstermektedir. Düşük pH'da mikroorganizmaların basınca karşı direnci, daha yüksek pH'larda uygulanan basınca olan dirence göre daha zayıftır. Aynı mikroorganizma cinsinin farklı türleri yüksek basınca karşı aynı direnci göstermeyebilir. Isıya dirençli mikroorganizmalar, genellikle ısıya duyarlı olan mikroorganizmalardan daha yüksek oranda basınca dirençlidir. Mayalar ve küflerin vejetatif formları 200-300 MPa basınç uygulaması ile inaktive edilebilmektedirler. Gram negatif bakteriler, gram pozitif bakterilere oranla basınca ve ısıya karşı daha hassastırlar. Yüksek hidrostatik basınca karşı en büyük direnci bakteri sporları göstermektedir. Bakteri sporları 1200 MPa basınca kadar direnç gösterebilirler. Virüslerin ise basınca karşı dirençleri oldukça değişkendir (Metrick vd 1989, Smelt 1998, Heinz ve Knorr 1998, Hugas vd 2002, Garriga vd 2004).

Yüksek hidrostatik basıncın su ürünlerinde kullanımı ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Ancak balık marinatı üzerine etkilerini gösteren bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Marinatlarda biyojen amin oluşumu ve biyojen amin oluşumunda rol oynayan bakterilerin varlığı oldukça önemli bir konudur. Bu çalışmada, yüksek hidrostatik basınç uygulamasının balık marinatında psikrotolerant biyojen amin üreten bakteriler ve biyojen amin üretimi üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, ringa filetolarından elde edilen marinatlara *Morganella psychrotolerans* ve *Photobacterium phosphoreum* bakterileri inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmıştır. Yüksek basınç uygulanan marinatlar 4°C'de 90 gün boyunca depolanarak kalitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

### 2.1. Marinat Teknolojisi ile İlgili Çalışmalar

Balık marinatı, sıcaklık uygulanmayan ve sınırlı raf ömrüne sahip ‘hazır yemek’ olarak tüketilmektedir (Gram ve Huss 1996, Sallam vd 2007, Fuselli vd 1994, Gökoğlu vd 2004). Marinasyon, gıda muhafazasında bilinen en eski işlemlerden biri olup tarihi M.Ö. 7. yüzyıla kadar dayanmaktadır. Bununla birlikte marinatın Avrupa pazarlarında görülmesi 19. yüzyılda ringa balığının fazla miktarda avlanması ile gerçekleşmiştir (Gökoğlu 2002). Bu tür ürünlerde asetik asit ve tuzun etkisi balıkta bulunan bakteri ve enzim faaliyetlerini durdurarak ürünün daha uzun raf ömrüne sahip olmasını sağlamaktadır. Marinat teknolojisinde amaç sadece mikroorganizma gelişimini önlemek değil, aynı zamanda çiğ materyalin dokusunun yumuşatılması, tekstürel ve yapısal özelliklerin değişmesini sağlamaktır (Gökoğlu vd 2004, Poligne ve Collignan 2000).

Marinat teknolojisinin ilk aşaması olgunlaştırma işlemidir. Asetik asit ve tuz çözeltisinde birkaç gün içerisinde balığın fiziksel ve duyuşal özelliklerinde değişimler oluşmaktadır. Kas dokusu yumuşayarak, deri ve kılçıklar kolayca ayrılabilir (Sikorski 1989). Asetik asit ve tuz, balığın içerdiği enzimler ile birlikte balıkta mevcut protein ve yağlara etki ederek, protein ve yağların belirli bir derecede yıkımı ile hoş aromalı ve lezzetli ürünler oluşturmaktadır (Özden ve Baygar 2003).

Marinat tuz ve sirkenin bir kombinasyonu olmakla beraber asıl koruyucu etki sirke tarafından sağlanmaktadır. Tuzun koruyucu etkisi ancak %10'luk konsantrasyondan sonra başlamaktadır. Marinatın daha uzun süre dayanması amacıyla çözeltideki asit oranının artırılması düşünülse de, bu durum ürünün lezzetini bozacağından pek uygun değildir (Varlık vd 1993b, Connell 1980).

Genel olarak olgunlaştırma salamurasının içeriği; % 4-8 asit ve % 10-14 tuzdur (McLay 1972). Tavsiye edilen balık salamura oranı 1:1.5 veya 1:2'dir. Olgunlaşmanın yapıldığı ortamın sıcaklığı yüksek ise olgunlaşma hızlanır. Ancak mikroorganizma faaliyeti artacağından bozulma riski artmaktadır. Düşük sıcaklıkta olgunlaşma uzun sürede gerçekleşir. Olgunlaştırma süresi kullanılan materyale göre değişiklik göstermekle birlikte 1-3 gün arasında değişmektedir.

Marinatlar, sınırlı raf ömrüne sahip ürünler olduğu için, depolama sıcaklığına, paketleme şekline, balığın kalitesine, salamura içeriğine (tuz ve asetik asit konsantrasyonuna) ve işleme koşullarına bağlı olarak bozulmalar görülebilmektedir. Marine ürünlerin bozulmasında, yağ ve proteinlerdeki fiziksel ve kimyasal değişimler ile mikrobiyal kökenli reaksiyonlar birinci derecede etken olmaktadır (Varlık vd 2007). Bu etkilere bağlı olarak marine ürünlerde mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal bozulmalar meydana gelmektedir.

Marinatların kalitesi üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Sallam (2007), %12 tuz - %2 asetik asit, %12 tuz - %3 asetik asit ve %12 tuz - %0 asetik asit çözeltileriyle hazırladıkları pasifik zarganası (*Cololabis saira*) marinatını 4°C'de 90 gün boyunca vakum paketlerde depolayarak mikrobiyolojik değişimleri incelemişlerdir. Bu amaçla toplam aerobik bakteri, toplam halofilik bakteri, laktik asit bakterileri, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus aureus* ve toplam Enterobacteriaceae gelişimini gözlemlemişlerdir. Çalışma sonunda toplam aerobik bakteri, toplam halofilik bakteri, laktik asit bakterileri

ve *Pseudomonas spp.* gelişiminin asetik asit ve tuz kombinasyonu çözeltileriyle hazırlanan marinatlarda sadece tuz çözeltisiyle hazırlanan marinatlara göre daha az gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Enterobacteriaceae ve *Staphylococcus aureus* gelişiminin %2 ve %3 asitte sırasıyla depolamanın 30. ve 50. günlerinde tamamen inhibe olduğu ve raf ömrünün kontrol grubuna göre 90 günden fazla olduğu belirlenmiştir.

Gökoğlu vd (2004), farklı konsantrasyonlarda (%2 asetik asit-%10 tuz, %4 asetik asit-%10 tuz) marinat çözeltilerinde hazırladıkları sardalyanın (*Sardina pilchardus*) toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve trimetilamin (TMA-N) kalitesindeki değişimleri incelemiştir. Depolama süresince her iki asit grubunda da TVB-N ve TMA-N değerlerinde artış gözlenirken, %4 asit grubunun %2 asit grubuna göre daha düşük değerlere sahip olduğu belirtilmiştir.

Nar suyu konsantresi ve %3 asetik asit %15 tuz çözeltisi ile hazırlanmış oldukları hamsi marinatında TVB-N, TMA-N ve lipid oksidasyonu değişimini araştıran Gökoğlu vd (2009), nar suyu konsantresinin marinat kalitesini iyi ölçüde etkilediğini gözlemlenmiştir. Depolama boyunca (4°C' de 150 gün) TVB-N değerinin 35 mg/100 g, TMA-N değerinin de 5 mg/100 g olan limit değerine ulaşmadığı belirtilmiştir. Bununla beraber nar suyu konsantresinin ile depolanan örnekler ayçiçek yağı ile depolanan örneklerden daha düşük değerler göstermiştir. Oksidasyon değerlerinin de (konjuge dien, para anisidin) depolama süresince nar suyu konsantresinin gruplarda daha düşük değerde olduğu gözlemlenmiştir.

Sallam vd (2007), tuz ve farklı asit çözeltileriyle (%12 tuz - %2 asetik asit, %12 tuz - %3 asetik asit ve %12 tuz - %0 asetik asit) hazırlayarak vakum paketlenmiş oldukları pasifik zarganasında (*Cololabis saira*) 90 günlük depolama süresince mikrobiyolojik ve kimyasal kalite değişimlerini incelemiştir. Toplam psikrofil canlı sayısının depolama boyunca artış gösterdiği, ancak tuz ve asetik asit kombinasyonu ile hazırlanan gruplarda, sadece tuz çözeltisiyle hazırlanan gruba göre daha düşük değerlere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Depolama sonunda toplam psikrofil canlı sayısının sadece tuz çözeltisiyle hazırlanmış grupta 8.31 log kob/g a ulaştığı, %2 asetik asit grubunda 5.16 log kob/g ve %3 asetik asit grubunda 4.75 log kob/g olarak kaldığı belirtilmiştir. Depolama boyunca, nitrojenli bileşiklerin yıkımı sebebiyle tüm grupların pH değerlerinde artış görülmüştür. Depolama sonunda TVB-N değerlerinin tüm gruplarda 35 mg/100 g altında kaldığı, fakat asit eklenmemiş grupta önemli derecede yüksek olduğu gözlemlenmiştir. TMA-N değerleri %2 ve %3 asit gruplarında sırasıyla 5.52 ve 4.47 mg/100 g bulunurken, asit olmayan grupta 8.37 mg/100 g olarak bulunmuştur. Lipid oksidasyonunun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit (TBARS) değeri tüm gruplarda depolamanın 50. gününe kadar artmış, daha sonra azalarak dalgalanmalar göstermiş ve asit gruplarında daha düşük değerlerde seyretmiştir.

Kılınç vd (2005a), %7 asetik asit ve %14 tuz çözeltisiyle marine ettikleri sardalyanın (*Sardina pilchardus*) 6 aylık depolama periyodu süresince kalite parametrelerindeki değişimleri gözlemlenmiştir. Olgunlaşma süresinden sonra marinatları iki farklı sos içerisine almışlardır. Birinci grup %2 asetik asit, %4 tuz, sarımsak ve kırmızıbiber içeren domates sosu; ikinci grup %2 sitrik asit ve %4 tuz içeren limon suyu sosuna alınarak 70°C' de 20 dk pastörize edilmiştir. Her iki sos grubu içinde pastörize edilmeyen birer kontrol grubu ayrılmıştır. Marinasyon işleminin



başında ve sonunda histamin içeriği sırasıyla 10.21 mg/kg ve 22.08 mg/kg olarak belirlenmiştir. Domates soslu ve limon soslu pastörize edilmiş marinatlarda histamin içeriği başlangıçta sırasıyla 48.4 mg/kg ve 47.2 mg/kg olarak bulunurken, pastörize edilmeyen sos gruplarında histamin değeri 55.6 mg/kg ve 54.8 mg/kg olarak bulunmuştur. Yine benzer çalışmada Kılınç vd (2005b) domates soslu ve pastörize edilen gruplarda toplam psikrofil bakteri, laktik asit bakterileri ve maya-küf gelişimini incelemişlerdir. Hem pastörize edilen hem de pastörize edilmeyen örneklerde toplam psikrofil bakteri ve maya-küf gelişimine rastlanmamıştır. Pastörize edilmeyen örneklerde laktik asit bakteri sayısı depolama sonunda 5.66 log cfu/g olarak belirlenmiştir. Pastörize edilen sos gruplarında ise laktik asit gelişimi gözlenmemiştir. Pastörize edilen soslu marinatlarda depolama sonunda TBARS, TVB-N ve TMA-N değerleri sırayla 8.14 mg malo./kg, 19.13 mg/100 g ve 7.73 mg/100 g iken pastörize edilmeyen soslu marinatlarda bu değerler sırasıyla 8.21 mg malo./kg, 28.47 mg/100 g ve 10.86 mg/100 g olarak bulunmuştur.

Tomac vd (2015), %3 asetik asit, %0.2 sitrik asit ve %10 tuz ile marine ederek 4°C' de 10 ay boyunca depoladıkları hamsinin (*Engraulis anchoita*) kalitesi üzerine gamma ışınlarının etkilerini araştırmışlardır. Depolama süresince gamma ışınlanmış örneklerdeki TBA değerlerinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca gamma ışınlamanın depolama boyunca duyuşsal kabul edilebilirliğinin oldukça iyi olduğu görülmüştür.

Topuz vd (2014) yaptıkları çalışmada %2 asetik asit ve %10 tuz çözeltisi ile hazırladıkları hamsi (*Engraulis encrasicolus*) marinatinın farklı soslar içerisinde depolanması sırasında kalitesinde meydana gelen değışimleri incelemişlerdir. Olgunlaşma işleminden sonra marinatlarda farklı oranlarda nar suyu ve zeytinyağı içeren soslar içerisine alınmış ve 4°C' de 100 gün boyunca depolanmıştır. Depolama boyunca sos ilaveli grupların TMA-N, TVB-N, TBARS ve konjuge dien değerlerinin kontrol gruplarından daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Böylece zeytinyağı ve nar suyu sosunun hamsi marinatinı lipid oksidasyonunu geciktirdiği ve diğer kalite parametrelerinin de korunmasını sağlayarak raf ömrünü uzattığı belirtilmiştir.

Furutani vd (2013), kolyoz (*Scomber japonicus*) ile yapmış oldukları *shimesaba* adı verilen geleneksel japon balık ürününün mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesindeki değışimleri incelemişlerdir. İki farklı hücre yoğunluğunda ( $10^4$  ve  $10^7$  kob/ml) bakteri karışımını (*Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Photobacterium damsela*, *Photobacterium phosphoreum*) kolyoz filetolarının yüzeyine inoküle etmişlerdir. Daha sonra filetoları tuz içerisinde 1 gün bekletmiş ve ardından *shimesaba* işlemi için gerekli olan marinat çözeltisine (%10 asit içerik olan %27 sirke, %68 su, şeker, sodyum glutamat ve sodyum succinat) alarak 1 gün de burada bekletmişlerdir. Marinasyon işlemi tamamlandıktan *shimesaba* adını alan ürünler vakum paketlenerek 5°C, 10°C ve 20°C'lerde depolanmıştır. 5°C' de bulunan örneklerde histamin üreten bakteri sayısında ilk 3 günde artış gözlenirken, 7. günden sonra azalma görülmüştür. Başlangıçta  $10^4$  ve  $10^7$  olan inokülasyon değerleri depolama sonunda sırasıyla  $1.6 \times 10^1$  log kob/g ve  $2.9 \times 10^1$  log kob/g olmuştur. 10°C' de depolanan örneklerde depolama sonunda histamin üreten bakteri sayısı  $10^4$  inokülasyon grubunda  $7.9 \times 10^3$  kob/g iken  $10^7$  inokülasyon grubunda  $1.2 \times 10^5$  kob/g olarak belirlenmiştir. 20°C' de depolama sonunda  $10^4$  inokülasyon grubunda histamin üreten bakteri sayısı  $3 \times 10^3$  kob/g ve  $10^7$  inokülasyon grubunda  $2.4 \times 10^4$  kob/g olarak gözlenmiştir. Bunun

yanında 10°C’de histamin oluşumunun 5°C ve 20°C’de histamin oluşumundan daha güçlü olduğu ve depolamanın 3. gününde histamin miktarının 50 ppm’e e ulaştığı görülmüştür.

## 2.2. Biyojen Amin Oluşumu ile İlgili Çalışmalar

Biyojen aminler genellikle gıdalardaki aminoasitlerin bakteriyel enzimler tarafından dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır (Taylor ve Spechard 1984). Gıdalarda en sık oluşan biyojen aminler histidinden histamin, lisinden kadeverin, ornitinden putresin, tirozinden tiramin ve triptaminden triptofandır. Gıdalarda en çok bulunan biyojen aminler histamin, tiramin, putresin ve kadaverindir (Buckenhuskes 1993).

Biyojen aminler, özellikle histamin, işleme ve depolama süresince mikrobiyolojik ve biyokimyasal bozulmalara hassas olan biyolojik olarak aktif güçlü kimyasal maddelerdir. Gıdaların mikrobiyal bozulmalarına biyojen aminler, dekarboksilaz üretimini arttırarak eşlik edebilirler. Bu nedenle bu aminleri, sıcaklık ve dondurma gibi fiziksel işlemlerle yok etmek oldukça zordur (Pokorny 1997, Eerola vd 1998, Doi vd 1998).

Lehane ve Olley (2000) balıkta ölüm sonrası biyojen amin oluşumunu arttıran üç önkoşul olduğunu belirtmişlerdir. Bunlar; a) yeterli miktarda serbest histidin içeriği, b) bakteriyel histidin dekarboksilaz varlığı, c) yüksek sıcaklık gibi çevresel faktörler. Biyojenik amin üretimi aynı zamanda mikrobiyal flora, gıda katkı maddeleri, sıcaklık, nem, fermentasyon ve paketlenme koşullarına göre değişkenlik göstermektedir (Draisci vd 1998).

Balık uygun soğutma yapılmadan güvertede bekletilirse, avlamadan sonra 6-12 saat içinde toksik düzeyde histamin oluşturulabilir (Price and Melvin 1994).

*Morganella morganii* (Lopez-Sabater vd 1996a, Rawles vd 1996), *Klebsiella pneumoniae* (Lopez-Sabater vd 1996a), ve *Proteus vulgaris* (Kim vd 2001b) kültür brothlarında 1000 ppm den daha fazla histamin üreten bakteri türleridir.

Balıkta histidin dekarboksilaz enzimi sentezleyen bakteriler histamin oluşumunun ana kaynağıdır (FDA 1998). Bu enzim histidini histamine dönüştürmeden sorumludur.

Scombroid zehirlenmesinin ana etkeni ve kimyasal bir tehlike olan histamin (FDA 1998), balık kasında ölüm sonrası bir ürün olup taze balıkta çok düşük seviyelerde bulunmaktadır. Ancak depolama boyunca kastaki serbest histidinin bakteriyel enzimatik dekarboksilasyonu ile birikebilir (Fernandez-Salguero ve Mackie 1987, Önal 2007).

Taze balık yok denilecek kadar az miktarda histamin içermektedir. Uygun olmayan işleme ve depolama koşulları balıkta histidin dekarboksilaz özelliğine sahip bakterilerin gelişimiyle histamin oluşumunu artırır (Rawles vd 1996). Birçok bakteri histamin üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu türler enterik bakterilerden; *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Serratia fonticola*, *S. liquefaciens* ve *Citrobacter freundii*, ve (Kim vd 2003b, Tsai vd 2005), *Clostridium* (*Cl.*) spp., *Vibrio alginolyticus*, *Acinetobacter lowffi*, *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *Aeromonas spp.* and spp. gibi diğer türlerdir (Middlebrooks vd 1988, Yatsunami ve Echigo 1991, Okuzumi vd 1994). *Hafnia alvei*,

*C. freundii* ve *Serratia* spp., gibi türler zayıf histamin üreten bakteriler olarak bilinirken (Lopez-Sabater vd 1996; Kim vd 1999), *M. morgani* ve *Klebsiella* spp. çok güçlü histamin üreten türler olarak bilinmektedir (Taylor ve Speckhard 1983, Ababouch vd 1991),

Önceki çalışmalar histamin üretimi için optimum depolama sıcaklığının 20-25°C'ler olduğunu göstermiştir (Kim vd 1999). 2-10°C'lerde histamin üretimine psikrofilik ve psikrotrof bakterilerin neden olduğu düşünülmektedir (El Marrakchi vd 1990, Bennour vd 1991). Ayrıca buzda depolamanın histamin üretimini etkin bir şekilde azaltacağı görülmüştür (López-Sabater vd 1996, Guizani vd 2005).

Histamin üreten bakterilerin gelişimi yüksek sıcaklıklarda daha hızlıdır (Lehane ve Olley 2000, Visciano vd 2007). Bu nedenle, histamin üretimi sıcaklığa bağlı olduğu için düşük sıcaklıklarda depolama histamin oluşumunu önlemede etkin bir yöntemdir (Bakar vd 2010, Emborg ve Dalgaard 2008, Visciano vd 2007).

*Photobacterium* spp. gibi bazı bakteri türleri düşük sıcaklıklarda gelişerek histidin dekarboksilaz üretebilme özelliğine sahiptir ve histamin oluşumunu önlemek için sadece sıcaklık kontrolü her zaman etkili bir yöntem değildir (Emborg vd 2005).

Gıdalardaki histamin her zaman tehlikeli olmamaktadır. Küçük miktardaki histamin amin oksidaz veya konjugasyon faaliyeti ile kolayca tolere edilebilmektedir. Sindirilen histamini ve bağırsak bakterileri tarafından oluşturulan histamini metabolize etmek için bağırsak bölgelerinde oldukça etkili bir detoksifikasyon sistemi bulunmaktadır. Detoksifikasyon sisteminde diamin oksidaz, monoamin oksidaz, *N*-metil transferaz gibi enzimler aracılığıyla histamin toksik olmayan ürünlere dönüştürülmektedir. Detoksifikasyon sistemi normal diyetle alınan histamini kontrol etmek için yeterli olmaktadır. Fakat allerjenik bireyler için monoamin oksidaz inhibitörleri uygulanırsa veya çok yüksek histamin seviyeleri tüketilirse bu detoksifikasyon sistemi bozulmakta ve zehirlenme ortaya çıkmaktadır (Shalaby 1996, Hornero-Mendez ve Garrido 1997). Bozulmuş veya fermente olmuş ürünlerin sindiriminde bu sistem başarısız olmaktadır (Brink vd 1990).

Emborg vd (2005), vakum ve modifiye atmosfer paketledikleri ton balığının 1-3°C'lerde depolanması süresince *P. phosphoreum* ve *M. morgani*-like bakterilerinin histamin oluşumu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Modifiye atmosfer paketlenmiş ton balığında baskın olan bakteri türünün *M. morgani*-like olduğunu ve histamin üretiminin depolamanın 24. gününde 5000 mg/kg'dan fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Vakum paketlenmiş ton balığında ise her iki bakteri türünün de baskın olduğu ve histamin oluşumun 7000 mg/kg'dan fazla olduğu bulunmuştur.

Gökoğlu vd (2003), %2 asetik asit-%10 tuz ve %4 asetik asit-%10 tuz çözeltileriyle hazırladıkları sardalya marinatını 4°C'de 5 ay depolayarak biyojen amin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Marine edilmiş sardalyanın biyojen amin içeriğinin taze balığın biyojen amin içeriğinden daha yüksek olduğu, ayrıca asit konsantrasyonları arasında önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. %4 asetik asit çözeltisi ile hazırlanan marinat gruplarında biyojen amin içeriği, %2 asetik asit ile hazırlanan marinat gruplarından daha düşük bulunmuştur. Ortamdaki pH'nın hızla düşmesi, yüksek asitli marinatlarda biyojen amin içeriğinin düşük olma sebebinin olarak düşünülebilir. Aminoasit dekarboksilaz aktivitesi asidik koşullarda daha güçlüdür. Böyle ortamlarda, bakterilerin asidik

ortamlara karşı savunma mekanizmasının bir parçası olan dekarboksilaz üretimi teşvik edilmektedir (Halasz ve ark., 1994; Silla Santos 1996). Spermin ve spermidin her iki asit grubunda da olgunlaşma işleminin başında çok küçük miktarlarda gözlemlenmiştir.

Jorgensen vd (2000), soğuk dumanlanmış somonu *Photobacterium phosphoreum* ve *Hafnia alveii* ile inoküle ettikleri salmonda 5°C'de biyojen amin oluşumunu gözlemlenmişlerdir. 21 günlük depolama boyunca histamin, kadaverin, agmatin, putresin ve tiramin oluşumunun *P. phosphoreum* tarafından daha fazla olduğu, hatta putresin oluşumunun *P. phosphoreum* inoküle edilen örneklerde *H. alveii* ile inoküle edilen örneklerden 10-15 kat daha fazla olduğu bulunmuştur.

Dalgaard vd (2006), zargana balığını -22°C'de 5-6 hafta depoladıktan sonra 5°C'de çözdürmüş ve modifiye atmosfer paketlemişlerdir. Balığın doğal florasında bulunan *P. phosphoreum* gelişimini ve biyojen amin oluşumu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *P. phosphoreum* tarafından 5°C'de depolama süresince 2000-4500 ppm arasında histamin oluştuğu gözlemlenmiştir. Depolama süresince modifiye atmosfer paketlemenin histamin oluşumunu azaltmada etkili olmadığı bulunmuştur. Depolamadan önce dondurarak ardından çözdürmenin *P. phosphoreum* gelişimini ve histamin oluşumunu azalttığı, böylece raf ömrünü arttırdığı belirtilmiştir.

Kim vd (2002), farklı sıcaklıklarda depoladıkları uskumru, orkinos, mahi mahi ve somon balıklarını farklı sıcaklıklarda depolayarak 10<sup>6</sup> kob/g oranında inoküle ettikleri *Morganella morganii* bakterisinin histamin gelişimi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Tüm balık türlerinde 15°C'nin üzerindeki sıcakların *M. morganii* gelişimini ve histamin oluşumunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Depolamanın başında tüm balık türlerinde histamin miktarı önemsiz düzeyde iken, depolamanın 6. saatinden sonra hızla artış göstermiştir. 15°C'de depolanan uskumru, orkinos ve lambuka balığında de en yüksek histamin içeriği sırayla 342 mg/kg, 301 mg/kg ve 297 mg/kg olarak 24. saatte görülmüştür. *Morganella morganii* tarafından histamin oluşumu için optimum sıcaklığın 25°C olduğu belirtilmiştir. Depolamanın 24. saatinde 25°C'de depolanan uskumru, orkinos ve lambuka balığında en yüksek histamin içeriği sırayla 461 mg/kg, 343 mg/kg ve 334 mg/kg bulunmuştur. 4°C'de depolanan örneklerde histamin içeriği önemsiz derecede düşük bulunmuştur.

### 2.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması ile İlgili Çalışmalar

Yüksek hidrostatik basıncın bakterileri öldürdüğüne dair ilk rapor, Roger tarafından 1895 yılında açıklanmış olmasına rağmen, gıda endüstrisinde yüksek hidrostatik basınç ile mikrobiyal inaktivasyonu açıklayan önemli çalışma Bert Hite'in Temmuz 1899'da yayınlanan makalesidir. Hite'in ilk çalışması oda sıcaklığında 1 saat 600 MPa'lık basınca maruz bırakılan çiğ sütün raf ömrünün 4 gün uzatılabilmesi olmuştur. Bunun yanında, sütte asitlik artışını da 200 MPa'lık bir uygulama ile 24 saat geciktirmeyi başarmıştır. Hite vd (1914), 400 ve 820 MPa arasında değişen basınç işlemi uygulanan çoğu meyve suyunun, işlemden sonra en az 5 yıl boyunca ticari olarak steril kaldıklarını göstermişlerdir.

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması kovalent bağları kıramamasına rağmen, hidrojen bağları ve diğer interaksiyonları etkileyebilmektedir (Zorba vd 2005).

Mikroorganizmaların yüksek basınç altındaki inaktivasyon kinetikleri; basınç seviyesi, uygulama zamanı, sıcaklık, pH, su aktivitesi ve gıda bileşenleri gibi birçok faktöre bağlıdır. YHB' nin mikroorganizmalar üzerindeki etkisi türlere göre de önemli farklılıklar göstermektedir. Sporlar oldukça dirençli olmakla birlikte, gram pozitif vejetatif bakteriler gram negatif vejetatif bakterilerden daha dirençlidirler. Durgunluk evresindeki bakteri hücreleri yüksek hidrostatik basınca logaritmik evredeki bakteri hücrelerinden daha dirençlidirler (Hugas vd 2002).

Yüksek basınç uygulaması ile birlikte, hücre zarı geçirgenliği artmakta, hücre içi bileşenler parçalanmakta, hücrede enerji üreten reaksiyonlar inhibe olmakta, hücre büyümesi için gerekli olan enzimler inaktive olmakta ve büyüme için gerekli olan pH aralığı azalmaktadır (Hugas vd 2002).

Su ürünlerinde muhafaza süresini sınırlayan en önemli faktörlerden biri yağlarda meydana gelen oksidasyondur. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, indirgenmiş durumda olan myogloblin ve oksimiyoglobinin ferrik forma dönüşmesine neden olmaktadır. Böylece demir serbest demir formuna geçerek, prooksidan etkisiyle lipid oksidasyonunu başlatabilmektedir (Orlien vd 2000).

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, ortam koşulları sıcaklığında ve hatta daha düşük sıcaklıklarda uygulanabilmesi, gıdanın şekline, büyüklüğüne içeriğine bağlı olmadan anlık ve heryere eşit şekilde uygulanabilmesi en önemli avantajlarından (Medina-Meza vd 2014). 300 MPa'nın altında kalan yüksek hidrostatik basınç uygulamalarının lipid oksidasyonu üzerindeki etkileri çok küçüktür. Fakat 300-400 MPa'nın üzerindeki basınçlar, gıdada belirgin değişimlere neden olabilmektedir

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması sırasında adyabatik ısınmadan dolayı sıcaklıkta küçük bir artış gerçekleşmektedir. Su için her 100 MPa'da 3°C sıcaklık artışı olmaktadır (Guerrero-Beltran 2005, San Martin 2002).

Et ve su ürünleri, son yıllarda ticari olarak yüksek hidrostatik basınç uygulanan gıdaların %45'ini oluşturmaktadır (Hyperbaric 2012).

Kim vd (2013) *Morganella morganii* ve *Photobacterium phosphoreum* inoküle ettikleri uskumruda (*Scomber japonicus*) yüksek hidrostatik basıncın bakterilerin gelişimi ve biyojen amin oluşumu üzerine etkilerini incelemişlerdir. 10<sup>4</sup> kob/g yoğunluğunda bakteri inokülasyonu yapılan balığa 100, 200, 300 ve 400 MPa (3 dk) yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 5°C'de (*P. phosphoreum* ile inoküle edilen gruplar) ve 12°C'de (*M. morganii* ile inoküle edilen gruplar) depolamışlardır. *Morganella morganii* inokülasyonundan sonra kontrol grubu ve 100 MPa basınç uygulanan grupta depolama sonunda (168 saat) bakteri hücre sayısı 10<sup>8</sup> kob/g olmuştur. 200 MPa ve üzerinde basınç uygulamasının *M. morganii* inaktivasyonunda etkin olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında 24. saate kadar histamin içeriği 5 mg/ kg'dan daha düşük miktarlarda bulunmuştur. Ayrıca kontrol ve 100 MPa basınç uygulanan gruplarda histamin içeriği 120. saatte hızla artış göstererek sırasıyla 3072 ve 2635 mg/kg olmuştur. 200 MPa ve üzerinde yüksek basınç uygulanması histamin oluşumu baskılanmış ve histamin içeriği 168. saatten sonra FDA'nın önerdiği limit olan 50 mg/kg'ı (FDA 2011) geçmemiştir. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen kontrol grubu ve 100 MPa basınç uygulanan grupta depolama sonunda (360 saat) bakteri hücre sayısı 10<sup>7</sup> kob/g'a ulaşmıştır. 300 MPa ve 400 MPa basınç uygulanan gruplarda *P. phosphoreum*

hücre sayısı  $10^4$  kob/g'in altında bulunmuştur. *Photobacterium phosphoreum* inoküle edildikten sonra depolamanın 120. saatine kadar histamin içeriğinin 2 mg/kg'dan daha düşük olduğu gözlenmiştir. Depolama sonunda en yüksek histamin değeri (270 mg/kg) kontrol grubunda bulunmuş ve 300 MPa ve üzerinde basınç uygulanan gruplarda bu değer 1 mg/kg altında kalmıştır.

Yapılan bir çalışmada ringa (*Clupea harengus*) ve mezzit (*Melanogrammus aeglefinus*) filetoları vakum paketlenmiş, 200, 250 ve 300 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulanarak (1 ve 3 dk) buz içerisinde 2°C'de 14 gün boyunca depolanmıştır (Karim vd 2011). Yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa ve mezzit filetolarından depolama süresince toplam psikrotrof canlı sayısının kontrol grubuna göre oldukça düşük olduğu bulunmuştur. 250 MPa (3 dk) ve 300 MPa (1-3 dk) basınç uygulanan ringa filetolarında TVB-N değerlerinin depolama boyunca sınır değerinin altında kaldığı görülmüştür. Mezzit filetolarında da yüksek basınç uygulaması TMA-N ve TVB-N değerlerinin limit değerlere ulaşmasını engellemiş, kontrol grubunda TMA-N değeri depolamanın 6. gününde 15.34 mg/kg, TVB-N değeri ise 10. günde 49.95 mg/kg olarak sınır değerlerinin üzerine çıkmıştır.

Matejkova vd (2013), alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarını vakum paketledikten sonra 300 MPa ve 500 MPa 10 dk yüksek basınç uygulayarak 3.5°C ve 12°C'de depolayarak biyojen amin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Alabalık filetosunda putresin, kadeverin ve tiraminin baskın biyojen aminler olduğu bulunmuştur. Yüksek basınç uygulanmamış filetolarda raf ömrünün 3.5°C'de 5-6 gün olduğu, yüksek basınç uygulamasıyla bu sürenin 21-28 güne kadar uzayabildiği gözlenmiştir. 12°C'de depolanan örneklerde yüksek basınç uygulamasının 3.5°C'de depolanan örneklere göre daha az etkili olduğu bulunmuştur.

Turna balığını (*Esox lucius*) vakum pakitleyip yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 3.5°C ve 12°C'de 70 gün depolayan Krizek vd (2014) biyojen amin oluşumunu incelemişlerdir. Depolama boyunca histamin oluşumu önemli düzeylere ulaşmamış, 3.5°C'de depolanan örneklerde is histamine rastlanmamıştır. Bunun yanında tiramin miktarı depolama boyunca sürekli artış göstermiştir. 300 MPa ve 500 MPa basınç uygulanarak 3.5°C'de depolanan örneklerde tiramin miktarı sırasıyla 55.8 mg/kg (28. gün) ve 82.1 mg/kg (70. gün) olarak bulunurken, 12°C'de depolanan örneklerde tiramin miktarı sırasıyla 51.5 mg/kg (14. gün) ve 110 mg/kg (21. gün) olarak gözlenmiştir. Depolama süresince 3.5°C'deki tüm filetolarda putresin ve kadeverin miktarları limit değeri geçmemiş, yüksek basınç uygulanan gruplarda bu miktarlar kontrol grubuna göre daha düşük değerlerde bulunmuştur. 12°C'de kadeverin miktarı kontrol grubunda 14. günde 118 mg/kg'a ulaşırken yüksek basınç uygulanan gruplarda 21. günde sınır değere ulaşmıştır. Çalışma sonunda elde edilen bulgular yüksek hidrostatik basınç uygulamasının biyojen amin oluşumunu önemli ölçüde azalttığını gösterirken, basınç uygulamasının düşük sıcaklıklarda depolamada daha etkin olduğu bulunmuştur.

Teixeira vd (2014), levrek filetolarına (*Dicentrarchus labrax*) farklı basınç ve süre parametrelerinin etkisini incelemek amacıyla 100, 250 ve 400 MPa ve 5, 15 ve 30 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamışlardır. Filetolarda başlangıçtaki toplam canlı sayısı  $10^5$  kob/g olarak bulunmuş ve 100 MPa basınç uygulaması mikroorganizma sayısında önemli değişimlere neden olmamıştır. 250 MPa ve 400 MPa basınç uygulanan

gruaplarda toplam canlı sayısında azalmalar gözlenirken, 400 MPa 30 dk basınç uygulamasının diğer gruplara göre en etkili olduğu ve mikroorganizma sayısında 2 log azalma sağladığı bulunmuştur.

Ramirez-Suarez vd (2006), kıyılmış tuna balığına (*Thunnus alalunga*) 275 MPa, 310 MPa ve 2, 4, 6 dk yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 4°C ve -20°C'de depolamışlar ve kalite parametrelerindeki değişimleri incelemişlerdir. Depolama sonunda (22 gün) yüksek basınç uygulanan gruplarda toplam psikrofil canlı sayısı kontrol grubundan ve 10<sup>6</sup> kob/g limit değerinden daha düşük bulunmuştur. Mikroorganizma yükünü azaltmada en etkili basınç uygulamasının 310 MPa ve 6 dk olduğu gözlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada yüksek hidrostatik basıncın lipid oksidasyonunu arttırdığı doğrulanmıştır. Bunun nedeninin ise hemoprotein kompleksinde bulunan metal iyonlarının yüksek basınç işlemi sırasında serbest kalması olarak düşünülmektedir. Bu çalışmada yüksek basınç uygulamasıyla TBARS değerleri kontrol grubuna göre düşük değerlerde bulunmuş ancak depolamanın sonlarına doğru TBARS değerlerinde artış gözlenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre, 4°C'de depolanan tuna balığında raf ömrünün 22 gün, -20°C'de depolananlarda ise 93 günden fazla olduğu tespit edilmiştir.

Soğuk dumanlanmış alabalık filetolarına yüksek hidrostatik basınç uygulayan ve 2°C'de depolayan Erkan vd (2011) kalite parametrelerindeki değişimleri gözlemlemişlerdir. Dumanlanmış filetolara 3, 7, 15 ve 25°C'de 220, 250 ve 330 MPa (5 ve 10 dk) basınç uygulayarak en uygun yüksek basınç koşullarını belirlemişlerdir. En iyi kalite parametreleri 250 MPa 3°C 5 dk ve 250 MPa 25°C 10 dk basınç uygulamalarından elde edilmiş ve bu gruplar 8 haftalık depolama süresine kadar kabul edilirken, kontrol grubunun 6 haftaya kadar tüketilebileceği belirtilmiştir.

Erkan vd (2010), farklı basınç, sıcaklık ve sürelerde yüksek hidrostatik basınç uyguladıkları barbun (*Mullus surmelutus*) balıklarının 4°C' depolanması süresince kalitesindeki değişimleri gözlemlemişlerdir. Toplam psikrotrof canlı sayısı kontrol grubunda 11. günde, 220 MPa 25°C 5 dk yüksek basınç uygulanan grupta 15. günde ve 330 MPa 3°C 5 dk yüksek basınç uygulanan grupta 17. günde limit değere ulaşmıştır.

Montial vd (2012), vakum paketlenmiş dumanlanmış morina balığına yüksek hidrostatik basıncın etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla balığa 400, 500 ve 600 MPa ve 5, 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 5°C'de 60 gün depolamışlardır. Depolamanın başında kontrol grubunda toplam canlı mikroorganizma sayısı 2.34 log cfu/g olarak bulunmuş ve yüksek basınç uygulamasıyla mikroorganizma sayısı azalmış ve depolama sonuna kadar limit değere ulaşmamıştır. TBARS değerleri kontrol ve basınç uygulanan gruplar arasında önemli bir farklılık göstermemiş ve depolama sonuna kadar 1-2 mg MDA/kg olan limit değere ulaşmamıştır. Biyojen aminlerden yalnızca triptamin ve spermin bulunurken hiçbir grupta spermin miktarı depolama boyunca 50 mg/kg'a ulaşmamıştır.

Chevalier vd (2001), kalkan balığına 100-200 MPa arasında 4°C'de 15, 30 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamışlardır. Basınç uygulamasından sonra TBA değerlerinin artan basınç ve süre parametreleriyle artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışma sonunda, kalkan balığı için en uygun basınç uygulamasının 140 MPa olduğu bulunmuştur.

Yağız vd (2009), somon balıklarının kalitesi üzerine yüksek hidrostatik basınç ve pişirmenin etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla somon filetolarını vakum paketlenerek 150 ve 300 MPa 15 dk basınç uygulamışlardır. Yüksek basınç işleminin ardından vakum paketlenmiş filetoları sıcak su banyosunda pişirmişlerdir. Filetoların sıcaklığı 72°C'ye ulaştığında su banyosundan çıkarmışlar ve 4°C'de 6 gün boyunca depolamışlardır. Başlangıçta kontrol grubunun toplam canlı mikroorganizma sayısı 3.56 log kob/g olarak bulunmuş, depolama sonunda 6.16 log kob/g'a ulaşmıştır. 150 MPa basınç uygulaması depolamanın ilk gününde 3 log azalmaya neden olurken depolama sonunda mikroorganizma sayısında 2 log azalma olmuştur. 300 MPa basınç uygulanan örneklerde depolama boyunca mikrobiyal gelişim gözlenmemiştir. İkincil oksidasyon ürünü olan TBARS değerleri tüm gruplarda depolama boyunca önemli derecede artış göstermiştir. Çalışma sonunda yüksek hidrostatik basınç uygulaması ve pişirme kombinasyonunun somon filetolarında kaliteyi koruyucu etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Picouet vd (2011), sous-vide teknolojisi ile pişirilmiş alabalık filetolarına 210, 310, 400 MPa ve 5, 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 4°C'de 13 gün depolamışlardır. Sous-vide pişirilmiş ve yüksek basınç uygulanmamış grupta başlangıçtaki toplam canlı sayısı 4.5 log kob/g olarak bulunurken, basınç uygulanan gruplarda artan basınçla beraber mikroorganizma sayısında azalma gözlenmiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, kontrol grubuna göre mikroorganizma gelişiminde üstün bir durgunluk evresi (lag fazı) sağlamıştır. 310 MPa ve 400 MPa basınç uygulanan gruplarda toplam mikroorganizma sayısı 13. güne kadar limit değere ulaşmazken, kontrol grubu ve 210 MPa basınç uygulanan grupta 11. günde limit değere ulaşmıştır. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar doğrultusunda 310 MPa ve üzerindeki basınç uygulamalarının sous-vide teknolojisi ile üretilmiş salmone filetolarında kontrol grubuna göre 6 günlük bir raf ömrü artışı sağladığı bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada Vazquez vd (2013) yüksek basınç uyguladıkları uskumru (*Scomber scombrus*) filetolarını dondurmuşlardır. Bu amaçla filetolara 150, 300, 450 MPa ve 2.5 ve 5 dk basınç uygulayarak -10°C'de 3 ay depolamışlardır. Depolama boyunca lipid oksidasyonu ve lipid hidrolizindeki değişimleri incelemişlerdir. Artan basınç ve süre parametreleriyle lipid hidrolizinde düşüş gözlenirken, yüksek basınç uygulamasının lipid oksidasyonunda önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur.



### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan balık ringa (*Clupea harengus*) balığı olup Almanya'da (Quakenbrück) yerel bir marketten temin edilmiştir. Taze ringa filetoları, buz içerisinde strafor kutularla laboratuvara getirilmiş ve polietilen torbalar içerisinde bloklar halinde paketlenmiştir. Paketlenen balıklar  $-40^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece dondurulduktan sonra, marinat yapımına kadar  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Çalışmada ortalama boyları  $19.41 \pm 1.2$  cm ve ortalama ağırlıkları  $158.27 \pm 19.3$  g olan yaklaşık 50 kg balık kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan bakteriler *Morganella psychrotolerans* (DSMZ, 17886) ve *Photobacterium phosphoreum* (DSMZ, 15556) German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ, Braunschweig, Germany) biriminden temin edilmiştir.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. Bakteri Kültürleri

*Morganella psychrotolerans* Tryptic Soy Broth içerisinde  $25^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece, *Photobacterium phosphoreum* ise tuzlu histidin broth (% 0.5 L-histidin ve % 2.5 NaCl) içerisinde  $20^{\circ}\text{C}$ 'de 2-3 gün kültür edilmiştir.

##### 3.2.2. Marinat Üretimi

İki farklı marinat solüsyonu (%2 asetik asit + %8 tuz; %4 asetik asit + %8 tuz) hazırlanmıştır. Derileri alınmış ve dilimlenmiş filetolar cam kavanozlara alınmış ve üzerine 1/1.5 oranında (balık/çözelti) marinat solüsyonu ilave edilmiştir. Marinasyon işlemi için kavanozlar  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün bekletilmiştir. Olgunlaşma işlemi tamamlandıktan sonra marinatlar solüsyondan çıkarılarak suları süzdürülmüş ve inokülasyon işlemine hazır hale getirilmiştir.

##### 3.2.3. İnokülasyon İşlemi

İnokülasyon için logaritmik evrenin sonundaki bakteri hücreleri kullanılmıştır. Bakteri kültürleri  $10^6$  kob/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Seyreltme amacıyla steril tuzlu pepton solüsyonu (%0.1 pepton (w/v) + %0.85 NaCl (w/v) kullanılmıştır. Daha sonra dilimlenmiş ringa marinatları bakteri kültürlerine daldırılarak 5 dakika bekletilmiştir. İnokülasyondan sonra örnekler polietilen paketlere konularak vakum paketlenmiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulamasına kadar paketler, sıcaklıktan etkilenmemeleri için  $2-4^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuştur.

##### 3.2.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması

Vakum paketlenmiş örneklere, 55-L ve maximum 600 MPa basınç kapasiteli ünite (WAVE 6000/55HT; NC Hyperbaric, Burgos, Spain) yüksek hidrostatik basınç uygulanmıştır (100, 300, 500 MPa basınç, 5 ve 10 dk). Yüksek hidrostatik basınç uygulaması süresince sıcaklık koşullarının oda sıcaklığında ( $20^{\circ}\text{C}$ ) kalabilmesi için basınçlama suyu için soğuk su kullanılmıştır. Her iki bakteri grubu için basınç uygulanmamış kontrol örnekleri ayrılmıştır.

Gruplar			
M0	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	Basınç uygulaması yok
M1	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	100 MPa 5 dk
M2	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	100 MPa 10 dk
M3	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	300 MPa 5 dk
M4	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	300 MPa 10 dk
M5	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	500 MPa 5 dk
M6	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	500 MPa 10 dk
MM0	<i>M. psychrotolerans</i>	%2 asit-%8 NaCl	Basınç uygulaması yok
MM1	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	100 MPa 5 dk
MM2	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	100 MPa 10 dk
MM3	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	300 MPa 5 dk
MM4	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	300 MPa 10 dk
MM5	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	500 MPa 5 dk
MM6	<i>M. psychrotolerans</i>	%4 asit-%8 NaCl	500 MPa 10 dk
P0	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	Basınç uygulaması yok
P1	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	100 MPa 5 dk
P2	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	100 MPa 10 dk
P3	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	300 MPa 5 dk
P4	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	300 MPa 10 dk
P5	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	500 MPa 5 dk
P6	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	500 MPa 10 dk
PP0	<i>P. phosphoreum</i>	%2 asit-%8 NaCl	Basınç uygulaması yok
PP1	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	100 MPa 5 dk
PP2	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	100 MPa 10 dk
PP3	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	300 MPa 5 dk
PP4	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	300 MPa 10 dk
PP5	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	500 MPa 5 dk
PP6	<i>P. phosphoreum</i>	%4 asit-%8 NaCl	500 MPa 10 dk

Şekil 3.1. Bakteri inokülasyon grupları

**Ringa filetosu**

(derisi alınmış ve dilimlenmiş)



**Marinat yapımı**



%2 asetik asit, %8 tuz



%4 asetik asit, %8 tuz



**Olgunlaşma işlemi**

(4°C'de 3 gün)



**Marinasyon çözeltilisinden alma**



**Bakteri inokülasyonu**

(5 dk daldırma)



*Morganella psychrotolerans*

(10<sup>6</sup> kob/ml)



*Photobacterium phosphoreum*

(10<sup>6</sup> kob/ml)



## Vakum paketlenme



## Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulaması



100 MPa

100 MPa

300 MPa

300 MPa

500 MPa

500 MPa

(5 dk)

(10dk)

(5 dk)

(10dk)

(5 dk)

(10dk)



**Depolama**

(4°C'de 3 ay)

Şekil 3.2. İşlem basamakları akış şeması

**Ringa filetoları**



**Deri alma ve dilimleme**



**Marinasyon işlemi**



### Bakteri inokülasyonu



### Vakum paketlenme



### Yüksek hidrostatik basınç uygulaması



### Depolama

Şekil 3.3. İşlem basamaklarına ait fotoğraflar

### 3.2.5. Mikrobiyolojik analizler

Alınan 10 g örnek üzerine 90 ml steril tuzlu pepton solüsyonu (%0.1 pepton (w/v) + %0.85 NaCl (w/v) eklenmiş ve stomacher yardımı ile 60 s homojenize edilmiştir. Aynı homojenattan diğer dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Bakterilerin sayımı için uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Tüm mikrobiyal analizler 0,1 ml dilüsyon sıvısı alınarak yayma ekim şeklinde yapılmıştır.

#### *Morganella psychrotolerans sayımı*

*Morganella psychrotolerans* sayımı için Tryptic Soy Agar kullanılmış ve 25°C'de 2 gün inkübe edilmiştir.

#### *Photobacterium phosphoreum sayımı*

*Photobacterium phosphoreum* sayımı için Long-Hammer Agar (LH; Van Sprekens 1974) kullanılmıştır. Agarın hazırlanmasında litrede 20 g proteose pepton, 40 g gelatin, 1 g dipotassium phosphate (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 10 g NaCl, 15 g agar ve 0.25 g ammonium ferric (III) citrate kullanılmıştır. Bakteri, 15°C'de 5 gün inkübe edilmiştir.

#### *Laktik asit bakterileri sayımı*

Laktik asit bakterileri sayımı, de Man, Ragosa ve Sharpe (MRS agar) Agar kullanılarak yapılmıştır. Yayma ekim sonrası petri kutuları anaerob kavanozlara koyularak kavanozun içerisine oksijeni uzaklaştırmak amacıyla gaz paketleri (Anaerocult) atılmış ve 30°C'de 2 gün inkübe edilmiştir.

#### *Hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) üreten bakterilerin sayımı*

Hidrojen sülfür bakterilerinin sayımında Lyngby Iron Agar (IA, Atlas 2006) kullanılmıştır. Iron Agar hazırlanmasında litrede 20 g proteose pepton, 12 g agar, 5 g NaCl, 3 g beef extract, 3 g yeast extract, 0.6 g L-cysteine, 0.3 g iron citrate ve 0.3 g sodium thiosulphate kullanılmıştır. Bakteri inkübasyonu 15°C'de 7 gün gerçekleştirilmiş ve inkübasyon sonunda siyah renkli koloniler sayılmıştır.

#### *Toplam psikrofil bakteri sayımı*

Toplam psikrofil bakteri sayımında Plate Count Agar (PCA) kullanılmış ve 7°C'de 10 gün inkübe edilmiştir.

#### *Toplam maya- küf sayımı*

Maya-küf sayımında Yeast Glucose Agar kullanılmıştır. Agarın hazırlanmasında litrede 5 g yeast extract, 20 g glucose, 0.1 g chloroamphenicol ve 15 g agar kullanılarak pH 6.6 ±0.2'ye ayarlanmıştır. Petriler 25°C'de 5 gün inkübe edilmiştir.

#### *Toplam Enterobacteriaceae sayımı*

Toplam Enterobacteriaceae sayımı Violet Red Bile-Glucose Agar (VRBG-agar) kullanılarak 30°C'de 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda yapılmıştır.

### 3.2.6. Biyojen amin analizi

Depolama süresince örneklerde histamin, tiramin, putresin, kadaverin, spermin, spermidin amino asitleri miktarı tespit edilmiştir (Simat ve Dalgaard 2011). ThermoScientificUltra Performans Sıvı Kromatografisi (UPLC – Photo Diode Array Dedektör) ile gerçekleştirilmiştir. Yine cihaza ve analiz metoduna uygun yapı ve kimyaya sahip (phenomenex Luna 5µ C18 100A, 250 x 4.60 mm 5 micron) kolon kullanılmıştır. Mobil faz (A: asetonitril, B: 0,1M amonyumasetat) ve akış gradienti Şekil 3.4’te sunulmuştur.

	Zaman	%A	%B	µl/dak
0	0.0	65.0	35.0	1000.0
1	15.0	95.0	5.0	1000.0
2	20.0	95.0	5.0	1000.0
3	25.0	65.0	35.0	1000.0
4		100.0	0.0	1000.0

Şekil 3.4. Biyojen amin analiz metodu

Biyojen amin standartları konsantrasyonları 100ppm, 50ppm, 25ppm, 10ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm ve 0ppm olacak şekilde hazırlanıp, kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Balık örneğinden alınan 5 g üzerine 0,4 M 15 ml HClO<sub>4</sub> eklenmiş ve bir dakikalık homojenizasyon işleminden sonra 10 dakika 2250 rpm’de santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmı 0,45 µm filtreden geçirilmiş ve 1 ml alınarak 2M NaOH (200 µl), doygun NaHCO<sub>3</sub>(300 µl) ve 1ml dansilklorid eşliğinde 40°C’de 45 dakika inkübe edilmiştir. Dansilkloridin fazlasının ayrılması amacıyla NH<sub>4</sub>OH eklenmesi işleminden sonra örnekler 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Asetonitril ile 5ml’ye tamamlanan örnekler Whatman 1,6 µm filtreden geçirildikten sonra ultra-performance liquid chromatography (UPLC) cihazına enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi olarak 20µl kullanılmıştır.

### 3.2.7. Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) tayini

Homojenize edilen 10 g örneklerin uçucu baz içerikleri su buharı destilasyonu uygulanarak ayrılmış ve ayrılan bu bazlar 0.1 N HCl içerisinde toplanmıştır. Toplanan destilatlar 0.1 N NaOH ile titre edilmiş ve TVB-N miktarı mg/100 g olarak hesaplanmıştır. (Schormüller 1968).

### 3.2.8. Trimetilamin (TMA-N) analizi

Trimetilamin analizi Schormüller (1968) yöntemine göre yapılmıştır. 10 g balık örneği üzerine %5 lik 90 ml trichloroacetic asit (TCA) eklenerek ultraturaks yardımıyla homojenize edilmiş ve daha sonra filtre yardımıyla süzümüştür. Süzüntüden 4 ml alınarak cam tüplere aktarılmış ve üzerlerine 1 ml formaldehit (%20 lik), 3 ml potasyum hidroksit çözeltisi (KOH, %50 lik) ve 10 ml toluen eklenmiştir. Tüpler vorteks yardımıyla karıştırılmış ve üst kısımda kalan toluen fazından 5 ml alınarak diğer bir



tüpe aktarılmıştır. Üzerine %0.02 lik pikrik asitten 5 ml eklenerek spektrofotometrede (Thermo Scientific, Evolution 160 UV–VIS, Germany) 410 nanometrede absorbans ölçülmüştür. TMA-N içeriği mg/100 g olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.9. Tiyobarbütirikasit (TBA) analizi**

Tiyobarbütirik asit (TBA) analizi, Tarladgis vd (1960) metoduna göre yapılmıştır. 10 g balık eti 2.5 ml HCl (0.1 M) ile destile edilmiştir (1:2 saf su eklenerek). Daha sonra destilattan 5 ml alınarak üzerine 5 ml tiyobarbütirik asit reaktifi (0.288 g/100 ml) eklenmiş ve 35 dk boyunca 110°C’de kaynatılmıştır. Renk değişimi olan örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve spektrofotometrede 538 nm dalga boyunda köre (saf su + TBA reaktifi) karşı okunmuştur. Sonuçlar balık etinde malonaldehit/kg olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.10. Duyusal analiz**

Balık marinatında duyusal değerlendirme Amerina vd (1965) yöntemine göre, görünüş, koku, tekstür özelliklerine göre yapılmış ve tüm bunlar genel beğeni olarak değerlendirilmiştir. Buna göre 9-7 arası puna ‘çok iyi’, 4-6.9 puan arası ‘iyi’, 1-3.9 puan arası bozulmuş olarak kabul edilmiştir.

### **3.2.11. pH ölçümü**

pH ölçümleri, homojenize edilen örneklerin 1:1 oranında destile su ile karıştırılması ve pH metre probunun daldırılarak değerlerin kaydedilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir (Manthey vd 1988).

### **3.2.10. İstatistiksel analiz**

Deneme ‘faktöriyel düzende dört faktörlü (depolama süresi x asit konsantrasyonu x basınç uygulaması x basınç süresi) tesadüf parselleri deneme planı’na göre kurulmuştur. Örnekler iki paralelli olacak şekilde yapılmıştır. Belirlenen deneme planından elde edilen sonuçlara varyans analizi uygulanıp, farklı çıkan uygulamalar çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur (Düzgüneş vd 1987).

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

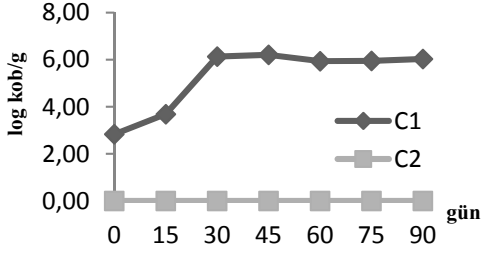
### 4.1. Taze Ringa Filetosuna Ait Bulgular

Taze ringa filetolarıda tespit edilen analiz bulguları Çizelge 4.1.'de görülmektedir.

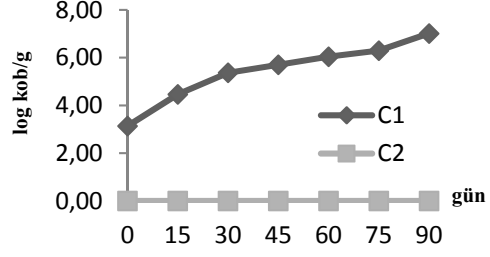
Çizelge 4.1. Taze ringa filetosuna ait bulgular

Parametreler	Bulgular
<i>M. psychrotolerans</i> (log kob/g)	-
<i>P. phosphoreum</i> (log kob/g)	-
LAB (log kob/g)	2.04 x 10 <sup>1</sup>
H <sub>2</sub> S üreten bakteriler (log kob/g)	-
Toplam psikrofil bakteri (log kob/g)	3.29 x 10 <sup>2</sup>
Toplam maya-küf (log kob/g)	-
Toplam Enterobacteriaceae (log kob/g)	-
Histamin (mg/kg)	-
Kadaverin (mg/kg)	58.60
Putresin (mg/kg)	-
Tiramin (mg/kg)	-
TVB-N (mg/100g)	10.74
TMA-N (mg/100g)	0.88
TBA (mg MDA/kg)	1.06
pH	6.55

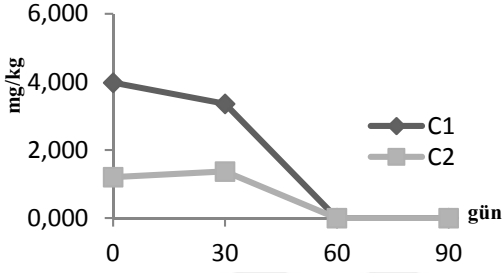
## 4.2. Ham Marinat Kontrol Grubuna Ait Bulgular



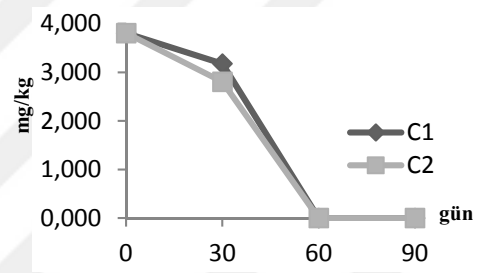
Şekil 4.1. Ringa marinatında depolama süresince LAB gelişimi



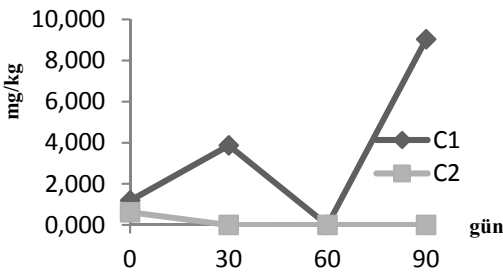
Şekil 4.2. Ringa marinatında depolama süresince toplam psikrofil bakteri gelişimi



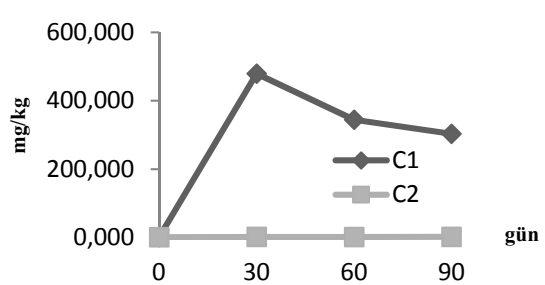
Şekil 4.3. Ringa marinatında depolama süresince histamin oluşumu



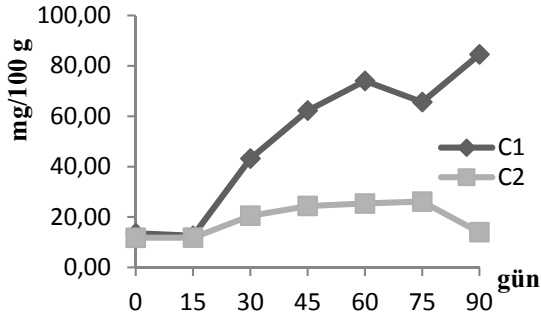
Şekil 4.4. Ringa marinatında depolama süresince kadaverin oluşumu



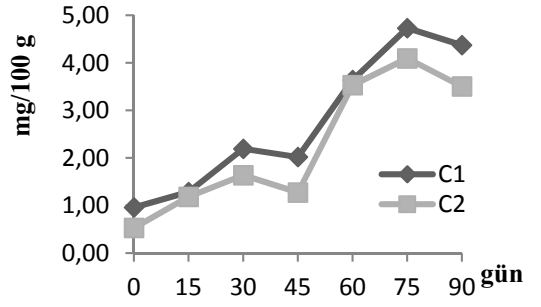
Şekil 4.5. Ringa marinatında depolama süresince putresin oluşumu



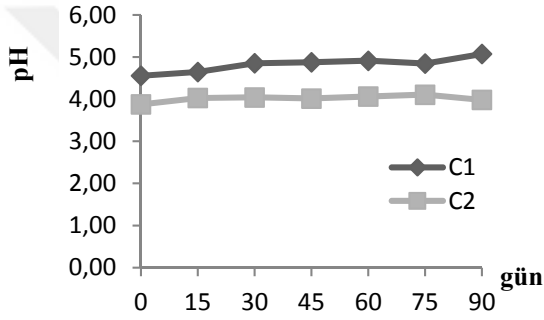
Şekil 4.6. Ringa marinatında depolama süresince tiramin oluşumu



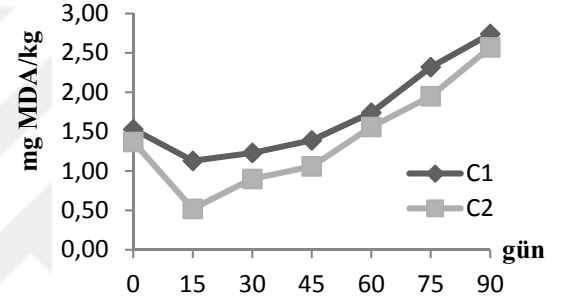
Şekil 4.7. Ringa marinatında depolama süresince TVB-N oluşumu



Şekil 4.8. Ringa marinatında depolama süresince TMA-N oluşumu



Şekil 4.9. Ringa marinatında depolama süresince pH değişimi



Şekil 4.10. Ringa marinatında depolama süresince TBA değişimi

### 4.3. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının *Morganella psychrotolerans* Gelişimi Üzerine Etkileri

Depolama süresince *M. psychrotolerans* gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında *M. psychrotolerans* gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	43.2728159	52.16**
Uygulama grupları	1	181.0645720	218.25**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	13.5350234	16.31**
Basınç	2	290.9908357	350.75**
Depolama süresi x basınç	12	3.3048968	3.98**
Uygulama grupları x basınç	2	32.2890167	38.92**
Basınç uygulama süresi	1	17.1840054	20.71**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.7975956	0.96
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	3.3915292	4.09*
Basınç x basınç uygulama süresi	2	5.0356357	6.07**
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Histamin zehirlenmesi yüksek oranda histamin içeren gıdaların tüketimi sonucu oluşan ve tüm dünyada yaygın olan bir intoksikasyondur. *Morganella morganii* 2006 yılına kadar *Morganella* bakterisi sınıfı içerisinde bilinen tek türdür. Ancak 1950'li yıllarda, başta *Achromobacter histamineum* olarak adlandırılan *Morganella*-like bakterisi Japonya'da çalışılmıştır (Kimata 1961). *Morganella morganii*'nin aksine, *A. histamineum* bakterisinin optimum büyüme sıcaklığının 20-25°C olduğu ve 37°C'de gelişme göstermediği, ancak *M. morganii* gibi yüksek konsantrasyonda histamin üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmekteydi. *Morganella morganii* ile ortak birçok biyokimyasal özelliğe sahip olduğu için bu bakteri yeniden *M. morganii* olarak adlandırılmıştır (Kimata 1961). *Morganella* sınıfı içerisinde *Morganella psychrotolerans* adında yeni bir tür 2006 yılında tanımlanmıştır. Bu yeni bakteri türünün *A. histamineum* gibi 37°C'de gelişemediği ve 0°C'de toksik düzeyde histamin üretebildiği bildirilmiştir. *Morganella psychrotolerans*'in tanımlanması, psikrotolerant ve yüksek oranda histamin üreten bakterilerin varlığında çok önemlidir.

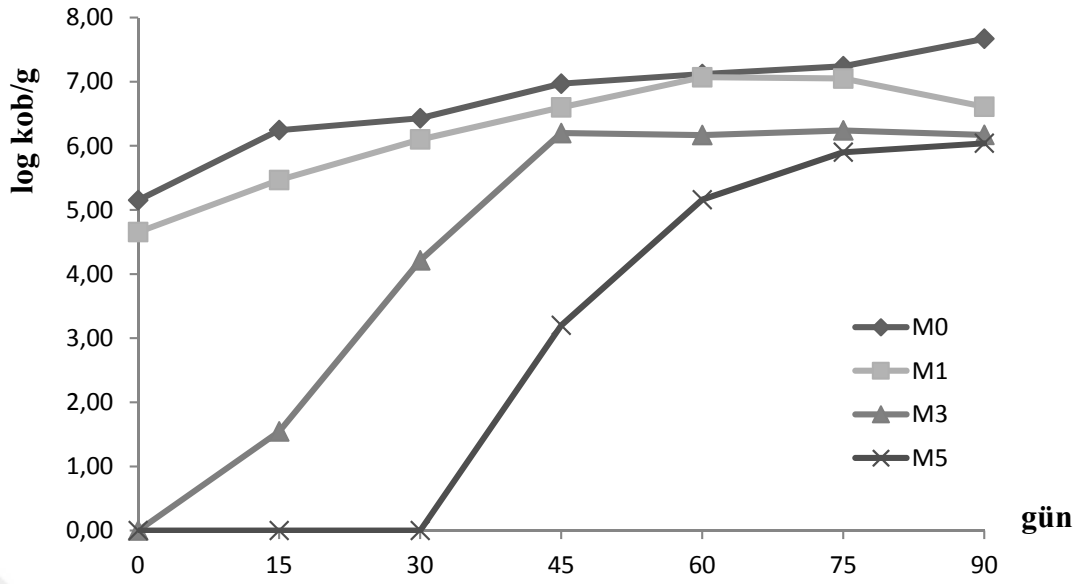
Bu çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen marinalarda, depolama süresi, asit konsantrasyonu, basınç ve basınç uygulama süresi *M. psychrotolerans* gelişimini önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. Bakteri inokülasyonu ve yüksek hidrostatik basınç işleminin ardından %2 asit ile hazırlanmış olan marinalarda başlangıçta *M. psychrotolerans* canlı sayısı M0, M1 ve M2 gruplarında sırasıyla  $5.15 \times 10^4$ ,  $4.65 \times 10^4$  ve  $4.10 \times 10^4$  kob/g olarak bulunurken diğer gruplarda yüksek basınç işleminin ardından bakteri gelişimi gözlenmemiştir. Depolamanın 15. günü M3 ( $1.54 \times 10^1$  kob/g), 30. günü M4 ( $3.35 \times 10^2$  kob/g), 45. günü M5 ( $3.20 \times 10^2$  kob/g) ve M6

( $2.74 \times 10^2$  kob/g) gruplarında gelişme olduğu görülmüştür. Başlangıç *M. psychrotolerans* canlı sayısı %4 asit ile hazırlanan marinatlarda MM0, MM1 ve MM2 gruplarında sırasıyla  $4.23 \times 10^3$ ,  $4.22 \times 10^3$  ve  $3.20 \times 10^2$  kob/g bulunmuş ve depolamanın 30. gününde MM3 grubunda mikroorganizma gelişimi gözlenmiştir ( $2.28 \times 10^1$  kob/g). Depolama süresince %4 asit ile hazırlanmış olan diğer marinat gruplarında (MM4, MM5 ve MM6) bakteri gelişimi olmamıştır. Depolama sonunda *M. psychrotolerans* sayısı M0, M1, M2, MM0 ve MM1 gruplarında limit değere ( $10^6$  kob/g) ulaşmıştır. Marinat üretiminde %4'lük asit konsantrasyonu ile birlikte 300 MPa 10 dk ve 500 MPa 5, 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kullanılması *M. psychrotolerans* gelişimini baskılamada önemli derecede ( $p < 0.05$ ) etkili olmuştur.

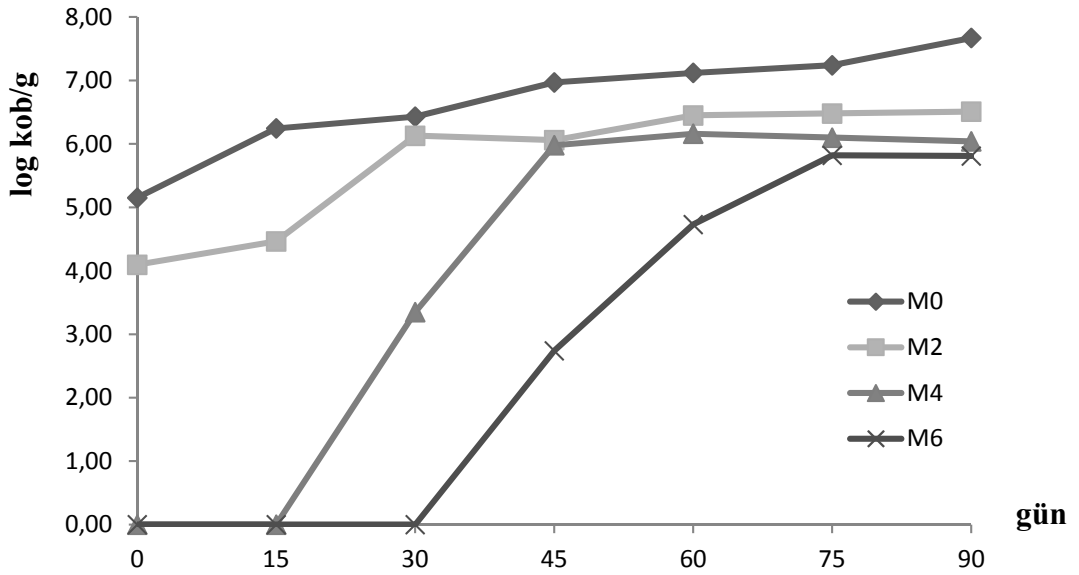
*Morganella psychrotolerans* tanımlanmasının ve gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesi için bazı modelleme çalışmaları yapılmıştır (Emborg ve Dalgaard 2008a, Emborg ve Dalgaard 2008b). Bu modelleme çalışmalarında *M. psychrotolerans* hücrelerinin gram-negatif düz çomak şeklinde olduğu, aerobik ve fakültatif anaerobik koşullarda gelişim gösterdiği belirtilmiştir. Bakteri hücrelerinin gelişiminin 0-35°C'lerde olduğu ancak %77 oranında 0°C' de gelişim gösterdiği, 4.6 - 9.2 pH'ya kadar gelişerek %77 oranında 4.6 pH'da en iyi gelişimin olduğu bulunmuştur. *Morganella psychrotolerans* 0-37°C'lerde ve %8.5 tuzlulukta gelişebilmesi ve D-galaktozu fermente edebilmesinden dolayı *M. morgani*'den farklıdır. Kim vd (2013) yaptıkları çalışmada uskumruyu kıyma haline getirerek  $10^4$  kob/g oranında *M. morgani* ile inoküle ederek 100, 200, 300 ve 400 MPa 3 dk yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 12°C'de depolamışlardır. Başlangıçta kontrol grubu ve 100 MPa basınç uygulanan grupta bakteri hücre sayısı  $10^4$  kob/g, 200 MPa ve 300 MPa basınç uygulanan gruplarda ise sırasıyla  $10^3$  kob/g ve  $10^1$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda (168 saat) kontrol grubu ve 100 MPa basınç uygulanan grupta hücre sayısı  $10^8$  kob/g olurken, 200 MPa ve 300 MPa basınç uygulanan gruplarda bu değer sırasıyla  $10^5$  kob/g ve  $10^3$  kob/g olmuştur. Bu çalışmada *M. morgani* inaktivasyonu için 400 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması etkili olmuştur.

Çizelge 4.3. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında *M. psychrotolerans* gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

<i>Morganella psychrotolerans</i>	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	1.34 <sup>d</sup>
15. Gün	1.68 <sup>d</sup>
30. Gün	2.81 <sup>c</sup>
45. Gün	3.85 <sup>b</sup>
60. Gün	4.39 <sup>ab</sup>
75. Gün	4.67 <sup>a</sup>
90. Gün	4.21 <sup>ab</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	4.31 <sup>a</sup>
%4 Asit	2.24 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	5.81 <sup>a</sup>
300 MPa	2.61 <sup>b</sup>
500 MPa	1.40 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	3.59 <sup>a</sup>
10 dk	2.95 <sup>b</sup>

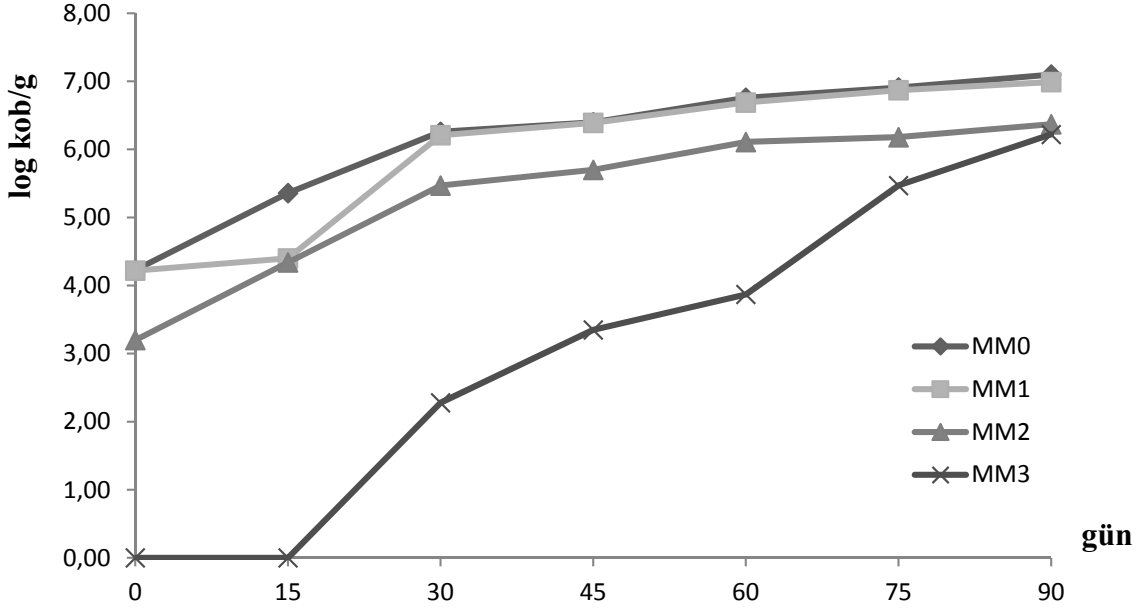


Şekil 4.11. Ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *M. psychrotolerans* gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



Şekil 4.12. Ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *M. psychrotolerans* gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)





Şekil 4.13. Ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *M. psychrotolerans* gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa 5 dk, MM2:100 MPa 10 dk, MM3:300 MPa 5 dk)

#### 4.4. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının *Photobacterium phosphoreum* Gelişimi Üzerine Etkileri

Depolama süresince *P. phosphoreum* gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında *P. phosphoreum* gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	34.9023581	52.87**
Uygulama grupları	1	126.9331006	192.27**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	6.7962812	10.29**
Basınç	2	237.8131827	360.23**
Depolama süresi x basınç	12	4.4602563	6.76**
Uygulama grupları x basınç	2	5.3773506	8.15**
Basınç uygulama süresi	1	4.6168006	6.99**
Depolama süresi x Basınç uygulama süresi	6	0.3646339	0.55
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	2.8470054	4.31*
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.0990792	0.15
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Ringa marinatında *P. phosphoreum* gelişimine depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresinin önemli derecede (p<0.01) etkili olduğu gözlenmiştir. Marinatlarda (%2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) başlangıç mikroorganizma sayısı PO, P1 ve P2 gruplarında sırasıyla  $2.64 \times 10^2$ ,  $2.56 \times 10^2$  ve  $1.82 \times 10^1$  kob/g olarak bulunurken; P3 grubunda 30. günde, P4, P5 ve P6 gruplarında ise 45. günde bakteri gelişimi gözlenmiştir. Oysa %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinat gruplarının hiçbirinde depolama başında *P. phosphoreum* gelişimi görülmemiş, ancak depolamanın 15. gününde PPO ( $1.70 \times 10^1$  kob/g), PP1 ( $1.63 \times 10^1$  kob/g) ve PP2 ( $1.48 \times 10^1$  kob/g) gruplarında bakteri gelişimi gözlenmiştir. Bu da *P. phosphoreum* gelişimini baskılamada yüksek asit konsantrasyonunun ve yüksek basınç seviyesinin önemli derecede (p<0.01) etkili olduğunu göstermektedir.

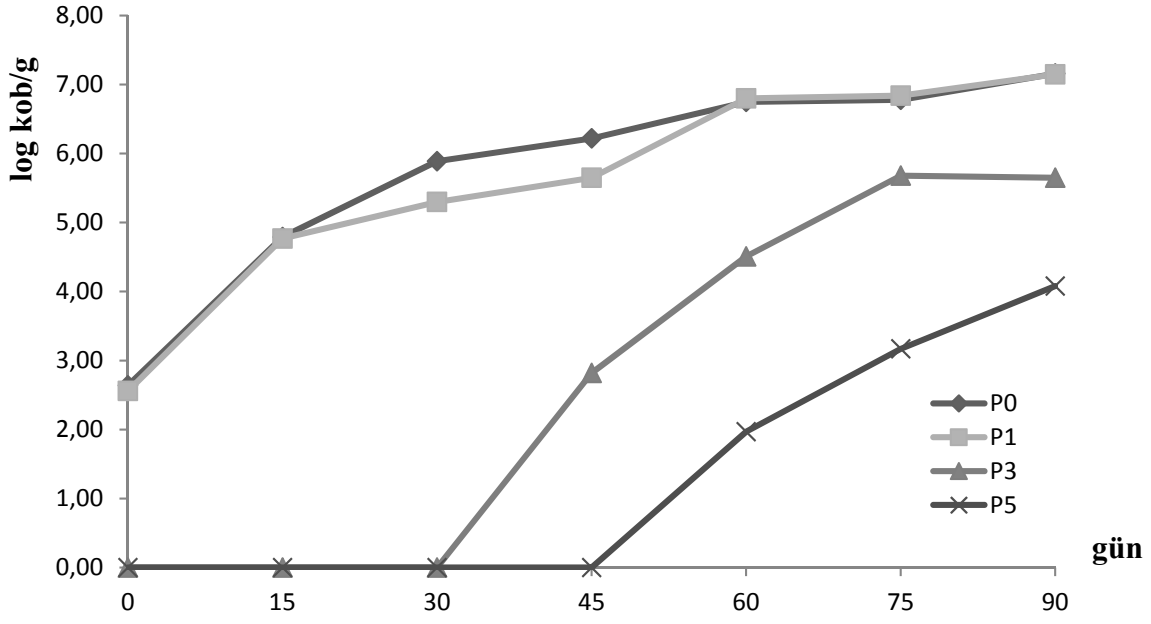
*Photobacterium phosphoreum*, su ürünlerinde bozulmaya neden olan en önemli psikrofilik bozulma bakterilerindedir. Aerobik koşullarda balıkta trimetilaminoksiti (TMAO) trimetilamine (TMA) indirgeyen, yüksek miktarda histamin içeren ve CO<sub>2</sub>'ye oldukça dirençli bir bakteridir. TMA'yı terminal elektron alıcısı olarak kullanma yeteneğine sahip olan *P. phosphoreum* anaerobik koşullarda  $10^6$ - $10^8$  kob/g hücre sayısına kadar gelişebilmektedir (Gram ve Huss 1996, Gram vd 2002). Bu çalışmada, depolama sonunda *P. phosphoreum* sayısı PO ve P1 gruplarında  $10^6$  kob/g'a ulaşırken, diğer grupların hepsinde bu değer altında kalmıştır. Depolama boyunca tüm gruplarda artış gösteren bakteri popülasyonu, %2 asit konsantrasyonunda daha yüksek düzeylere ulaşmıştır. Basınç uygulama süresi ve basınç seviyesi *P. phosphoreum* gelişimini

baskılamada önemli derecede ( $p < 0.01$ ) etkili olmuş, özellikle %4 asit ve 100 MPa üzeri basınç kombinasyonu bakteri inaktivasyonunda tamamen etkili olmuştur.

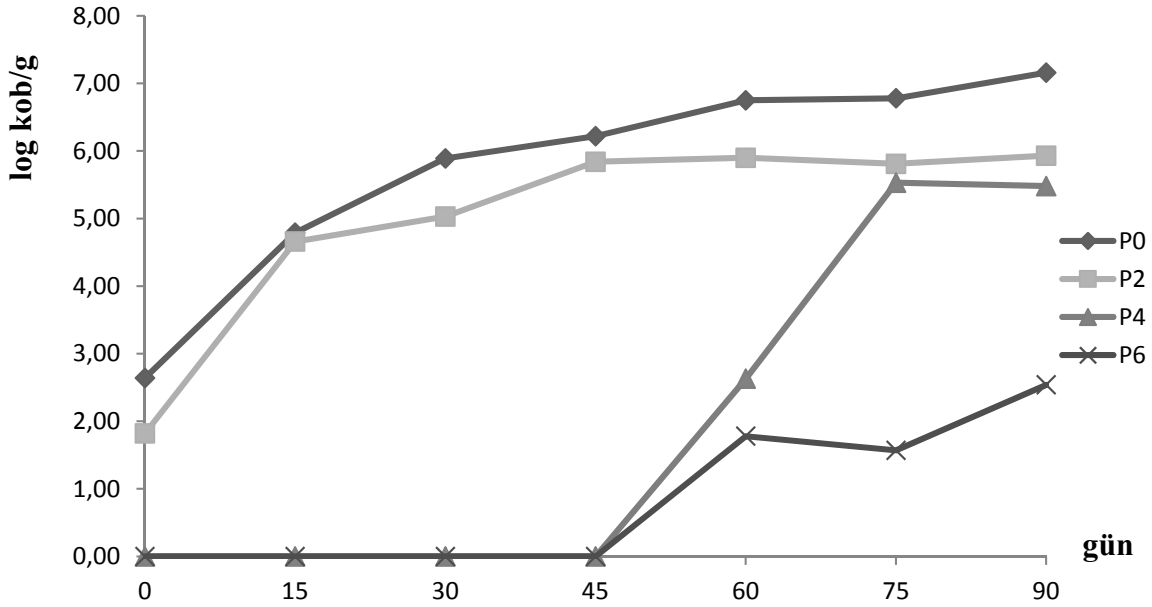
Kim vd (2013),  $10^4$  kob/g hücre yoğunluğunda *P. phosphoreum* inoküle ettikleri uskumru kıymasına 100, 200, 300 ve 400 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulayarak bakteri gelişimini gözlemlemiştirler. Depolamanın başında mikroorganizma sayısı kontrol ve 100 MPa basınç uygulanan grupta  $10^4$  kob/g olurken, 200 MPa basınç uygulanan grupta  $10^3$  kob/g olmuştur. Diğer 300 MPa ve 400 MPa basınç uygulanan gruplarda başlangıçta üreme olmamıştır. Depolama sonunda (21. gün) kontrol ve 100 MPa basınç uygulanan gruplarda *P. phosphoreum* sayısı  $10^7$  kob/g olurken, 200 MPa basınç uygulanan grupta  $10^6$  kob/g ve 300 MPa basınç uygulanan grupta  $10^4$  kob/g olarak bulunmuştur. Depolama süresince 400 MPa basınç uygulanan grupta mikroorganizma gelişimi gözlenmemiştir. Yüksek basınç uygulaması mikroorganizmanın hücre zarı, hücre duvarı, hücre morfolojisi, genetik mekanizması ve biyokimyasal reaksiyonlarda değişimlere neden olarak mikroorganizmanın ölümüne neden olmaktadır (Patterson 2005). Bu çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda elde edilen bulgularda 300 MPa ve üzeri basınç uygulamasının *P. phosphoreum* gelişimini önlemede etkili olduğu bulunmuştur. Su ürünlerinde *P. phosphoreum* gelişimi ile yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır (Dalgaard vd 1998, Mejlholm ve Dalgaard 2002, Dalgaard 1996, Dalgaard 1997, Lopez-Cabellero 2002). Yapılan bir çalışmada dumanlanmış somon balığına  $10^5$  kob/g hücre yoğunluğunda *P. phosphoreum* inoküle edilerek ve vakum paketlenerek 5 hafta boyunca depolanmıştır (Stohr vd 2001). Depolamanın 7. gününde bakteri sayısı  $10^7$  kob/g olurken, 15. günde  $10^6$  kob/g ve 21. günde  $10^5$  kob/g olmuştur. Bu bakteri gelişim şeklinin dumanlanmış balıkta TMAO'nun hızla tükenmesinden kaynaklandığı düşünülebilir. Emborg vd (2005), ton balığına  $10^6$  kob/g oranında *P. phosphoreum* inoküle ettikten sonra soğuk marinasyon işlemi uygulayarak vakum ve modifiye atmosfer paketedikten sonra 2°C ve 10°C'de 24 gün depolamışlardır. Depolama süresince modifiye atmosfer paketlenen örneklerde mikroorganizma sayısı  $10^6$  kob/g olarak kalırken vakum paketlenmiş örneklerde depolamanın 6. gününde  $10^7$  kob/g olmuştur. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada da yüksek hidrostatik basınç uygulamasının baskılayamadığı örneklerde *P. phosphoreum* sayısında depolamayla beraber artış gözlenmiştir. Mejlholm ve Dalgaard (2002), modifiye atmosfer paketlenmiş atlantik morinası ve somon balığı filetolarında *P. phosphorem* gelişimi üzerine esansiyel yağların etkisini araştırmışlardır. Depolamada tarçın ve kekik yağlarının *P. phosphorem* gelişimini baskılamada en güçlü antimikrobiyal etkiyi gösterdiği bulunmuştur. Kekik yağı modifiye atmosfer paketlenmiş morina balığının doğal florasında bulunan *P. phosphorem* hücre sayısını azaltarak raf ömrünü 11-12 günden 21-26 güne kadar çıkarmıştır.

Çizelge 4.5. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında *P. phosphoreum* gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

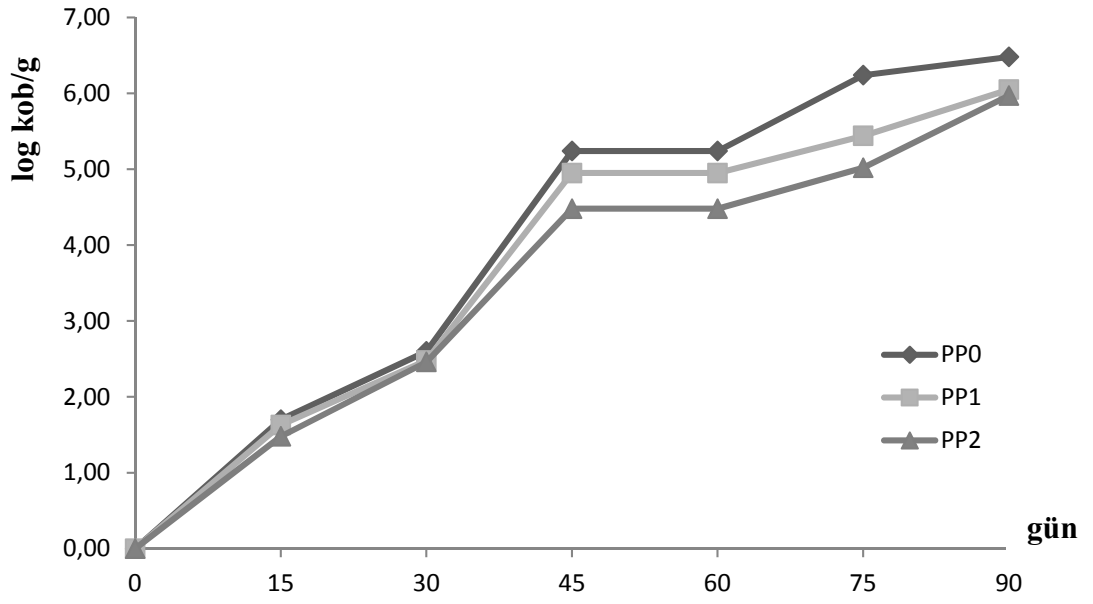
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.36 <sup>e</sup>
15. Gün	1.04 <sup>d</sup>
30. Gün	1.27 <sup>d</sup>
45. Gün	1.90 <sup>c</sup>
60. Gün	2.75 <sup>b</sup>
75. Gün	3.25 <sup>a</sup>
90. Gün	3.27 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	2.89 <sup>a</sup>
%4 Asit	1.15 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.37 <sup>a</sup>
300 MPa	1.15 <sup>b</sup>
500 MPa	0.53 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	2.18 <sup>a</sup>
10 dk	1.85 <sup>b</sup>



Şekil 4.14. Ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *P. phosphoreum* gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.15. Ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *P. phosphoreum* gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.16. Ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının *P. phosphoreum* gelişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa 5dk, PP2:100 MPa 10dk)

#### 4.5. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) Gelişimi Üzerine Etkileri

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında LAB gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6 *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	51.6971867	99.94**
Uygulama grupları	1	38.1524024	73.75**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	11.2950454	21.84**
Basınç	2	231.7697792	448.05**
Depolama süresi x basınç	12	2.1470215	4.15**
Uygulama grupları x basınç	2	39.1748685	75.73**
Basınç uygulama süresi	1	5.7350095	11.09**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.2273331	0.44
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.11622881	0.22
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.8319792	1.61
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi LAB gelişimine önemli derecede (p<0.01) etki etmiştir. Başlangıçta LAB sayısı %2 asit ile hazırlanmış kontrol grubunda 10<sup>3</sup> kob/g, 100 MPa basınç uygulanan gruplarda 10<sup>2</sup> kob/g ve 300 MPa basınç uygulanan gruplarda 10<sup>1</sup> kob/g olarak bulunmuştur. 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulanan gruplarda depolamanın 45. gününe kadar bakteri gelişimi gözlenmezken, M0 ve M1 gruplarında LAB sayısı bu günde sınır değere ulaşmıştır. Marinatlarda (%4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) başlangıçtaki LAB sayısı M0 ve M1 gruplarında 10<sup>2</sup> kob/g, M2 grubunda ise 10<sup>1</sup> kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın 30. gününe kadar 300 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda gelişim gözlenmezken, 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolama süresince LAB gelişimi olmamıştır. LAB gelişimini baskılamada asit konsantrasyonları, basınç seviyeleri ve basınç süreleri arasında önemli derecede (p<0.01) farklılıklar gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	LAB
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	1.21 <sup>f</sup>
15. Gün	1.64 <sup>e</sup>
30. Gün	2.96 <sup>d</sup>
45. Gün	3.96 <sup>c</sup>
60. Gün	4.34 <sup>bc</sup>
75. Gün	4.66 <sup>ab</sup>
90. Gün	4.85 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	3.38 <sup>a</sup>
%4 Asit	2.90 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	5.45 <sup>a</sup>
300 MPa	3.29 <sup>b</sup>
500 MPa	1.38 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	3.56 <sup>a</sup>
10 dk	3.19 <sup>b</sup>



*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edildikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında LAB gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	38.9278139	82.84**
Uygulama grupları	1	21.7008595	46.18**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	1.5701706	3.34**
Basınç	2	281.1682786	598.33**
Depolama süresi x basınç	12	11.0428716	23.50**
Uygulama grupları x basınç	2	7.0199024	14.94**
Basınç uygulama süresi	1	24.4724667	52.08**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	1.2824111	2.73*
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	7.2382310	15.40**
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

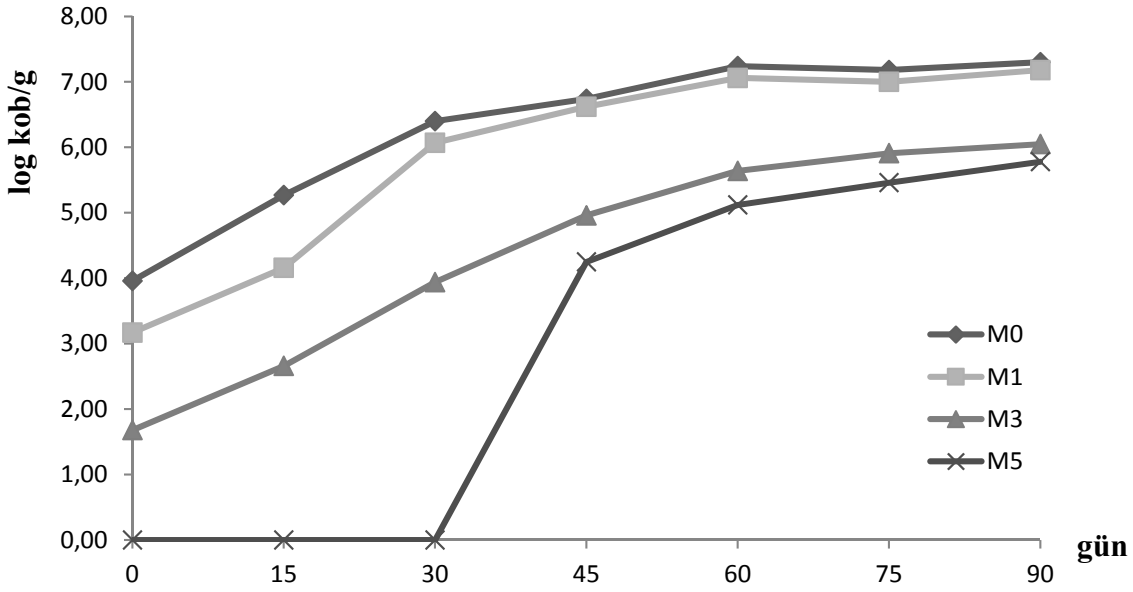
*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatında LAB gelişimine depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli derecede (p<0.01) etkili olmuştur. Depolama başında %2 asit ile hazırlanan kontrol ve P1 gruplarında LAB sayısı sırasıyla  $2.46 \times 10^2$  kob/g ve  $2.37 \times 10^2$  kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın 15. gününde kadar P2, 30. gününe kadar P3 ve 60. gününe kadar P4 gruplarında LAB gelişimi gözlenmemiştir. Mikroorganizma gelişiminin olduğu gruplar içerisinde en düşük değerler P4 grubunda bulunurken, diğer gruplarda depolama süresince bakteri gelişimi logaritmik olarak artış göstermiştir. Marinatlardan (%4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) PP0 ve PP1 gruplarında depolama başında LAB sırasıyla  $2.06 \times 10^1$  kob/g ve  $2.09 \times 10^1$  kob/g bulunurken, depolama süresince en yüksek mikroorganizma gelişimi bu gruplarda gözlenmiştir. PP2 ve PP3 gruplarında sırasıyla depolamanın 15. ve 45. günlerinde bakteri gelişimi tespit edilmiştir. Marinatlardan %4 asit konsantrasyonlu gruplarda %2 asit gruplarından göre önemli derecede (p<0.01) düşük oranda bakteri gelişimi gözlemlenmiştir. Basınç uygulamasının 500 MPa olduğu örneklerde depolama boyunca LAB gelişimi tespit edilmemiştir. Her iki asit grubunda da 500 MPa yüksek basınç uygulaması LAB gelişimini engellemede etkili olmuştur.

Çizelge 4.9. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında LAB gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

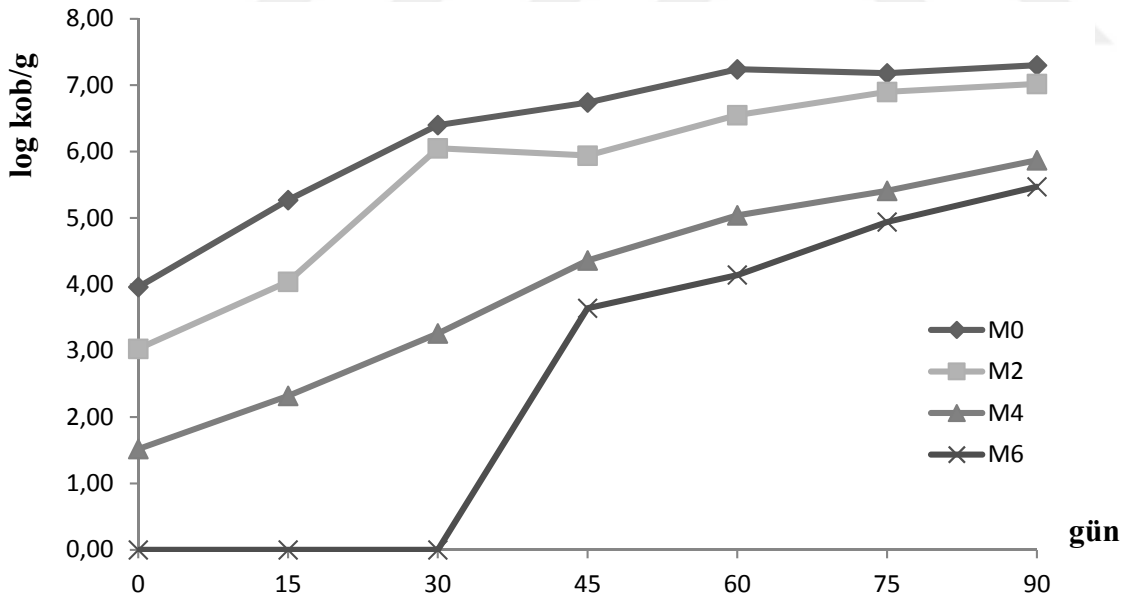
	LAB
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.37 <sup>e</sup>
15. Gün	0.89 <sup>d</sup>
30. Gün	1.27 <sup>d</sup>
45. Gün	2.55 <sup>c</sup>
60. Gün	2.71 <sup>c</sup>
75. Gün	3.24 <sup>b</sup>
90. Gün	3.74 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	2.47 <sup>a</sup>
%4 Asit	1.75 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.46 <sup>a</sup>
300 MPa	1.88 <sup>b</sup>
500 MPa	0.00 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	2.49 <sup>a</sup>
10 dk	1.73 <sup>b</sup>

Sallam vd (2008), farklı asit konsantrasyonlarıyla (%2 asit-%12 tuz, %3 asit-%12 tuz ve %0 asit-%12 tuz) hazırladıkları pasifik zarganası marinatında 90 gün boyunca LAB gelişimini gözlemlemişlerdir. Başlangıçta %0 asit, %2 asit ve %3 asit gruplarında LAB sırasıyla 2.64, 1.9 ve 1.7 log kob/g olarak belirlenmiştir. Marinasyon uygulamasından sonra LAB gelişiminde azalma gözlenirken, sadece tuz çözeltisi kullanılarak hazırlanan gruplarda bu azalma görülmemiştir. Depolama sonunda %2 ve %3 asit gruplarında LAB sayısı 4.21 ve 3.92 log kob/g olarak bulunurken, asit kullanılmayan grupta bu değer 6.39 log kob/g olmuştur.

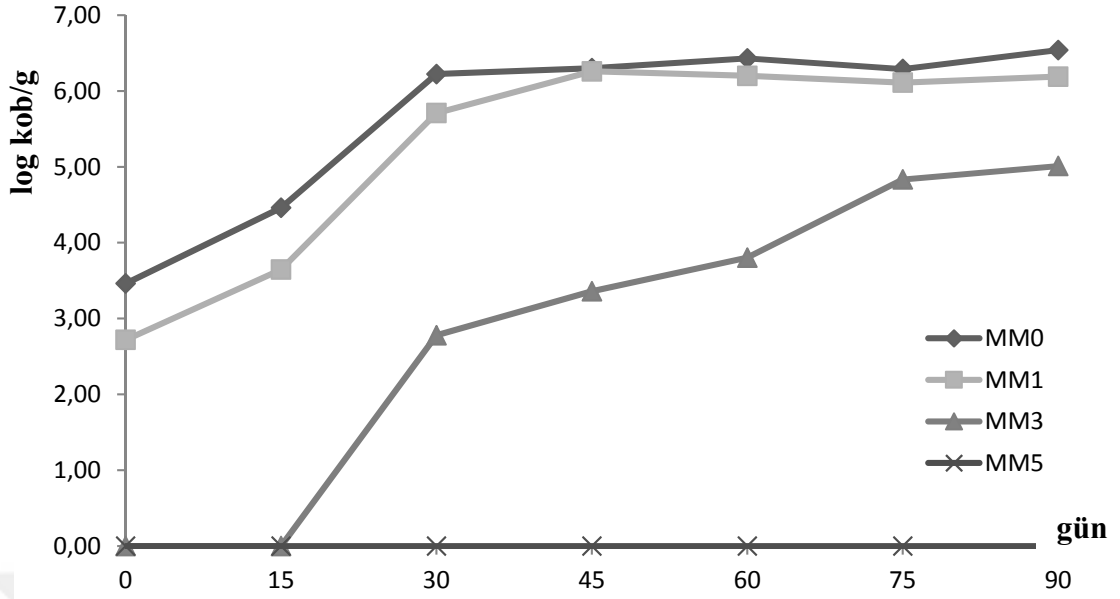
Marine edilmiş ürünlerde *Lactobacillus* türleri yüksek asit konsantrasyonlarını tolere edebilmekte ve bu ürünlerde bozulmadan sorumlu önemli mikroorganizmalar olabilmektedir. Laktik asit bakterilerinin çoğu türü psikrotrof olup %8-%10 tuzluluğa kadar gelişim gösterebilmekte, (Maugin ve Novel 1994, Samelis vd 1994) ayrıca fakültatif anaerob bakteriler oldukları için vakum paketleme ile de gelişimleri desteklenmektedir. Yapılan çalışmalar sadece asit kullanımının marine edilmiş ürünlerde LAB gelişimini önlemede yeterli olmadığını göstermektedir. Bu nedenle mevcut çalışmamızda, asit ve tuz kombinasyonu ile beraber marinatlarda yüksek hidrostatik basınç kullanımının LAB gelişimini engellemede oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Özellikle %4 asit ve 500 MPa yüksek basınç kullanımı üründe diğer mikroorganizmalar ve LAB gelişiminin tamamen engellemiştir.



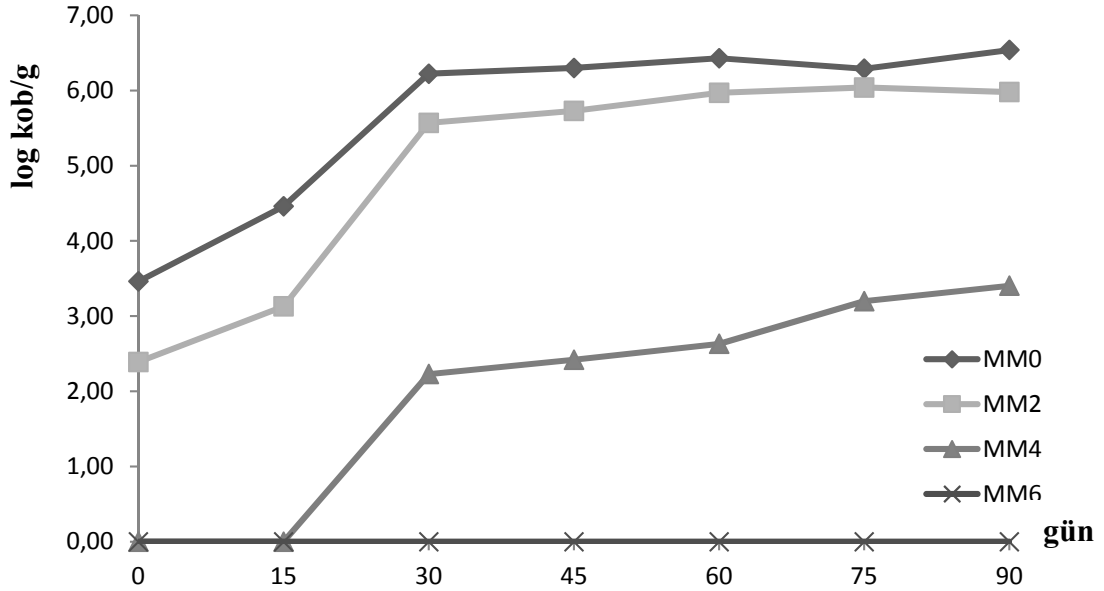
Şekil 4.17. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



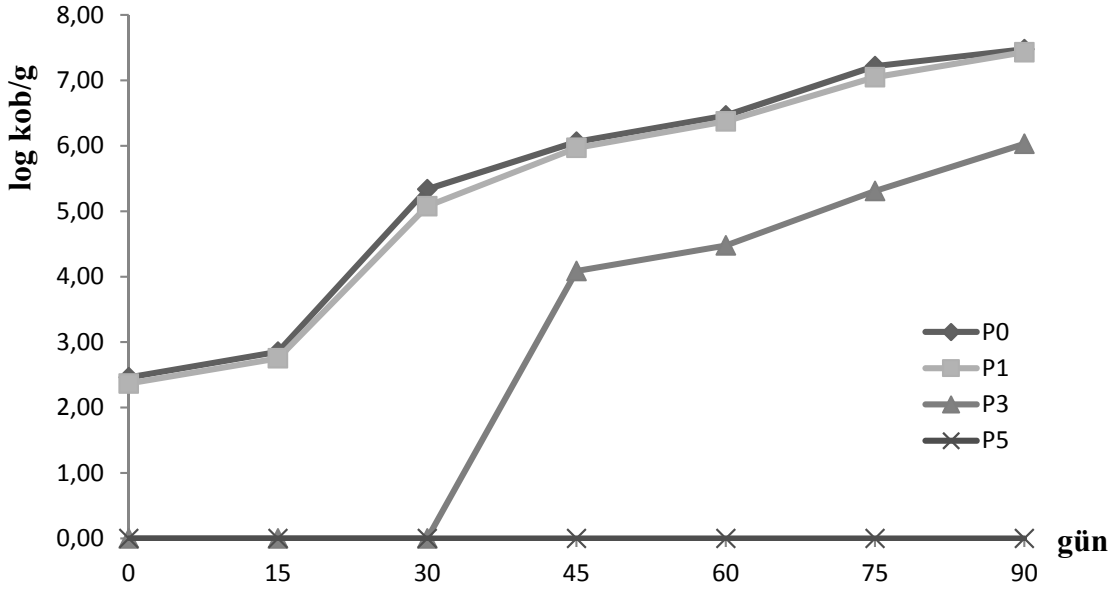
Şekil 4.18. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



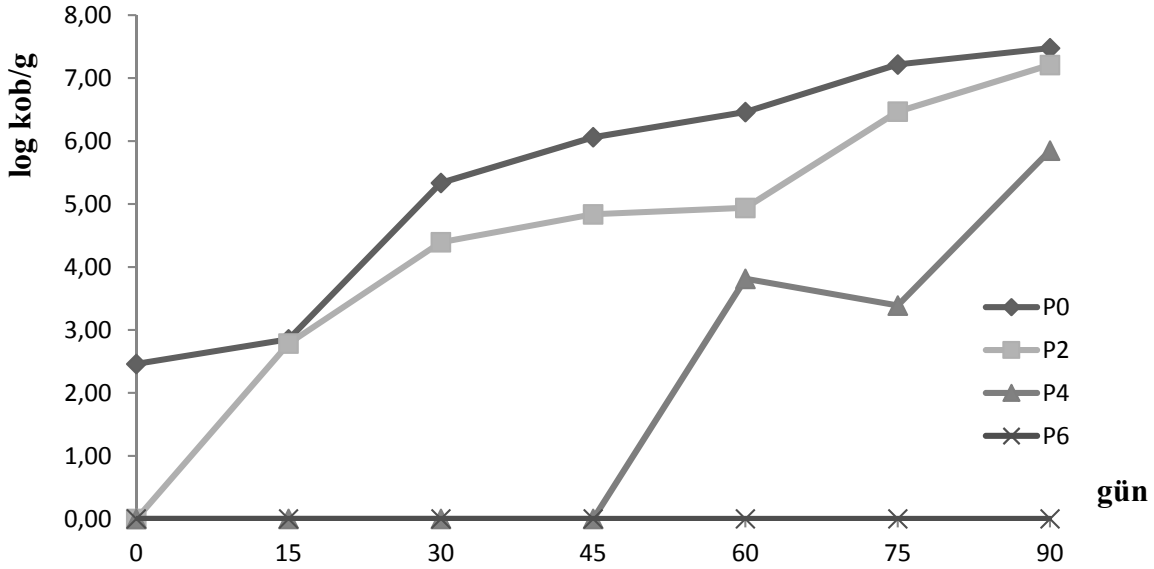
Şekil 4.19. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



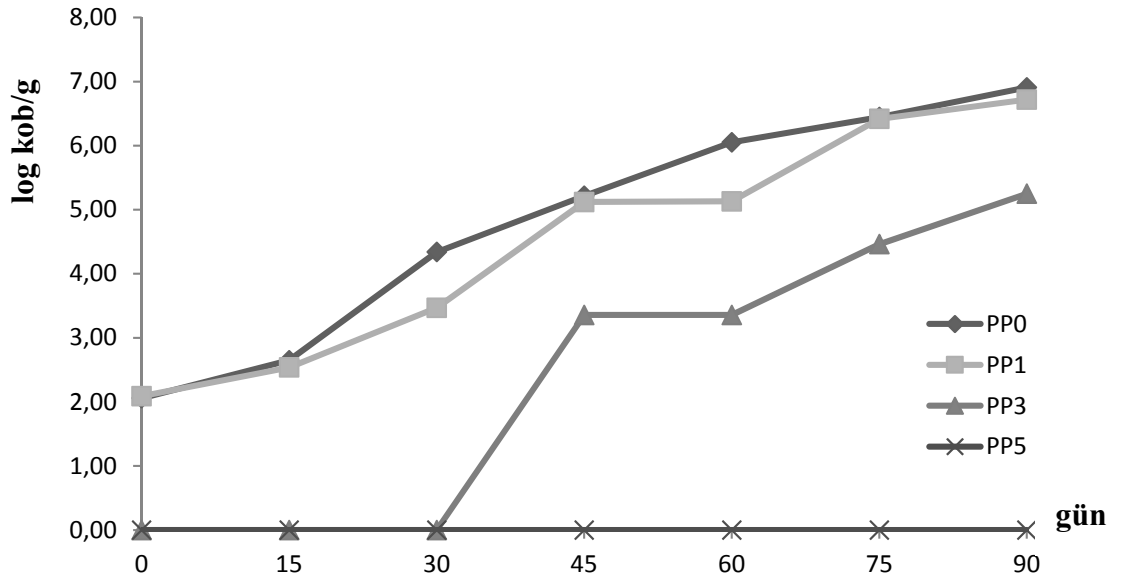
Şekil 4.20. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



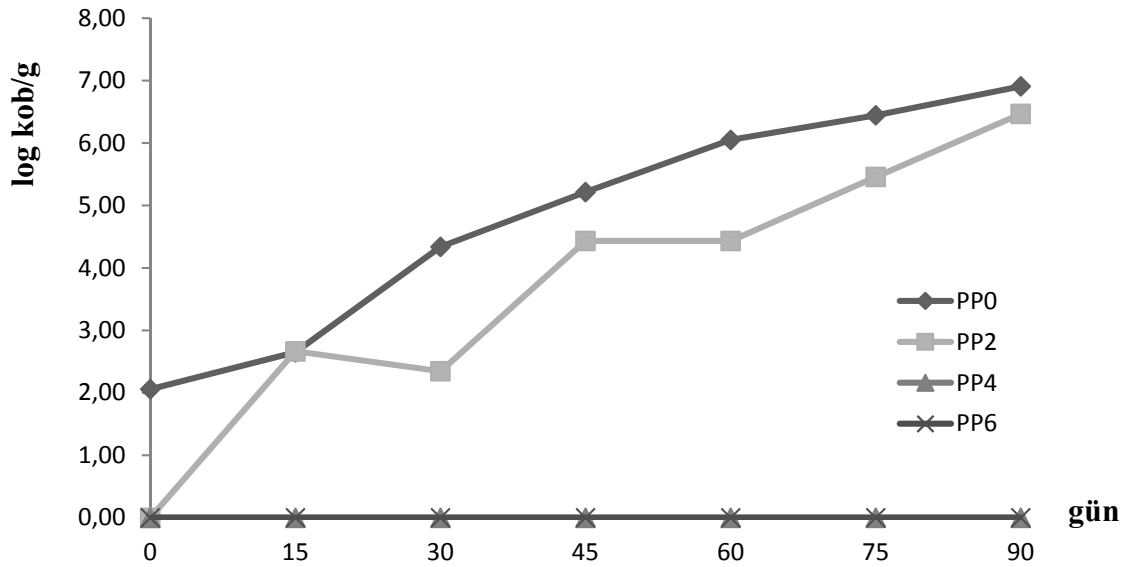
Şekil 4.21. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.22. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.23. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.24. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş inga marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının LAB gelişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.6. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Hidrojen Sülfür (H<sub>2</sub>S) Üreten Bakterilerin Gelişimi Üzerine Etkileri

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edildikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.10.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	7.6449484	32.41**
Uygulama grupları	1	215.2430095	912.63**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	7.6449484	32.41**
Basınç	2	58.1731970	246.66**
Depolama süresi x basınç	12	2.3701588	10.05**
Uygulama grupları x basınç	2	58.1731970	246.66**
Basınç uygulama süresi	1	0.6241524	2.65
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.0193968	0.08
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	0.1728399	0.73
Basınç x basınç uygulama süresi	128		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarına depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresinin H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimini önemli ölçüde (p<0.01) etkiledikleri belirlenmiştir. Depolama başında M0, M1 ve M2 gruplarında H<sub>2</sub>S üreten bakterileri gözlenmiş ve sırasıyla 3.75 x 10<sup>3</sup>, 3.05 x 10<sup>2</sup> ve 1.96 x 10<sup>1</sup> kob/g olarak bulunmuştur. Yüksek basınç uygulamasının 300 MPa olduğu gruplarda depolamanın 30. gününde bakteri gelişimi gözlenirken, 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolama süresince H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimi gözlenmemiştir. Depolama boyunca kontrol, 100 MPa ve 300 MPa basınç uygulanan gruplarda mikroorganizma sayısı logaritmik olarak artış göstermiştir. Çalışma sonunda yüksek hidrostatik basıncın ringa marinatında H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimine önemli derecede (p<0.01) etki ettiği ve basınç seviyeleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu gözlemlenirken, basınç uygulama süreleri arasında önemli farklılıklar bulunmamıştır. Marinatlarda (%4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) depolama süresince H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimi gözlenmemiştir.

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama boyunca hidrojen sülfür üreten bakterilerin gelişimi gözlenmemiştir.

Lopez vd (2014), yaptıkları çalışmada berlam balığına 10<sup>4</sup> kob/g oranında *P. phosphoreum* inoküle ederek yeşil çay ekstraktı ve probiyotik içeren agar film uygulayarak 4°C' de 15 gün depolamışlardır. Kontrol grubunda depolama başlangıcında H<sub>2</sub>S bakterilerini 10<sup>3</sup> kob/g olarak bulmuşlar ve depolama süresince mikroorganizma

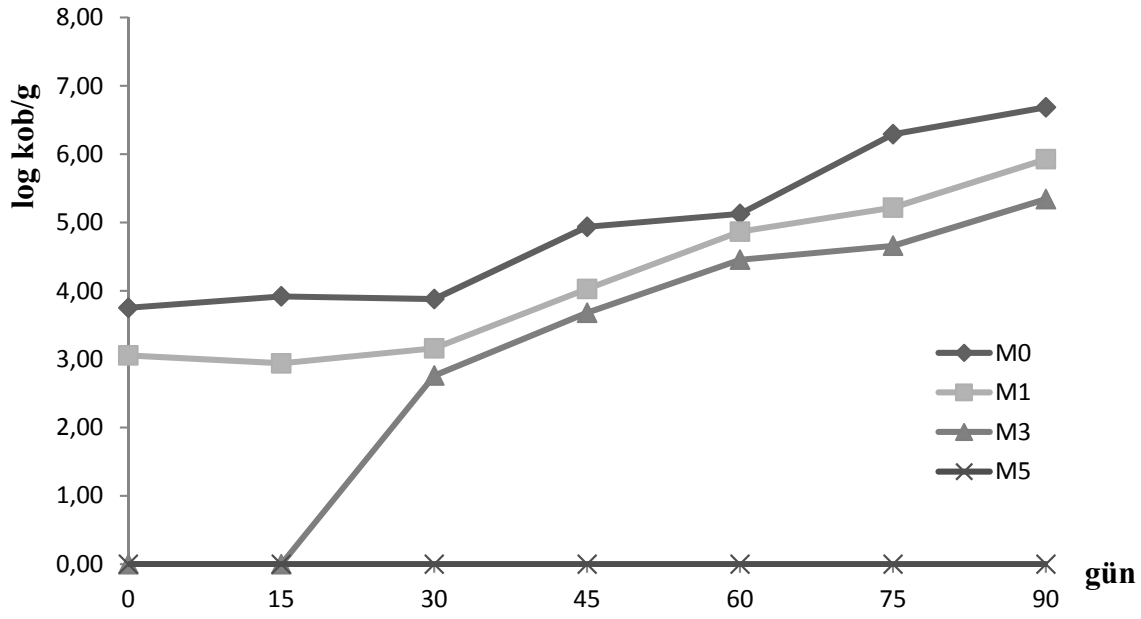
sayısında artış gözlemlenmiştir. Depolamanın 8. gününde H<sub>2</sub>S üreten bakterin sayısı limit değeri (10<sup>6</sup> kob/g) aşarak depolamanın 10. gününde 10<sup>8</sup> kob/g olmuştur. Depolama boyunca hidrojen sülfür bakterileri baskın grup olmuştur. Yeşil çay ekstraktı ve probiyotik içeren gruplarda bakteri sayısında azalma gözlenmiştir. Hidrojen sülfür üreten bakterileri, oksijen yerine daha çok sülfatı kullanarak anaerobik solunum yapan, sülfatı hidrojen sülfite indirgerken moleküler hidrojeni ya da okside olmuş organik bileşikleri kullanan bakteri grubudur. Özellikle anaerobik koşullarda depolanan ürünlerde bozulmadan sorumlu başlıca bakteriler grubundadırlar.

Dalgaard vd (1993), morina filetoolarını vakum ve modifiye atmosfer paketleyerek kullanılan CO<sub>2</sub> oranının H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimine olan etkilerini incelemiştir. 0°C'de 4 haftalık depolamada, modifiye atmosfer paketlemede kullanılan yüksek oranda CO<sub>2</sub>'nin H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin sayısında 2-3 log azalma sağladığı bulunmuştur.

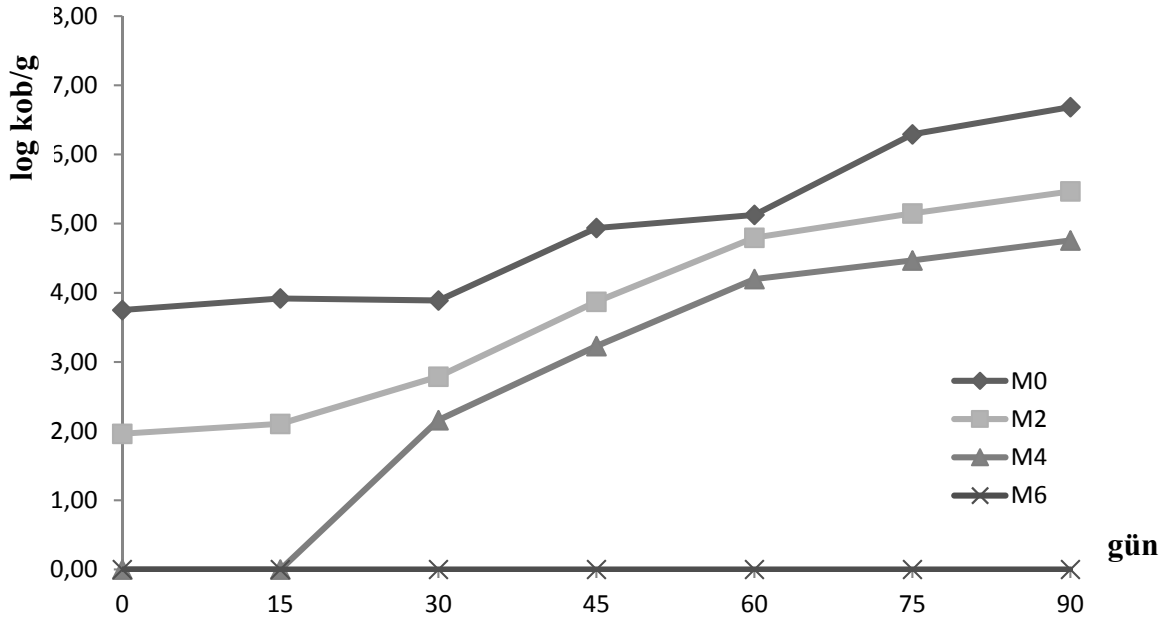
Çizelge 4.11. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

H <sub>2</sub> S üreten bakteriler	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.41 <sup>d</sup>
15. Gün	0.42 <sup>d</sup>
30. Gün	0.9063 <sup>c</sup>
45. Gün	1.23 <sup>b</sup>
60. Gün	1.52 <sup>a</sup>
75. Gün	1.62 <sup>a</sup>
90. Gün	1.79 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	2.26 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.00 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	1.97 <sup>a</sup>
300 MPa	1.41 <sup>b</sup>
500 MPa	0.00 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	1.19 <sup>a</sup>
10 dk	1.07 <sup>a</sup>





Şekil 4.25. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatında (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



Şekil 4.26. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının H<sub>2</sub>S üreten bakterilerin gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)

#### 4.7. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Toplam Psikrofil Bakteri Gelişimi Üzerine Etkileri

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edildikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.12.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	34.5722347	85.23**
Uygulama grupları	1	40.1019429	98.86**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	4.6355609	11.43**
Basınç	2	263.2093738	648.85**
Depolama süresi x basınç	12	1.0145627	2.50**
Uygulama grupları x basınç	2	26.6166643	65.61**
Basınç uygulama süresi	1	6.5136095	16.06**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.2240470	0.55
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.0337167	0.08
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.3572167	0.88
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresinin, *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerinde önemli derecede (p<0.01) etkili olduğu bulunmuştur. Bakteri inokülasyonu ve yüksek hidrostatik basınç uygulaması sonrası başlangıçta toplam psikrofil canlı sayısı %2 asit ile hazırlanan M0, M1, M2, M3 ve M4 gruplarında sırasıyla  $4.22 \times 10^3$ ,  $3.57 \times 10^3$ ,  $3.21 \times 10^2$ ,  $1.95 \times 10^1$  ve  $1.79 \times 10^1$  kob/g olarak bulunmuştur. 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolamanın 45. gününe kadar bakteri gelişimi gözlenmemiş, ancak 45. günden sonra 500 MPa 5 dk basınç uygulanan grupta  $10^3$  kob/g, 500 MPa 10 dk basınç uygulanan grupta ise  $10^2$  kob/g oranında bakteri gelişimi olduğu görülmüştür. Depolamanın 30, 45 ve 60. günlerinde sırasıyla kontrol, M1 ve M2 gruplarında psikrofil canlı sayısı limit değere ( $10^6$  kob/g) ulaşırken, depolama sonunda en düşük mikroorganizma sayısı 500 MPa yüksek basınç uygulanan ( $10^3$ - $10^4$  kob/g) gözlenmiştir. Marinatlarda (%4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) toplam psikrofil canlı sayısı daha düşük oranlarda gelişim göstermiştir. Depolama başında M0, M1, M2, M3 ve M4 gruplarında toplam psikrofil mikroorganizma sayısı kontrol grubunda  $10^3$  kob/g, 100 MPa basınç uygulanan gruplarda  $10^2$  kob/g ve 300 MPa basınç uygulanan gruplarda  $10^1$  kob/g olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ve 100 MPa basınç uygulanan gruplar depolamanın 75. gününde sınır değeri aşarken, 500 MPa basınç uygulanan gruplarda toplam psikrofil bakteri sayısı depolama boyunca limit

değere ulaşmamıştır. Diğer grup olan %4 asit ile hazırlanan ringa marinatlarında 500 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda psikrofil canlı gelişimi depolama süresince gözlenmemiştir. Depolama boyunca tüm gruplarda psikrofil bakteri gelişimi logaritmik bir artış göstermiştir. Uygulama gruplarında asit konsantrasyonları ve basınç seviyeleri depolama boyunca psikrofil bakteri gelişimi önemli derecede etkilemiştir.

Çizelge 4.13. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Toplam Psikrofil Bakteri	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	1.67 <sup>f</sup>
15. Gün	2.21 <sup>e</sup>
30. Gün	2.65 <sup>d</sup>
45. Gün	3.85 <sup>c</sup>
60. Gün	4.11 <sup>bc</sup>
75. Gün	4.45 <sup>ab</sup>
90. Gün	4.76 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	3.87 <sup>a</sup>
%4 Asit	2.90 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	5.52 <sup>a</sup>
300 MPa	3.45 <sup>b</sup>
500 MPa	1.19 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	3.58 <sup>a</sup>
10 dk	3.19 <sup>b</sup>

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edildikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında toplam psikrofil gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.14.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.14. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	37.1344177	115.84**
Uygulama grupları	1	34.5258667	107.71**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	3.3383097	10.41**
Basınç	2	270.6510167	844.31**
Depolama süresi x basınç	12	15.5160174	48.40**
Uygulama grupları x basınç	2	18.5266738	57.80**
Basınç uygulama süresi	1	0.4120381	1.29
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.0311006	0.10
	1	0.1110857	0.35
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	0.1035881	0.32
Basınç x basınç uygulama süresi	128		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatında psikrofil bakteri gelişimine depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli derecede (p<0.01) etkili olmuştur. Depolama boyunca %2 ve %4 asit grupları arasında önemli derecede farklılıklar (p<0.01) gözlenmiştir. Depolama başında grupların hiçbirinde bakteri gelişimi gözlenmezken, depolamanın 15. gününde kontrol ve 100 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda toplam psikrofil canlı sayısı  $10^1$  kob/g olarak bulunmuştur. Marinat gruplarında (%2 asit ile hazırlanan) 300 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda depolamanın 45. gününde psikrofil gelişimi gözlenmiştir ( $10^2$  kob/g). Her iki asit konsantrasyonunda da 500 MPa basınç uygulanan marinatlarda bakteri gelişimi olmamış ve ringa marinatında psikrofil canlı gelişiminin tamamen önlenmesi için %2 ve %4 asit konsantrasyonlarıyla beraber 500 MPa basınç kombinasyonu uygun görülmüştür.

Çizelge 4.15. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam psikrofil bakteri gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

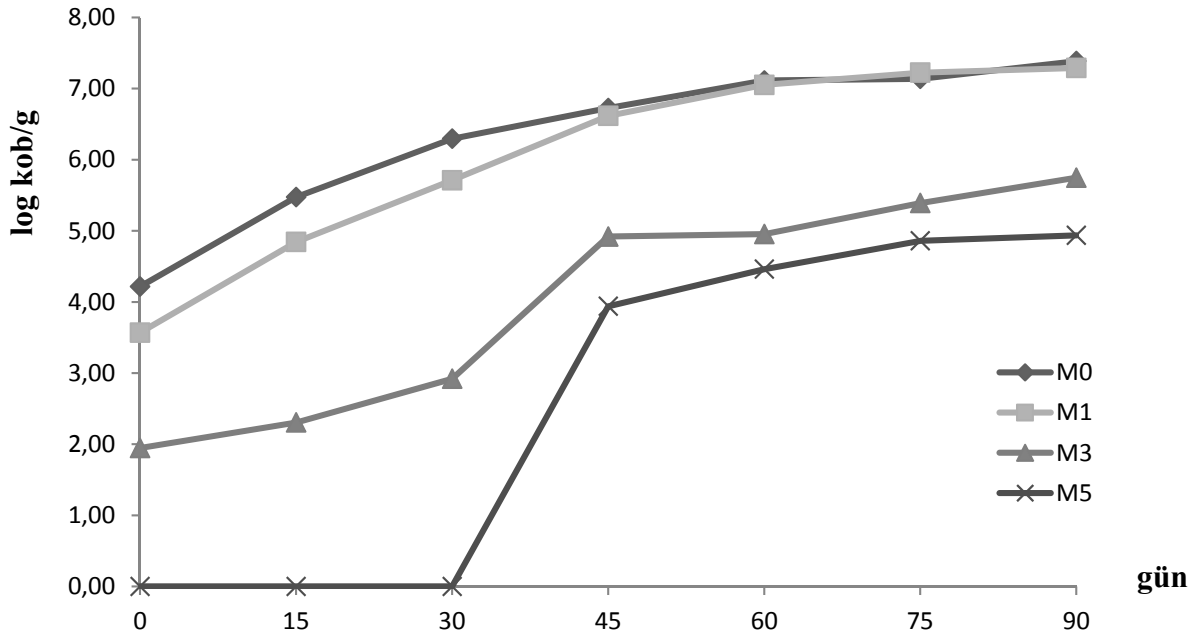
Toplam Psikrofil Bakteri	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.00 <sup>f</sup>
15. Gün	0.56 <sup>e</sup>
30. Gün	1.12 <sup>d</sup>
45. Gün	2.01 <sup>c</sup>
60. Gün	2.51 <sup>b</sup>
75. Gün	2.98 <sup>a</sup>
90. Gün	3.24 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	2.23 <sup>a</sup>
%4 Asit	1.32 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.23 <sup>a</sup>
300 MPa	1.10 <sup>b</sup>
500 MPa	0.00 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	1.82 <sup>a</sup>
10 dk	1.72 <sup>a</sup>

Sallam vd (2007), farklı asit ve tuz konsantrasyonlarında (%0 asit-%12 NaCl, %2 asit-%12 NaCl, %3 asit-%12 NaCl) marine edilmiş pasifik zarganasını vakum paketleyerek 90 gün boyunca 4°C’ de depolamışlardır. Başlangıçta balık etinde 3.95 log kob/g olarak belirlenen psikrofil bakteri sayısı marinasyon işlemi uygulaması ile azalma göstermiş ve depolama süresince asit ve tuz kombinasyonu uygulanan gruplarda limit değere ulaşmamıştır. Yalnızca tuz çözeltisi kullanılarak hazırlanan örneklerde depolamanın 50. gününde toplam psikrofil bakteri sayısı 10<sup>6</sup> log kob/g’a ulaşmış ve depolama sonunda bu değer 8.31 log kob/g olmuştur. Yüksek asit ve tuz konsantrasyonu uygulaması mikroorganizma gelişimini baskımlarken, tüm gruplarda psikrofil bakteri sayısında depolamayla beraber logaritmik bir artış gözlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada da marinasyon işlemi ve yüksek hidrostatik basınç uygulaması bazı gruplarda psikrofil bakteri gelişimini baskılamış, ancak mikroorganizma gelişiminin gözlemlendiği gruplarda depolamayla beraber artış olduğu gözlenmiştir.

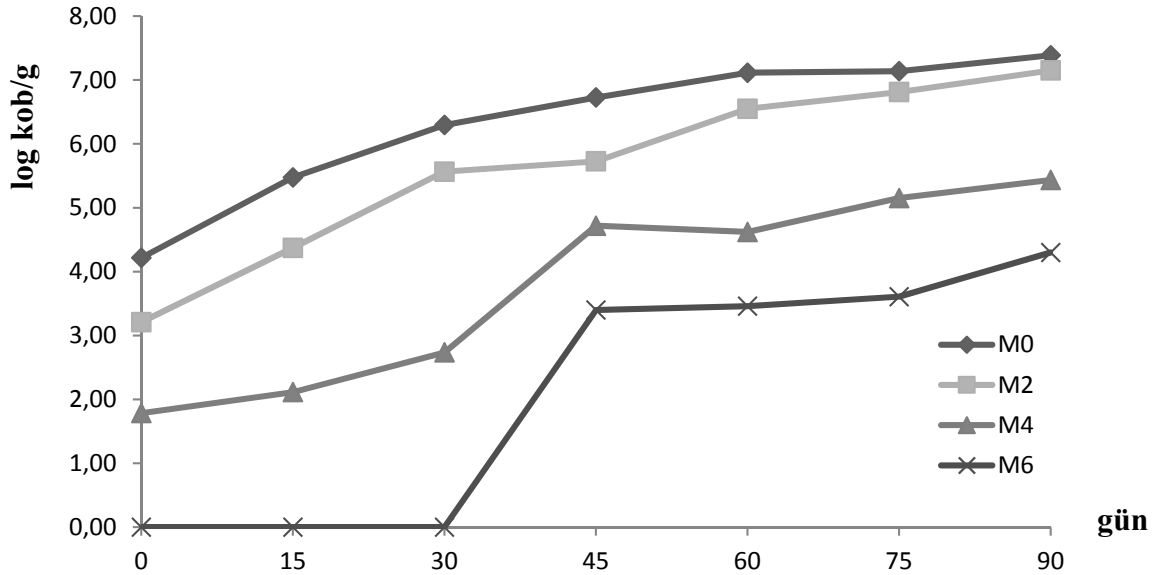
Karim vd (2011), vakum paketledikleri ringa filetolarına yüksek hidrostatik basınç uygulayarak (200, 250 ve 300 MPa, 1-3 dk) buz içerisinde 2°C’de 14 gün depolamışlardır. Ringa filetolarında toplam psikrofil bakteri sayısında artış gözlenirken, yüksek hidrostatik basıncın bu artışı baskıladığı ve raf ömrünü arttırdığı belirtilmiştir. Basınç seviyesi ve uygulama süresinin artışıyla beraber mikroorganizma gelişimi de baskılanmıştır. Kontrol grubunda raf ömrü 4 gün olarak belirlenirken, 300 MPa 3 dk basınç uygulanan grupta 14 güne çıkmıştır.

Ton balığı kıymasını paketleyerek yüksek hidrostatik basınç uygulayan Ramirez-Suarez vd (2006), artan basınç uygulamasıyla beraber psikrofil canlı sayısında da azalma gözlemlemişlerdir. Bakteri hücrelerinin kendilerini yenilemesini engelleyen 310 MPa 6 dk basınç uygulamasının psikrofil bakterileri gelişimini baskılamada en iyi etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada, psikrofil bakteri gelişimi %4 asit ile hazırlanarak 500 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda tamamen baskılanmıştır. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, basınç seviyesi ve süresine bağlı olarak bir şekilde bakteriler üzerinde bakteriyostatik ya da bakterisit etki yapmaktadır.

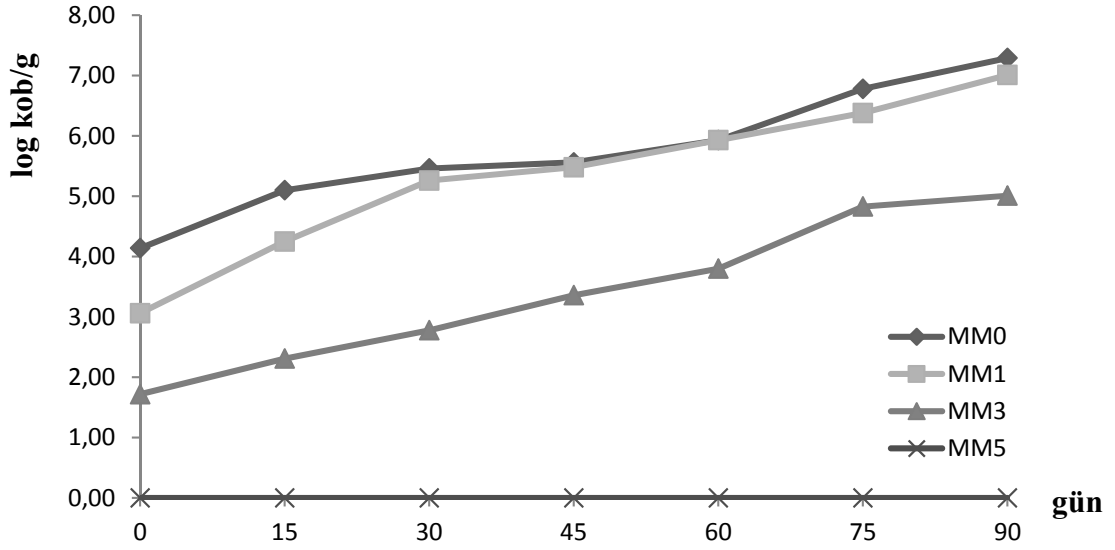
Tekir balığı filetoalarını paketleyerek farklı basınçlar uygulayan Erkan vd (2010), psikrofil bakteri gelişimine göre ( $10^6$  kob/g limit değerine göre) kontrol grubunda raf ömrünü 11 gün, 220 MPa 5dk 25°C basınç uygulanan grupta 15 gün ve 330 MPa 5dk 3°C basınç uygulanan grupta 17 gün olarak belirlemişlerdir. Yapılmış olan çalışmalar mevcut çalışmamızda sonuçları desteklemekte ve artan basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri sayısını azalttığını doğrulamaktadır.



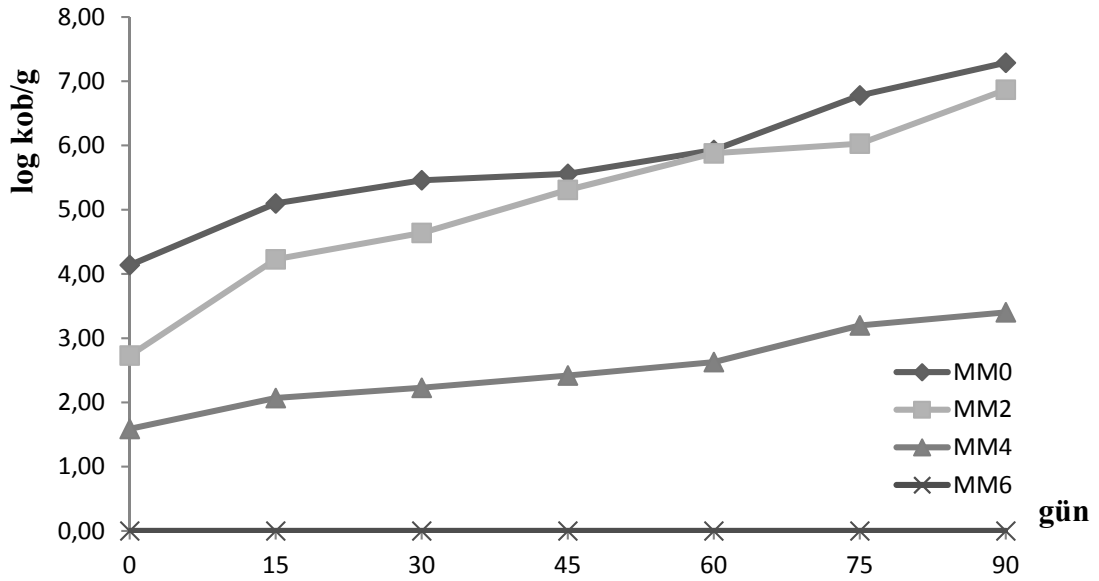
Şekil 4.27. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



Şekil 4.28. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)

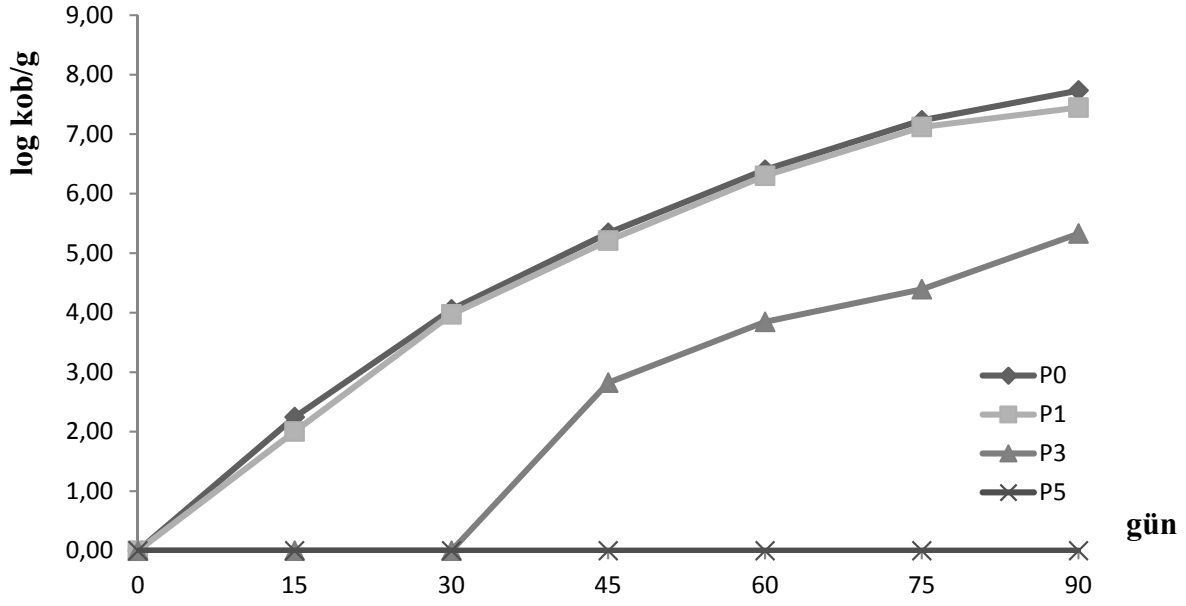


Şekil 4.29. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)

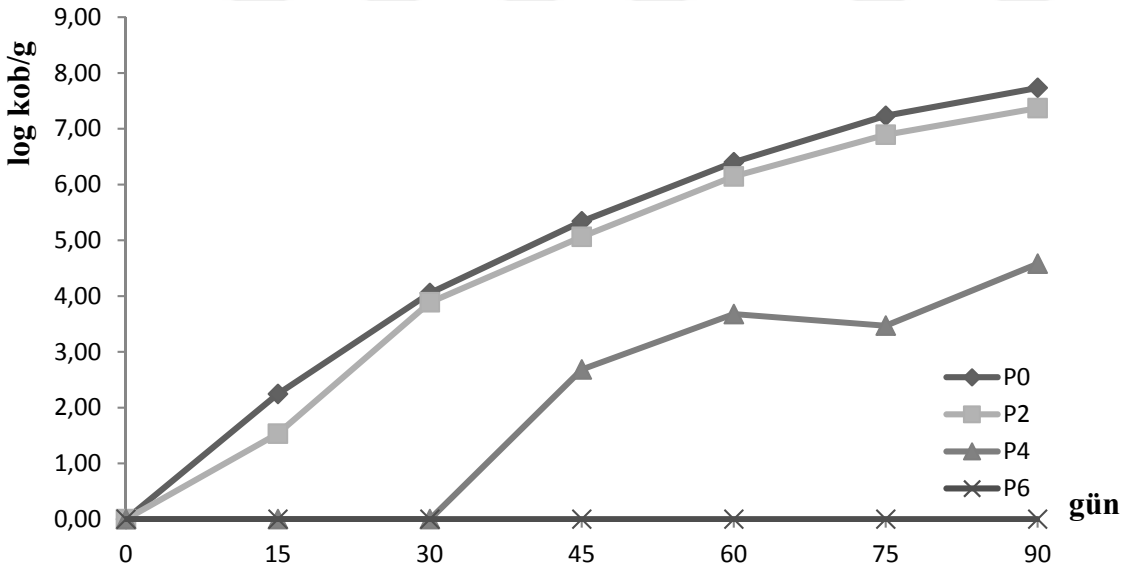


Şekil 4.30. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakterileri gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)

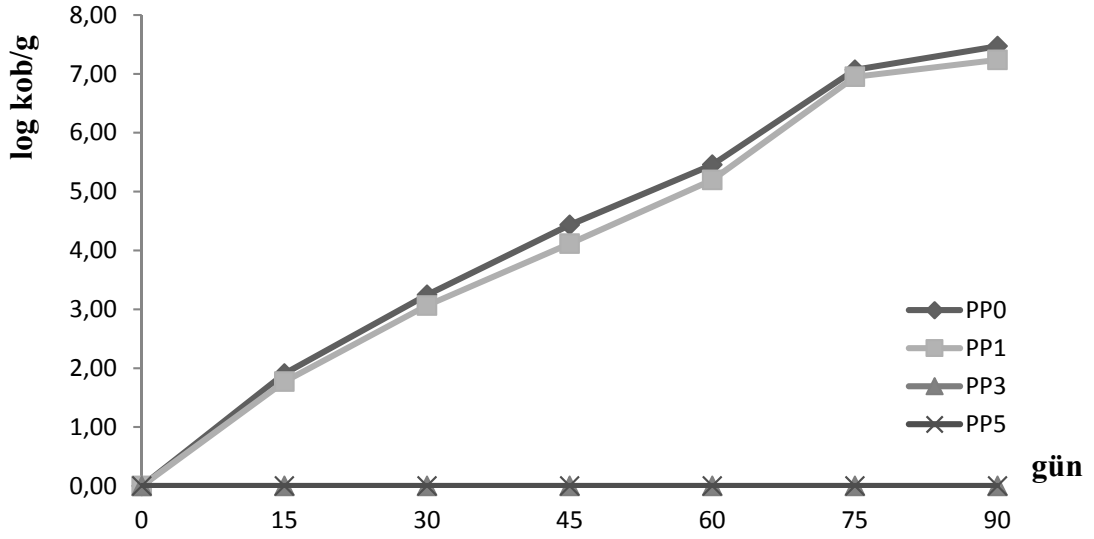




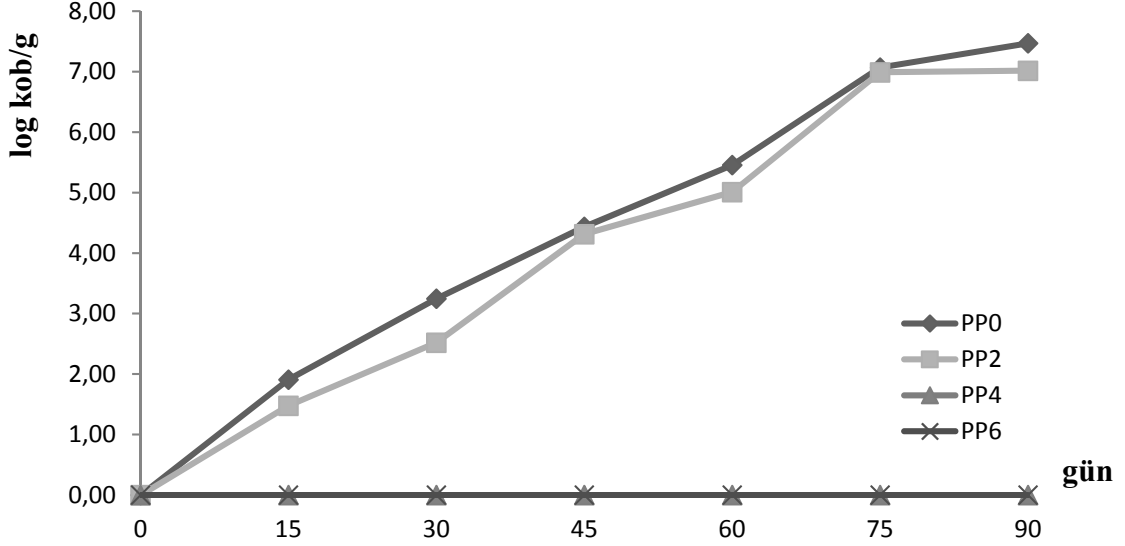
Şekil 4.31. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.32. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.33. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.34. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek basınç uygulamasının toplam psikrofil bakteri gelişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.8. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Toplam Maya-Küf Gelişimi Üzerine Etkileri

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edildikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında toplam maya-küf gelişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.16.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.16. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam maya-küf gelişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	8.1451194	62.68**
Uygulama grupları	1	150.2929167	1156.57**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	8.1451194	62.68**
Basınç	2	12.9504095	99.66**
Depolama süresi x basınç	12	0.3791394	2.92**
Uygulama grupları x basınç	2	12.9504095	99.66**
Basınç uygulama süresi	1	2.3147524	17.81**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.2112190	1.63
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	2.3147524	17.81**
Basınç x basınç uygulama süresi	128	0.7717167	5.94**
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

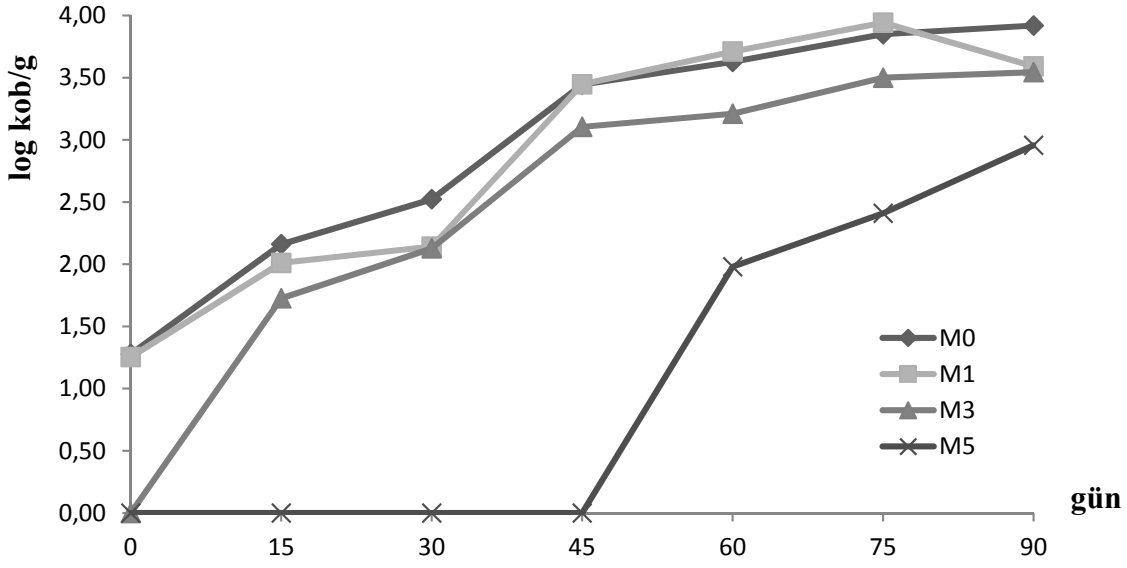
(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi, toplam maya-küf gelişimi üzerinde önemli derecede (p<0.01) etkili olmuştur. Marinatlarda (%2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) başlangıçta toplam maya-küf sayısı kontrol ve 100 MPa basınç uygulanmış gruplarda  $10^1$  log kob/g olarak belirlenirken, diğer gruplarda mikroorganizma gelişimi olmamıştır. Depolamanın 15. gününde 300 MPa basınç uygulanan gruplarda gelişim gözlenmeye başlanırken, 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolamanın 60. gününde gelişim olmaya başlamıştır. Depolama süresince basınç uygulama seviyeleri ve asit konsantrasyonları maya-küf gelişimini önlemede önemli ölçüde (p<0.01) etkili olurken, %4 asit ile hazırlanan marinatlarda depolama sonuna kadar maya-küf gelişimi olmamıştır. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen gruplarda da depolama süresince maya-küf gelişimi gözlenmemiştir.

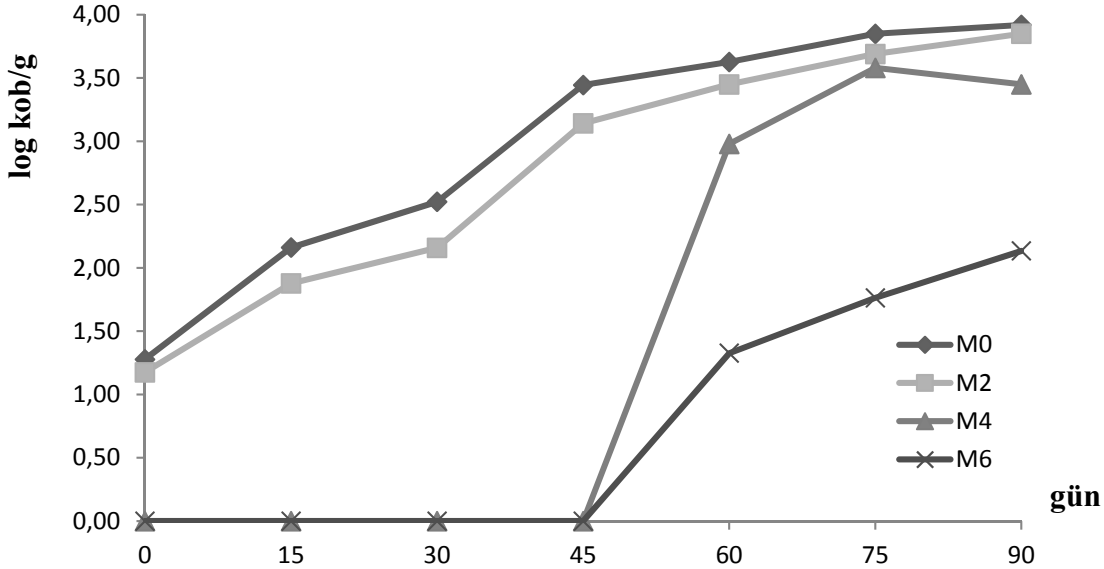
Maya ve küfler düşük pH, düşük su aktivitesi ve düşük sıcaklığa oldukça dirençli olup birçok mikroorganizmada gelişmeyi engelleyen gıda içeriğinde bulunan laktik, sitrik ve asetik asit gibi organik asitleri kullanabilmektedirler (Huis Velt 1996). Sallam vd (2008), yaptıkları çalışmada %2 ve %3 asit kullanarak hazırladıkları marinatlarda toplam maya-küf gelişiminin tuz çözeltisiyle hazırlanan gruplardan oldukça düşük olduğunu ve 2 log kob/g'ı geçmediğini gözlemlemiştir.

Çizelge 4.17. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında toplam maya-küf gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

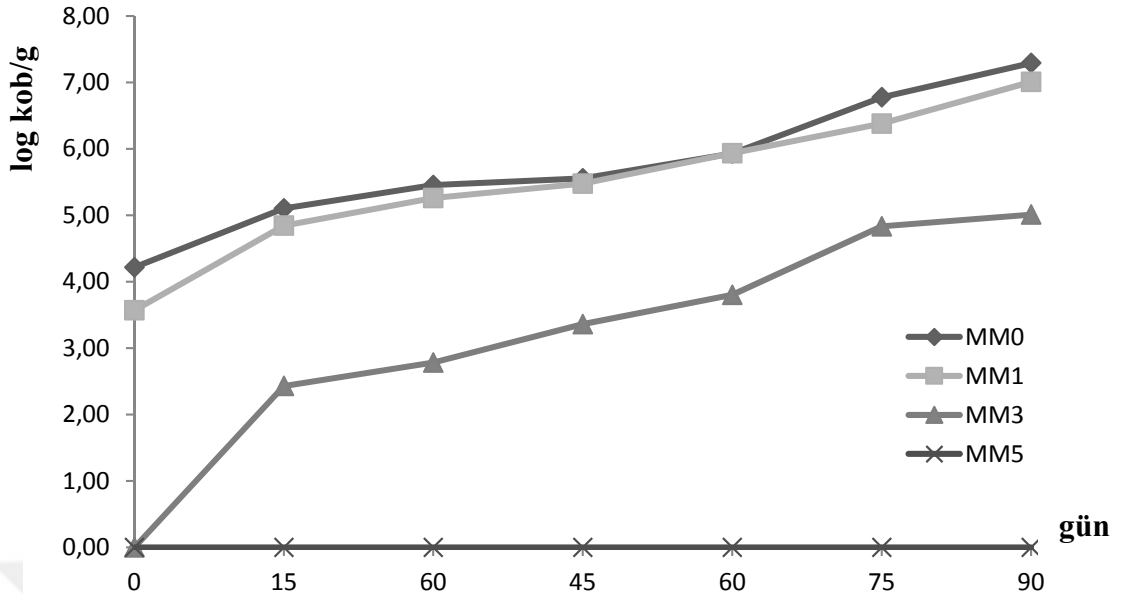
	Toplam Maya-Küf
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.20 <sup>e</sup>
15. Gün	0.46 <sup>d</sup>
30. Gün	0.53 <sup>d</sup>
45. Gün	0.80 <sup>c</sup>
60. Gün	1.40 <sup>b</sup>
75. Gün	1.57 <sup>ab</sup>
90. Gün	1.62 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	1.89 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.00 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	1.40 <sup>a</sup>
300 MPa	0.97 <sup>b</sup>
500 MPa	0.44 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	1.06 <sup>a</sup>
10 dk	0.82 <sup>b</sup>



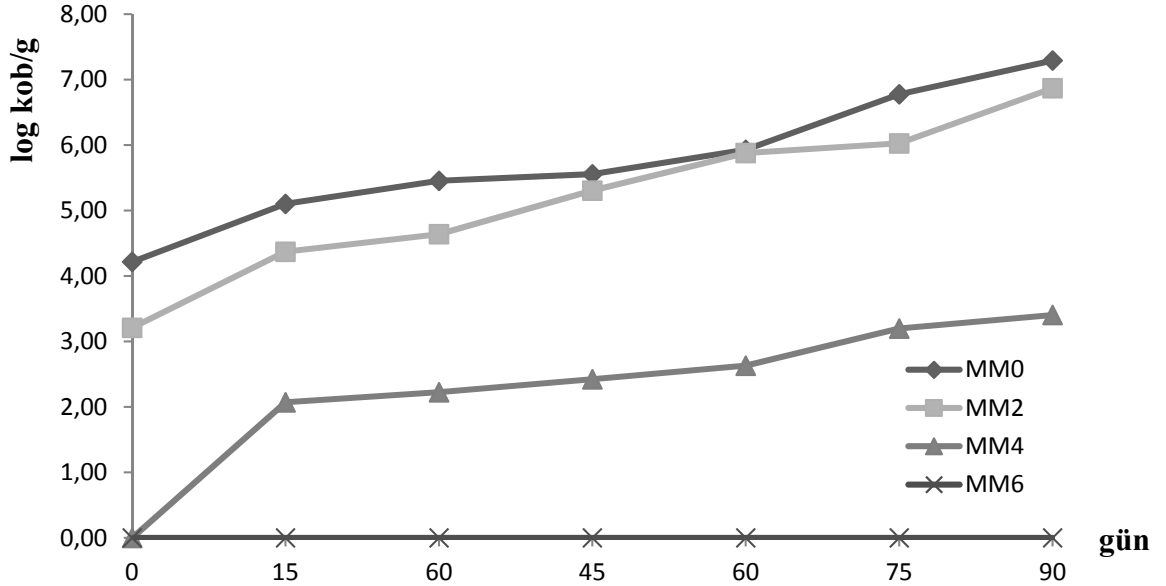
Şekil 4.35. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



Şekil 4.36. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



Şekil 4.37. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının maya-küf gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



Şekil 4.38. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asetik asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının toplam maya-küf gelişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)

## 4.9. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkileri

### 4.9.1. Histamin

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında histamin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.18.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.18. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	3668.42545	15.24**
Uygulama grupları	1	14805.63375	61.50**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	3668.42545	15.24**
Basınç	2	1033.25375	4.29*
Depolama süresi x basınç	6	357.97333	1.49
Uygulama grupları x basınç	2	1033.25375	4.29*
Basınç uygulama süresi	1	6323.20807	26.26**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	1411.54937	5.86**
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	1667.02088	6.92**
Basınç x basınç uygulama süresi	71		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Bu çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen marinatlarda histamin oluşumunda, depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli derecede (p<0.01) etki etmiştir. *Morganella psychrotolerans* inokülasyonundan sonra yüksek basınç uygulanan %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinatlarda başlangıçta histamin içeriği kontrol grubunda 4.07 mg ile en yüksek, M6 grubunda ise 1.73 mg ile en düşük miktarlarda belirlenmiştir. Depolama boyunca gruplarda histamin miktarında artış gözlenirken, M1 ve M5 grupları depolamanın 60. gününde 50 mg'ı geçmiş, kontrol ve M2 grubu ise 90. günde sınır değeri (50 mg/kg, FDA 2011) aşmıştır. Depolama süresince 500 MPa 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulaması ringa marinatında histamin oluşumunu engellemiştir. ringa marinatlarında (%4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) depolama süresince histamin oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum asit miktarlarının histamin oluşumu üzerinde önemli derecede etkin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.19. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Histamin	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	1.150 <sup>c</sup>
30. Gün	4.051 <sup>c</sup>
60. Gün	16.373 <sup>b</sup>
90. Gün	28.100 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	24.838 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.0000 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	18.226 <sup>a</sup>
300 MPa	6.870 <sup>b</sup>
500 MPa	12.161 <sup>ab</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	20.535 <sup>a</sup>
10 dk	4.303 <sup>b</sup>

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında histamin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.20.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.20. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	4105.85810	7.57**
Uygulama grupları	1	11983.40005	22.08**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	4766.611335	8.78**
Basınç	2	8011.61594	14.76**
Depolama süresi x basınç	6	4369.81250	8.05**
Uygulama grupları x basınç	2	8199.08988	15.11**
Basınç uygulama süresi	1	33.21730	0.06
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	1030.91986	1.90
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	147.91104	0.27
Basınç x basınç uygulama süresi	71		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli



Çalışmada *P. phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatlarında histamin oluşumuna depolama süresi, uygulama grupları ve basınç önemli ölçüde ( $p<0.01$ ) etki etmiştir. Marinat gruplarından %2 asit konsantrasyonu ile hazırlananda başlangıçta histamin oldukça düşük miktarlarda bulunmuştur. Depolama süresince P0, P1 ve P2 gruplarında histamin oranı artış göstererek sırasıyla 163.73 mg/kg, 207.36 mg/kg ve 144.41 mg/kg olmuştur. Diğer %2 asit gruplarında depolama boyunca önemli düzeyde histamin oluşumu gözlenmemiştir. Ringa marinatlarında histamin üretimine farklı asit konsantrasyonları önemli derecede ( $p<0.05$ ) etki etmiştir. Depolamanın ilk ayında %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinatlarda histamin oluşumu görülmüş ancak çok düşük miktarlarda olduğu için önemsiz düzeyde kabul edilmiştir. Bu da yüksek asit konsantrasyonu ile yüksek hidrostatik basınç kombinasyonunun *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında histamin oluşumunun önleyebileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.21. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında histamin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Histamin
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	5.248 <sup>b</sup>
30. Gün	3.131 <sup>b</sup>
60. Gün	11.184 <sup>b</sup>
90. Gün	31.777 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	24.008 <sup>a</sup>
%4 Asit	1.663 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	31.029 <sup>a</sup>
300 MPa	5.183 <sup>b</sup>
500 MPa	2.293 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	12.247 <sup>a</sup>
10 dk	13.423 <sup>a</sup>

Kim vd (2013), *M. morgani* ile inoküle ettikleri uskumru etinde 200 MPa'ya kadar yüksek basınç uygulamasının histamin oluşumunu önemli derecede etkilemediğini, ancak 300 ve 400 MPa basınç uygulamasının histamin oluşumunu önemli ölçüde baskıladığını belirtmişlerdir. Depolamanın 5. gününde yüksek basınç uygulanmamış grupta histamin miktarı 3073 mg/kg, 100 MPa 3 dk basınç uygulanmış grupta ise 2636 mg/kg olarak bulunmuştur. Bunun yanında 300 ve 400 MPa basınç uygulanan gruplarda histamin miktarı depolama boyunca yok denecek kadar az miktarlarda tespit edilmiş ve sınır değere ulaşmamıştır. Benzer şekilde, yapmış olduğumuz çalışmada da uygulanan yüksek basınç seviyesinin histamin oluşumunu önemli derecede etkilediği ve en iyi basınç ve süre uygulamasının 500 MPa 10 dk olduğu bulunmuştur.

Vakum paketlenmiş alabalık filetosuna yüksek basınç uyguladıktan sonra histamin oluşumunu gözlemleyen Matejkova vd (2013), 12°C'de yüksek basınç uygulanmamış kontrol grubunda depolamanın 7. gününde 133 mg/kg histamin tespit etmişlerdir. Yüksek basınç uygulamasının alabalık filetosunda histamin oluşumunu baskıladığı ve 70 günlük depolama boyunca bu gruplarda limit değere ulaşmadığı belirtilmiştir.

Krizek vd (2014), turna balığı filetoalarını vakum paketlenerek yüksek hidrostatik basınç uygulamış ve depolama boyunca biyojen amin oluşumunu incelemişler ve 3.5°C'de depolanan örneklerin hiçbirinde histamin gözlenmezken, 12°C'de bulunan örneklerde çok düşük miktarlarda tespit edildiğini bildirmişleridir.

Uskumru marinatını histamin oluşumunda önemli rol oynayan bakteri kültürleri (*Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium damsela*) ile 10<sup>4</sup> ve 10<sup>7</sup> kob/g oranında inoküle eden Furutani vd (2013) 5, 10 ve 20°C'de histamin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Depolama süresince en yüksek histamin oluşumu 10°C'de bulunan örneklerde tespit edilmiş ve 3. günde sınır değere ulaşmıştır. Histamin oluşumunun büyük ölçüde sıcaklığa bağlı olduğunu ve 10<sup>7</sup> kob/g oranında inokülasyon yapılan gruplarda histamin oluşumunun 20°C'de depolanan gruplarda 5 ve 10°C'ye göre daha hızlı olduğunu belirtmişlerdir.

Gökoğlu vd (2003), %2 ve %4 asetik asit-%10 tuz konsantrasyonları ile hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca biyojen amin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Sardalya etinde başlangıçta histamin miktarı 14.23 mg/kg iken marinasyon işleminden sonra %2 asit grubunda 72.26 mg/kg, %4 asit grubunda ise 45 mg/kg olmuştur. Depolamanın 3. ayına kadar %4 asitli grupta histamin miktarı daha düşük miktarlarda iken, daha sonraki günlerde artış göstererek 80 mg/kg'ı geçmiştir.

Emborg vd (2005), *Morganella morganii-like* ve *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle ettikleri ton balığı marinatını vakum ve modifiye atmosfer paketlenerek histamin oluşumunu incelemişlerdir. 1.7°C'de modifiye atmosfer paketlenmiş örneklerde *Morganella morganii-like* bakterisinin baskın olduğunu ve depolamanın 24. gününde histamin miktarının 5000 mg/kg'dan fazla olduğunu tespit etmişler ve 2°C'de vakum paketlenmiş örneklerde toksik oranlarda (7400 mg/kg) histamin üretiminin olduğunu bulmuşlardır. Avrupa Birliği (EU) 100 g balık etindeki histamin yasal limitini 10 mg belirtirken, son olarak FDA (Food Drug Administration) bu limiti 5 mg olarak belirlemiştir (FDA 1996).

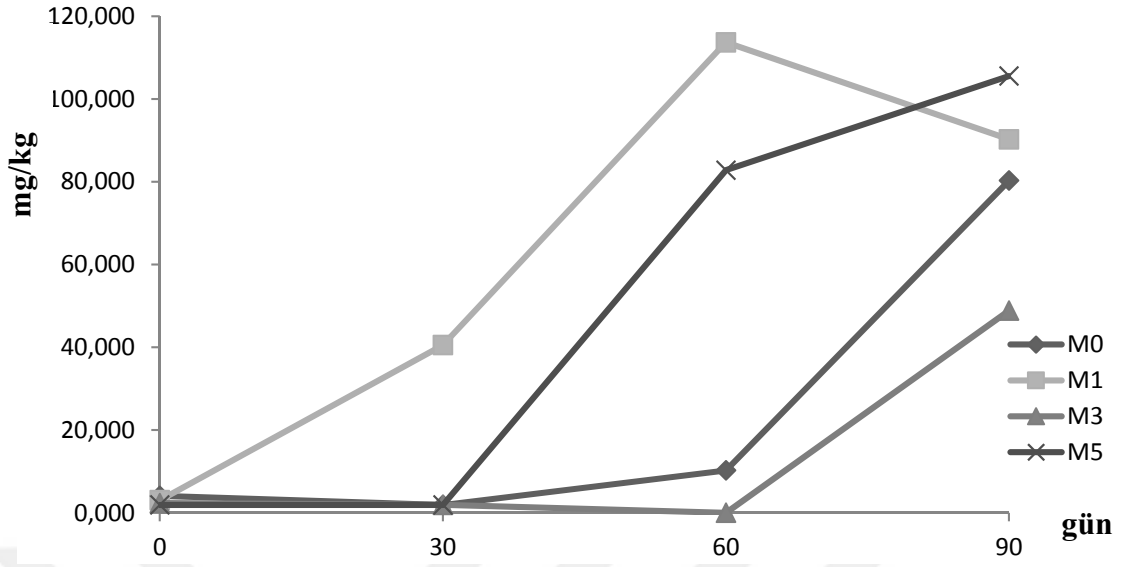
Su ürünlerinde histamin bir kez oluştuğunda pişirme, tuzlama, dondurma, sıcak dumanlama hatta konserve işlemi ile bile durdurulamamaktadır. Bu nedenle üründe depolamanın ya da işleminin en başında histamin oluşumu kontrol altına alınmalıdır. Bazı su ürünlerinde 2000 mg/kg'dan fazla serbest histidin amino asidi bulunmaktadır. Bu tür balıkların bakteriyel dekarboksilaz aktivitesine sahip yüksek oranda biyojen amin üretme potansiyeli olan bakterilerle kontaminasyonunun önlenmesi esastır.

Lopez-Caballero vd (2002), *P. phosphoreum* ile inoküle ettikleri ve farklı gaz oranları kullanarak modifiye atmosfer paketlenen balık suyunda biyojen amin oluşumunu incelemişlerdir. Depolama başında histamin miktarı 2.72 mg/kg iken, depolama sonunda (43. gün) normal hava ile paketlenen gruplarda histamin miktarı 9.14 mg/kg, %60 CO<sub>2</sub> içeren grupta 17.19 mg/kg ve %40 CO<sub>2</sub> içeren grupta 1.42 mg/kg bulunmuştur. Çalışmada farklı CO<sub>2</sub> ve N<sub>2</sub> gazlarının modifiye atmosfer paketlenmede *P. phosphoreum* tarafından üretilen histamin miktarını önemli derecede etkilediği bulunmuştur.

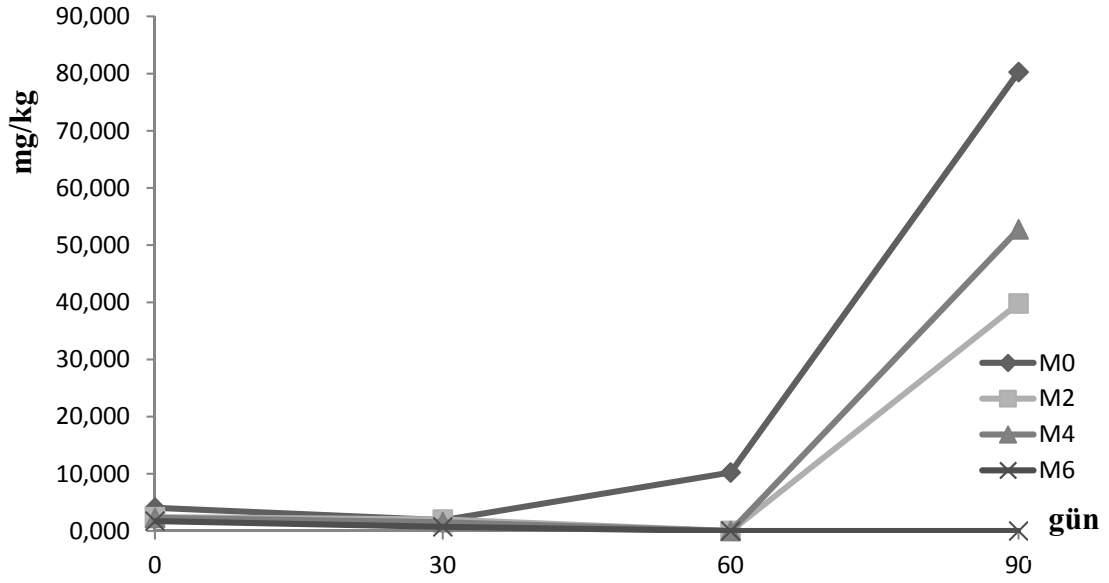
Kim vd (2013), *P. phosphoreum* ile inoküle ederek 100, 200, 300 ve 400 MPa yüksek hidrostatik basınç uyguladıkları uskumru etinde 5°C'de histamin oluşumunu incelemişlerdir. Depolamanın 5. gününe kadar tüm gruplarda histamin miktarı 2 mg/kg'ın altında kalmıştır. Kontrol grubunda 10. günde histamin miktarı 56.3 mg/kg ve 15. günde 274.5 mg/kg olmuştur. 100 MPa basınç uygulanan grupta depolamanın 15. gününde 106.2 mg/kg oranında histamin gözlenirken, 300 MPa'nın üzerinde basınç uygulanan gruplarda 1 mg/kg'ın altında histamin tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada da 200 MPa ve üzerinde yüksek basınç uygulamasının *P. phosphoreum* ile inoküle edilen marinatlarda histamin oluşumunu önemli derecede etkili olduğu bulunmuştur.

Furutani vd (2013), histamin oluşumunda önemli rol oynayan bakteri kültürleri (*Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, *Raoultella planticola*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium damsela*) ile  $10^4$  ve  $10^7$  kob/g oranında inoküle ettikleri uskumru filetolarına marinasyon işlemi uygulayarak 5, 10 ve 20°C'de marinasyon işleminin histamin oluşumu üzerine etkilerini araştırmışlardır.  $10^7$  kob/g oranında inokülasyon yapılan gruplarda tüm sıcaklıklarda histamin oluşumu gözlenirken, 20°C'de depolanan gruplarda daha hızlı gelişme olduğu belirtilmiştir.

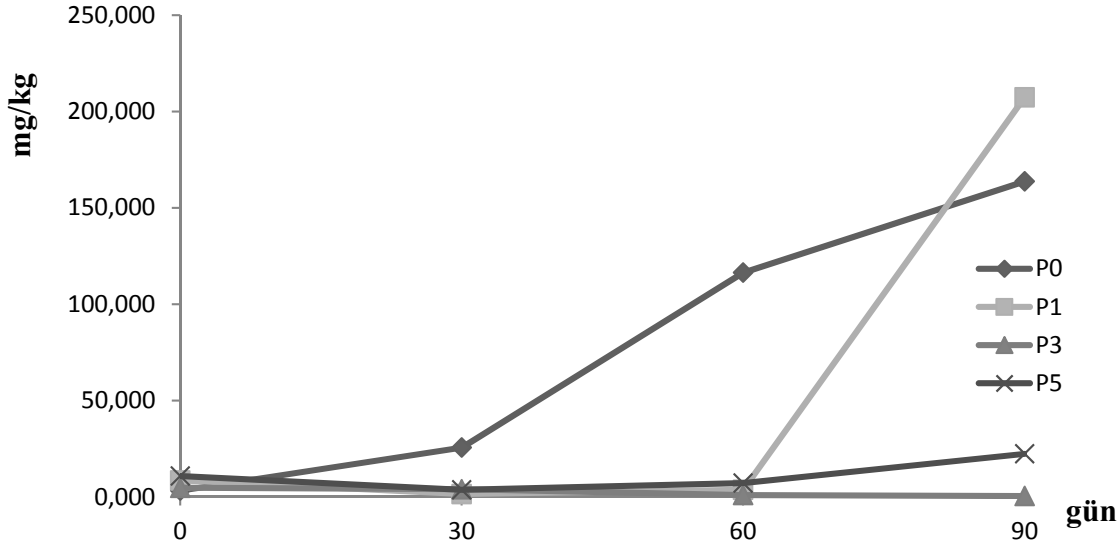
*Photobacterium phosphoreum*, optimum gelişme sıcaklığı 20-25°C olmasına rağmen 4°C'de de gelişebilmektedir. Ancak 4°C'de bakteri üremesinin olabilmesi için uzun bir kültür periyoduna ihtiyaç vardır. Örneğin *P. phosphoreum*'un durgun faza ulaşması için 4°C'de 6 güne gerek duymaktadır (Torido vd 2012). CO<sub>2</sub> dirençleri göz önünde bulundurulduğunda, vakum ve modifiye atmosfer paketlenmiş ürünlerde *P. phosphoreum* gelişimi aerobik koşullarda depolanan ürünlere göre daha önemlidir.



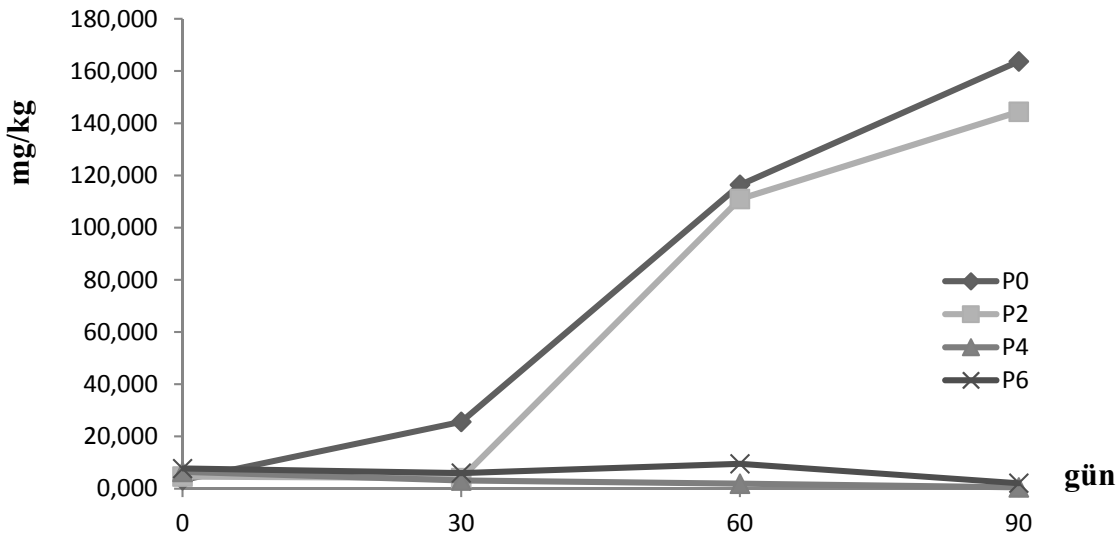
Şekil 4.39. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



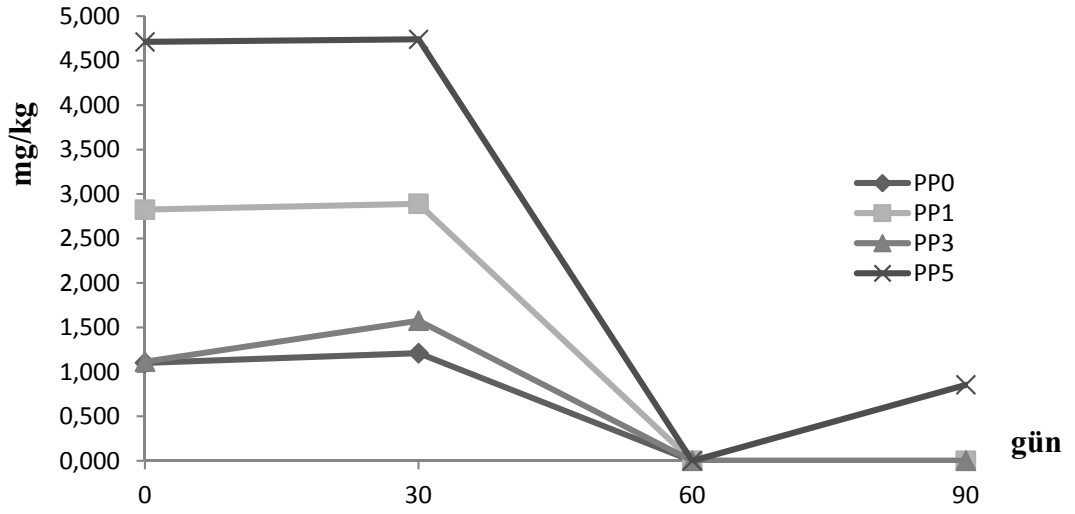
Şekil 4.40. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



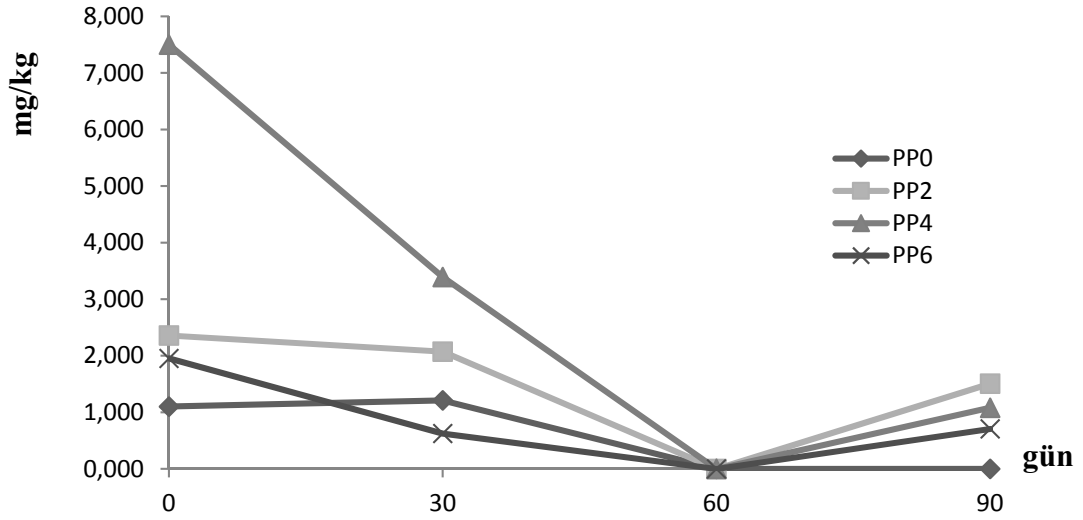
Şekil 4.41. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.42. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.43. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.44. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının histamin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.9.2. Putresin

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında putresin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.22.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.22. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	3931.97836	19.65**
Uygulama grupları	1	7676.24202	38.37**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	4188.18884	20.93**
Basınç	2	335.56826	1.68
Depolama süresi x basınç	6	200.27255	1.00
Uygulama grupları x basınç	2	310.39552	1.55
Basınç uygulama süresi	1	2795.68920	13.97**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	1197.75196	5.99**
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	2899.16202	14.49**
Basınç x basınç uygulama süresi	2	1284.43638	6.42**
Hata	71		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları ve basınç uygulama süresi putresin oluşumunu önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan kontrol grubunda putresin miktarı depolamanın 30. gününde 266.42 mg/kg'a ulaşmış hızla artış göstererek depolama sonunda 522.62 mg/kg olmuştur. M3, M4 ve M5 gruplarında depolamanın 30. gününden sonra putresin oluşumu gözlenirken, M6 grubunda ise 60. günden sonra gözlenmiştir. Putresin oluşumu üzerinde farklı asit konsantrasyonları önemli derecede etkili olmuştur. MM6 grubunda depolama süresince putresin tespit edilmezken diğer gruplarda depolamanın 60. gününe kadar göz ardı edilebilecek kadar düşük miktarlarda putresin bulunmuştur.

Çizelge 4.23. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Putresin	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	5.560 <sup>b</sup>
30. Gün	1.892 <sup>b</sup>
60. Gün	7.040 <sup>b</sup>
90. Gün	28.146 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	18.351 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.467 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	12.321 <sup>a</sup>
300 MPa	9.985 <sup>a</sup>
500 MPa	5.922 <sup>a</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	4.013 <sup>a</sup>
10 dk	14.806 <sup>b</sup>

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında putresin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.24.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.24. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	39.4692486	13.20**
Uygulama grupları	1	251.8776042	84.24**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	39.4692486	13.20**
Basınç	2	110.3058510	36.89**
Depolama süresi x basınç	6	19.5741205	6.55**
Uygulama grupları x basınç	2	110.3058510	36.89**
Basınç uygulama süresi	1	2.1241500	0.71
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	4.2600944	1.42
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	13.9084156	4.65*
Basınç x basınç uygulama süresi	71		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli



Çalışmada *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarda depolama süresi, uygulama grupları ve basınç putresin oluşumunu önemli ölçüde ( $p<0.01$ ) etkilemiştir. Putresin oluşumunu önlemede %4 asit konsantrasyonu oldukça etkili olmuş ve depolama boyunca bu gruplarda putresin oluşumu gözlenmemiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulanan % 2 asit ile hazırlanan marinatlarda başlangıçta putresin oluşumu gözlenmemiştir. P4 grubunda 30. günden sonra çok düşük miktarlarda putresin oluşmaya başlarken, 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolamanın sonuna kadar oluşum görülmemiştir. Farklı asit konsantrasyonu uygulaması ve farklı basınç seviyeleri uygulanmasının ringa marinatında putresin oluşumunu önlemede önemli derecede ( $p<0.01$ ) etkili olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.25. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında putresinin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Putresin
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.0000 <sup>c</sup>
30. Gün	1.3192 <sup>b</sup>
60. Gün	3.0133 <sup>a</sup>
90. Gün	2.1467 <sup>ab</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	2.2396 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.0000 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	3.6459 <sup>a</sup>
300 MPa	1.2134 <sup>b</sup>
500 MPa	0.0000 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	1.7685 <sup>a</sup>
10 dk	1.4710 <sup>a</sup>

Matejkova vd (2013), vakum paketleyerek 300 ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uyguladıkları alabalık filetosunu 3.5°C ve 12°C’de depolayarak biyojen amin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Yüksek sıcaklıkta depolamanın putresin oluşumunu artırdığı gözlenmiş ve yüksek hidrostatik basınç uygulamasının düşük sıcaklıklarda daha etkili olduğu belirtilmiştir. 12°C’de bulunan kontrol grubunda 14. günde 88.5 mg/kg oranında putresin tespit edilirken depolamanın 28. gününde bu değer hızla artarak 225 mg/kg olmuştur. 500 MPa basınç uygulanan gruplarda her iki depolama sıcaklığında da tespit edilen putresin miktarları diğer gruplara göre önemli derecede ( $p<0.05$ ) düşük bulunmuştur.

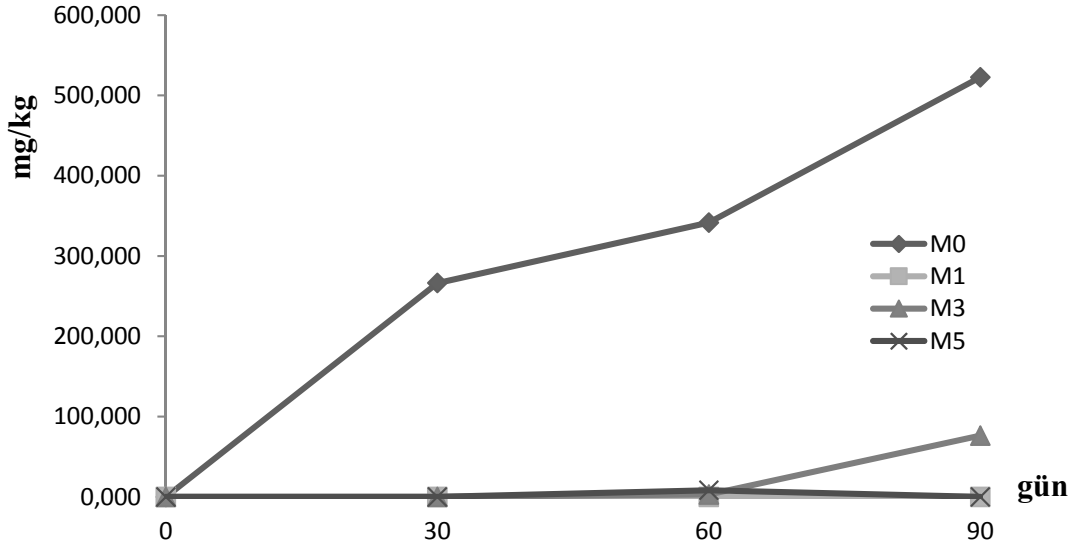
Krizek vd (2014), turna balığı filetoalarını vakum paketledikten sonra yüksek hidrostatik basınç uygulamış ve depolama boyunca putresin oluşumunu gözlemlemişlerdir. 300 ve 500 MPa basınç uygulanarak 3.5°C’de depolanan örneklerde 14. gününde kadar putresin oluşumu gözlenmezken, 500 MPa basınç uygulanan ve 12°C’de bulunan örneklerde de 14. güne kadar putresin tespit edilmemiştir. En yüksek putresin miktarı (272 mg/kg) depolamanın 21. gününde kontrol grubunda gözlenmiştir.

500 MPa yüksek basınç uygulamasının putresin oluşumunu önlemede etkili olduğu belirtilmiştir.

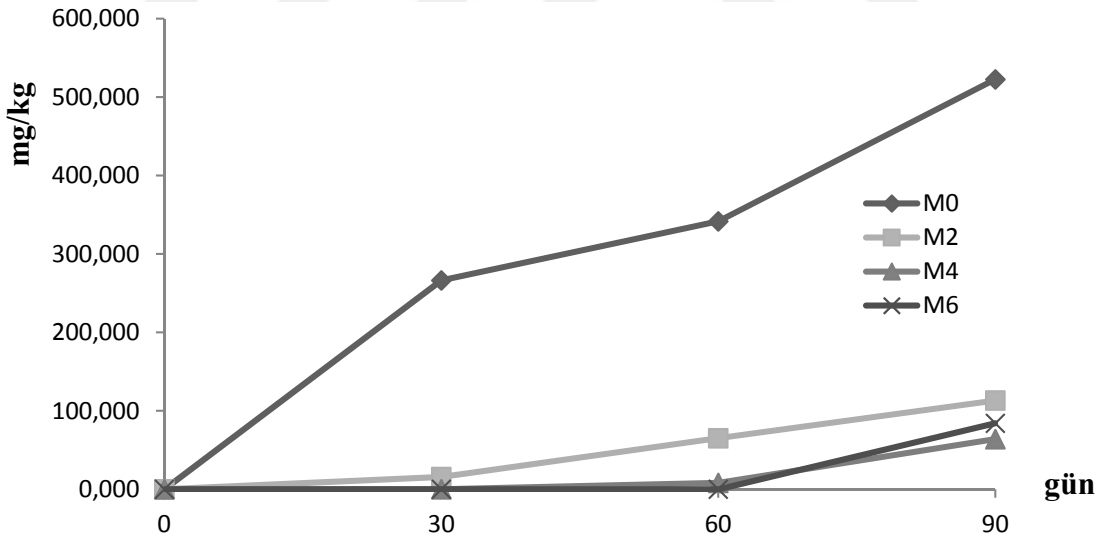
Gökoğlu vd (2003), %2 ve %4 asetik asit-%10 tuz konsantrasyonları ile hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca biyojen amin oluşumunu gözlemlemişler ve %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan sardalya marinatında en yüksek miktarda bulunan biyojen aminin putresin olduğunu tespit etmişlerdir. Başlangıçta sardalya etinde putresin miktarı 127.21 mg/kg olarak belirlenirken, %2 asit konsantrasyonu ile yapılan marinasyon işleminden sonra 564 mg/kg olarak hızla artmıştır. Depolamanın ilk 3 ayında %4 asit gruplarında putresin miktarı gittikçe azalırken, daha sonra artış göstermiştir.

Pons-Sanchez-Cascado vd (2005), hamsi marinatlarını vakum paketleyerek 3 ay depolamışlardır. Yaptıkları çalışmada marinasyon işleminin putresin miktarını artırdığını gözlemlemişlerdir.

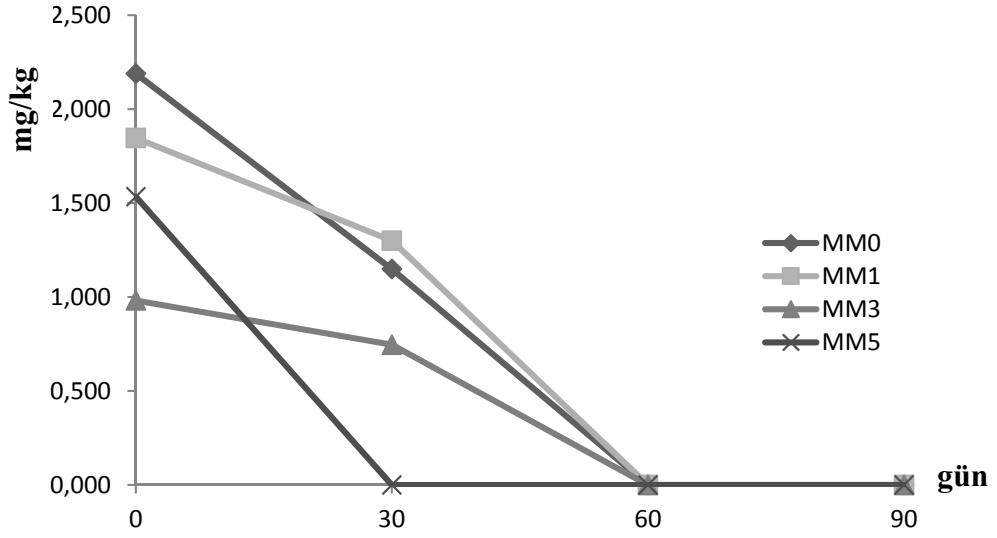
Putresin, ornitin aminoasitinin bakteriyel faaliyetleri sonucu oluşmakta ve bu aminin histamin toksisitesini arttırdığı bilinmektedir. Balık ve balık ürünlerinde oluşan putresin gibi biyojen aminlerin toksik dozu hakkında fazla bilgi bulunmamakla beraber, bir öğünde alınan >40 mg putresin amininin potansiyel olarak toksik olduğu düşünülmüştür (Shalaby 1996).



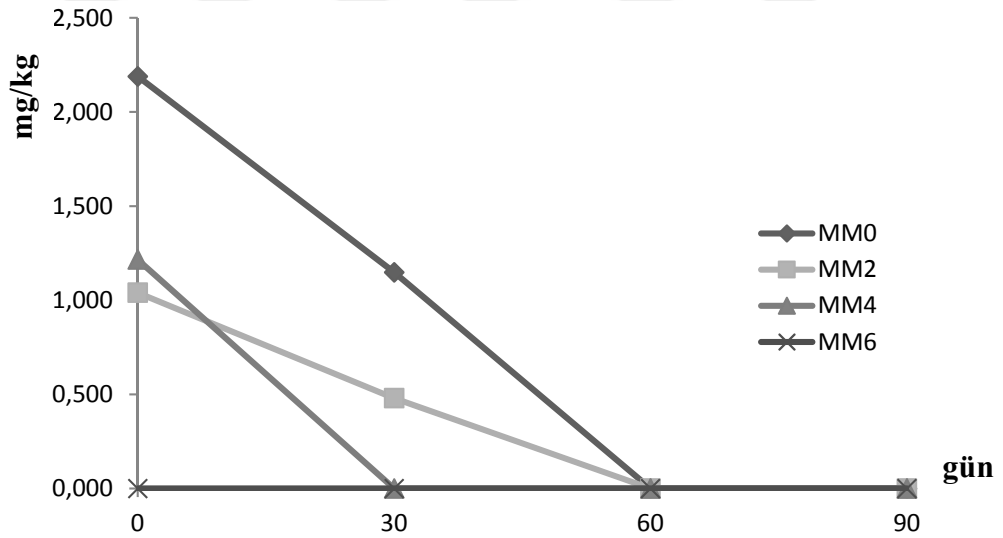
Şekil 4.45. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



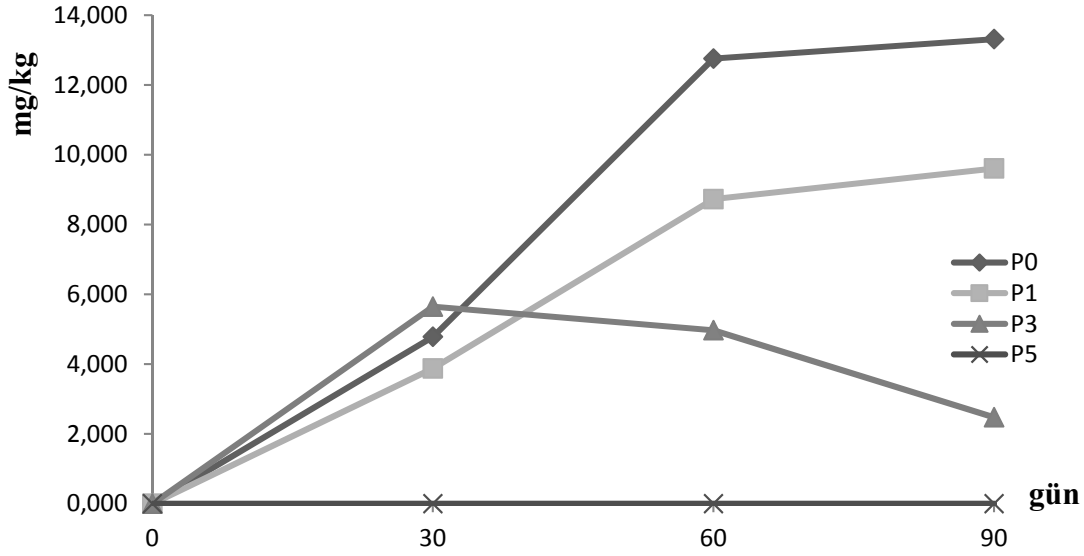
Şekil 4.46. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



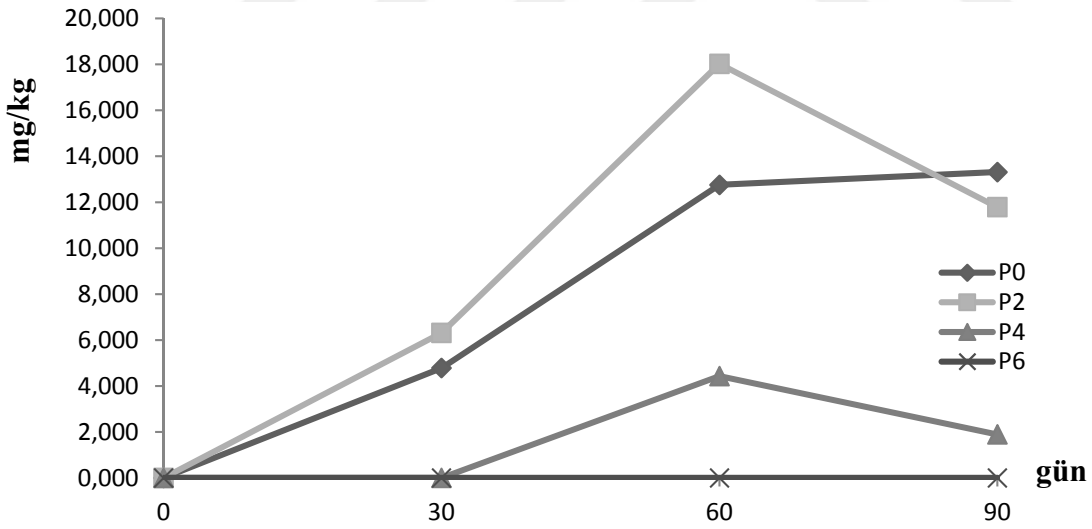
Şekil 4.47. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



Şekil 4.48. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



Şekil 4.49. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış ) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.50. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış ) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının putresin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)

### 4.9.3. Kadaverin

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında kadaverin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.26.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.26. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	6.43235694	340.89**
Uygulama grupları	1	18.95703750	1004.64**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	6.43235694	340.89**
Basınç	2	0.00008437	0.00
Depolama süresi x basınç	6	0.03134132	1.66
Uygulama grupları x basınç	2	0.00008438	0.00
Basınç uygulama süresi	1	0.21281667	11.28**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	0.07107500	3.77*
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	0.02780104	1.47
Basınç x basınç uygulama süresi	71		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Bakteri inokülasyonu ve yüksek hidrostatik basınç işleminden sonra ringa marinatında %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan kontrol grubunda kadaverin miktarı 4.68 mg/kg olarak bulunmuştur. Depolama süresince kadaverin miktarında artış gözlenerek 90. günde 885.69 mg/kg olmuştur. Depolamanın ilk bir ayında yüksek basınç uygulanan tüm gruplarda çok düşük miktarlarda tespit edilen kadaverin, 30. günden sonra yüksek basınç gruplarının hiçbirinde gözlenmemiştir. %4 asit konsantrasyonu kadaverin oluşumunu tamamen önlemiş ve depolama süresince asit grupları arasında önemli derecede (p<0.05) farklılıklar gözlenmiştir.

Çizelge 4.27. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Kadaverin	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.97292 <sup>a</sup>
30. Gün	0.80458 <sup>b</sup>
60. Gün	0.00 <sup>c</sup>
90. Gün	0.00 <sup>c</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	0.88875 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.0000 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	0.44531 <sup>a</sup>
300 MPa	0.44351 <sup>a</sup>
500 MPa	0.44250 <sup>a</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	0.49146 <sup>a</sup>
10 dk	0.39729 <sup>b</sup>

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında kadaverin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.28.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.28. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	159.0304361	36.64**
Uygulama grupları	1	112.2337500	25.86**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	23.6885250	5.46**
Basınç	2	97.2207031	22.40**
Depolama süresi x basınç	6	26.8508601	6.19**
Uygulama grupları x basınç	2	154.2085719	35.53**
Basınç uygulama süresi	1	18.9570375	4.37*
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	17.8458347	4.11**
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	1.1660042	0.27
Basınç x basınç uygulama süresi	2	12.6478156	2.91
Hata	71		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi kadaverin oluşumunu önemli ölçüde ( $p<0.01$ ) etkilemiştir. Marinat gruplarından %2 asit konsantrasyonu kullanılarak hazırlananlarda en yüksek miktarda kadaverin (18.14 mg/kg) depolama sonunda kontrol grubunda bulunurken, depolamayla beraber artış göstermiştir. P1 ve P3 grupları depolamanın 60. gününden sonra hızlı bir azalma gösterirken, P2, P4, P5 ve P6 gruplarında kadaverin miktarında hızlı bir azalma olmuştur. Marinat gruplarından %4 asit ile hazırlananlarda en yüksek kadaverin miktarı (11.56 mg/kg) depolamanın başında kontrol grubunda gözlenmiştir. Depolama boyunca %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanmış marinalarda kadaverin miktarında düşüş gözlenmiştir. Bu azalma yüksek hidrostatik basınç ve yüksek asit kombinasyonunun kadaverin oluşumunu önlemede önemli derecede ( $p<0.01$ ) etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.29. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında kadaverin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Kadaverin
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	9.8683 <sup>a</sup>
30. Gün	6.4504 <sup>b</sup>
60. Gün	5.3813 <sup>b</sup>
90. Gün	3.7900 <sup>c</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	7.4538 <sup>a</sup>
%4 Asit	5.2913 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	5.4897 <sup>b</sup>
300 MPa	5.2475 <sup>b</sup>
500 MPa	8.3803 <sup>a</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	6.8169 <sup>b</sup>
10 dk	5.9281 <sup>a</sup>

Gökoğlu vd (2003), %2 ve %4 asetik asit-%10 tuz konsantrasyonlarından hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca biyojen amin oluşumunu incelemiştir. Sardalya etinde başlangıçtaki kadaverin miktarı 20.14 mg/kg iken, %2 ve %4 konsantrasyonlarında gerçekleştirilen marinasyon işleminden sonra sırasıyla 70.09 mg/kg ve 37.87 mg/kg olmuştur. Marinat gruplarından %2 asit konsantrasyonu ile hazırlananlarda depolama boyunca kadaverin miktarı daha yüksek miktarlarda bulunmuştur.

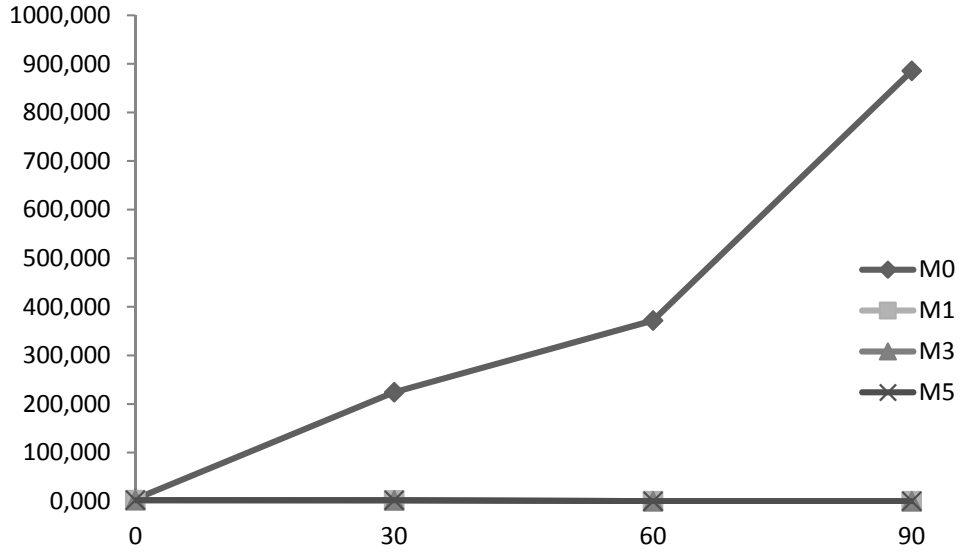
Matejkova vd (2013), alabalık filetosunu vakum paketledikten sonra 300 MPa ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulayarak 3.5°C ve 12°C’de depolayarak biyojen amin oluşumunu incelemiştir. Depolamad (3.5°C) 300 MPa ve 500 MPa basınç uygulanan gruplarda sırasıyla depolamanın 21. ve 70. günlerine kadar kadaverin gelişimi gözlenmemiştir. Kontrol grubunda 12°C’de depolamanın 7. gününde sınır değerin aşıldığı (59.3 mg/kg) görülmüş ve en yüksek kadaverin miktarı depolamanın 28. gününde kontrol grubunda (352 mg/kg) bulunmuştur.



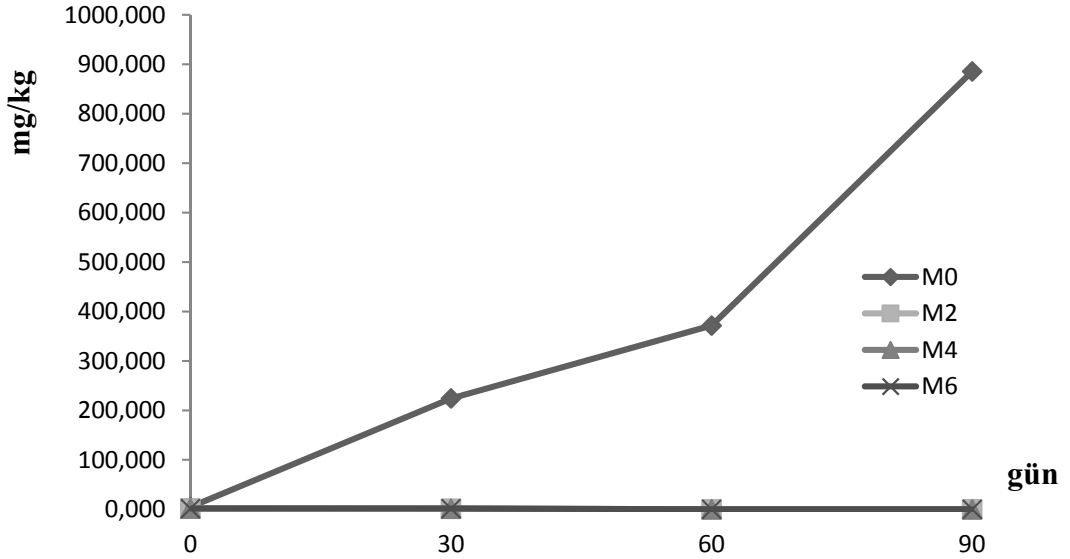
Turna balığı filetolarını vakum paketleyerek yüksek hidrostatik basınç uygulayan Krizek vd (2014), depolama süresince kadaverin oluşumunu incelemişlerdir. Çalışmada, düşük sıcaklıkta depolanan örneklerde kadaverin miktarı daha düşük bulunmuş ve kontrol grubunda depolama boyunca artış göstermiştir. Basınç (500 MPa) uygulanarak 12°C'de depolanan örneklerde kadaverin miktarı 7. günden sonra artış göstererek 300 MPa basınç grubundan daha yüksek oranda bulunmuştur. Depolamanın 42. gününde bu grupta kadaverin miktarı 231 mg/kg olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada kontrol grubunda depolamanın 30. gününde kadaverin miktarı 224.33 mg/kg olmuştur.

Balıkta bakteriyel bozulma başlar başlamaz kadaverin üretimi sürekli olarak artış gösterir. Lizin aminoasitinin bakteriyel faaliyetleri sonucu oluşan kadaverinin histamin toksisitesini arttırdığı bilinir.

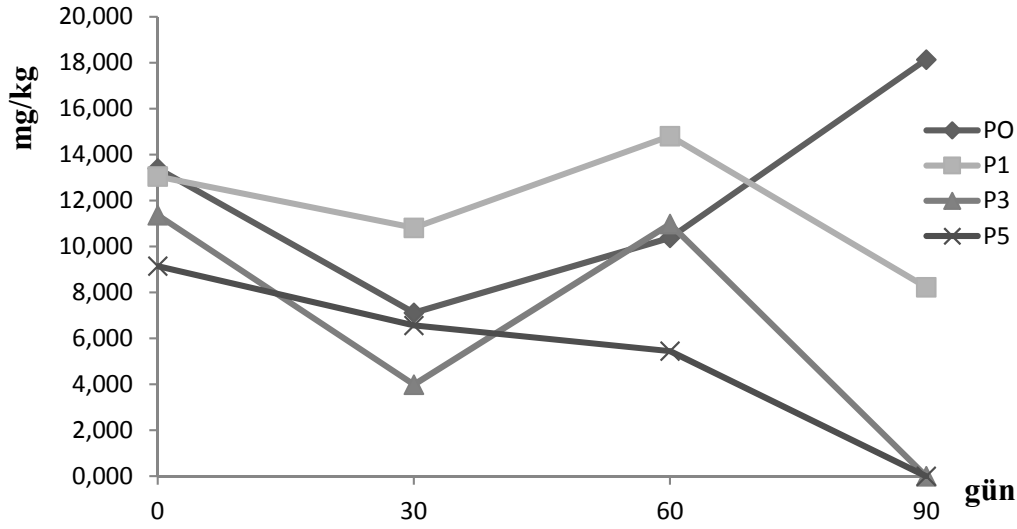




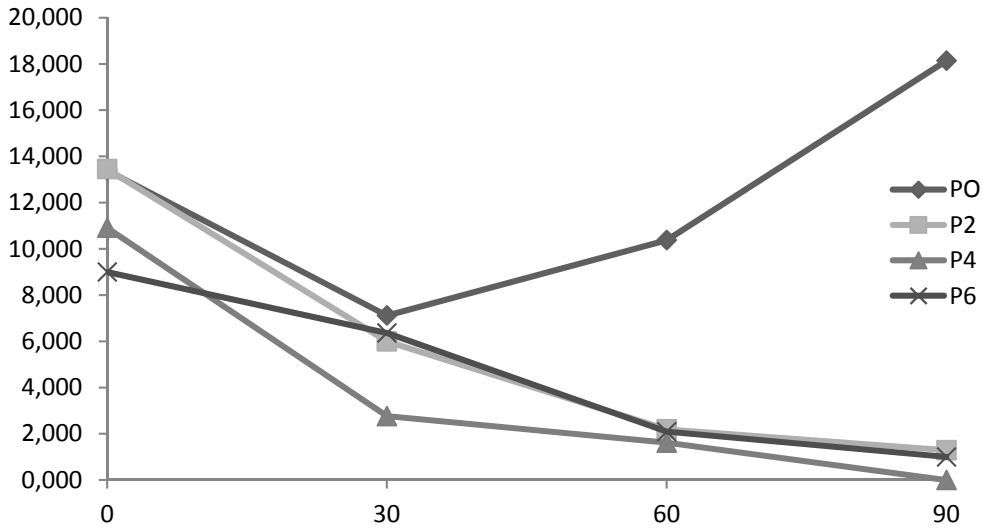
Şekil 4.51. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



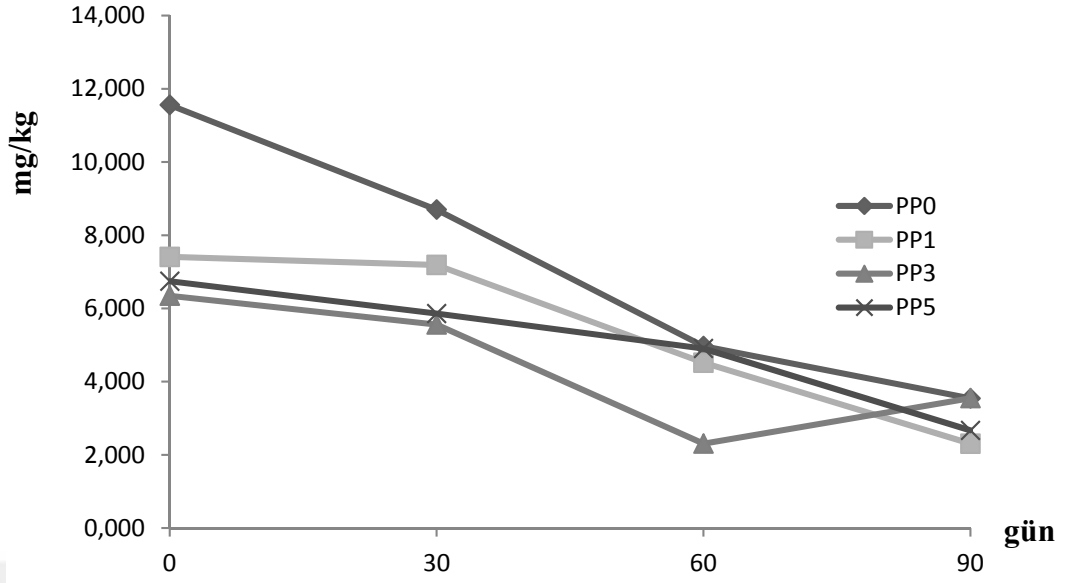
Şekil 4.52. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



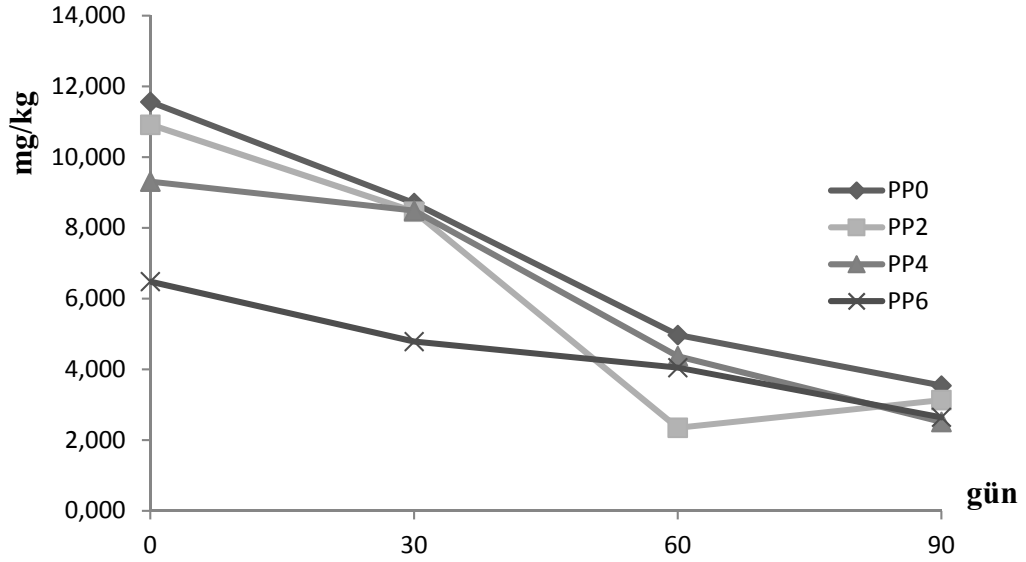
Şekil 4.53. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.54. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.55. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.56. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.9.4. Tiramin

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında tiramin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.30.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.30. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	401429.322	60.16**
Uygulama grupları	1	607747.705	91.07**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	91525.318	13.72**
Basınç	2	206600.633	30.96**
Depolama süresi x basınç	6	53099.929	7.96**
Uygulama grupları x basınç	2	98026.504	14.69**
Basınç uygulama süresi	1	45243.206	6.78*
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	10190.811	1.53
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	3472.941	0.52
Basınç x basınç uygulama süresi	2	49154.563	7.37**
Hata	71		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatlarında tiramin oluşumuna depolama süresi, uygulama grupları ve basınç uygulama süresi önemli ölçüde (p<0.01) etki etmiştir. Başlangıçta %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinatlarda M0, M1, M2 ve M3 gruplarında tiramin miktarı sırasıyla 249.61 mg/kg, 5.67 mg/kg, 49.79 mg/kg ve 2.47 mg/kg olarak bulunmuştur. Depolamanın başında M4, M5 ve M6 gruplarında tiramin oluşumu gözlenmemiştir. Depolamanın 30. gününde tüm gruplarda tiramin miktarında ani bir artış gözlenmiştir. Depolama süresince en yüksek tiramin miktarı (602.78 mg/kg) depolamanın 30. gününde M2 grubunda tespit edilmiştir. Depolamada farklı asit konsantrasyonlarının tiramin oluşumu üzerinde önemli derecede etkisi olduğu bulunmuştur. Diğer %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinat gruplarında başlangıçta en yüksek tiramin miktarı M2 grubunda gözlemlenirken, diğer gruplarda bu miktar <5 mg/kg olarak tespit edilmiştir. M4, M5 ve M6 gruplarında depolama boyunca önemsiz düzeyde tiramin oluştuğu bulunurken, diğer gruplarda tiramin miktarı depolamanın sonunda çok yüksek (>250 mg/kg) miktarlara ulaşmıştır. Çalışmada %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinatlarda 300 MPa 10 dk ve 500 MPa 5,10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumunu önemli derecede etkili olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.31. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Tiramin	
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	6.93 <sup>b</sup>
30. Gün	271.81 <sup>a</sup>
60. Gün	237.42 <sup>a</sup>
90. Gün	279.68 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	278.53 <sup>a</sup>
%4 Asit	119.39 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	288.46 <sup>a</sup>
300 MPa	175.38 <sup>b</sup>
500 MPa	133.03 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	220.67 <sup>a</sup>
10 dk	117.25 <sup>b</sup>

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatında tiramin oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.32.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.32. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	3	136324.222	24.01**
Uygulama grupları	1	1102438.505	194.17**
Depolama süresi x uygulama grupları	3	135585.764	23.88**
Basınç	2	273586.927	48.19**
Depolama süresi x basınç	6	47160.410	8.31**
Uygulama grupları x basınç	2	272515.258	48.00**
Basınç uygulama süresi	1	7948.122	1.40
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	3	5460.304	0.96
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	4888.575	0.86
Basınç x basınç uygulama süresi	71		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları ve basınç tiramin oluşumunu önemli ölçüde ( $p<0.01$ ) etkilemiştir. Tiramin miktarı %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan ringa marinatlarında önemli derecede ( $p<0.01$ ) artış gösterirken kontrol, 100 MPa ve 300 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda depolama sonunda 350 mg/kg'dan daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Depolamanın 30. gününde P3 grubunda tiramin oluşumu gözlenirken, P4 ve P5 gruplarında depolamanın 60. gününde gözlenmeye başlamıştır. Depolama süresince önemli derecede ( $p<0.01$ ) düşük miktarlarda tiramin oluşumu görülen P5 ve P6 gruplarında uygulanan 500 MPa yüksek hidrostatik basıncın %2 asit konsantrasyonundaki marinatlarda tiramin oluşumunu önlemede oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Ringa marinatlarında (%4 asitle hazırlanan) depolamanın 30. gününden itibaren kontrol grubunda tiramin oluşumu görülmeye başlarken, P2 grubunda sadece 60 günde yok denecek kadar az (4.48 mg/kg) miktarda tespit edilmiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının %4 asit kullanılarak hazırlanan marinatlarda tiramin oluşumunu önlemede önemli ölçüde ( $p<0.01$ ) etkili olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.33. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında tiramin gelişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Tiramin
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.68 <sup>c</sup>
30. Gün	109.48 <sup>b</sup>
60. Gün	169.44 <sup>a</sup>
90. Gün	149.80 <sup>ab</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	214.51 <sup>a</sup>
%4 Asit	0.19 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	167.34 <sup>a</sup>
300 MPa	153.84 <sup>a</sup>
500 MPa	0.87 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	116.45 <sup>a</sup>
10 dk	98.25 <sup>a</sup>

Gökoğlu (2003), %2 ve %4 asit konsantrasyonla kullanarak hazırlanmış olduğu sardalya marinatında olgunlaşma işlemi süresince biyojen amin oluşumunu incelemiştir. Taze sardalyada başlangıçta tiramin miktarı 82.37 mg/kg bulunurken %2 ve %4 asit konsantrasyonları ile hazırlanan gruplarda sırasıyla 64.90 mg/kg ve 6.07 mg/kg olmuştur. %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan sardalya marinatında tiramin miktarı olgunlaşmanın 8. saatine kadar artmış ve daha sonra olgunlaşma işleminin sonuna kadar azalmıştır. %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan grupta ise 16. saate kadar artış gözlenmiş ve daha sonra tiramin miktarı azalmıştır.

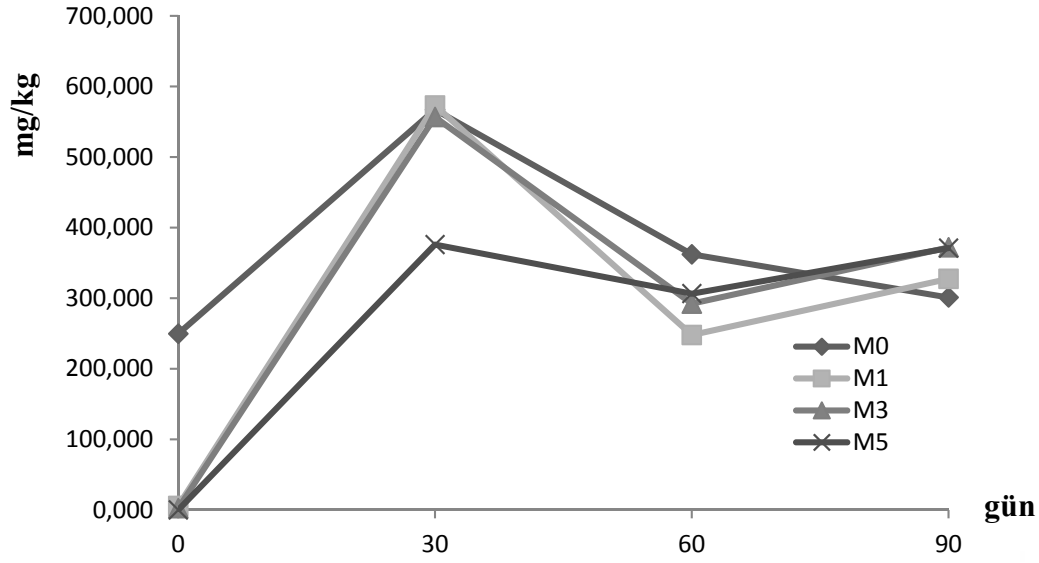
Gökoğlu vd (2003), %2 ve %4 asetik asit-%10 tuz konsantrasyonlarından hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca biyojen amin oluşumunu incelemişlerdir. Sardalya etinde başlangıçtaki tiramin miktarı 82.37 mg/kg iken, %2 ve

%4 konsantrasyonlarında gerçekleştirilen marinasyon işleminden sonra sırasıyla 180.27 mg/kg ve 115 mg/kg olmuştur. Her iki asit grubunda da depolamanın birinci ayında tiramin miktarı azalmış daha sonraki aylarda artmıştır.

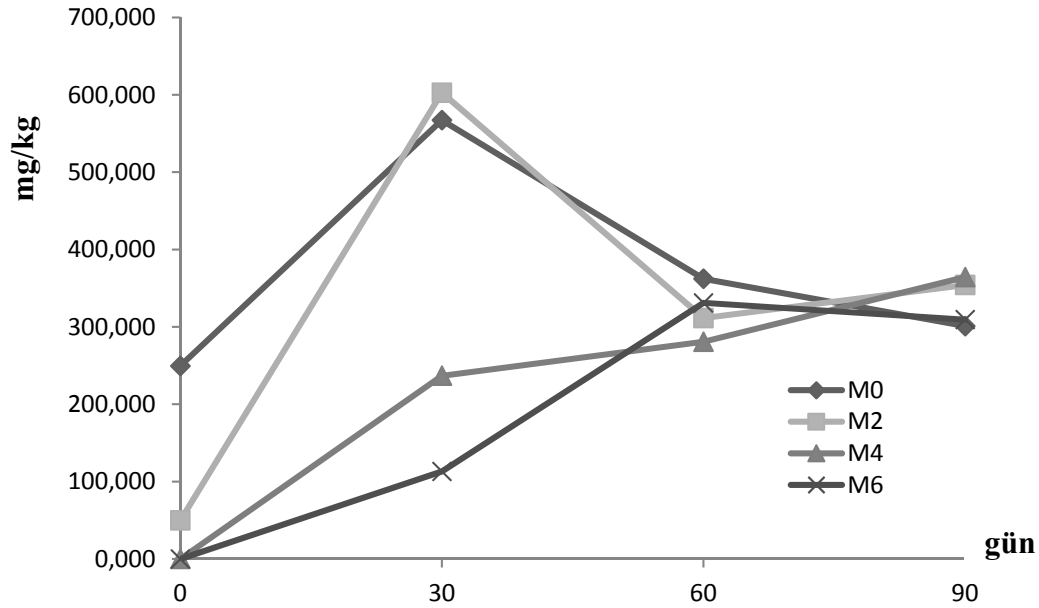
Vakum paketlenmiş alabalık filetolarına 300 MPa ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulayarak biyojen amin oluşumunu inceleyen Matejkova vd (2013), 3.5°C'de depolanan filetolarda tiramin miktarını 12°C'de depolanan filetolara göre önemli derecede düşük bulmuşlardır. 500 MPa yüksek basınç uygulaması ve 3.5°C'de depolamanın tiramin oluşumunu baskılamada etkili olduğu görülmüştür. Depolamanın 42. gününde 12°C'de bulunan 300 MPa ve 500 MPa basınç uygulanmış filetolarda tiramin miktarı sırasıyla 537 mg/kg ve 210 mg/kg olmuştur.

Krizek vd (2014), turna balığı filetolarını vakum paketlenerek yüksek hidrostatik basınç uygulamış ve depolama süresince biyojen amin oluşumunu incelemiştir. Düşük sıcaklıkta depolanan filetolarda tiramin miktarı daha düşük bulunmuş ve kontrol grubunda depolama süresince artış göstermiştir. Basınç (500 MPa) uygulanan ve 3.5°C'de depolanan örneklerde 21. güne kadar tiramin oluşumu gözlenmezken, depolama boyunca en düşük miktarda tiramin bu grupta bulunmuştur. Kontrol grubunda depolamanın 28. gününde tiramin miktarı 468 mg/kg'a kadar çıkarken, 300 MPa ve 500 MPa basınç uygulanan gruplarda depolamanın 42. gününde sırasıyla 372 mg/kg ve 212 mg/kg olmuştur.

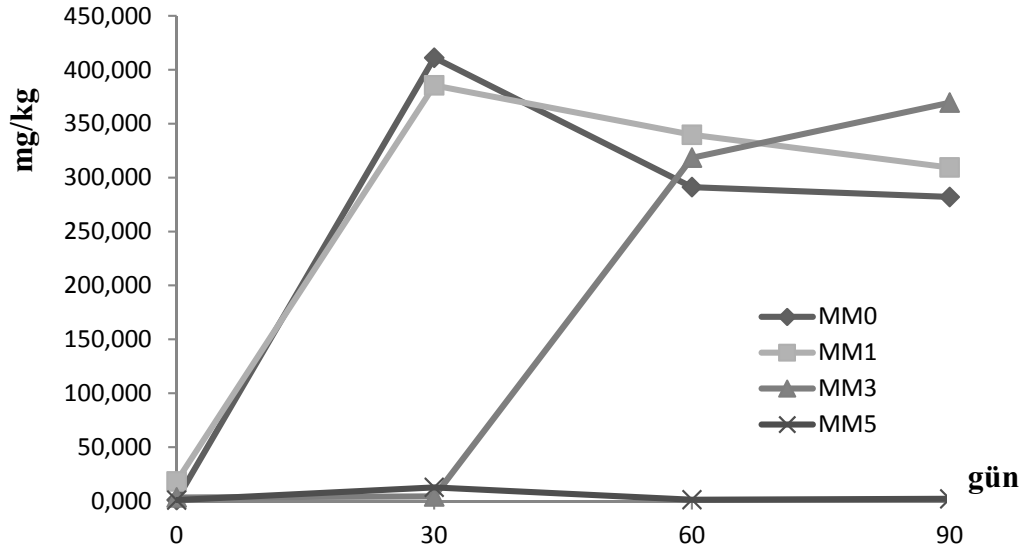




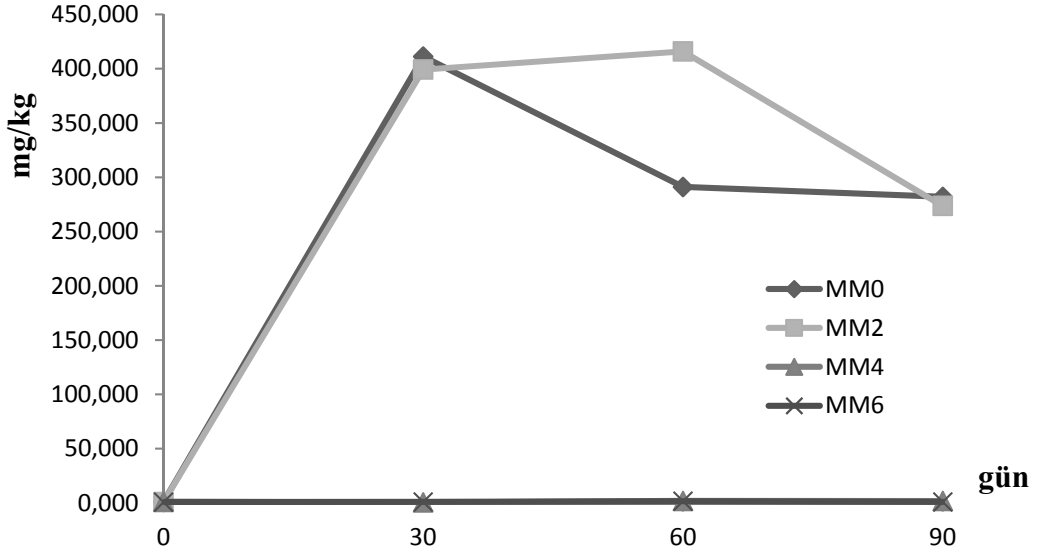
Şekil 4.57. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



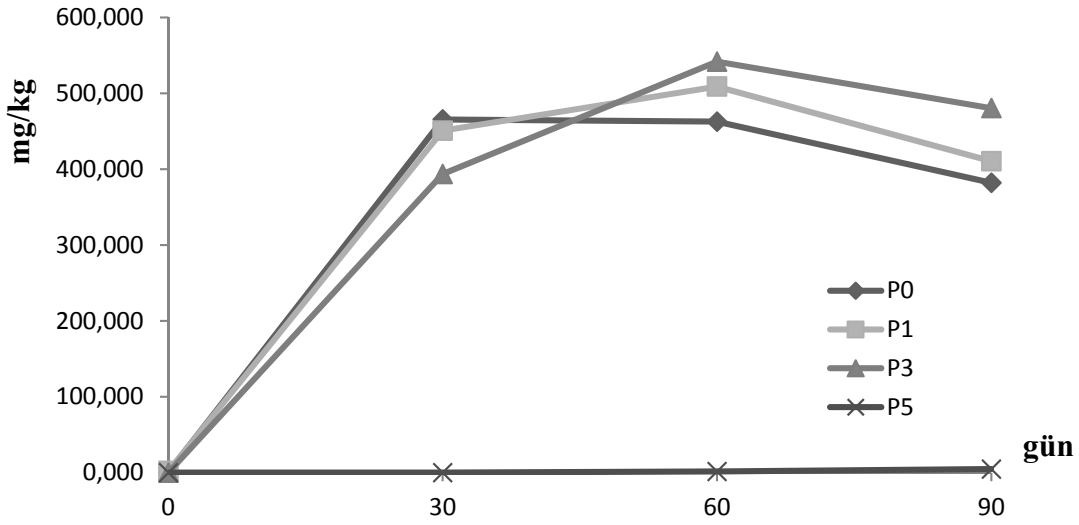
Şekil 4.58. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kadaverin oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



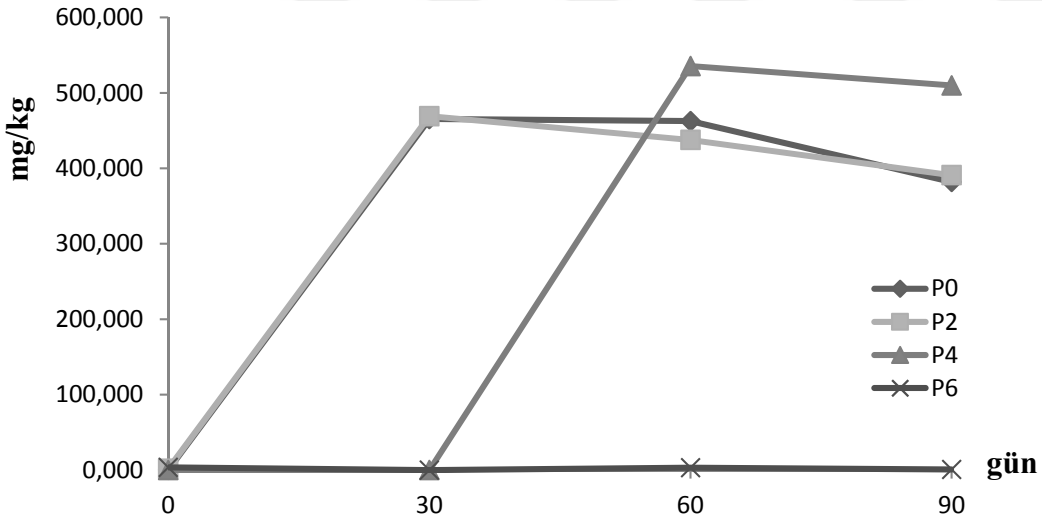
Şekil 4.59. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



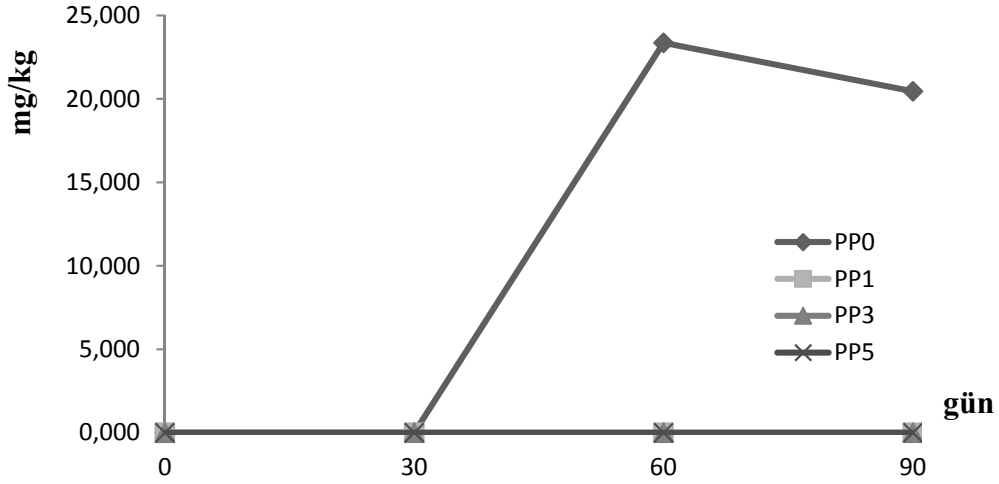
Şekil 4.60. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



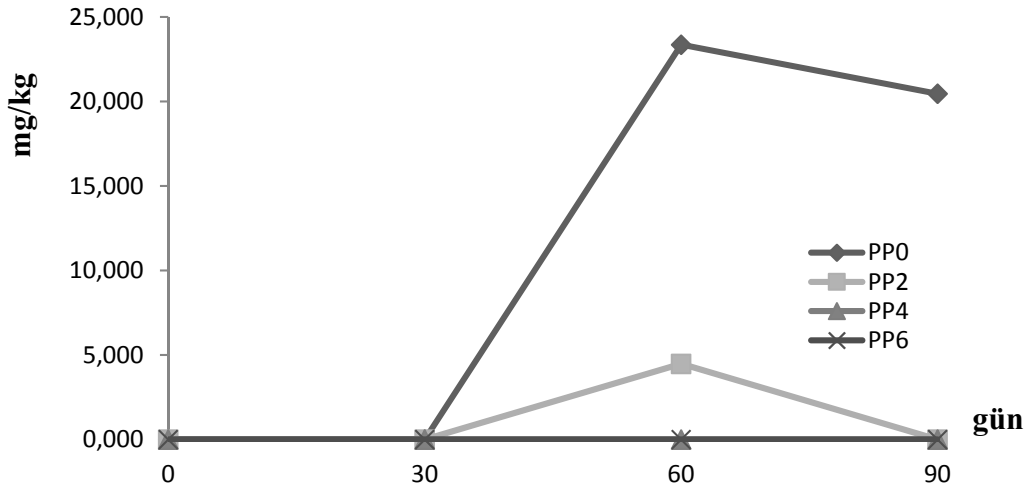
Şekil 4.61. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.62. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.63. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.64. *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tiramin oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.10. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Oluşumu Üzerine Etkileri

Depolama süresince *M. psychrotolerans* inoküle edilen ringa marinatlarında TVB-N oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.34.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.34. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	17981.447	372.72**
Uygulama grupları	1	68248.0548	1414.63**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	5842.8689	121.11**
Basınç	2	14281.8113	296.03**
Depolama süresi x basınç	12	709.7153	14.71**
Uygulama grupları x basınç	2	269.8660	5.59**
Basınç uygulama süresi	1	692.5548	14.36**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	46.5515	0.96
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	48.0216	1.00
Basınç x basınç uygulama süresi	2	65.4863	1.36
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi TVB-N oluşumunu önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. Ringa marinatına (%2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan) 300 MPa ve üzeri yüksek hidrostatik basınç uygulaması TVB-N oluşumunu baskılamada daha başarılı sonuç vermiş ve depolama boyunca TVB-N değerlerinde görülen artış istatistiksel olarak önemli (p<0.01) bulunmuştur. Depolama boyunca önemli derecede düşük miktarda TVB-N değerleri yüksek asit konsantrasyonlu gruplarda görülmüştür. Yüksek (%4) asit konsantrasyonu ile hazırlanan ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatlarında TVB-N değerleri depolama süresince sınır değere ulaşmamış ve daha başarılı sonuçlar vermiştir.

Su ürünlerinde tazeliğin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan TVB-N analizi balık bozulmasıyla beraber artış göstermektedir. Taze balıkta da bulunan TVB-N içeriğine yönelik kalite sınıflandırılmasında kullanılan limit değerler aşağıda belirtildiği gibidir;

25 mg/100 g'a kadar ‘‘çok iyi’’

30 mg/100 g'a kadar ‘‘iyi’’

35 mg/100 g'a kadar ‘‘pazarlanabilir’’

35 mg/100 g'dan fazlası ‘‘kabul edilemez’’

Bu çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen her iki asit konsantrasyonu ile hazırlanan kontrol gruplarında TVB-N değerleri depolamanın 15. gününde sınır değerlere ulaşmıştır (M0 53.07, MM0 38.65 mg/100 g). Depolama sonunda %4 asit konsantrasyonu kullanılarak hazırlanarak 500 MPa 5 dk ve 500 MPa 10 dk yüksek basınç uygulanan marinalarda TVB-N değerleri sırasıyla 21.34 mg/100 g ve 13.25 mg/100 g olarak bulunmuş ve ‘‘çok iyi kalite’’ özelliğini korumuştur.

Çizelge 4.35. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	TVB-N
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	16.188 <sup>g</sup>
15. Gün	25.428 <sup>f</sup>
30. Gün	37.516 <sup>e</sup>
45. Gün	58.311 <sup>d</sup>
60. Gün	73.687 <sup>c</sup>
75. Gün	79.404 <sup>b</sup>
90. Gün	84.453 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	73.725 <sup>a</sup>
%4 Asit	33.414 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	68.908 <sup>a</sup>
300 MPa	54.764 <sup>b</sup>
500 MPa	37.036 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	55.600 <sup>a</sup>
10 dk	51.539 <sup>b</sup>

Depolama süresince *P. phosphoreum* inoküle edilen ringa marinalarında TVB-N oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.35.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.36. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	17315.58378	95.39**
Uygulama grupları	1	23551.65440	778.47**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	688.50500	22.76**
Basınç	2	4829.48975	159.63**
Depolama süresi x basınç	12	243.76664	8.06**
Uygulama grupları x basınç	2	3831.86961	126.66**
Basınç uygulama süresi	1	565.91402	18.71**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	78.14194	2.58*
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	705.61006	23.32**
Basınç x basınç uygulama süresi	2	85.68735	2.83
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *P. phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi TVB-N oluşumunu önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. Depolama süresince %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanmış marinat gruplarında TVB-N değerleri önemli derecede (p<0.01) düşük bulunmuştur. Diğer %2 asit ile hazırlanan kontrol grubunda depolama boyunca en yüksek TVB-N değerleri tespit edilmiş ve depolamanın 15. gününde sınır değeri (35 mg/100 g) aştığı görülmüştür. Marinata (%2 asit ile hazırlanan) 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulamasıyla TVB-N değerleri depolamanın 75. gününe kadar limit değere ulaşmamıştır. Diğer %4 asit uygulanmış gruplara yüksek hidrostatik basınç uygulamasıyla TVB-N oluşumu azaltılmış ve depolama süresince bu gruplarda sınır değere ulaşmamıştır.

Gökoğlu vd (2004), %2 ve %4 asit konsantrasyonu ile hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca kalite değişimlerini incelemişlerdir. Depolama boyunca TVB-N değerlerinde artış gözlenirken yüksek asit içeren gruplarda bu değerler daha düşük bulunmuştur. Her iki asit grubunda da TVB-N miktarının depolama süresince sınır değere ulaşmadığı görülmüştür.

Gökoğlu vd (2009), %3 asit ve %15 tuz içeren hamsi marinatına nar sosu ilave etmiş ve 3 ay depolayarak TVB-N miktarındaki değişimleri araştırmışlardır. Depolama boyunca ayçiçek yağı ve nar sosu içerisinde bulunan gruplar arasında önemli derecede (p<0.05) farklılıklar bulunurken, nar sosu ilaveli örneklerde TVB-N değerleri daha düşük miktarlarda olup limit değere ulaşmamıştır.

Sallam vd (2007), farklı asit konsantrasyonlarıyla (%2 asit-%12 tuz, %3 asit-%12 tuz ve %0 asit-%12 tuz) hazırladıkları pasifik zarganası marinatında 90 gün boyunca kalite değişimlerini incelemişlerdir. Depolama boyunca asit ilavesi olmayan gruplarda daha yüksek miktarlarda TVB-N oluşumu gözlenirken, %3 asit ile hazırlanan

marinat grubunda oldukça düşük oranlarda TVB-N tespit edilmiştir. Ham balıkta başlangıçta 9.12 mg/100 g TVB-N bulunurken, depolama sonunda sadece tuz çözeltisi kullanılarak hazırlanan marinat grubunda 35 mg/100 g'ı geçmiştir.

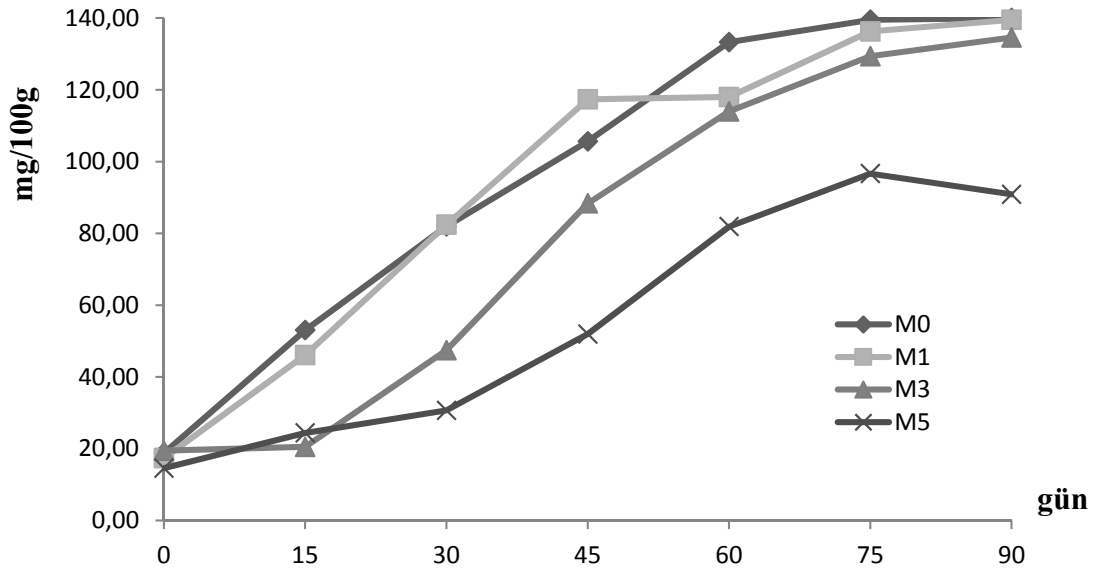
Karim vd (2011), ringa filetolarını vakum paketleyerek yüksek hidrostatik basınç uygulamış (200, 250 ve 300 MPa, 1-3 dk) ve buz içerisinde 2°C'de 14 gün depolamışlardır. Depolama başında kontrol grubunda 22.40 mg/100 g olan TVB-N miktarı depolama sonunda 68.32 mg/100 g'a ulaşmıştır. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması TVB-N oluşumu geciktirerek raf ömründe artış sağlamıştır. Bunun yanında 200 MPa 3 dk yüksek basınç uygulanan gruplarda raf ömrünün en uzun (22 gün) olduğu görülmüştür.

Farklı basınçlar uygulayarak 4°C'de 17 gün depoladıkları tekir balığı filetolarında kalite değişimlerini inceleyen Erkan vd (2010), depolamanın 7. gününde tüm gruplarda TVB-N miktarının limit değere ulaştığını tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda 330 MPa ve 220 MPa basınç uygulamasının TVB-N oluşumunu önlemede çok fazla etkili olmadığı bulunmuştur.

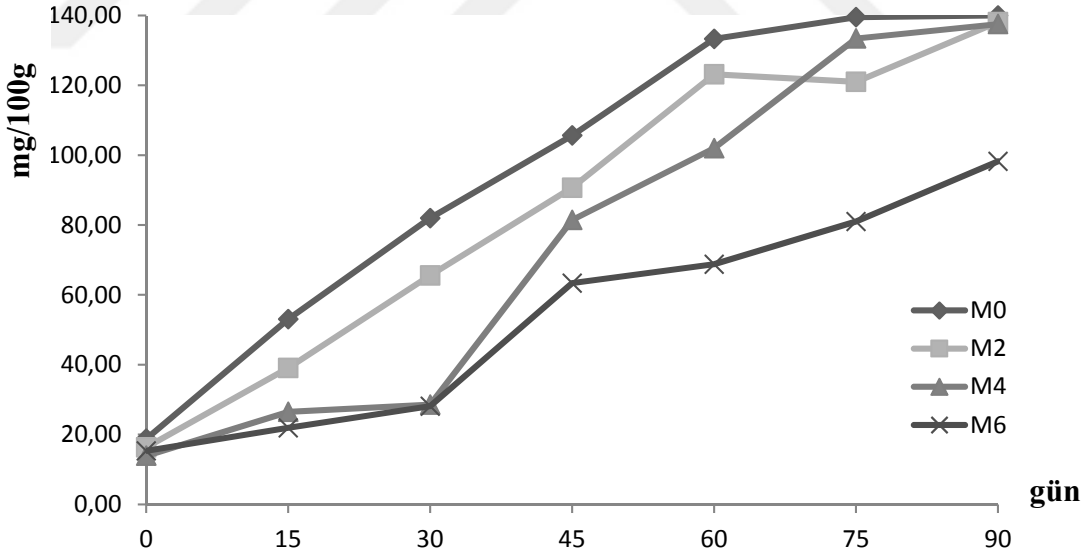


Çizelge 4.37. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TVB-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

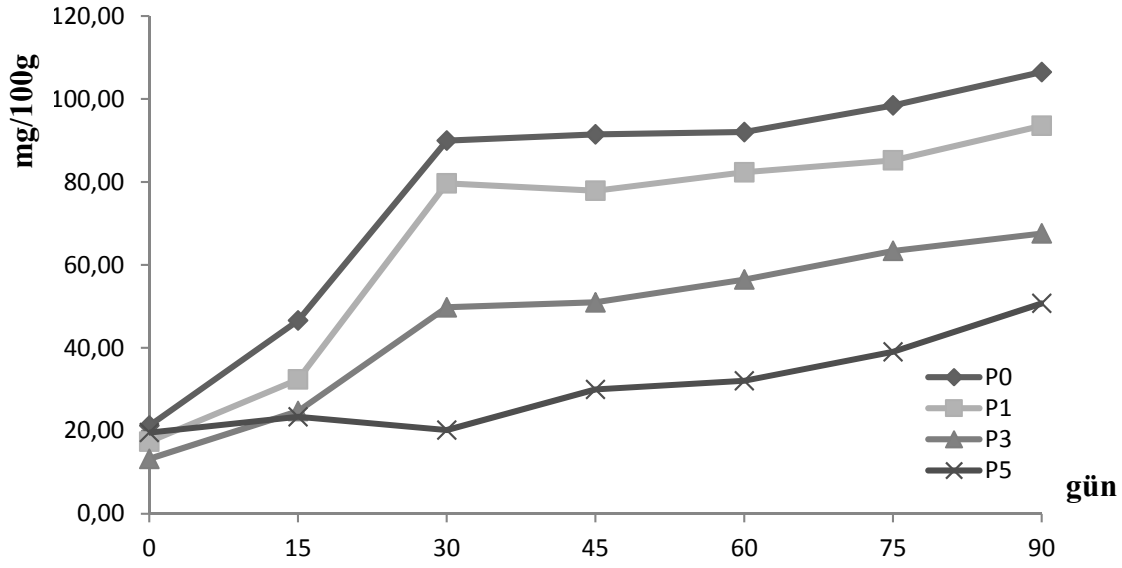
	TVB-N
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	16.58 <sup>g</sup>
15. Gün	21.29 <sup>f</sup>
30. Gün	29.46 <sup>e</sup>
45. Gün	34.10 <sup>d</sup>
60. Gün	37.48 <sup>c</sup>
75. Gün	41.96 <sup>b</sup>
90. Gün	47.21 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	44.42 <sup>a</sup>
%4 Asit	20.74 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	42.53 <sup>a</sup>
300 MPa	31.09 <sup>b</sup>
500 MPa	24.14 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	34.42 <sup>a</sup>
10 dk	30.75 <sup>b</sup>



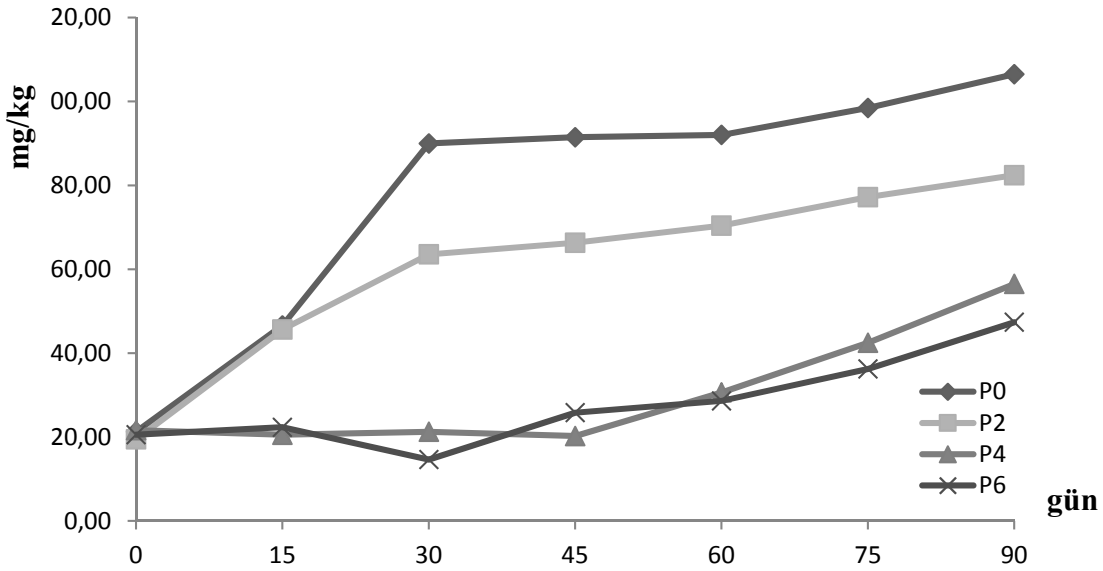
Şekil 4.65. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



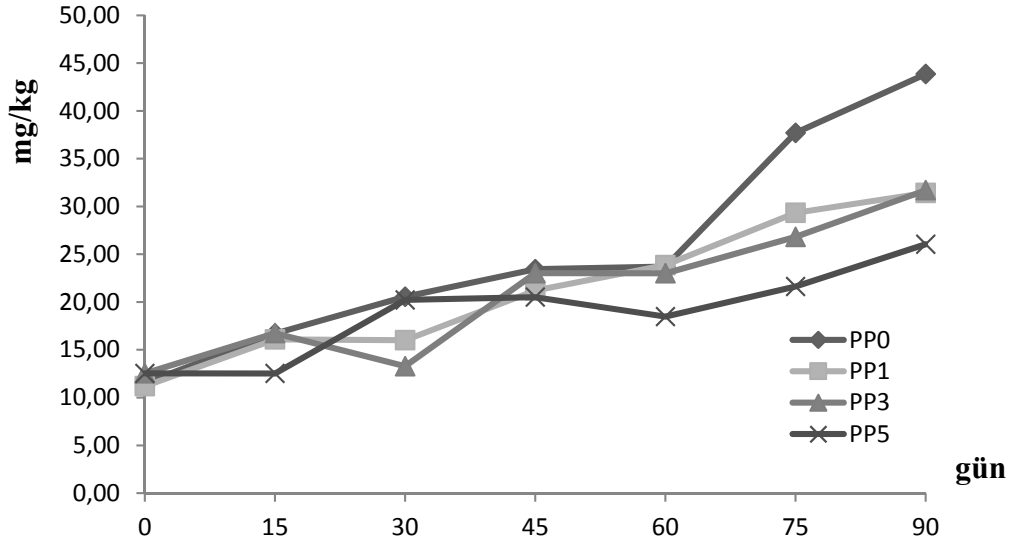
Şekil 4.66. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



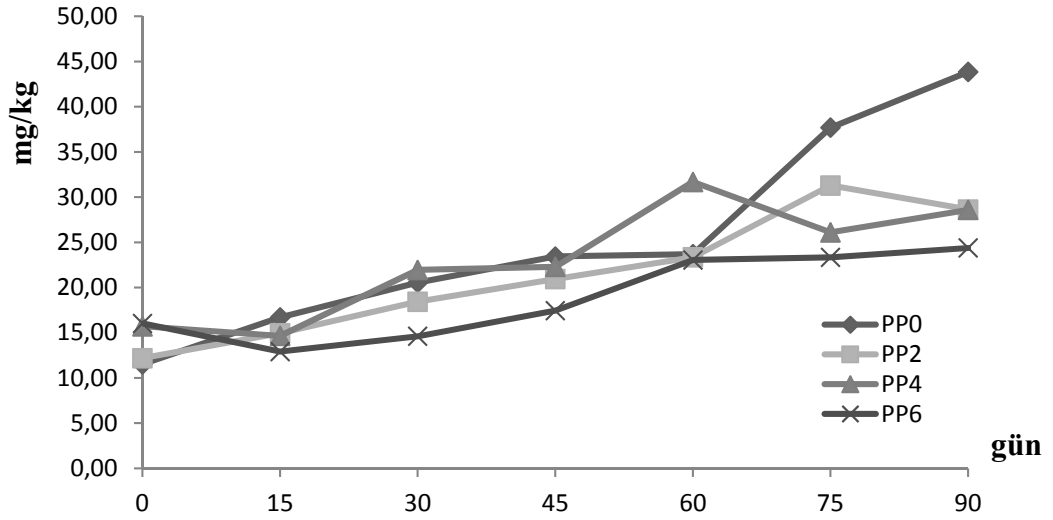
Şekil 4.67. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.68. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.69. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.70. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TVB-N oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.11. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Trimetilamin (TMA-N) Oluşumu Üzerine Etkileri

Depolama süresince *M. psychrotolerans* inoküle edilen ringa marinatlarında TMA-N oluşumuna ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.38.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.38. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	13.6382760	31.45**
Uygulama grupları	1	26.8400149	62.35**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	27.0021093	62.72**
Basınç	2	2.1057435	4.89**
Depolama süresi x basınç	12	2.2237296	5.17**
Uygulama grupları x basınç	2	0.9012149	2.09
Basınç uygulama süresi	1	0.4683149	1.09
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.9026343	2.10
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	2.4168006	5.61*
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.4699220	1.09
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi TMA-N oluşumunu önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. Depolama süresince her iki asit konsantrasyonunda kontrol grupları ve yüksek basınç uygulanan gruplar arasında önemli derecede farklılıklar tespit edilmiştir. Kontrol grubunda (%2 asit ile hazırlanan) TMA-N değeri depolama sonunda 18.40 mg/100 g iken %4 asit ile hazırlanan kontrol grubunda 5.80 mg/100 g olarak bulunmuş ve farklı asit konsantrasyonlarının TMA-N oluşumunda önemli derecede (p<0.01) etkili olduğu görülmüştür. Düşük asit konsantrasyonunda 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması TMA-N oluşumunu önlemede oldukça etkili olurken, %4 asit gruplarında 100 MPa ve üzeri tüm basınç uygulamalarının başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.39. *Morganella. psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	TMA-N
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	0.69 <sup>e</sup>
15. Gün	0.66 <sup>e</sup>
30. Gün	1.32 <sup>cd</sup>
45. Gün	1.86 <sup>b</sup>
60. Gün	1.09 <sup>d</sup>
75. Gün	1.61 <sup>bc</sup>
90. Gün	2.81 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	1.83 <sup>a</sup>
%4 Asit	1.03 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	1.50 <sup>a</sup>
300 MPa	1.58 <sup>a</sup>
500 MPa	1.21 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	1.38 <sup>a</sup>
10 dk	1.49 <sup>a</sup>

Çizelge 4.40. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	55.6890403	17.88**
Uygulama grupları	1	258.6393006	83.05**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	44.4314145	14.27**
Basınç	2	77.4805720	24.88**
Depolama süresi x basınç	12	18.0279852	5.79**
Uygulama grupları x basınç	2	99.2314042	31.86**
Basınç uygulama süresi	1	3.3745006	1.08
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	3.2420923	1.04
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	2.6125149	0.84
Basınç x basınç uygulama süresi	2	3.7672756	1.21
Hata	128		

(\*\*)  $p < 0.01$  düzeyinde önemli

(\*)  $p < 0.05$  düzeyinde önemli

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen gruplarda farklı asit grupları TMA-N oluşumunda önemli derecede ( $p < 0.01$ ) etkili olmuş ve her iki asit grubunda da kontrol grupları daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi TMA-N oluşumunda önemli derecede ( $p < 0.01$ ) etkili olmuştur. Asit konsantrasyonlarıyla (%2 ve %4) beraber 300 MPa ve 500 MPa yüksek basınç uygulaması TMA-N oluşumunu baskılamada kontrol gruplarına göre başarılı sonuçlar vermiştir.

Çizelge 4.41. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TMA-N oluşumunun Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	TMA-N
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	4.92 <sup>c</sup>
15. Gün	3.46 <sup>d</sup>
30. Gün	5.26 <sup>c</sup>
45. Gün	7.96 <sup>a</sup>
60. Gün	7.22 <sup>ab</sup>
75. Gün	6.59 <sup>b</sup>
90. Gün	5.51 <sup>c</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	7.09 <sup>a</sup>
%4 Asit	4.60 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	7.20 <sup>a</sup>
300 MPa	5.29 <sup>b</sup>
500 MPa	5.05 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	5.70 <sup>a</sup>
10 dk	5.99 <sup>a</sup>

Trimetilamin, balığın tüketim için uygun olup olmadığının belirlenmesi için kullanılan bir parametre olup, tüketim için izin verilen sınır değer 5 mg/100 g'dır. Trimetilamin oksit (TMA-O) deniz balıklarında doğal olarak bulunmaktadır ve osmoregülatör görevi yapan protein olmayan azotlu bir bileşiktir. Bakteriyel enzimlerin faaliyetleri sonucu TMA-O, TMA-N'e dönüşmektedir. Bozulma esnasında TMA-N karakteristik istenmeyen balıksı koku ve aromanın oluşmasına neden olmaktadır.

Karim vd (2011), vakum paketledikleri ringa filetolarına yüksek hidrostatik basınç uygulayarak (200, 250 ve 300 MPa, 1-3 dk) buz içerisinde 2°C'de 14 gün depolamışlardır. Depolama boyunca ringa filetolarının kalitesindeki değişimleri incelemişler ve depolamanın başında tüm gruplarda önemsiz düzeyde TMA-N miktarı tespit edilirken, kontrol grubunda hızlı bir artış gözlenmiştir. Uygulama grupları arasında en uzun raf ömrüne sahip olan gruplar 200 MPa 3 dk, 250 MPa 3 dk ve 300 MPa 1-3 dk yüksek basınç uygulanan ringa filetoları olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada olduğu gibi yüksek hidrostatik basıncın kontrol grubuna kıyasla TMA-N oluşumunu önlemede ya da azaltmada oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Tekir balığı filetolarına farklı yüksek basınçlar uygulayarak 4°C'de 17 gün depolayan Erkan vd (2010), depolama süresince kalitedeki değişimleri araştırmışlardır. Genel olarak basınç uygulanmış filetolarda TMA-N değerlerinin kontrol grubuna göre önemli derecede ( $p<0.01$ )daha yüksek olduğu bulunmuştur. Soğuk dumanlanmış alabalıkta yüksek hidrostatik basınç uygulamasından sonra TMA-N miktarındaki

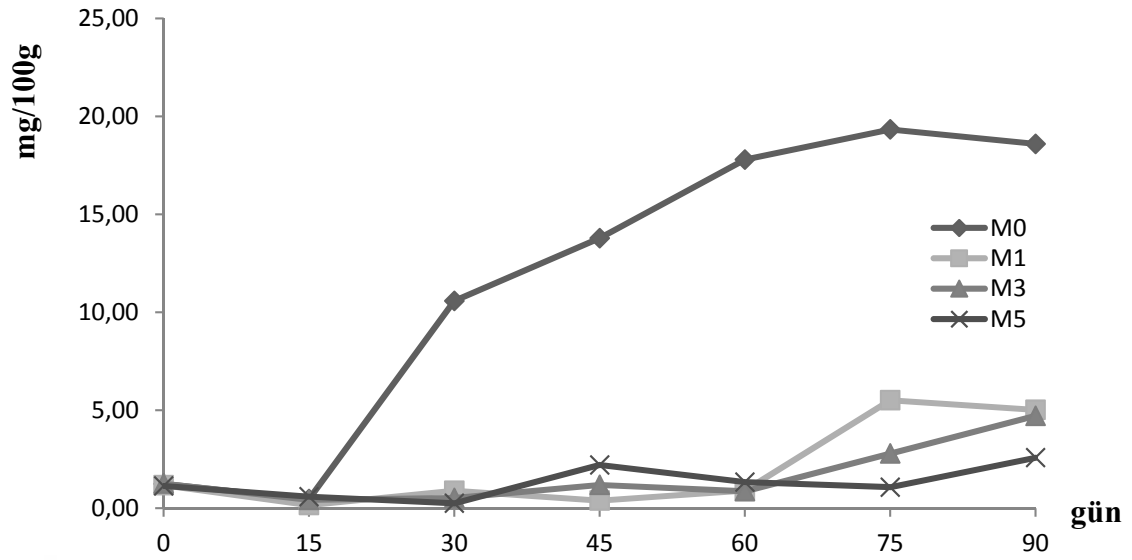


değişimleri inceleyen Erkan vd (2011), 220 MPa, 250 MPa ve 330 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük değerler gözlemlemişlerdir.

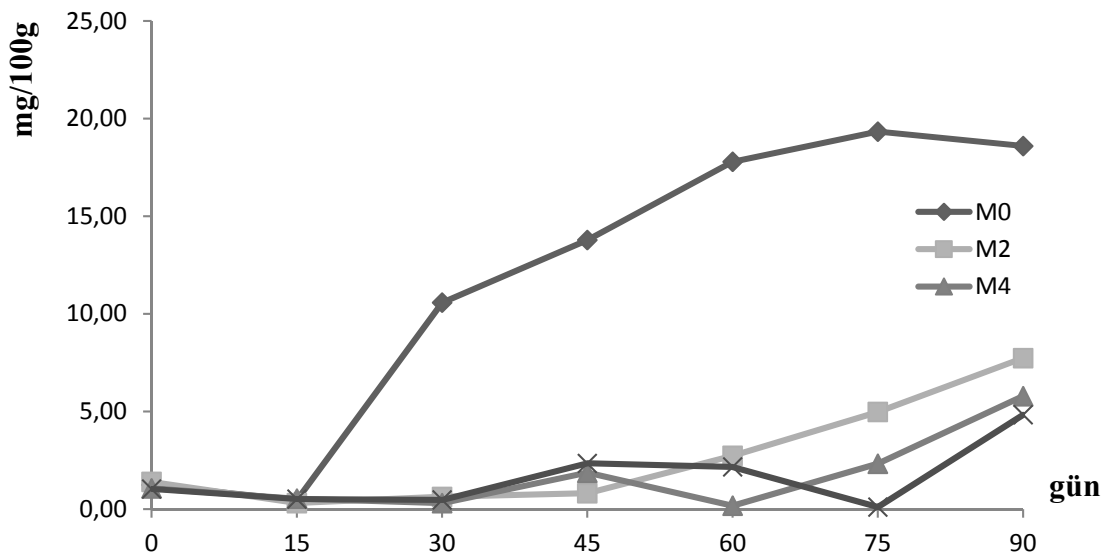
Gökoğlu vd (2004), %2 ve %4 asit konsantrasyonları ile hazırladıkları sardalya marinatını 5 ay boyunca depolayarak kalitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Depolama süresince önemli derecede ( $p<0.01$ ) en düşük TMA-N miktarları %4 asit ile hazırlanan gruplarda gözlenmiştir ve depolama boyunca sınır değere ulaşmamıştır.

Sallam vd (2007), farklı asit konsantrasyonlarıyla (%2 asit-%12 tuz, %3 asit-%12 tuz ve %0 asit-%12 tuz) hazırladıkları pasifik zarganası marinatında 90 gün boyunca kalite değişimlerini incelemişlerdir. Depolama boyunca asit uygulanan gruplarda TMA-N değerleri asit uygulanmayan gruptan düşük bulunmuştur. Asit ile muamele edilen gruplarda TMA-N değeri 80 gün boyunca sınır değere ulaşmazken, sadece tuz çözeltisi ile muamele edilen grupta depolamanın 50. gününde sınır değere ulaşmıştır.

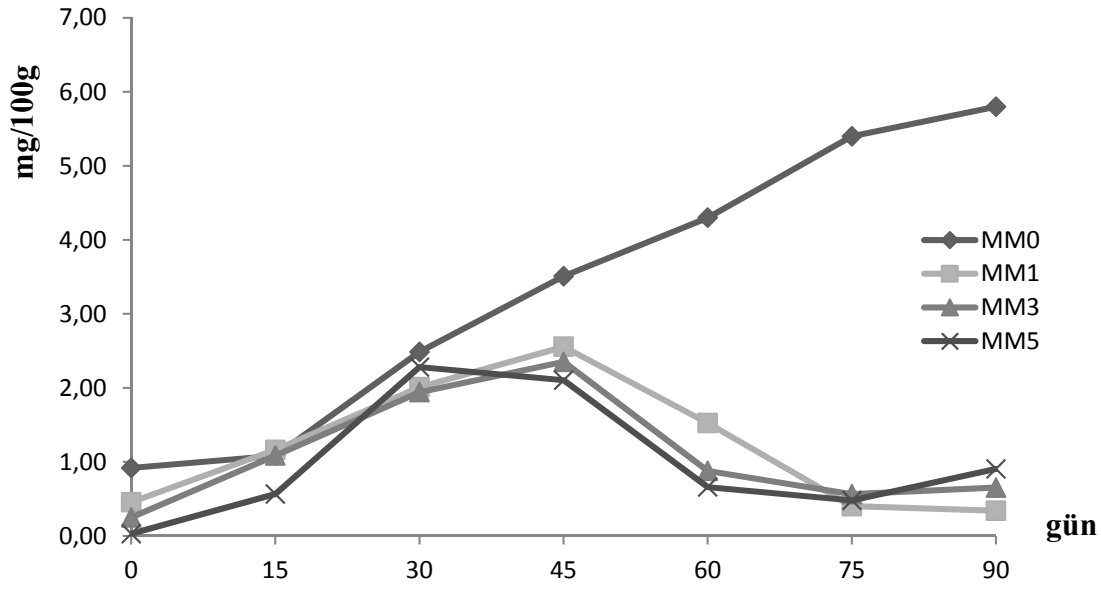




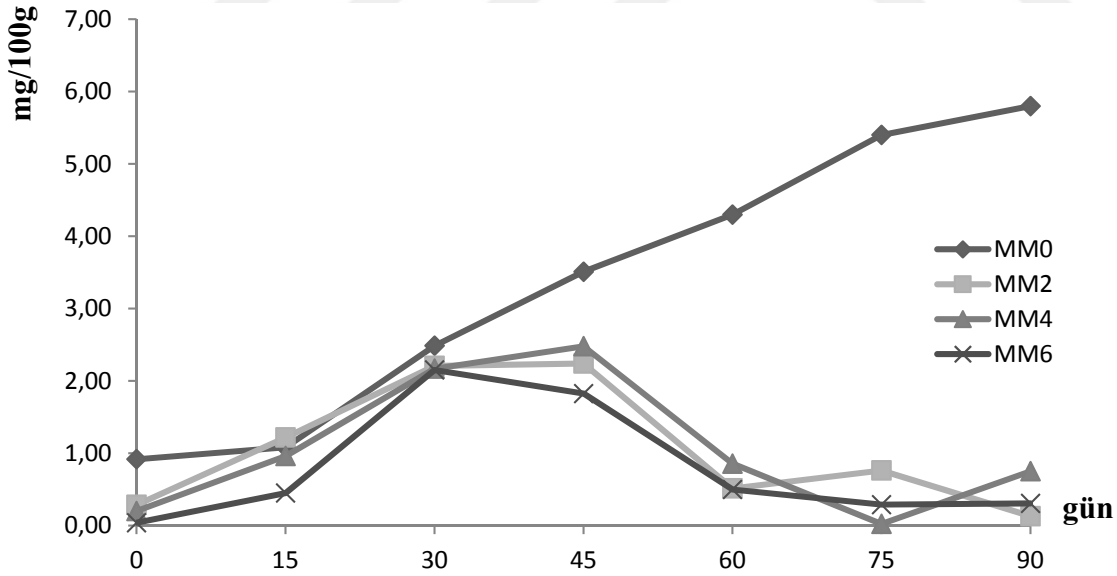
Şekil 4.71. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



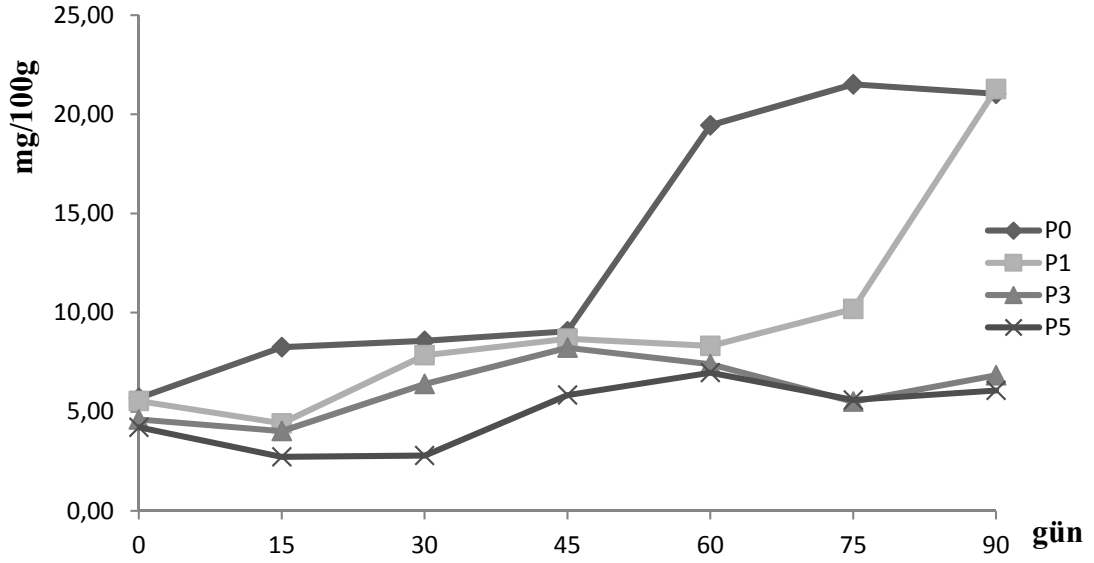
Şekil 4.72. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



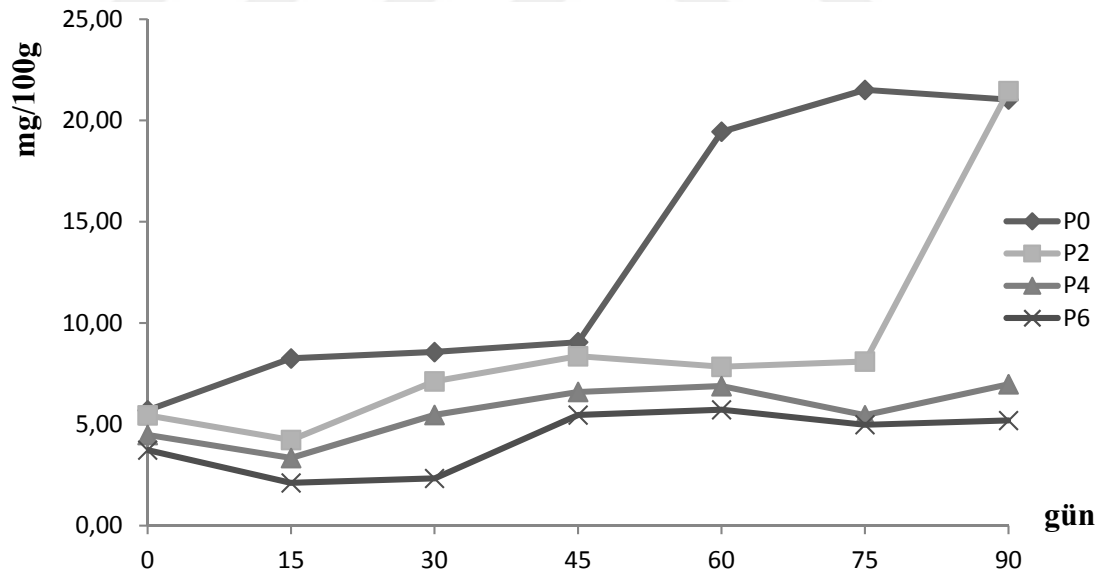
Şekil 4.73. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



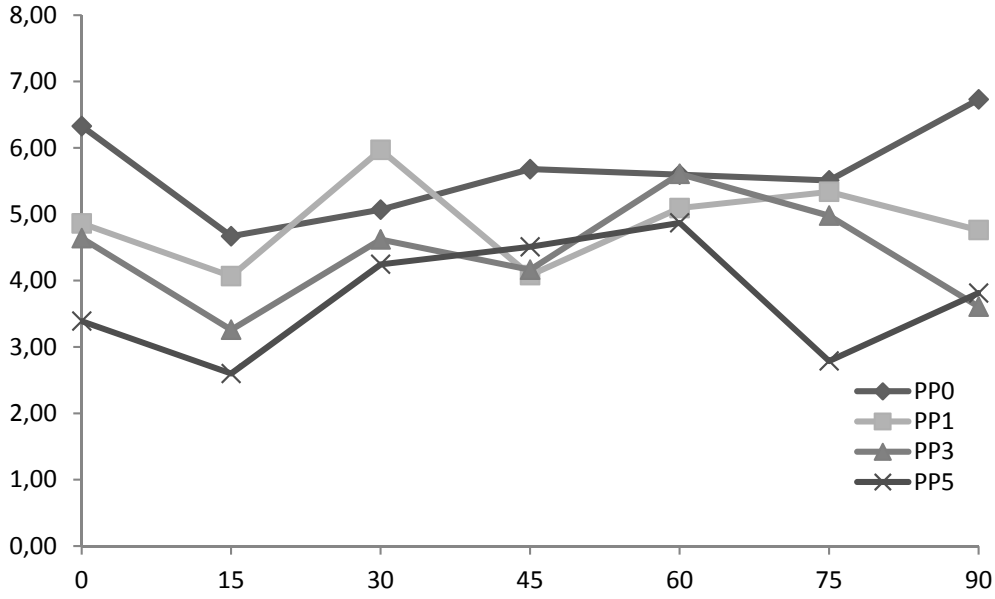
Şekil 4.74. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



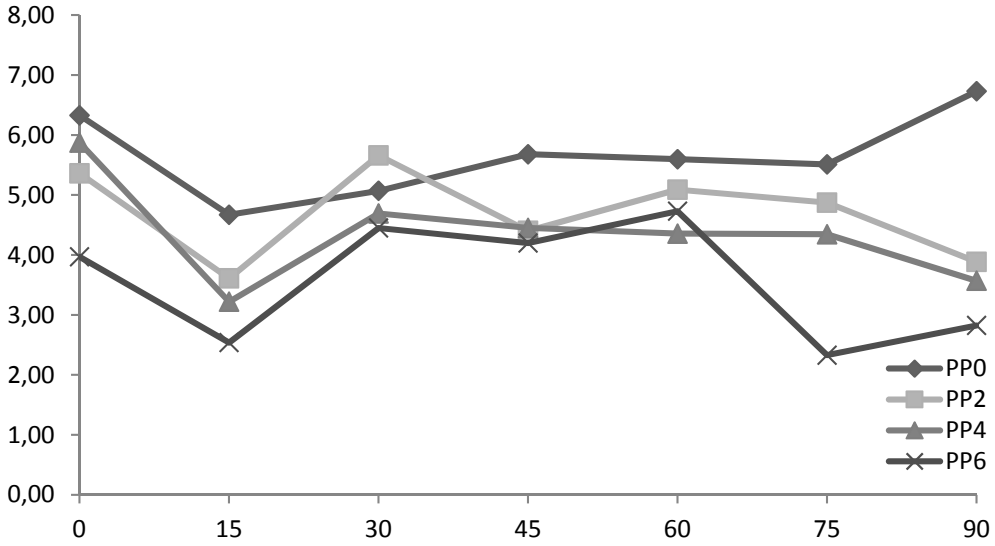
Şekil 4.75. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.76. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.77. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.78. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TMA-N oluşumu üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.12. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Tiyobarbütirik Asit (TBA) Üzerine Etkileri

Depolama süresince *M. psychrotolerans* inoküle edilen ringa marinatlarında TBA değişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.42.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.42. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	9.33886091	108.29**
Uygulama grupları	1	21.52152917	249.56**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	1.46061250	16.94**
Basınç	2	2.02779286	23.51**
Depolama süresi x basınç	12	0.65842550	7.63**
Uygulama grupları x basınç	2	0.05297381	0.61
Basınç uygulama süresi	1	0.78857202	9.14**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.17456925	2.02
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.04834821	0.56
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.37480238	4.35*
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi TBA değişimini önemli ölçüde (p<0.01) etkilemiştir. Depolama sonunda en yüksek TBA değerleri kontrol gruplarında (M0 5.37 mgMDA/kg ve MM0 4.25 mgMDA/kg) gözlenmiş ve depolama boyunca tüm gruplarda TBA değerleri artış göstermiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması ile TBA değerleri kontrol gruplarına göre daha düşük seviyelerde kalırken, basınç uygulama sürelerinin artışıyla beraber oksidasyon düzeyinde arttığı tespit edilmiştir. Farklı asit grupları arasında önemli derecede (p<0.05) farklılıklar gözlenirken, yüksek asit konsantrasyonu ile hazırlanan ringa marinatlarında oksidasyon düzeyinin daha düşük olduğu görülmüştür.

TBA, ikincil oksidasyon ürünü olup yağ oksidasyonunun belirlenmesinde kullanılan önemli bir kalite parametresidir. Yağların okside olması sonucu tadında acılaşıma meydana gelmekte ve oksidatif acılaşıma olarak bilinen bu değişim, daha çok yağlı balıklarda görülmektedir (Connell 1980). Yağ oksidasyonunda ortamdaki atmosferik oksijen önemli rol oynamakta ve sürecin ilerlemesi ile reaksiyon hızı da artmaktadır. Oksidasyonun hızı, yağların doymamışlık durumu, miktarı, ortamın sıcaklığı, ışık, oksijen miktarı ve nem oranına bağlı olarak değişmektedir (Khayat ve Schwall 1983; Hultin 1994; Yapar ve Erdöl 1998). Yağların bozulması sonucunda üründe meydana gelen değişimler; lezzet ve koku değişimi, asitlik değişimi, peroksit oluşumu, aldehit oluşumu ve keton oluşumu şeklinde kendini göstermektedir (Varlık vd

2004). 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 MA/kg'ı aştığı durumda acılaştırmanın başladığı bildirilmiştir (Varlık vd 1993).

Yüksek hidostatik basıncın lipid oksidasyonu üzerinde etkileri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda 300 MPa'nın altında kalan basınç uygulamalarının oksidasyona çok az etki ettiği, ancak bu basınç seviyesinin üzerine çıktığında oksidasyon düzeyinin artış gösterdiği bulunmuştur. Yüksek hidrostatik basıncın lipid oksidasyonuna etkisi, basınçlama işlemi süresince metal iyonlarının serbest hale geçmesi ve serbest radikallerin oluşumuna zemin hazırlaması şeklinde açıklanmaktadır (Cheah ve Ledward 1997)

Çizelge 4.43. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	TBA
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	2.06 <sup>f</sup>
15. Gün	3.27 <sup>c</sup>
30. Gün	2.73 <sup>e</sup>
45. Gün	2.93 <sup>d</sup>
60. Gün	2.99 <sup>d</sup>
75. Gün	3.48 <sup>b</sup>
90. Gün	4.05 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	3.43 <sup>a</sup>
%4 Asit	2.71 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	3.21 <sup>a</sup>
300 MPa	3.15 <sup>a</sup>
500 MPa	2.86 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	3.01 <sup>b</sup>
10 dk	3.14 <sup>a</sup>

Depolama süresince *P. phosphoreum* inoküle edilen ringa marinatlarında TBA değişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.44.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.44. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	15.68933333	190.37**
Uygulama grupları	1	60.19234286	730.35**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	1.50065952	18.21**
Basınç	2	1.06936845	12.98**
Depolama süresi x basınç	12	0.21525595	2.61**
Uygulama grupları x basınç	2	0.71545893	8.68**
Basınç uygulama süresi	1	0.37905000	4.60*
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.05917778	0.72
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.01448571	0.18
	2	0.03405536	0.41
Basınç x basınç uygulama süresi	128		
Hata			

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresinin, uygulama gruplarının, basınç ve basınç uygulama süresinin TBA değişimine önemli derecede (p<0.01) etki ettiği görülmüştür. Kontrol gruplarında depolama sonunda en yüksek TBA değerleri gözlenirken, %2 asit konsantrasyonu ile hazırlanan kontrol grubu ve 100 MPa yüksek basınç uygulanan gruplarda depolamanın 75. gününde TBA değerleri 5 mgMDA/kg'ı geçmiştir. Basınç uygulama süreleri arasında farklılıklar bulunurken, artan basınç uygulamma süreleriyle beraber TBA değerlerinin de arttığı tespit edilmiştir.



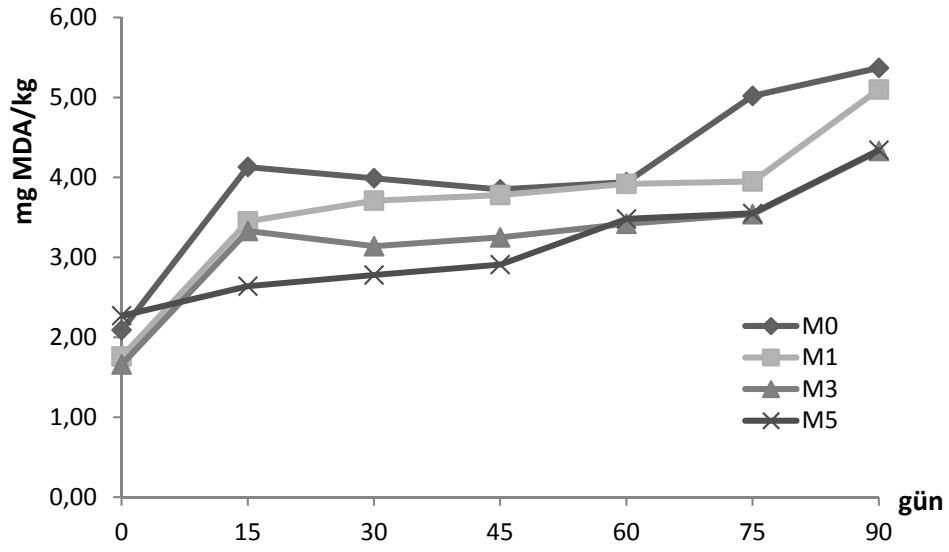
Çizelge 4.45. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında TBA değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	TBA
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	1.97 <sup>g</sup>
15. Gün	2.74 <sup>f</sup>
30. Gün	2.95 <sup>e</sup>
45. Gün	3.28 <sup>d</sup>
60. Gün	3.66 <sup>c</sup>
75. Gün	4.07 <sup>b</sup>
90. Gün	4.30 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	3.88 <sup>a</sup>
%4 Asit	2.68 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	3.43 <sup>a</sup>
300 MPa	3.25 <sup>b</sup>
500 MPa	3.16 <sup>b</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	3.33 <sup>b</sup>
10 dk	3.23 <sup>a</sup>

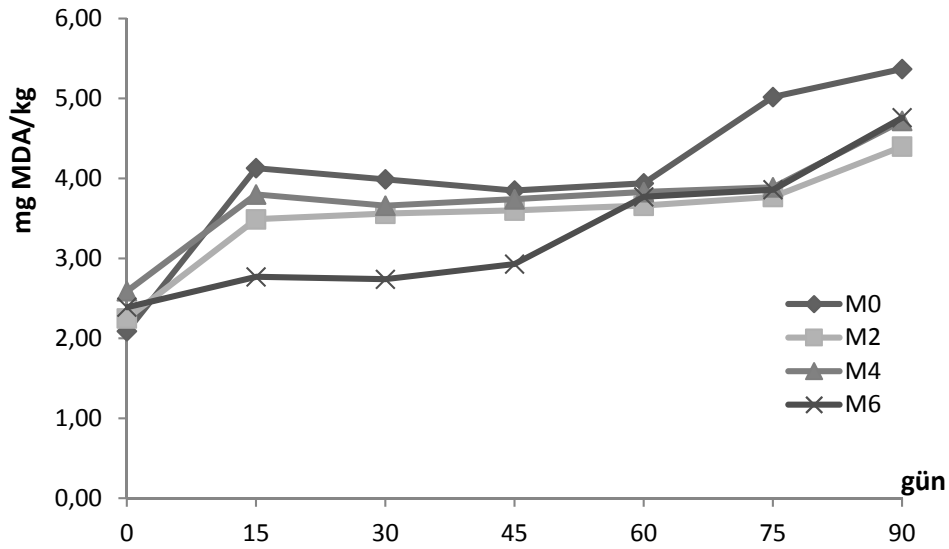
Yağız vd (2009), yüksek hidrostatik basınç uyguladıkları somon balığında oksidasyon düzeyini araştırmışlardır. Depolamanın 6. gününde tüm gruplarda oksidasyonun hızla arttığı, kontrol ve 150 MPa yüksek basınç uygulanan gruplar arasında TBA değeri bakımından önemli düzeyde farklılıklar olmadığı gözlenmiştir. Ancak 300 MPa basınç uygulanan grupta TBA değerinin depolama sonunda nispeten daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Vazquez vd (2013), uskumru filetosuna yüksek hidrostatik basınç (150, 300, 450 MPa ve 2.5 - 5 dk) uygulamış ve daha sonra 3 ay boyunca dondurarak depolamışlardır. Yüksek hidrostatik basınç uygulanmış gruplarda TBA değerlerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda, uskumru filetolarına dondurma işleminden önce yüksek hidrostatik basınç uygulamanın TBA değerlerini etkilemediğini bulmuşlardır.

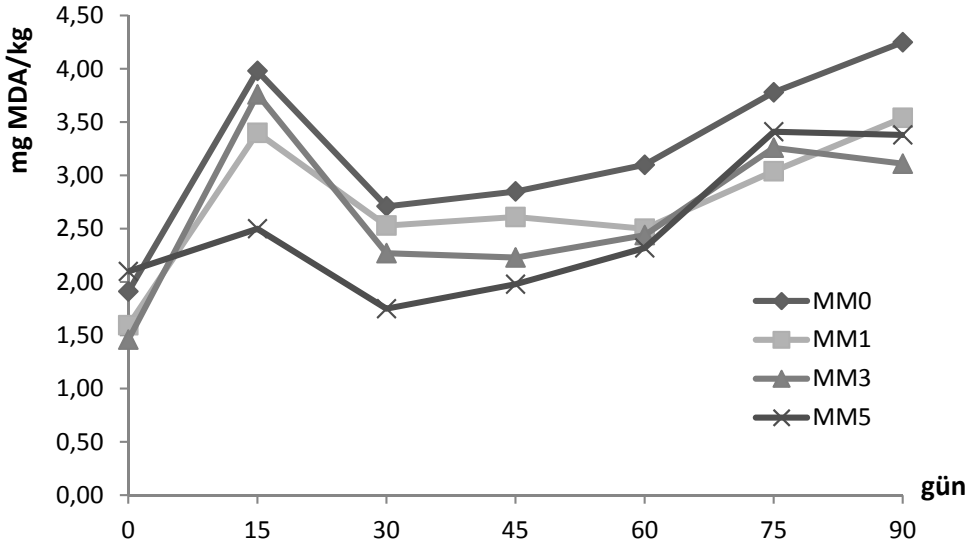
Soğuk dumanlanmış alabalık filetosuna yüksek hidrostatik basınç uygulayan Erkan vd (2011), oksidasyon düzeyini incelemişlerdir. 220, 250 ve 330 MPa yüksek basınç uyguladıkları alabalık filetolarında TBA değerlerinin kontrol grubunda basınç uygulanan gruplara göre daha düşük olduğunu ve 330 MPa basınç uygulanan gruplarda daha yüksek düzeyde olduğunu gözlemlemişlerdir.



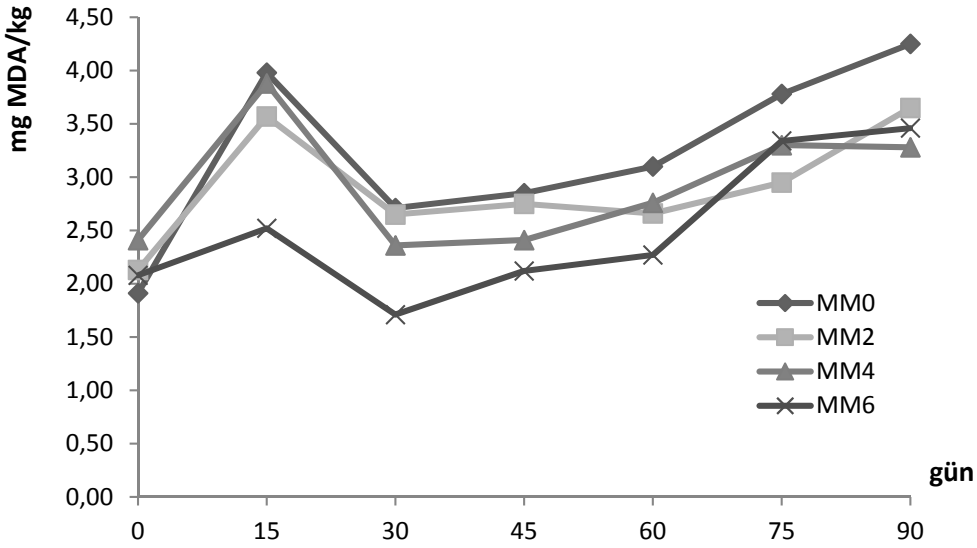
Şekil 4.79. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



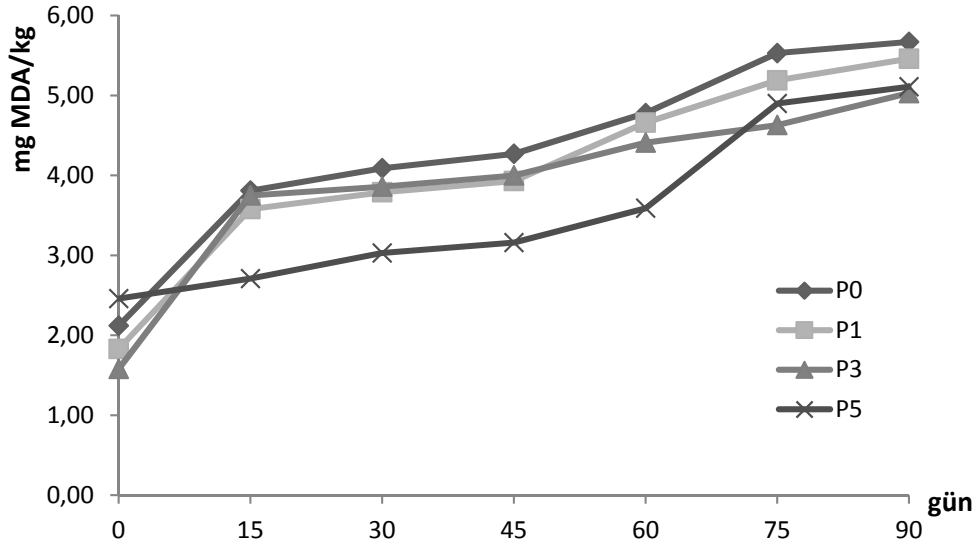
Şekil 4.80. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



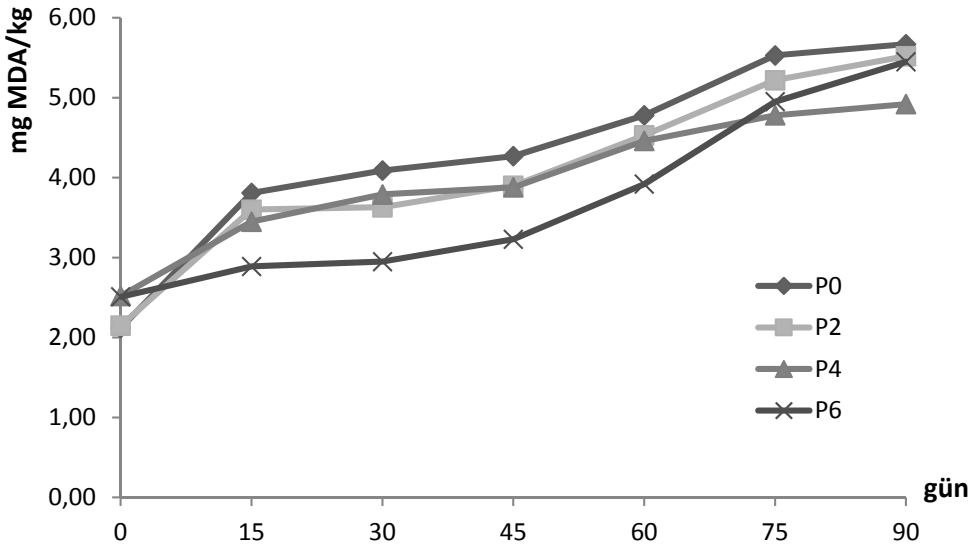
Şekil 4.81. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



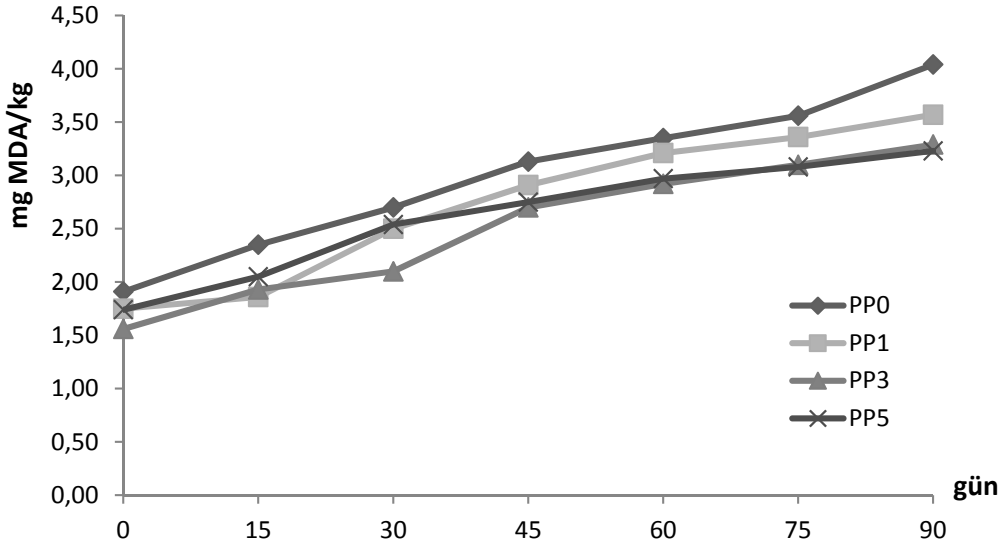
Şekil 4.82. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



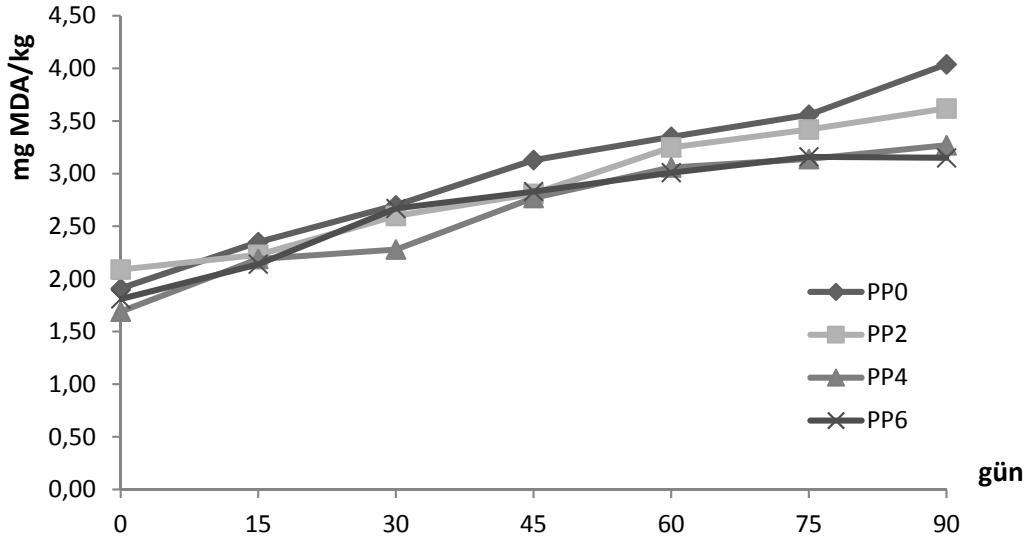
Şekil 4.83. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.84. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.85. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.86. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının TBA değişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

#### 4.13. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında Duyusal Kalite Üzerine Etkileri

Çizelge 4.46. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyusal değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	29.7123979	66.10**
Uygulama grupları	1	11.4517398	25.48**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	1.0082843	2.24*
Basınç	2	184.4349500	410.31**
Depolama süresi x basınç	12	0.8514557	1.89*
Uygulama grupları x basınç	2	0.1650831	0.37
Basınç uygulama süresi	1	18.4691659	41.09**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.0809370	0.18
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.4984512	1.11
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.8024896	1.79
Hata	295		

(\*\*)  $p < 0.01$  düzeyinde önemli

(\*)  $p < 0.05$  düzeyinde önemli

*Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında duyusal kalite üzerine depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli ölçüde etki etmiştir. Depolama süresince yüksek hidrostatik basınç uygulanan ringa marinatları, kontrol gruplarına göre daha iyi duyusal özellik göstermiştir. Basınç ve basınç uygulama süresinin artışıyla beraber depolama süresince her iki asit konsantrasyonunda da duyusal kalite oldukça iyi kalmıştır. Asit konsantrasyonları arasında depolama boyunca önemli farklılıklar gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

Çizelge 4.47. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyuşal değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Genel beğeni
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	7.14 <sup>a</sup>
15. Gün	7.06 <sup>a</sup>
30. Gün	6.95 <sup>a</sup>
45. Gün	6.62 <sup>b</sup>
60. Gün	6.14 <sup>c</sup>
75. Gün	5.64 <sup>d</sup>
90. Gün	5.08 <sup>e</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	6.19 <sup>b</sup>
%4 Asit	6.56 <sup>a</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	5.08 <sup>c</sup>
300 MPa	6.41 <sup>b</sup>
500 MPa	7.64 <sup>a</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	6.13 <sup>b</sup>
10 dk	6.61 <sup>a</sup>

Çizelge 4.48. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyuşal değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	50.3085317	172.55**
Uygulama grupları	1	32.1904762	110.41**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	0.5724206	1.96
Basınç	2	267.2351190	916.55**
Depolama süresi x basınç	12	0.8427579	2.89**
Uygulama grupları x basınç	2	0.8958333	3.07*
Basınç uygulama süresi	1	37.3333333	128.04**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.3541667	1.21
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.1904762	0.65
Basınç x basınç uygulama süresi	2	2.0029762	6.87
Hata	296		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

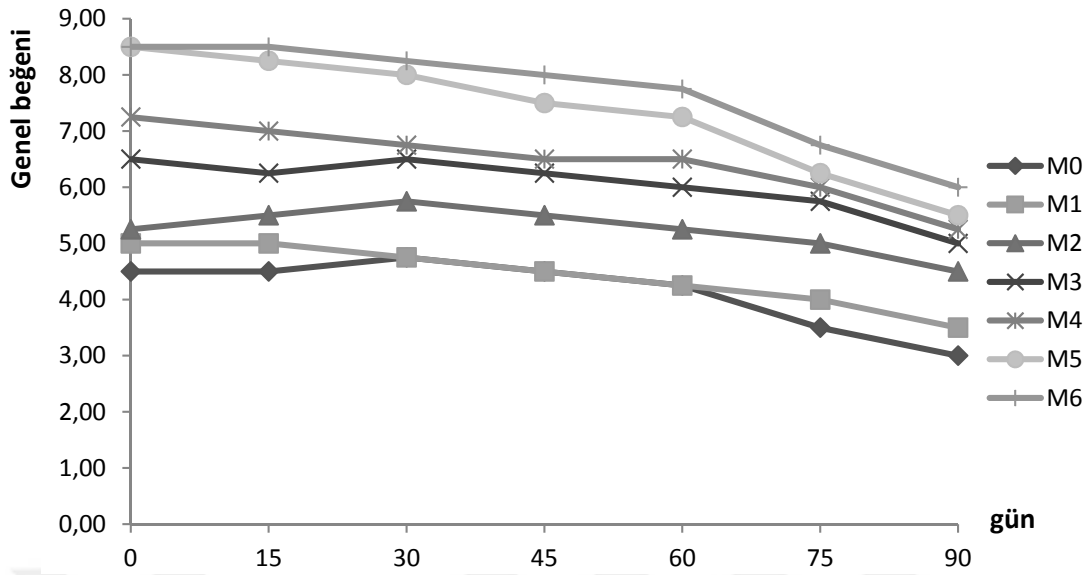
*Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen ringa marinatlarında duyuşal kaliteyi depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli ölçüde derecede etkilemiştir. Her iki asit konsantrasyonunda da artan basınç ve basınç uygulama süresi ile duyuşal kalitenin kontrol gruplarına göre daha iyi olduğu gözlenmiştir.



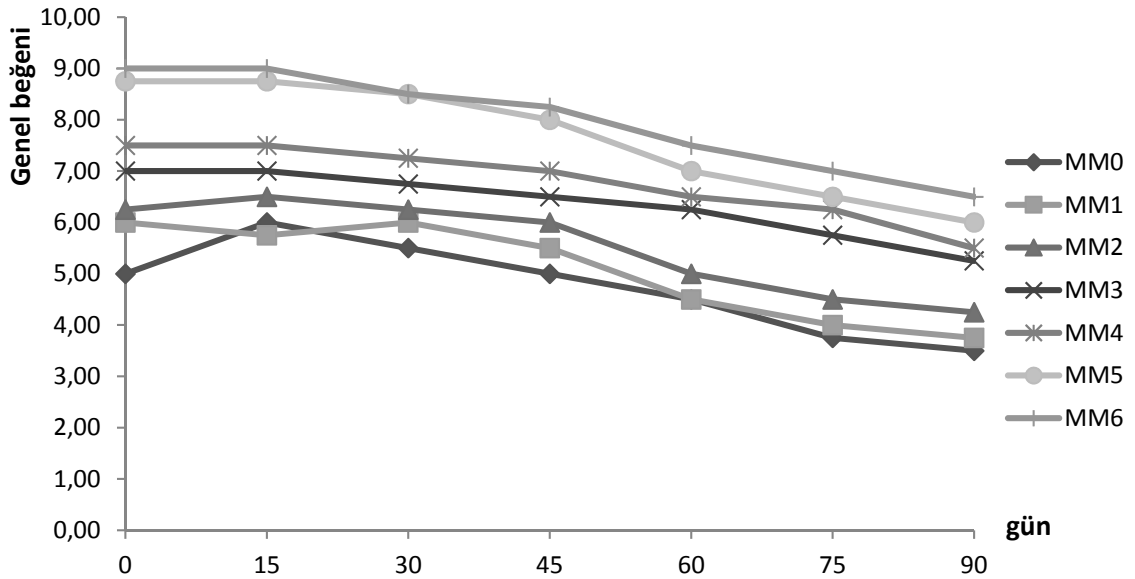
Çizelge 4.49. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında duyuşal değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	Genel beğeni
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	7.08 <sup>a</sup>
15. Gün	7.08 <sup>a</sup>
30. Gün	6.62 <sup>b</sup>
45. Gün	6.29 <sup>c</sup>
60. Gün	5.60 <sup>d</sup>
75. Gün	5.00 <sup>e</sup>
90. Gün	4.47 <sup>f</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	5.71 <sup>b</sup>
%4 Asit	6.33 <sup>a</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.47 <sup>c</sup>
300 MPa	6.03 <sup>b</sup>
500 MPa	7.56 <sup>a</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	5.69 <sup>b</sup>
10 dk	6.35 <sup>a</sup>

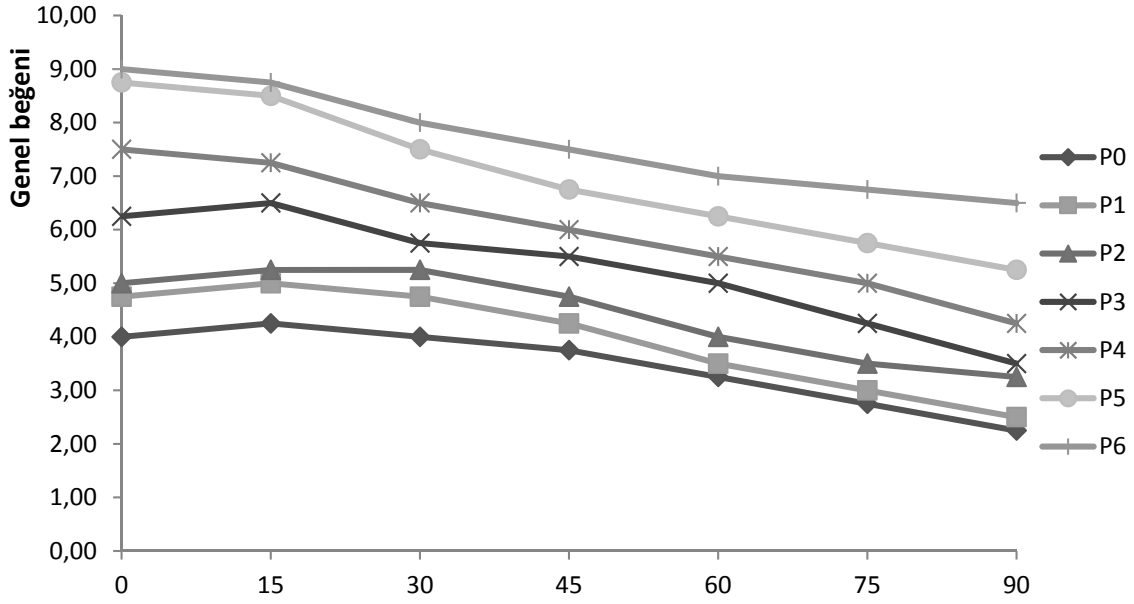
Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının taze balık, kıyılmış balık, dumanlanmış balık üzerine yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur (Picouet vd 2011; Tironi vd 2010; Erkan vd 2010; Ramirez-Suarez vd 2006). Yapılan çalışmalar yüksek hidrostatik basınç uygulamasının taze balıkta duyuşal kalite üzerinde oldukça önemli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada da yüksek hidrostatik basınç uygulaması, ringa marinatında duyuşal kaliteyi olumlu etkilemiş ve dış görünüş üzerinde olumsuz herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır.



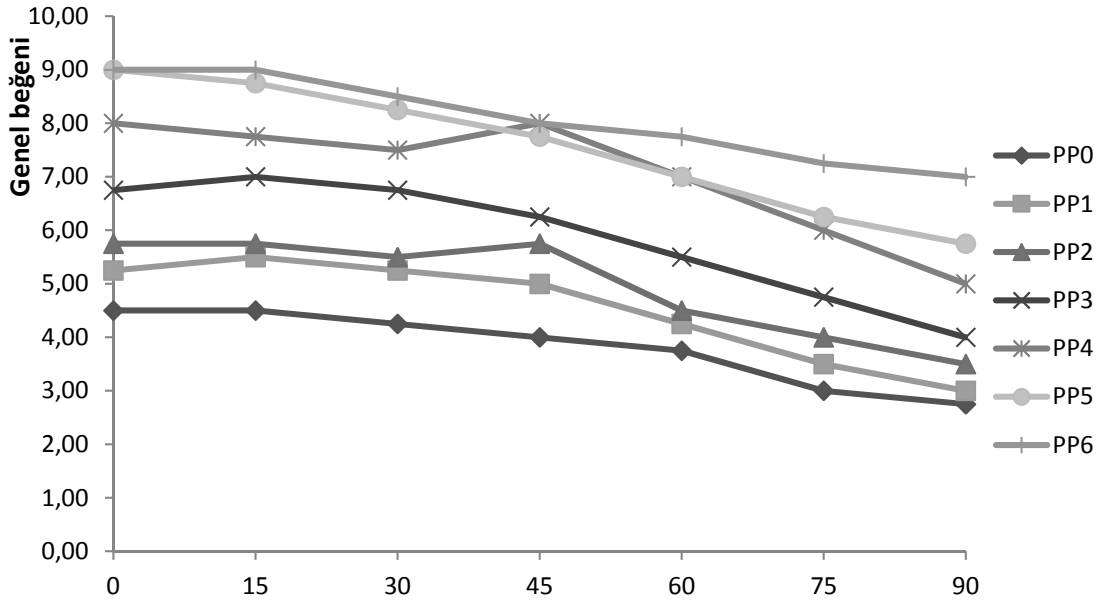
Şekil 4.87. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa 5dk, M2:100 MPa 10 dk, M3:300 MPa 5 dk, M4:300 MPa 10 dk, M5:500 MPa 5 dk, M6:500 MPa 10 dk)



Şekil 4.88. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyuşal değişim üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa 5dk, M2:100 MPa 10 dk, M3:300 MPa 5 dk, M4:300 MPa 10 dk, M5:500 MPa 5 dk, M6:500 MPa 10 dk)



Şekil 4.89. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyusal değişim üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa 5dk, P2:100 MPa 10 dk, P3:300 MPa 5 dk, P4:300 MPa 10 dk, P5:500 MPa 5 dk, P6:500 MPa 10 dk)



Şekil 4.90. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 ve 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının duyusal değişim üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa 5dk, PP2:100 MPa 10 dk, PP3:300 MPa 5 dk, PP4:300 MPa 10 dk, PP5:500 MPa 5 dk, PP6:500 MPa 10 dk)

#### 4.13. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Ringa Marinatında pH Değişimi Üzerine Etkileri

Depolama süresince *M. psychrotolerans* inoküle edilen ringa marinatlarında pH değişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.50.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.50. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	0.82502282	252.76**
Uygulama grupları	1	16.23793393	4974.75**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	0.37897282	116.38**
Basınç	2	0.66185000	202.77**
Depolama süresi x basınç	12	0.03240556	9.93**
Uygulama grupları x basınç	2	0.06255000	19.16**
Basınç uygulama süresi	1	0.09957202	30.51**
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.00648313	1.99
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	2	0.00144524	0.44
Basınç x basınç uygulama süresi	128		
Hata			

(\*\*)  $p < 0.01$  düzeyinde önemli

(\*)  $p < 0.05$  düzeyinde önemli

Çalışmada *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen ringa marinatlarında depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi pH değişimini önemli ölçüde ( $p < 0.01$ ) etkilemiş ve her iki asit konsantrasyonunda da kontrol grupları ve yüksek hidrostatik basınç uygulanan gruplar arasında önemli derecede farklılıklar tespit edilmiştir. Depolama sonunda en yüksek pH değerleri kontrol gruplarında (M0 6.02, MM0 4.58) gözlenmiştir. Yüksek hidrostatik basınç uygulaması ile pH değerleri her iki asit grubunda da düşük seviyelerde kalmış ve böylece mikroorganizma gelişiminin baskılanması için uygun koşullar sağlamıştır.

Çizelge 4.51. *Morganella psychrotolerans* ile inoküle yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	pH
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	4.37 <sup>e</sup>
15. Gün	4.38 <sup>e</sup>
30. Gün	4.48 <sup>d</sup>
45. Gün	4.63 <sup>c</sup>
60. Gün	4.72 <sup>b</sup>
75. Gün	4.74 <sup>b</sup>
90. Gün	4.84 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	4.90 <sup>a</sup>
%4 Asit	4.28 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.70 <sup>a</sup>
300 MPa	4.60 <sup>b</sup>
500 MPa	4.48 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	4.62 <sup>a</sup>
10 dk	4.57 <sup>b</sup>

Depolama süresince *P. phosphoreum* inoküle edilen ringa marinatlarında pH değişimine ait sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.52.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.52. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D	K.O	F
Depolama süresi	6	0.46274782	47.70**
Uygulama grupları	1	39.48870536	4070.29**
Depolama süresi x uygulama grupları	6	0.37243313	38.39**
Basınç	2	0.41746250	43.033**
Depolama süresi x basınç	12	0.08161181	8.41**
Uygulama grupları x basınç	2	0.48350536	49.84**
Basınç uygulama süresi	1	0.00492917	0.51
Depolama süresi x basınç uygulama süresi	6	0.00306528	0.32
Uygulama grupları x basınç uygulama süresi	1	0.00760060	0.78
Basınç x basınç uygulama süresi	2	0.01152917	1.19
Hata	128		

(\*\*) p<0.01 düzeyinde önemli

(\*) p<0.05 düzeyinde önemli

pH değişimine *P. phosphoreum* ile inoküle edilen gruplarda depolama süresi, uygulama grupları, basınç ve basınç uygulama süresi önemli derecede (p<0.01) etki etmiştir. Asit grupları arasında önemli derecede farklılık gözlenirken, %4 asit grubunda pH önemli derecede (p<0.01) düşük kalmıştır. 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulamasında pH değerleri kontrol gruplarına göre önemli düzeyde düşük kalmıştır.

Çizelge 4.53. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmış ringa marinatında pH değişiminin Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

	pH
<b>Depolama Süresi</b>	
0. Gün	4.55 <sup>c</sup>
15. Gün	4.57 <sup>c</sup>
30. Gün	4.66 <sup>b</sup>
45. Gün	4.82 <sup>a</sup>
60. Gün	4.82 <sup>a</sup>
75. Gün	4.85 <sup>a</sup>
90. Gün	4.88 <sup>a</sup>
<b>Uygulama Grupları</b>	
%2 Asit	5.22 <sup>a</sup>
%4 Asit	4.25 <sup>b</sup>
<b>Basınç</b>	
100 MPa	4.83 <sup>a</sup>
300 MPa	4.72 <sup>b</sup>
500 MPa	4.66 <sup>c</sup>
<b>Süre</b>	
5 dk	4.74 <sup>a</sup>
10 dk	4.73 <sup>a</sup>

Frutani vd (2013), *P. phosphoreum*'unda içinde bulunduğu biyojen amin üreten bakteri kültürüyle  $10^4$  ve  $10^7$  kob/g oranında inoküle ettikleri uskumru marinatında pH değişimlerini gözlemlemişlerdir. İnokülasyon ve ardından marinasyon işleminden sonra pH değerlerini sırasıyla 4.7 ve 4.3 olarak gözlemlemişler.

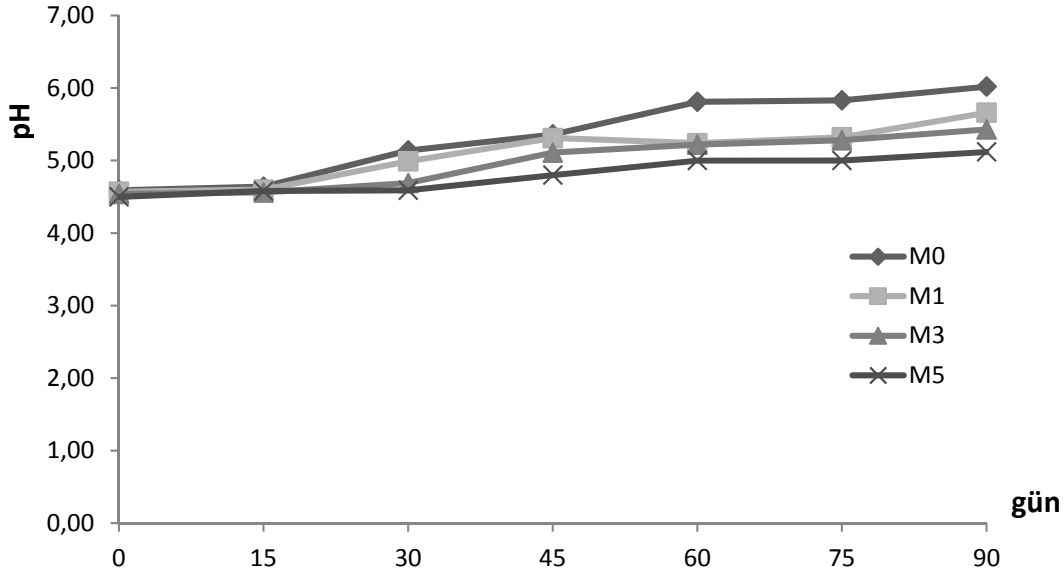
Gökoğlu vd (2004), farklı asit konsantrasyonlarıyla hazırladıkları sardalya marinatında 5 ay boyunca pH değişimlerini gözlemlemişlerdir. Yüksek asit konsantrasyonu (%4) ile hazırlanan marinat gruplarında depolama boyunca pH değerleri %2 asitli gruplara göre daha düşük kalmıştır. Marinatlarda depolama boyunca heterofermantatif laktik asit bakterileri gelişebilir ve amino asit yıkımına neden olabilir. Böylece, karbondioksit oluşumu ve diğer dekarboksilasyon ürünleri gözlenebilir. Bu ürünler asetik asite tutunabilir ve böylece marinat pH'sı yükselebilir (Shenderyuk ve Bykowski, 1989). Yapmış olduğumuz çalışmada marinatlardaki pH artışının da laktik asit bakterilerinin gelişiminden ve delarboksilaz ürünlerinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sallam vd (2007), yaptıkları çalışmada %2 ve %3 asit konsantrasyonlu balık marinatında düşük asitli gruplarda pH değerlerinin depolama boyunca daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, depolama süresince nitrojenli bileşiklerin yıkımının balık etinde pH değerlerini arttırdığını belirtmişlerdir. Bu artış bakteriyel gelişimi, kalite kaybını ve bozulmayı göstermektedir.

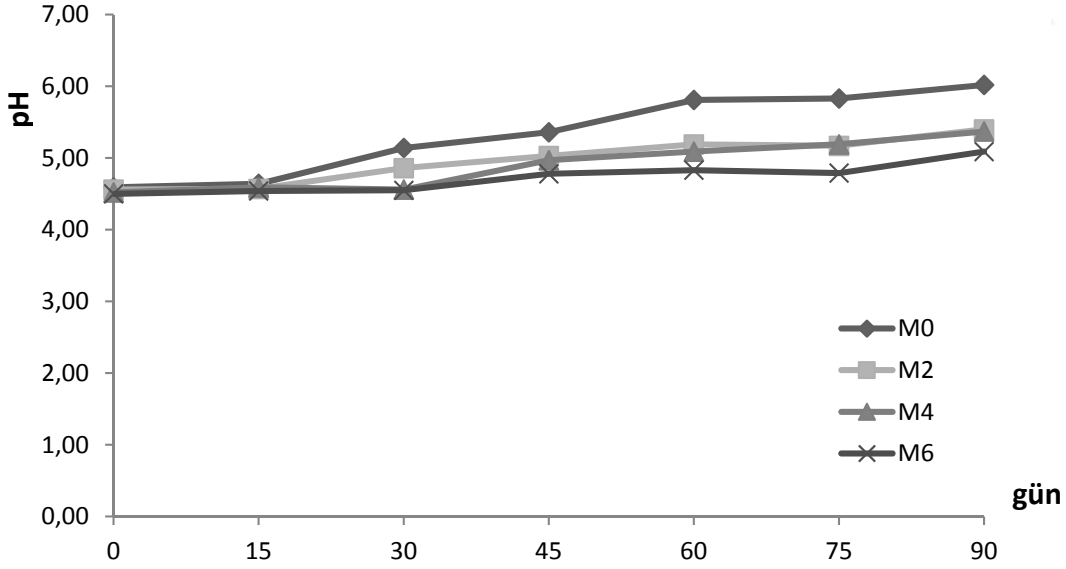
Teixeira vd (2014), levrek filetosuna yüksek hidrostatik basınç uygulayarak pH değişimin gözlemlemişlerdir. Basınç uygulama seviyesi ve süresinin artışıyla beraber pH'nın arttığını gözlemlemişlerdir.



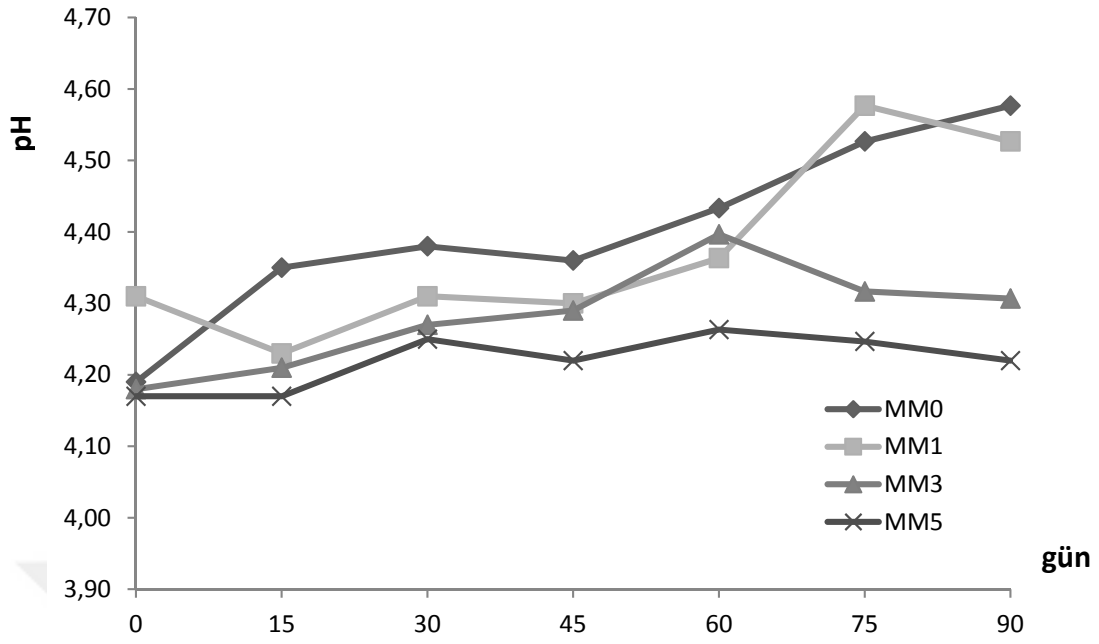




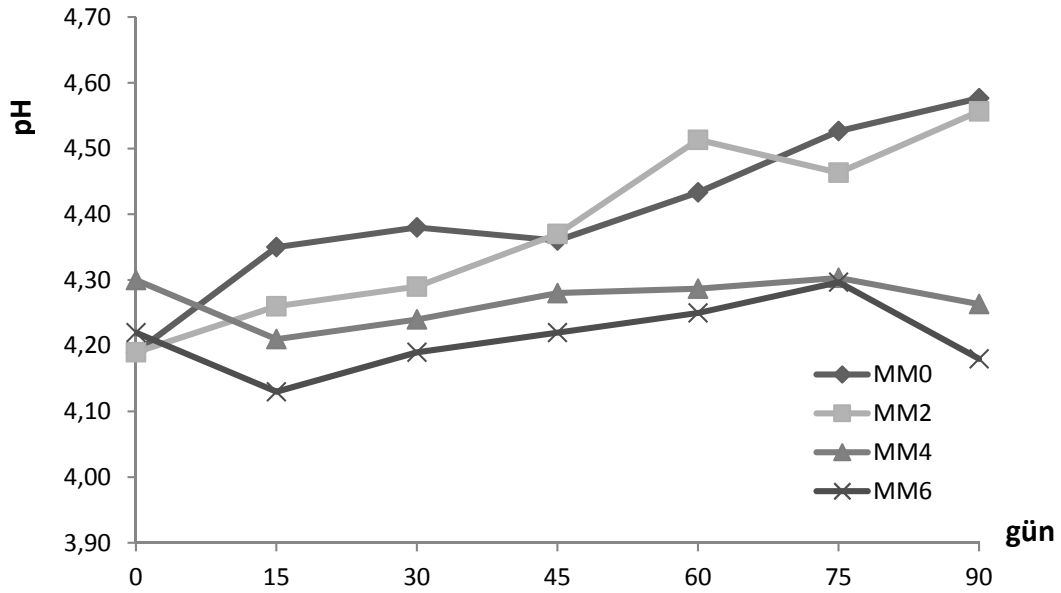
Şekil 4.91. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M1:100 MPa, M3:300 MPa, M5:500 MPa)



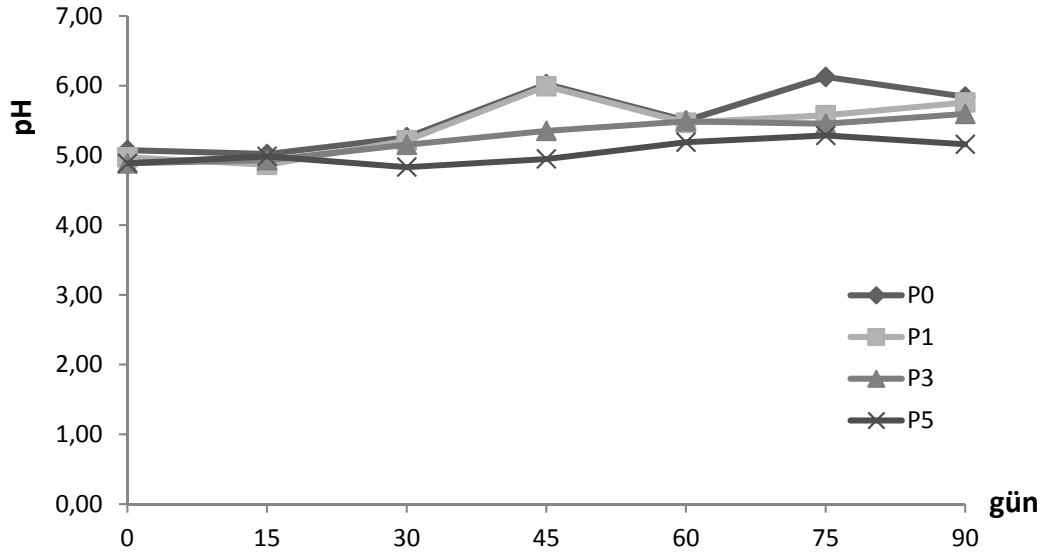
Şekil 4.92. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (M0:kontrol, M2:100 MPa, M4:300 MPa, M6:500 MPa)



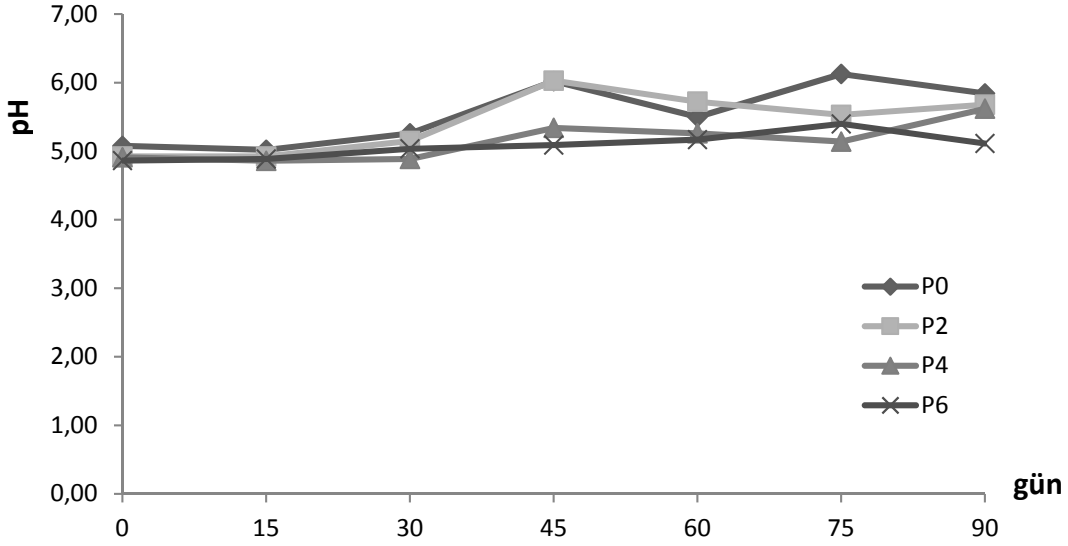
Şekil 4.93. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM1:100 MPa, MM3:300 MPa, MM5:500 MPa)



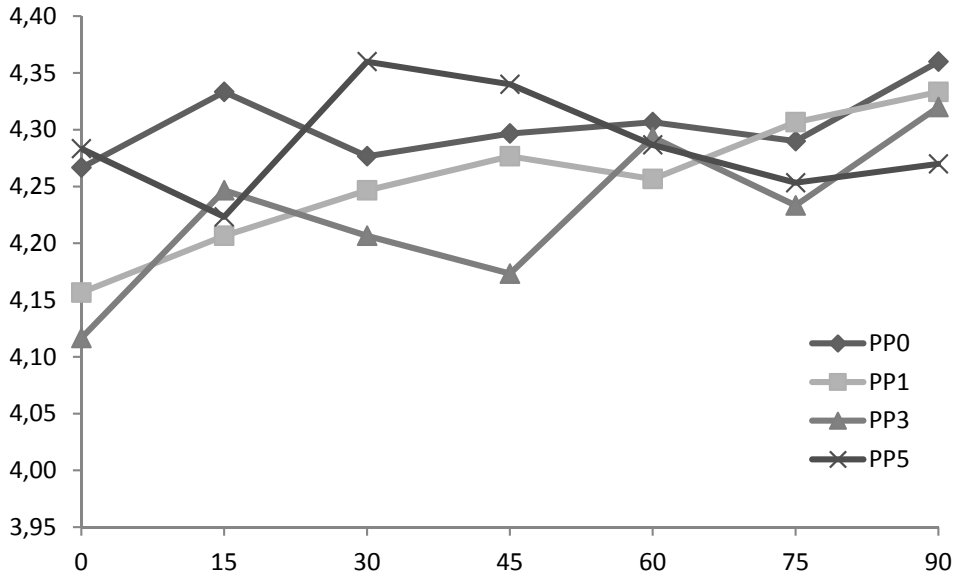
Şekil 4.94. *M. psychrotolerans* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (MM0:kontrol, MM2:100 MPa, MM4:300 MPa, MM6:500 MPa)



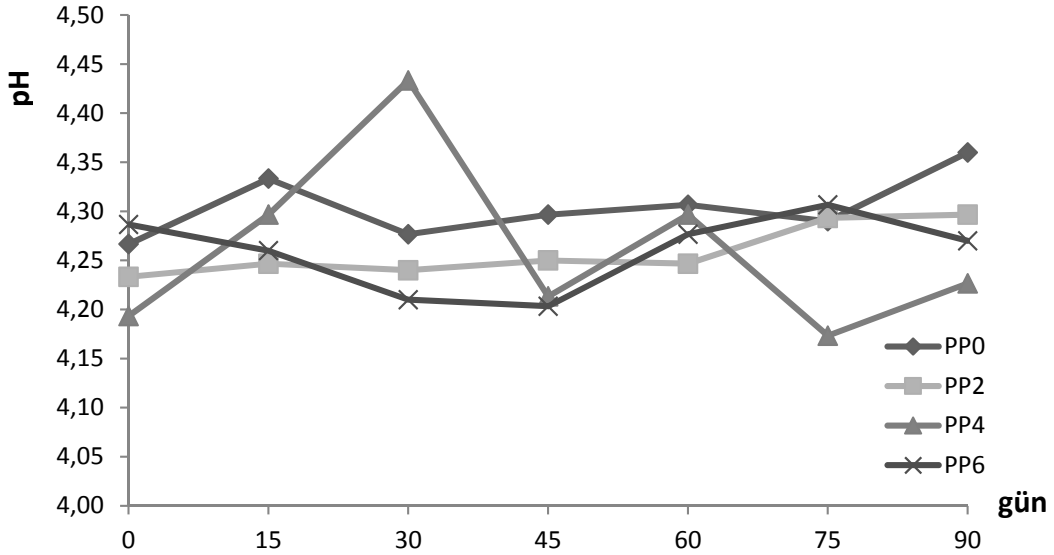
Şekil 4.95. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P1:100 MPa, P3:300 MPa, P5:500 MPa)



Şekil 4.96. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%2 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (P0:kontrol, P2:100 MPa, P4:300 MPa, P6:500 MPa)



Şekil 4.97. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 5 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP1:100 MPa, PP3:300 MPa, PP5:500 MPa)



Şekil 4.98. *P. phosphoreum* ile inoküle edilmiş ringa marinatına (%4 asit ile hazırlanmış) 10 dk yüksek hidrostatik basınç uygulamasının pH değişimi üzerine etkileri. (PP0:kontrol, PP2:100 MPa, PP4:300 MPa, PP6:500 MPa)

## 5. SONUÇ

Araştırmamızda farklı asit konsantrasyonları ile hazırlanan ringa marinatına psikrotolerant biyojen amin üreten spesifik bakteriler (*Morganella psychrotolerans*, *Photobacterium phosphoreum*) inoküle edilerek yüksek hidrostatik basınç uygulanmıştır. Yüksek hidrostatik basınç uygulamasından (100 MPa, 300 MPa, 500 MPa 5-10 dk) sonra vakum paketlenerek 4°C'de depolanan marinatlarda mikroorganizma gelişimi, biyojen amin oluşumu ve diğer kalite parametrelerindeki değişimler incelenmiştir.

Ringa marinatında *Morganella psychrotolerans* gelişiminin baskılanmasında düşük asit konsantrasyonlu marinatta yüksek hidrostatik basınç uygulamasının tamamen etkili olmadığı, depolamanın birinci ayında sadece 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulamasının bakteri gelişimini baskıladığı görülmüştür. Ancak yüksek asit konsantrasyonu ile hazırlanan marinatlarda 300 MPa ve üzeri yüksek hidrostatik basınç uygulamasının, depolama süresince *M. psychrotolerans* gelişimini engellediği tespit edilmiştir. *Photobacterium phosphoreum* inaktivasyonunda %2 asit konsantrasyonu ile beraber 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması depolamanın 45. gününe kadar etkili olurken, %4 asit konsantrasyonu ile hazırlanan *P. phosphoreum* inokülasyon gruplarında 300 MPa ve üzeri basınç uygulaması önemli derecede etkili olmuş ve depolama sonuna kadar bakteri gelişimi gözlenmemiştir.

Laktik asit bakterileri ve toplam psikrofil bakteri gelişiminin baskılanmasında düşük asit konsantrasyonlu ve *M. psychrotolerans* inokülasyonlu marinat gruplarında yüksek hidrostatik basınç uygulaması etkili sonuçlar vermemiştir. Ancak asit konsantrasyonunun artması ve 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması bu bakterilerin gelişimini önlemede oldukça başarılı sonuçlar alınmasını sağlamıştır. *Photobacterium phosphoreum* inokülasyon gruplarında laktik asit bakterileri ve toplam psikrofil bakteri inaktivasyonunda düşük asit konsantrasyonunda yalnızca 500 MPa yüksek hidrostatik basınç uygulaması başarılı olurken, %4 asit konsantrasyonunda 300 MPa ve üzeri basınç uygulamaları tamamen etkili olmuştur. Hidrojen sülfür bakterileri ve maya-küf gelişimi yüksek hidrostatik basınç uygulamasıyla başarılı bir şekilde kontrol altına alınmış ve depolama süresince sadece düşük asit konsantrasyonu ile hazırlanarak *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen marinat gruplarında gelişim gözlenmiştir. Ringa marinatlarında mikroorganizma gelişimlerinin önlenmesinde yüksek hidrostatik basınç uygulamasının yüksek asit konsantrasyonunda daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın belli günlerine kadar düşük asit konsantrasyonunda mikroorganizma gelişimlerinin önlenmesi ancak daha sonra bakteri gelişiminin devam etmesi, bakteri hücrelerinin kendilerini yenilediğini ve %2 asit konsantrasyonunda yüksek hidrostatik basınç uygulamasının yetersiz kaldığını göstermektedir.

Psikrotolerant bakterilerle inoküle edilen ringa marinatında biyojen amin oluşumunun önlenmesi ve baskılanmasında yüksek hidrostatik basınç uygulaması oldukça etkili sonuçlar göstermiştir. Histamin ve putresin oluşumunda düşük asit konsantrasyonunda 300 MPa ve üzeri basınç uygulamaları başarılı olurken, %4 asit ile hazırlanan marinatlarda yüksek hidrostatik basınç uygulamaları tamamen etkili olmuştur. Kadaverin oluşumunda her iki bakteri grubunda ve asit konsantrasyonunda yüksek hidrostatik basınç uygulamasının etkili olduğu görülmüştür. Depolama süresince ringa marinatında tiramin oluşumu gözlenmiş ve *M. psychrotolerans* inokülasyon gruplarında düşük asitte yüksek basınç uygulamasının tiramin oluşumunu engellemede

etkili olmadığı, sadece 500 MPa basınç uygulamasının %4 asit gruplarında tiramin oluşumunu engellediği gözlenmiştir.

Yüksek hidrostatik basınç uygulaması, *P. phosphoreum* gruplarında her iki asit konsantrasyonunda da TVB-N değerlerinin limit değere (35 mg/100g) ulaşmasını depolama boyunca engellemiştir. *M. psychrotolerans* inokülasyon gruplarında %4 asit konsantrasyonu ile 500 MPa yüksek basınç kombinasyonu oldukça başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. *Photobacterium phosphoreum* inokülasyon gruplarında düşük asit konsantrasyonunda 500 MPa basınç uygulaması etkili sonuçlar göstermiş, %4 asit konsantrasyonunda ise yüksek hidrostatik basınç uygulaması tamamen etkin olmuştur.

*Morganella psychrotolerans* inoküle edilmiş %4 asitli marinatlarda TMA-N değerlerinin düşük kalmasında 100 MPa ve üzeri yüksek basınç uygulamaları etkili olmuş, ancak düşük asit konsantrasyonunda sadece 500 MPa basınç uygulaması başarılı olmuştur. *Photobacterium phosphoreum* ile inoküle edilen gruplarda her iki asit grubunda da 300 MPa ve üzeri yüksek basınç uygulamaları oldukça etkili olmuştur.

Ringa marinatında pH değişimleri göz önünde bulundurulduğunda, *M. psychrotolerans* ile inoküle edilen her iki asit konsantrasyonunda da yüksek hidrostatik basınç uygulaması pH değerlerinin kontrol grubuna göre düşük değerlerde kalmasını sağlamıştır. *Photobacterium phosphoreum* inokülasyon gruplarında yüksek hidrostatik basınç uygulaması kontrol grubuna göre önemli farklılıklar gösterirken, %4 asit gruplarında pH değerlerinde dalgalanmalar gözlenmiştir. TBA değerleri tüm gruplarda depolama boyunca artış göstermiş ancak basınç uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük bulunmuştur. Yüksek hidrostatik basınç uygulanan grupların duyuşsal genel beğenisi depolama boyunca kontrol gruplarından daha iyi olmuştur.

Elde edilen tüm bu sonuçlar doğrultusunda, yüksek hidrostatik basınç uygulamasının ringa marinatında mikroorganizma gelişimini, biyojen amin oluşumunu ve kaliteyi etkilediği görülmektedir. Marinatta kalitenin korunarak daha uzun raf ömürlü ürün sağlanması ve tüketiciye ürünün dış görünüşü üzerinde değişiklik hissettirmeyen bir teknoloji olan yüksek hidrostatik basınç uygulamasının kullanımı uygun görülmüştür. Ancak yüksek hidrostatik basınç uygulamasının etkinliği uygulanan basıncın seviyesine, süresine ve ürünün asitlik düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Isıl olmayan bir muhafaza teknolojisi olan yüksek hidrostatik basınç uygulamasının su ürünlerinde kullanımı ile ilgili oldukça çalışma mevcut olup marinat üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda balık marinatında mikroorganizmaların gelişiminin ve biyojen amin üretiminin kontrol altına alınması, tüketiciye daha güvenli ürün sunulması amacıyla yüksek hidrostatik basınç kullanımının oldukça başarılı bir teknoloji olduğu düşünülmektedir. Ancak konunun daha fazla araştırılması ve açığa kavuşturulması amacıyla sonraki çalışmalarda dah fazla asit ve tuz konsantrasyonu kombinasyonları kullanılmalıdır. Ayrıca yüksek hidrostatik basınç uygulamalarında süre, sıcaklık ve basınç kombinasyonlarının doğrudan etkili olması nedeniyle daha fazla süre, sıcaklık ve basınç kombinasyonlarının denenmesi daha uygun olacaktır. Böylelikle önemli bir gıda zehirlenmesi olan histamin oluşumunun yüksek hidrostatik basınç uygulaması ile engellenerek gıda güvenliğinin sağlanması ve tüketici sağlığının korunmasına da katkıda bulunulacaktır.

## KAYNAKLAR

- ABABOUCHE, L., AFILAL, M.E., BENANDELJELIL, H. and BUSTA, F.F. 1991a. Quantitative changes in bacteria, amino-acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28°C) and in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 26: 297-306.
- ABABOUCHE, L., AFILAL, M.E., RHAFIRI, S. and BUSTA, F.F. 1991b. Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature (25°C). *Food Microbiology*, 8: 127-136.
- AMERINA, M.A., PANGBORN, R.V. and ROESSLER, E.B. 1965. Principles of sensory evaluation of food. Academic Press, p. 602. New York
- ARNOLD, S.H. and BROWN, W. 1978. Histamine toxicity from fish products. In: *Advances in Food Research*, C.O. Chishester, E.M. Mrak and G.F. Stewart (Editors), Academic Press. pp. 113-154. New York.
- ATLAS, R.M. and PARKS, L.C. 1997. Handbook of Microbiologic al Media, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- BAKAR, J., YASSORALIPOUR, A., BAKAR, F. A. and RAHMAN, R.A. 2010. Biogenic amine changes in barramundi (*Lates calcarifer*) slices stored at 0°C and 4°C. *Food Chemistry*, 119: 467-470.
- BANWART, C., ADLERCREUTZ, H., WAHALA, K., BRUNOW, G. and HASE, T. 1987. Isoflavonic Phytoestrogens in Humans - Identification and Metabolism. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 23 (11): 1732-1732.
- BANWART, W.L., PORTER, P.M., HASSETT, J.J. and WALKER, W.M. 1987. Simulated Acid-Rain Effects on Yield Response of 2 Corn Cultivars. *Agronomy Journal*, 79 (3): 497-501.
- BARTHOLOMEW, B.A., BERRY, P.R., RODHOUSE, J.C., GILBERT, R.J. and MURRAY, C.K. 1987. Scombrototoxic fish poisoning in Britain: features of over 250 suspected incidents from 1976 to 1986. *Epidemiology and Infection*, 99 (3): 775-782.
- BENNOUR, M., ELMARRAKCHI, A., BOUCHRITI, N., HAMAMA, A. and ELOUADAA, M. 1991. Chemical and Microbiological Assessments of Mackerel (*Scomber-Scombrus*) Stored in Ice. *Journal of Food Protection*, 54 (10): 784-792.
- BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.L.J. and HUIS int VELD, J.H.J. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11: 73-84.

- BUCKENHUSKES, H.J. 1993. Selection Criteria for Lactic-Acid Bacteria to Be Used as Starter Cultures for Various Food Commodities. *Fems Microbiology Reviews*, 12: 253-272.
- CAKLI, S., KILINC, B., CADUN, A., DINCER, T. and TOLASA, S. 2007. Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. *Food Control*, 18 (5): 391-397.
- CHEAH, P.B. and LEDWARD, D.A. 1997. Catalytic mechanism of lipid oxidation following high pressure treatment in pork fat and meat. *Journal of Food Science*, 62: 1135-1139.
- CHEFTEL, J.C. and CULIOLI, J. 1997. Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46 (3): 211-236.
- CHEVALIER, D., LE BAIL, A. and GHOUL, M., 2001. Effect of high pressure treatment (100-200 MPa) at low temperature on turbot (*Scopthalmus maximus*) muscle. *Food Research International*, 34: 425:429.
- CLUCAS, I.J. and WARD, A.R. 1991. Marinades. Post-Harvest Fisheries Development: A Guide to Handling, Preservation Processing and Quality, pp. 273-277.
- CONNELL, J.J. 1980. Marinades. In: Control of fish quality (2nd edition), Torry Research Station, Aberdeen, pp.102-105. Scotland.
- CONNELL, J.J. 1980. Marinades. In: Control of Fish Quality (2nd edition), Scotland: Torry Research Station, pp. 102-105. Aberdeen.
- CREHAN, C. M., TROY, D. J. and BUCKLEY, D. J. 2000. Effects of salt level and high hydrostatic pressure processing on frankfurters formulated with 1.5 and 2.5% salt. *Meat Science*, 55 (1): 123-130.
- DALGAARD, P. 1996. Predictive modelling and time-temperature integration. *Refrigeration and Aquaculture*, 409-419.
- DALGAARD, P. 2000. Fresh and lightly preserved seafood. In: Man CD, Jones AA (Editor), Shelf life evaluation of foods, Aspen Publishing, pp. 110-139. Frederick, MD.
- DALGAARD, P. and EMBORG, J. 2008a. Modelling the effect of temperature, carbon dioxide, water activity and pH on growth and histamine formation by *Morganella psychrotolerans*. *International Journal of Food Microbiology*, 128: 226-233.
- DALGAARD, P., EMBORG, J., KJOLBY A., SORENSEN, N.D. and BALLIN, N.Z. 2008. Histamine and biogenic amines: Formation and importance in seafood. In: Improving Seafood Products for the Consumer, Woodhead Publishing, Cambridge, England.



- DALGAARD, P., GRAM, L. and HUSS, H.H. 1993. Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 19: 283-294.
- DALGAARD, P., MADSEN, H.L., SAMIEIAN, N. and EMBORG, J. 2006. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone belone*) - effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 0-95.
- DALGAARD, P., MADSEN, H.L., SAMIEIAN, N. and EMBORG, J. 2006. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (*Belone belone belone*)-effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 80-95.
- DALGAARD, P., MEJHOLM, O. and HUSS, H.H. 1996. Conductance method for quantitative determination of *Photobacterium phosphoreum* in fish products. *Journal of Applied Bacteriology*, 81: 57-64.
- DALGAARD, P., MEJHOLM, O., CHRISTIANSEN T.J. and HUSS, H.H. 1997. Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere packed fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 373-378.
- DALGAARD, P., MEJHOLM, O., CHRISTIANSEN, T.J. and HUSS, H.H. 1997. Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere packed fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 373-378.
- DALGAARD, P., MUNOZ, L.G. and MEJLHOLM, O. 1998. Specific inhibition of *Photobacterium phosphoreum* extends the shelf life of modified-atmosphere-packed cod fillets. *Journal of Food Protection*, 61: 1191-1194.
- DOKUZLU, C. 1997. Determination of shelf-life and the effects of different acid-salt ratio on the microbiological and sensory qualities during the production of marinated anchovy. *Journal of Pendik Veterinary Microbiology*, 28: 81-90.
- DRAISCI, R., VOLPE, G., LUCENTINI, L., CECILIA, A., FEDERICO, R. and PALLESCHI, G. 1998. Determination of biogenic amines with an electrochemical biosensor and its application to salted anchovies. *Food Chemistry*, 62 (2): 225-232.
- EEROLA, S., OTEGUI, I., SAARI, L. and RIZZO, A. 1998. Application of liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry and tandem mass spectrometry to the determination of volatile nitrosamines in dry sausages. *Food Additives and Contaminants*, 15 (3): 270-279.
- EITENMILLER, R.R. and DESOUZA, S.C. 1984. Enzymatic Mechanisms for Amine Formation in Fish. *Acs Symposium Series*, 262: 431-442.

- EKE, J., ACHINEWHU, S. C., SANNI, L., BARIMALAA, I. S., MAZIYA-DIXON, B. and DIXON, A. 2007. Seasonal variations in the chemical and functional properties of starches from local and improved cassava varieties in high rainfall region of Nigeria. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5: 36-42.
- EL MARRAKCHI, A., BENNOUR, M., BOUCHRITI, N., HAMAMA, A. and TAGAFAIT, H. 1990. Sensory, chemical, and microbiological assessment of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Food Protection*, 53: 600-605.
- EMBORG, J. and DALGAARD, P. 2008b. Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella psychrotolerans* and *Morganella morgani*-development and evaluation of predictive models. *International Journal of Food Microbiology*, 128: 234-243.
- EMBORG, J., LAURSEN, B.G. and DALGAARD, P. 2005. Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacares*) at 2°C-effect of vacuum and modified atmosphere packaging on psychrotolerant bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 101: 263-279.
- ERKAN, N. ÜRETENER, G. and ALPAS, H. 2010. Effect of high pressure (HP) on the quality and shelf life of red mullet (*Mullus surmelutus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 259-264.
- ERKAN, N., ÜRETENER, G., ALPAS, H., SELÇUK, A., ÖZDEN, Ö. And BUZRUL, S., 2011a. The effect of different high pressure conditions on the quality and shelf life of cold smoked fish. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12: 104-110.
- ERKAN, N., ÜRETENER, G., ALPAS, H., SELÇUK, A., ÖZDEN, Ö., BUZRUL, S., 2011b. Effect of High Hydrostatic Pressure (HHP) Treatment on Physicochemical Properties of Horse Mackerel (*Trachurus trachurus*). *Food Bioprocess Technology*, 4: 1322-1329.
- FDA 1998. Potential Food Safety Hazard. Chapter 9: Aerobic Plate Count. 1-13.
- FDA. 2011. Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/FoodGuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFishesProductsHazardsandControlsGuide/default.htm>.
- FERNANDEZ-SALGUERO, J. And MACKIE, I.M. 1987. Technical note: Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of spanish canned fish. *International Journal of Food Science and Technology*, 22: 409-412.
- FRANK, H.A., BARANOWSKI, J.D. CHONGSIRIWATANA, M., BRUST, P.A. and PREMARATUE, R.J. 1985. Identification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi mahi after incubation at 0 and 32°C. *International Journal of Food Microbiology*, 2: 331-340.

- FUJII, T., HIRAISHI, A., KOBAYASHI, T., YOGUCHI, R. and OKUZUMI, M. 1997. Identification of the psychrophilic histamine-producing marine bacteria previously referred to as the N-group bacteria. *Fisheries Science*, 63: 807-810.
- FURUTANI, A., MATSUBARA, H., ISHIKAWA, S. and SATOMI, M. 2013. Behavior of histamine-producing bacteria in shimesaba, raw mackerel salted and marinated in vinegar during processing and storage at various temperatures. *Fisheries Science*, 7: 725-733.
- FUSELLI, S., CASALES, M., FRITZ, R. and YEANNES, M. 1998. Isolation and Characterization of Microorganisms Associated with Marinated Anchovy (*Engraulis anchoita*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 7 (3): 29-38.
- FUSELLI, S.R., CASALES, M.R., FRITZ, R. and YEANNES, M.I. 1994. Microbiology of the marination process used in anchovy (*Engraulis anchoita*) production. *LWT-Food Science and Technology*, 2: 214-218.
- GARRIGA, M., GREBOL, N., AYMERICH, M.T., MONFORT, J.M. and HUGAS, M. 2004. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 451-457.
- GÖKOĞLU, N. 2003. Changes in biogenic amines during maturation of sardine (*Sardina pilchardus*) marinade. *Fisheries Science*, 69: 823-829.
- GÖKOĞLU, N., CENGİZ, E. and YERLİKAYA, P. 2004. Determination of the shelf life of marinated sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4°C. *Food Chemistry*, 15: 1-4.
- GÖKOĞLU, N., TOPUZ, O.K. and YERLİKAYA, P. 2009. Effects of pomegranate sause on quality of marinated anchovy during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 42: 113-118.
- GÖKOĞLU, N., YERLİKAYA, P. and CENGİZ, E. 2004. Changes in biogenic amine contents and sensory quality of sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4 and 20°C. *Journal of Food Quality*, 27: 221-231.
- GRAM, L. and DALGAARD, P. 2002. Fish spoilage bacteria - problems and solutions. *Current Opinion Biotechnology*, 13: 262-266.
- GRAM, L. and HUSS, H.H. 1996. Fresh and processed fish and shellfish Chapter 23 B.M. Lund, A.C. Baird-Parker, G.W. Gould (Editors), *Microbiology of Food*, Chapman and Hall, London.
- GRAM, L., RAVN, L., RASCH, M., BRUHN, J.B., CHRISTENSEN, A.B. and GIVSKOV, M. 2002. Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 79 –97.

- GUERRERO-BELTRAN, J., BARBOSA-CANOVAS, G. and SWANSON, B. 2005. High hydrostatic pressure processing of fruit and vegetable products. *Food Reviews International*, 21: 411-425.
- GUIZANI, N., AL-BUSAIDY, M.A., AL-BELUSHI, I. M., MOTHERSHAW, A. and RAHMAN, M.S. 2005. The effect of storage temperature on histamine production and the freshness of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Research International*, 38 (2): 215-222.
- GÜN, H., GÖKOĞLU, N. ve VARLIK, C. 1994. Alabalık (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) *Marinatında Olgunlaşma Süresinin Belirlenmesi*. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 1-2.
- HALASZ, A., BARATH, A., SIMON-SARKADI, L. and HOLZAPFEL, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5: 42-49.
- HEINZ, V. and KNORR, D. 1998. High pressure germination and inactivation kinetics of bacterial spores. In: High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry. N.S. Isaacs (Editor). The Royal Society Chemistry. p. 436-441. Cambridge, UK.
- HENDRICKX, M., LUDIKHUYZE, L., VAN DEN BROECK, I. and WEEMAES, C. 1998. Effects of High Pressure on Enzymes Related to Food Quality. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 197-203.
- HITE, B.H. 1899. The effect of pressure in the preservation of milk. Bull W.V. Univ. Agric. Exp. Sta., Morgantown, 58: 15-35.
- HITE, B.H., GIDDINGS, N.J. and WEAKLY, C.E. 1914. The effects of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables. In: Farkas and Hoover, 2000. pp. 146: 1-67 Morgantown. Bull WV Univ. Agric. Exp. Sta. Morgantown.
- HORNERO-MENDEZ, D. and GARRIDO-FERNANDEZ, A. 1997. Rapid high-performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. *Journal of Food Protection*, 60 (4): 414-419.
- HORNERO-MENDEZ, D. and GARRIDO-FERNANDEZ, A. 1997. Rapid high-performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. *Journal of Food Protection*, 60: 414-419.
- HUGAS, M., GARRIGA, M. and MONFORT, J.M. 2002. New mild technologies in meat processing: High pressure as a model technology. *Meat Science*, 62: 359-371.
- HUIS int VELD, J.H.J. 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 1-18.

- HULTIN, H.O. 1994. Oxidation of lipids in seafoods. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality. F. Shahidi and Botta, J.R. (Editors.), Blackie Academic and Professional, pp. 49-74
- HUNGERFORD, J.M. 2010. Scombroid poisoning: a review. *Toxicon*, 56: 231-243.
- HUSS, H.H., ABABOUCHE, L. and GRAM, L. 2003. Assessment and management of seafood safety and quality. FAO, pp., 230. Rome.
- HUSS, H.H., ABABOUCHE, L. and GRAM, L. 2004 Assessment and Management of Seafood Safety and Quality. FAO Fisheries Technical Paper No. 444. FAO, Rome.
- HYPERBARIC 2012. High pressure processing commercial applications and equipment, personal communication.
- JOOSTEN, H.M.L.J. 1988. The biogenic amine contents of dutch cheese and their toxicological significance. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 4: 25-42.
- JORGENSEN, L.V., HUSS, H.H. and DALGAARD. 2000. The effect of biogenic amine production by single bacterial cultures and metabiosis on cold-smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 920-934.
- KANKI, M., YODA, T., ISHIBASHI, M. and TSUKAMOTO, T. 2004. *Photobacterium phosphoreum* caused a histamine fish poisoning incident. *International Journal of Food Microbiology*, 92: 79-87.
- KARIM, N.U., KENNEDY, T., LINTON, M., WATSON, S., GAULT, N. And PATTERSON M.F. 2011. Effect of high pressure processing on the quality of herring (*Clupea harengus*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stored on ice. *Food Control*, 22: 476-484.
- KARIM, N.U., KENNEDY, T., LINTON, M., WATSON, S., GAULT, N. and PATTERSON, M.F. 2011. Effect of high pressure processing on the quality of herring (*Clupea harengus*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stored in ice. *Food Control*, 22: 476-484.
- KARL, H. and SCHREIBER, W. 1990. Salz und Säuregehalt von Marinaden: eine status-quo-Untersuchung. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 9: 286-288.
- KARL, H., ROEPSTORF A., HUSS H.H and BLOEMSMA B. 1995. Survival of *Anisakis* larvae in marinated herring fillets. *International Journal of Food Science and Technology*, 29: 661-670.
- KHAYAT, A. and SCHWALL, D. 1983. Lipid oxidation in seafood. *Food Technology*, 130-140.
- KIETZMANN, U., PRIBE, K., RAKAU, D. and REICHSTEIN, K. 1969. Seefisch als Lebensmitteltechnik Paul Parey Verlag. pp. 63-79. Hamburg-Berlin.

- KILINÇ, B., ÇAKLI, S., CADUN, A., DINCER, T. and TOLASA, S. 2007. Comparison of effects of slurry ice and flake ice pretreatments on the quality of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4°C. *Food Chemistry*, 104 (4): 1611-1617.
- KILINÇ, B. 2003. A study on marination of sardine (*Sardina pilchardus*) fillets and its shelf life. Ege University, Institute of Fish Processing Technology, PhD Thesis, Izmir, Turkey.
- KILINÇ, B. and ÇAKLI, C. 2005. Determination of the shelf life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4°C. *Food Control*, 16: 639-644.
- KILINÇ, B. and ÇAKLI, S. 2005. The determination of the shelf life of pasteurized and non-pasteurized sardine (*Sardina pilchardus*) marinades stored at 4°C. *International Journal of Food Science and technology*, 40 (3): 265-271.
- KILINÇ, B. ve ÇAKLI, Ş. 2004. Marinat Teknolojisi. *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21: 153-156.
- KIM, D.H., KIM, K.B.W. and AHN, D.H. 2013. Inhibitory effects of high-hydrostatic-pressure treatments on histamine production in mackerel (*Scomber japonicus*) muscle inoculated with *Morganella morganii* and *Photobacterium phosphoreum*. *Food Control*, 34: 307-311.
- KIM, S.H., AN, H.J. and PRICE, R.J. 1999. Histamine formation and bacterial spoilage of albacore harvested off the U.S. northwest coast. *Journal of Food Science*, 64: 340-343.
- KIM, S.H., BARROS-VELAZQUEZ, J., BEN-GIGIREY, B., EUN, J.B., JUN, S.H., WEI, C.I. and AN, H.J. 2003b. Identification of the main bacteria contributing to histamine formation in seafood to ensure product safety. *Food Science and Biotechnology*, 12: 451-460.
- KIM, S.H., FIELD, K.G., CHANG, D.S., WEI, C.I. and AN, H. 2001. Identification of bacteria crucial to histamine accumulation in pacific mackerel during storage. *Journal of Food Protection*, 64: 1556-1564.
- KIM, S.H., PRICE, R.J., MORRISSEY, M.T., FIELD, K.G., WEI, C.I. and AN, H.J. 2002. Histamine production by *Morganella morganii* in mackerel, albacore, mahi-mahi and salmon at various storage temperatures. *Journal of Food Science*, 67: 1522-1528.
- KIMATA, M. 1961. The histamine problem. In G. Borgstrom (Editor), *Fish as Food*, Academic Press, pp. 329-52. New York.
- KRIZEK, M., MATEJKOVA, K., VACHA, F. and DADAKOVA, E. 2014. Biogenic amines formation in high-pressure processed pike flesh (*Esox lucius*) during storage. *Food Chemistry*, 151: 466-471.

- LEHANE, L. and OLLEY, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*, 58: 1-37.
- LEHANE, L. and OLLEY, J. 2000. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*, 58: 1-37.
- LOPEZ DE LACEY, A.M., LOPEZ-CABALLERO, M.E. and MONTERO, P. 2014. Agar film containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf life. *LWT-Food science and Technology*, 55: 559-564.
- LOPEZ-CABALLERO, M.E., ALVARES TORRES, M.D., SANCHEZ-FERNANDEZ, J.A. and MORAL, A. 2002. *Photobacterium phosphoreum* isolated as a luminescent colony from spoiled fish, cultured in model system under controlled atmospheres. *European Food Research Technology*, 215: 390-395.
- LOPEZ-SABATER, E.I., RODRIGUEZ-JEREZ, J.J., HERNANDEZ-HERRERO, M. and MORA-VENTURA, M.T. 1996a. Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 411-418.
- LOPEZ-SABATER, E.I., RODRIGUEZ-JEREZ, J.J., HERNANDEZ-HERRERO, M.M., ROIG-SAGUES, A.X. and MORA-VENTURA, M.T. 1996b. Sensory quality and histamine formation during controlled decomposition of tuna (*Thunnus thynnus*). *Journal of Food Protection*, 59: 167-174.
- LUDORFF, W. and MEYER, V. 1973. Fische und fischerzeugnisse. Paul Parey Verlag, 309 pp. Hamburg-Berlin.
- MALLE, P. and POUMEYROL, M. 1989. A new chemical criterion for the quality control of fish: Timethylamine/Total Volatile Basic Nitrogen. *Journal of Food Protection*, 52 (6): 419-423.
- MANTHEY, M., KARNOP, G. and REHBEIN, H. 1988. Quality changes of European catfish (*Silurus glanis*) from warm-water aquaculture during storage ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 23: 1-9.
- MATEJKOVA, K., KRIZEK, M., VACHA, F. and DADAKOVA, E. 2013. Effect of high-pressure treatment on biogenic amines formation in vacuum-packed trout flesh (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 137: 31-36.
- MAUGUIN, S. and NOVEL, G. 1994. Characterization of lactic acid bacteria isolated from seafood. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 616-625.
- MCLAY, R. 1972. Marinades. Torry Advisory Note No: 56. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Torry Research Station. Aberdeen.
- MEDINA-MEZA, I.G., BARNABA, C. and BARBOSA-CANOVAS, G.V. 2014. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22: 1-10.

- MEJLHOLM, O. and DALGAARD, P. 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology*, 34: 27-31.
- METRICK, C., HOOVER, D.G. and FARKAS, D.F. 1989. Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 54: 1547-1564.
- MEYER, V. 1965. Marinades. In: G. Borgstrom (Editor.), *Fish as food*, Vol. 3, Part 1, pp. 221. New York: Academic Press.
- MIDDLEBROOKS, B.L., TOOM, P.M., DOUGLAS, W.L., HARRISON, R.E. and MCDOWELL, S. 1988. Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*). *Journal of Food Science*, 53: 1024-1029.
- MIETZ, J.L. and KARMAS, E. 1977. Chemical quality index of canned tuna as determined by high pressure liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 42: 155-158.
- MONTIEL, R., ALBA, M.D., BRAVO, D., GAYA, P. and MEDINA, M. 2012. Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage. *Food Control*, 23: 429-436.
- MORARU, C. 2008. 21 Annual Cornell Conference on Dairy Markets and Product Research, Cornell University, Syracuse.
- MOTA, M.J., LOPES, R.P., DELGADILLO, I. and SARAIVA, J.A. 2013. Microorganisms under high pressure-Adaptation, growth and biotechnological potential. *Biotechnology Advances*, New York, 1493-1494.
- NOGUES, M., MARINE-FORT, A., VIDAL-CAROU, M.C. 1997. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tunas. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2036-2041.
- OKUZUMI, M., HIRAISHI, A., KOBAYASHI, T. and FUJII, T. 1994. *Photobacterium histaminum* sp. nov., a histamine-producing marine bacterium. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44: 631-636.
- OKUZUMI, M., OKUDA, S. and AWANO, M. 1982. Occurrence of psychrophilic and halophilic histamine forming bacteria (N-Group bacteria) on/in red meat fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48: 799-804.
- OLGUNOĞLU, İ.A. 2007. Marine edilmiş hamside (*Engraulis Engrasicholus*) duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 111s.
- ORLIEN, V., HANSEN, E., SKIBSTEN, L.H. 2000. Lipid oxidation in high pressure processed chicken breast muscle during chill storage: Critical Working Pressure



in relation to oxidation mechanism. *European Food Research Technology*, 211: 99-104.

OVAYOLU, H. 1997. Marine Edilmiş Hamsilerde Depolama Süresinde Yağ Asitleri Değişimlerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, T.C. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 71s.

ÖZOĞUL, F., ÖZOĞUL, Y. and KULEY, E. 2008. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4°C). *Food Chemistry*, 108 (3): 933-941.

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. ve BAYGAR, T. 2003. Farklı paketlenme yöntemlerinin marine edilmiş Balıkların bazı kalite kriterleri üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 27: 899-906.

ÖZDEN, Ö. ve GÖKOĞLU, N. 1996. Soğukta saklanan sardalya balığının (*Sardina pilchardus*) (w. 1792) raf ömrünün belirlenmesi. *Gıda Teknolojisi*, 1: 37-42.

ÖZLÜ, H. 2006. Et Teknolojisinde Yüksek Basınç Uygulamaları. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 71, Erzurum.

ÖZOĞUL, F. 2001. The effect packaging systems on quality and safety of herring. PhD dissertation. Lincoln, U.K: Univ.of Lincoln.

ÖZOĞUL, F. KULEY, E. ve ÖZOĞUL, Y. 2004. Balık ve Balık Ürünlerinde Oluşan Biyojenik Aminler. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21: 375-381.

PALA, M. and SAYGI, Y.B. 1987. Catering Uygulamaları: Risk ve Gelecek Perspektifi. *Gıda*, 12: 3-11.

PATTERSON, M.F. 2005. Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 1400-1409.

PICOUET, P.A., COFAN-CARBO, S., VILASECA, H., CARBONÉ BALLBÈ, L. and CASTELLS, P. 2011. Stability of sous-vide cooked salmon loins processed by high pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12: 26-31.

POKORNY, J. 1997. Natural toxic substances in food. *Casopis lekaru ceskych*, 136: 267-270.

POLIGNE, I. And COLLIGNAN, A. 2000. Quick marination of anchovies (*Engraulis encrasicolus*) using acetic and gluconic acids. Quality and stability of the product. *LWT-Food Science and Technology*, 33: 202-209.

- PONS-SANCHEZ-CASCADO, S., VECIANA-NOGUES, M.T., BOVER-CID, S., MARINE-FONT, A. and VIDAL-CAROU, M.C. 2005a. Volatile and biogenic amines, microbiological counts, and bacterial amino acid decarboxylase activity throughout the saltripping process of anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *Journal of Food Protection*, 68: 1683-1689.
- RAMIREZ-SUAREZ, J.C. and MORRISSEY, M.T. 2006. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 19-27.
- RAWLES, D.D., FLICK G.J. 1996. Biogenic Amines in fish and shellfish. *Advances in Food and Nutritional Research*, 39: 329-365.
- RENDUELES, E., OMER, M.K., ALVSEIKE, O., ALONSO-CALLEJA, C., CAPITA, R. and PRIETO, M. 2011. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 44: 1251-1260.
- SALLAM, K.I., AHMED, A.M., ELGAZZAR, M.M. and ELDALY, E.A. 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Food Chemistry*, 102: 1061-1070.
- SALLAM, K.I. Effect of marinating process on the microbiological quality of Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 220-228.
- SAMELIS, J., MAUROGENAKIS, F. and METAXOPOULOS, J. 1994. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 179-196.
- SAN MARTIN, M.F., BARBOSA-CANOVAS, G.V. and SWANSON, B.G. 2002. Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 627-645.
- SANTOS, M.H.S. 1996. Biogenic Amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29: 213-231.
- SCHORMULLER, J. 1968. Handbuch der Lebensmittelchemie, Band III/2 (pp. 1482–1537). Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- SHALABY, A.R. 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29: 675-690.
- SHENDERYUK, V.I., and BYKOWSKI, P.J. 1989. Salting and marinating of fish. In: Z.E. Sikorski (Editor), *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc.

- SIKORSKI, Z.E., KOLAKOWSKA, A. and BURT, J.R. 1989. Post harvest biochemical and microbial changes. *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.
- SILLA SANTOS, M.H. 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29: 213-231.
- SIMAT, V. and DALGAARD, P. 2011. Use of small diameter column particles to enhance HPLC determination of histamine and other biogenic amines in seafood. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (2): 399-406.
- SINGH, P.R. and YOUSEF, A.E. 2001. Technical Elements of new and emerging non-thermal food technologies. <http://www.fao.org/ag/agsi/Nonthermal/nonthermal>
- SMELT, J.P.P.M. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 152-158.
- TAYLOR, S.L. and LIEBER, E.R. 1979. In vitro inhibition of rat intestinal histamine-metabolizing enzymes. *Food and Cosmetics Toxicology*, 17: 237-240.
- TAYLOR, S.L. and SPECKHARD, M.W. 1983. Isolation of histamine-producing bacteria from frozen tuna. *Marine Fisheries Review, National Oceanic and Atmospheric Administration*, 45: 4-6.
- TAYLOR, S.L. and SPECKHARD, M.W. 1984. Inhibition of bacterial histamine production by sorbate and other antimicrobial agents. *Journal of Food Protection*, 47: 508-511.
- TEIXEIRA, B., FIDALGO, L., MENDES, R., COSTA, G., CORDEIRO, C., MARQUES, A., SARAIVA, J.A. and NUNES, M.L. 2014. Effect of high pressure processing in the quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets: Pressurization rate, pressure level and holding time. *Innovative food science and emerging Technologies*, 22: 31-39.
- TEN BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.J. and HUIS int VELD, J.H. 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11 (1): 73-84.
- TIRAKOĞLU, T. 2003. Farklı yöntemlerle depolanan ve marinat hamsi üretiminde kullanılan hamsinin tazeliğinin ürünün mikrobiyolojik ve organoleptik kalitesi üzerine etkilerinin saptanması. T.C. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, 47s.
- TOMAC, A., COVA, M.C., NARVAIZ, P. and YEANNES, M. 2015. Texture, color, lipid oxidation and sensory acceptability of gamma irradiated marinated anchovy fillets. *Radiation Physics and Chemistry*, 106: 337-342.
- TOPUZ, O.K. YERLİKAYA, P. UÇAK, İ. GÜMÜŞ, B. and YATMAZ, H.A. 2014. Effects of olive oil and olive oil-pomegranate juice sauces on chemical,

- oxidative and sensorial quality of marinated anchovy. *Food Chemistry*, 154: 63-70.
- TORIDO, Y., TAKAHASHI, T., KUDA, T., and KIMURA, B. 2012. Analysis of the growth of histamine-producing bacteria and histamine accumulation in fish during storage at low temperatures. *Food Control*, 26: 174-177.
- 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.
- TULSNER, M. 1994. The role of fish in world nutrition (In German). *Nutrition-Reading*, 39 (1): 17-24.
- VAN SPREEKENS, K. 1974. The suitability of a modification of long and hammer's medium for the enumeration of more fastidious bacteria from fresh fishery products. *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*.
- VAN SPREEKENS, K.J.A. 1987. Histamine production by the psychrophilic flora. In: Seafood Quality Determination, D.E. Kramer and J. Liston, (Editors), Elsevier Science Publishers, pp. 309-318. London.
- VARLIK, C., ERKAN, N. ve ÖZDEN, Ö. 2007. Su Ürünleri Temel Kalite Kontrol. İstanbul Üniversitesi Yayın No:8, İstanbul, 202s.
- VARLIK, C., ERKAN, N., ÖZDEN, Ö., MOL, S. ve BAYGAR, T. 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Yayın No.7, İstanbul, 491s.
- VARLIK, C., ERKAN, N., ÖZDEN, Ö., MOL, S. ve BAYGAR, T. 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, s. 491. *İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4465*.
- VARLIK, C., GÖKOĞLU, N. ve GÜN, H. 1993. Marinat Üretiminde Sıcaklığın Sirke/Tuz Geçişi Üzerine Etkisi. *Gıda*, 4: 223-228.
- VARLIK, C., GÖKOĞLU, N. ve GÜN, H. 1993. Marinat üretiminde sıcaklığın sirke/tuz geçişi üzerine etkisi. *Gıda*, 18: 223-228.
- VARLIK, C., UĞUR, M., GÖKOĞLU, N. ve GÜN, H. 1993. Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri”, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 17, İstanbul.
- VAZGUEZ, M., TORRES, J.A., GALLARDO, J.M., SARAIVA, J. and AUBORG, S.P. 2013. Lipid hydrolysis and oxidation development in frozen mackerel (*Scomber scombrus*): Effect of high hydrostatic pressure pre-treatment. *Innovative Food Science and Technology*, 18: 24-30.
- VISCIANO, P., CAMPANA, G., ANNUNZIATA, L., VERGARA, A. and IANIERI, A. 2007. Effect of storage temperature on histamine formation in *Sardian*

*pilchardus* and *Engraulis encrasicolus* after catch. *Journal of Food Biochemistry*, 31: 577-588.

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

YAĞIZ, Y., KRISTINSSON, H.G., BALABAN, M.O., WELT, B.A., RALAT, M. and MARSHALL, M.R. 2009. Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon. *Food Chemistry*, 116: 828–835.

YAPAR , A. 1998. İki Farklı Olgunlaştırma Çözeltisi Kullanarak Hazırlanan Hamsi (*Engraulis encrasicolus*, L., 1758) Marinatlarında Bazı Kalite Değişimleri. *Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi*, 15: 1-7.

YATSUNAMI, K. and ECHIGO, T. 1991. Isolation of Salt Tolerant Histamine-Forming Bacteria from Commercial Rice-Bran Pickles of Sardine. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (9): 1723-1728.

ZORBA, Ö. ve KURT, Ş. 2005. Yüksek basınç uygulamalarının et ve et ürünleri kalitesi üzerine etkisi. *YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16: 71-76.