



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

128 432

VAKUMLU AMBALAJLANMIŞ, SİRKELİ, TUZLU BALIK KONSERVELERİNDE  
MİKROBİYOLOJİK BOZULMALAR

Şule OKTAYLAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

128432

BURSA 2002

T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

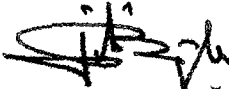
VAKUMLU AMBALAJLANMIŞ , SİRKELİ , TUZLU BALIK KONSERVELERİNDE  
MİKROBİYOLOJİK BOZULMALAR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ŞULE OKTAYLAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 07/11/2002 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir



Prof. Dr. Fikri BAŞOĞLU

Danışman



Prof. Dr. Ahmet Yücel

Üye



Doç. Dr. Ümran Şahan

Üye

## ÖZET

Bu araştırma ülkemizde üretilen vakum ambalajlanmış , soğutulmuş , sirkeli , tuzlu balık konservelerinin mikrobiyolojik durumlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır .

Vakum ambalajlanmış , soğutulmuş , sirkeli , tuzlu balık konservesi örneklerinde fiziksel olarak pH değeri , kimyasal olarak % tuz oranı ve mikrobiyolojik olarak toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı , toplam psikrotrofik bakteri sayısı , koliform , *Escherichia coli* sayısı , koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayısı , *Salmonella* , *Listeria* , küf ve maya sayıları saptanmıştır . Sonuçlar istatistiksel olarak varyans analiz ve çoklu t-testleri yapılarak değerlendirilmiştir .

Vakum ambalajlanmış , soğutulmuş , sirkeli , tuzlu balık konservesi örneklerinde pH değerlerinin 3.77 -4.45 aralığında olduğu görülmüştür. . % tuz oranı 3.22 -5.32 olarak tespit edilmiştir. Aynı numunelerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 150.000 - 1.800.000 kob / g konserve , toplam psikrotrofik bakteri sayısının 120.000 - 1.800.000 kob / g konserve , koliform sayısının 18 - 140 kob / g konserve , *Escherichia coli* sayısının 0 -5.6 kob / g konserve , koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayısının 300 - 7000 kob / g konserve , küf ve maya sayılarının 100 - 9000 kob / g konserve ve 1600 - 18.000 kob / g konserve arasında olduğu görülmüştür .Aynı örneklerde *Salmonella* ve *Listeria* tespit edilememiştir .

Yapılan varyans analizlerinin sonuçlarına göre ürün çeşitlerinin  $p < 0.001$  seviyesinde pH , % tuz , toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı , küf ve maya sayısı açısından önemli farka sahip oldukları görülmüştür . Diğer parametreler için ürünler arasında önemli fark görülmemiştir. Firmalar arasında mikrobiyolojik durum ve % tuz açısından fark görülmemiş olup % 1 alfa seviyesinde pH değerleri bakımından önemli fark tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler :

Balık ,salamura , mikroorganizma , bozulma

## ABSTRACT

This research was made to find out the microbiological status of the vacuum packaged , marinated cold fish preserves .

In this research pH value and salt content ( % ) was determined . Also total mesophylic aerobic plate count , psychrotrophic plate count , number of total coliform , *Escherichia. coli* , coagulase positif *Staphylococcus aureus* , *Salmonella* , *Listeria* , yeast and mold count was determined .

For these samples pH value was between 3.77 and 4.45 and the salt content was between 3.22 and 5.32 .Total mesophylic aerobic plate count was calculated as 150.000 - 1.800.000 cfu / g sample. Total psychrotrophic plate count was found as 120.000 - 1.800.000 cfu / g sample . Coliform count changed from 18 to 140 cfu / g sample and *Escherichia coli* count from 0 to 5.6 cfu / g sample . Number of coagulase positif *Staphylococcus aureus* was between 300 - 7000 cfu / g sample . Yeast and mold count was calculated as 1600 -18.000 and 100 - 9000 cfu / g sample . *Salmonella* and *Listeria* was absent all of the samples .

According to the results of statistical variation analysis at  $p < 0.001$  level there were significant differences between product types in terms of pH value , salt content , total mesophylic aerobic plate count , yeast and mold count . For other parameters there were no significant differences . Between different firms no significant differences were found for their microbiological status and salt contents. In terms of pH value at % 1 alfa level there was significant difference between firms.

### Key words:

Fish

Marinated

Microorganism

Spoilage

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

|   | Sayfa no |
|---|----------|
| 1 - GİRİŞ   | 1        |
| 2 - KAYNAK ARAŞTIRMASI  | 4        |
| 2.1. Temel Bileşenleri  | 4        |
| 2.1.1. Yağlar ve Lipidler   | 6        |
| 2.1.2. Proteinler   | 7        |
| 2.1.3. Azotlu Bileşikler  | 9        |
| 2.1.4. Vitaminler ve Mineraller   | 9        |
| 2.2. Bakteriyolojik Değişiklikler   | 12       |
| 2.2.1. Canlı Balıklardaki Bakteriye Flora                                   | 12       |
| 2.2.2. Mikrobiyel Bulaşma   | 13       |
| 2.2.3. Depolama Sırasında Mikroflorada Meydana Gelen<br>Değişiklikler       | 13       |
| 2.2.4. Bakteriye Gelişme Sırasında Meydana Gelen Biyokimyasal<br>Değişimler | 14       |
| 2.2.4.1. Trimetilaminoksitin İndirgenmesi                                   | 14       |
| 2.3. Balıkta Meydana Gelen Diğer Değişimler                                 | 17       |
| 2.4. Salamura Yöntemi   | 19       |
| 2.5. Analizi yapılan Mikroorganizmalar , Özellikleri ve Önemleri            | 22       |
| 2.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i>   | 22       |
| 2.5.2. <i>Salmonella</i>  | 26       |
| 2.5.3. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Koliformlar</i>                        | 28       |
| 2.5.4. <i>Listeria monocytogenes</i>  | 29       |
| 2.5.5. Küf ve Mayalar   | 30       |
| 2.5.6. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri                                     | 31       |
| 2.5.7. Toplam Psikrotrofik Bakteri  | 32       |

|  | Sayfa no |
|--|----------|
| 3 - MATERYAL VE METOT  | 33       |
| 3.1. Materyal  | 33       |
| 3.2. Metot   | 33       |
| 3.2.1. Ph Değerinin Ölçümü   | 33       |
| 3.2.2. % Tuz Tayini  | 33       |
| 3.2.3. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı                         | 34       |
| 3.2.4. Toplam Psikrotrofik Bakteri Sayımı                              | 37       |
| 3.2.5. Koliform ve <i>Escherichia coli</i> sayımı                      | 37       |
| 3.2.6. Koagülaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> Tespiti           | 39       |
| 3.2.7. Küf Ve Maya Sayımı  | 42       |
| 3.2.8. <i>Listeria</i> Tespiti   | 43       |
| 3.2.9. <i>Salmonella</i> Tespiti                                       | 45       |
| 4 - ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA                                    | 47       |
| 4.1.Ph Değerleri   | 47       |
| 4.2.% Tuz Değerleri  | 49       |
| 4.3.Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları                                    | 51       |
| 4.3.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı Sonuçları               | 51       |
| 4.3.2. Toplam Psikrotrofik Bakteri Sayımı Sonuçları                    | 54       |
| 4.3.3. Koliform Sayımı Ve <i>Escherichia coli</i> Sayımı Sonuçları     | 55       |
| 4.3.4. Koagülaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> Tespiti Sonuçları | 59       |
| 4.3.5. Küf ve Maya Sayımı Sonuçları                                    | 61       |
| 4.3.6. <i>Salmonella</i> Tespiti Sonuçları                             | 64       |
| 4.3.7. <i>Listeria</i> Tespiti Sonuçları                               | 65       |
| 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER  | 66       |
| KAYNAKLAR  | 68       |
| EK 1   | 75       |
| TEŞEKKÜRLER  |          |
| ÖZGEÇMİŞ   |          |

## SİMGELER DİZİNİ

M : molarite

°C : santigrad derece

g : gram

ml : mililitre

% : yüzde

< : küçüktür

mg : miligram



## ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 2.1. Balık etini kimyasal yapısı ve diğer etlerle karşılaştırılması
- Çizelge 2.2. Temel aminoasitlerin değişik ürünlerdeki yüzdeleri
- Çizelge 2.3 . Balıkta bulunan protein olmayan azotlu maddeler
- Çizelge 2.4 .Balık kasının vitamin içeriği
- Çizelge 2.5. Balık kasının mineral içeriği
- Çizelge 2.6. Temiz sularda avlanan balıklarda mikroflora
- Çizelge 2.7. Balıklarda tazelik kriterlerinin belirlenmesi
- Çizelge 2.8. Gıda koruma yöntemleri ve koruma parametreleri
- Çizelge 2.9. İşlenmiş ( füme , salamura vb. ) balıklarda aranacak analizler
- Çizelge 2.10. Mikroorganizmaların gelişme koşulları
- Çizelge 2.11. Jerm gelişimi ve enterotoksin üretiminde sınırlayıcı sıcaklık değerleri ile su aktivitesi ve ph değerleri
- Çizelge 4.1.1. pH sonuçları
- Çizelge 4.1.2. pH için varyans analiz tablosu
- Çizelge 4.1.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( pH )
- Çizelge 4.1.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( pH)
- Çizelge 4.2.1. % tuz sonuçları
- Çizelge 4.2.2.Varyans analiz tablosu ( % tuz için )
- Çizelge 4.2.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( % tuz )
- Çizelge 4.2.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( % tuz )
- Çizelge 4.3.1.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı
- Çizelge 4.3.1.2.Varyans analiz tablosu (Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için )
- Çizelge 4.3.1.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları (Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için )
- Çizelge 4.3.1.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları (Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için )
- Çizelge 4.3.2.1. Toplam psikrotrofik bakteri sayısı
- Çizelge 4.3.2.2.Varyans analiz tablosu (Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )



- Çizelge 4.3.2.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları (Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )
- Çizelge 4.3.2.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları (Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )
- Çizelge 4.3.3.1. Toplam koliform sayım sonuçları
- Çizelge 4.3.3.2.Varyans analiz tablosu ( Koliform sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.3.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( Koliform sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.3.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( Koliform sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.3.5. *Escherichia coli* sayım sonuçları
- Çizelge 4.3.3.6.Varyans analiz tablosu ( *Escherichia coli* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.3.7. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( *Escherichia coli* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.3.8. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları (*Escherichia coli* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.4.1. Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları
- Çizelge 4.3.4.2.Varyans analiz tablosu( *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.4.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları (*Staphylococcus aureus* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.4.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.5.1. Küf sayım sonuçları
- Çizelge 4.3.5.2.Varyans analiz tablosu ( Küf sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.5.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( Küf sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.5.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( Küf sayım sonuçları için )
- Çizelge 4.3.5.5. Maya sayım sonuçları
- Çizelge 4.3.5.6. Varyans analiz tablosu ( Maya sayım sonuçları için )

**Çizelge 4.3.5.7. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları (Maya sayım sonuçları için )**

**Çizelge 4.3.5.8. Firmalar için çoklu t–testi sonuçları (Maya sayım sonuçları için )**



## GİRİŞ

Toplumunu oluşturan bireylerin büyüme , fizyolojik ve zihinsel gelişmelerini sağlama ve yaşamlarını sürdürebilmeleri için beslenmeye gereksinimleri vardır .Beslenme toplumun sağlıklı olmasında , ekonomisinde ve kalkınmasında temel işlevdir . Beslenme işlevini sağlayan maddeler “besin elementleri “ , besin elementlerini içeren , işlenmiş ve doğal haldeki hayvansal , bitkisel ve sentetik kökenli yenilebilir veya içilebilir karakterli maddeler ise “ gıda “ olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2002). İnsan yaşantısının büyük bir kısmını beslenme gereksinimini gidermek için harcamaktadır . İlk çağlarda insanoğlu sadece gıda temini ve elde ettiği gıdayı muhafaza ile uğraşmakta idi. Günümüzde teknoloji sayesinde gıdaları muhafaza etmek kolaylaşmıştır . Ancak dünya nüfusundaki artış göz önüne alındığında sınırlı besin kaynaklarının daha kontrollü ve bilinçli kullanılması gerektiği görülmektedir . Günümüzde yalnızca açlığın giderilmesi aracılığıyla değil , aynı zamanda vücuda alınan besinlerin sahip oldukları içerikler ve sağladıkları yararlar da incelenen konular arasında yer almaktadır (Anonim 2002 ).

Toplumda görülen yetersiz ve dengesiz beslenmenin asıl nedenlerinin başında olan beslenme bilinçlenmenin yetersiz olmasının yanında üretimden tüketime kadar olan aşamalarda kayıpların önlenmemesi ,ülke düzeyinde dengeli ve uygun bir şekilde dağıtım yapılmamasıdır. Sağlıklı büyüme ve gelişmenin sağlanabilmesi , yaşamın sağlıklı devam ettirilebilmesi için gıda maddelerinin dengeli olarak tüketilmesi gerekmektedir . Besin maddeleri protein , yağ , karbonhidrat , vitamin ve mineralleri içerirler . Besin maddeleri içeriklerine ve içeriklerinin miktarlarına göre değerlendirilirler .Beslenme uzmanları sağlıklı diyet programları hazırlayabilmek için besinlerin kimyasal kompozisyonlarını göz önünde bulundurmaktadırlar . (Murray ve Burt,1977 )

Su ürünleri temel beslenme gereksinimlerini karşılayabilecek nitelikte gıda maddeleridir . Hayvansal proteünlü gıdalar sınıfına girerler .Hücre yapıtaşı olarak görev yapan en önemli besin ögesi proteinlerdir . Gelişmekte olanların ve yetişkinlerin temel aminoasit gereksinimi proteinlerce karşılanabilmektedir . Yetişkin bir insanın günlük protein gereksinimi 1 g / kg vücut ağırlığı olup , bu

miktarın en az üçte birinin hayvansal kökenli proteinlerden karşılanması gerekmektedir (İnal, 1992 ). Balık eti % 17 - 22 oranında protein içermektedir . Balık etine asıl enerji veren temel besin ögesi yağdır . Balık yağları , yağda eriyen vitaminleri bünyesinde barındırdığı gibi yüksek derecede doymamış yağ asitlerine sahiptir . Bu özelliklerinden dolayı kalp ve damar hastalıklarının önlenmesinde etkin bir role sahiptir . Günümüz insanının sağlığına verdiği önem artmakta ve dolayısıyla su ürünlerinin değeri daha da artmaktadır ( Murray ve Burt ,1977 ).

Dünyada 1900 yıllarında tutulan balık miktarı 4 milyon ton civarında idi . 1968'de bu miktar 60.1 milyon ton olarak kaydedilmiştir . İstatistiklere göre dünyadaki yıllık tüketim günümüzde 90 milyon tonlara ulaşmıştır. Ülkemizdeki mevcut su ürünleri potansiyeli dikkate alındığında, su ürünlerinin % 87.6'sının taze tüketildiği, % 2.4'ünün konserveye işlendiği, %7.3 'ünün balık ununa işlendiği, %2'sinin ihraç edildiği ve % 0.7'sinin değerlendirilemediği görülmektedir.(Anonim,1993-1995 ) Ülkemizde taze olarak tüketilen balık miktarının fazla gözükmemesi bu oranda balığın gıda olarak tüketildiğini göstermemektedir. Türkiye genelinde her bölgede aynı miktarda balık tüketilmemesi, avlanan balıkların depolanması ve işlenmesi için gereken tesislerin yeterli olmaması nedenleriyle önemli miktarda su ürünü değerlendirilmemektedir. Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre , ülkemizin 1997 yılı su ürünleri üretim miktarı 500.260 ton olup , kişi başına düşen yıllık tüketim ise 7.510 kg olarak belirtilmektedir . Su ürünlerinin değerlendirilmesinde , depolanmasında ve nakliyesindeki olanaksızlıkların yetersizliğinden , nüfusumuzun % 60'ına varan bir kesimi ise yıllık 1 kg balık eti tüketmektedir . Kıyı bölgelerimizde bu miktarın 10 - 12 kg'a çıktığı , diğer ülkelerden Portekiz'de bu miktarın 41 kg. , İspanya'da 36.4 kg. , Fransa'da ise 20.4 kg olduğu görülmektedir . (Anonim 2002 )

Teknolojide meydana gelen gelişmelerle birlikte beslenme alışkanlıkları da değişmektedir . İnsanlar farklı lezzetleri tatmak ve tüketmek ihtiyacı duymaktadırlar . Aynı zamanda yöresel lezzetler de tüm dünyada hızla tanınmaya ve tüketilmeye başlamıştır .Yöresel tüketime sahip pek çok su ürünü

de böylelikle dünya piyasasında yer almaya başlamıştır . Salamura su ürünleri de bu şekilde piyasamızda yer almaya başlamıştır .Salamura yöntemi ile üretim yapan firma sayısı oldukça azdır . Üretimin büyük bir kısmı ihraç edilmektedir .

Bu çalışmanın amacı salamura yöntemi ile üretilen su ürünlerini ülkemizde tanıtmak ve bu ürün ile ilgili olarak endüstri ve insanlarımızı bilgilendirmektir .



## 2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1.Temel Bileşenler

Balıkların kimyasal bileşimi türden türe, tür içinde de yaş, cinsiyet, çevre ve mevsime bağlı olarak değişiklik gösterir.

Memelilerin ve balıkların temel bileşenleri aynı kategorilere ayrılmıştır. Balık etinin içeriği karşılaştırma yapılabilmesi açısından çizelgede yer almıştır.

Çizelge 2.1. Balık etinin kimyasal yapısı ve diğer etlerle karşılaştırılması

| Etin cinsi           | Su (%) | Protein ( % ) | Yağ ( % ) | Mineral Madde ( % ) | Enerji ( kcal /100g) |
|----------------------|--------|---------------|-----------|---------------------|----------------------|
| Balık eti ( tüm )    | 77.2   | 19.0          | 2.5       | 1.3                 | 98                   |
| Tavuk eti ( göğüs )  | 75.0   | 22.8          | 0.9       | 1.2                 | 100                  |
| Tavuk eti ( but )    | 74.7   | 20.6          | 3.1       | 1.1                 | 111                  |
| Sığır eti ( yağsız ) | 71.2   | 21.1          | 6.2       | 1.1                 | 140                  |
| Sığır eti ( yağlı )  | 61.0   | 19.1          | 18.5      | 1.0                 | 243                  |
| Koyun eti (tüm )     | 62.8   | 18.5          | 17.5      | 1.0                 | 231                  |

Kaynak : Göğüş ,Kolsarıcı ,1992

Balıkların kimyasal yapısındaki değişiklikler balığın beslenmesi ile doğrudan ilişkilidir. .Yine göç hareketleri ve seksüel değişiklikler balığın kimyasal yapısını etkileyen faktörlerdir . ( Huss.H.H. ,1995 )

Balıklar doğal veya fizyolojik nedenlerle açlığa maruz kalabilirler. Bazen de besin kıtlığı gibi dış etkenler yüzünden açlıkla karşılaşabilirler. Balık depoladığı lipidleri enerji kaynağı olarak kullanır. Yumurtlamak için uzun göçler

yapan türler enerji kaynağı olarak lipidlerin yanında proteinleri de kullanabilirler. Hem proteinin hem lipidlerin kullanılması balığın biyolojik durumunu değiştirir. Ayrıca, pek çok tür yumurtlama göçü sırasında çok gıda tüketmez ve enerjisinin büyük bölümünü gıdalardan sağlamaz. Ağır (yoğun) beslenme dönemlerinde başlangıçta kasın protein içeriği hızla yükselir. Ardından lipid içeriği hızlı ve belirgin bir artış gösterir. ( Huss H. H. ,1995 )

Lipid içeriği çok değişiklik gösterir. Genellikle bir tür için yıllık mevsime bağlı bir değişim eğrisi mevcuttur. Bu eğride minimum nokta genellikle yumurtlama dönemindedir. (Huss H.H. ,1995 )

Pek çok türde protein fraksiyonu daha sabit olmasına rağmen uzun yumurtlama göçü sırasında protein oranında da değişimler gözlenebilmektedir .. (Ando ve ark. 1985 b; Ando ve Hatano, 1986).

Yağ içeriği aynı tür içinde balığın boyutlarına bağlı olarak da değişiklik gösterebilir. Büyük balıklar küçük balıklara göre ortalama % 1 daha fazla yağ içerirler. Yağlı türlerde filetonun yağ içeriği çok değişkendir. Balıklarda yağ ve su oranı toplamı yaklaşık % 80 civarındadır. Yağ oranındaki değişim aynı zamanda su oranındaki değişimi de yansıtır. ( Huss H.H. ,1995 )

Balıklarda karbonhidrat içeriği oldukça düşüktür genellikle % 0,5 in altındadır. Karbonhidrat glikojende ve nükleoitidlerde dir. Nükleotitlerde yer alan karbonhidratlar ölüm sonrası ( post mortem ) meydana gelen otolitik değişimler ile riboz kaynağı halini alırlar. Daha önce de belirtildiği gibi balıklar türleri arasındaki kimyasal bileşim farklılıkları değişimlere, göç hareketlerine, seksüel olgunluğa ve besin döngüsüne vb. bağlıdır. Kültür balıklarında bu faktörler kontrol altında tutulduğunda balığın kimyasal bileşimini belirlemek mümkündür. Besleme ve yaşama koşulları balığın hangi özelliklerde istendiğine bağlı olarak ayarlanabilir. Besin bileşimi, çevre, balığın boyutları ve genetik yapısı kültür balıklarının kimyasal bileşimi ve kalitesini etkiler. (Reinitz ve ark., 1979) . Kültür balıkçılığında balığın mümkün olduğu kadar az gıda ile mümkün olduğunca çabuk büyümesi istenir, çünkü zaman ve gıda kültür balıklarında temel maliyet giderleridir. En hızlı gelişim çok miktarda protein içeren dengeli aminoasit içerikli, yüksek yağ içeriğine sahip gıdalar

kullanıldığında görülür . Fakat basit balık metabolizmasında proteine göre önce yağ kullanılır. Çünkü proteinin gıda olarak maliyeti pahalı ve elde edilmesi güçtür. Pek çok balık türü yağ içeriğini dikkate almadan, enerji elde etmek için proetinlerini kullanırlar . Yağ içeriği maksimum değerleri geçtiğinde lipid enerji kaynağı olarak kullanılmaya başlar . Geri kalanı kaslarda depolanır . Yağ oranı arttıkça balığın kalite ve randımanı düşer . Fazla yağın büyük bölümü karın boşluğunda depolanır ve iç organların çıkartılması ve filetolama aşamasında çöpe atılır. (Huss H.H. ,1995 )

### 2.1.1.Yağlar ve Lipidler

Balıklarda bulunan yağlar iki ana gruba ayrılır: Fosfolipidler ve trigliseritler. Fosfolipidler hücrede membranın integral yapısını oluştururlar ve bu nedenle genellikle yapısal lipidler olarak bilinirler. Trigliseritler genellikle yağ depolarında enerji depolamak amacıyla kullanılırlar . Genellikle yağ molekülü zayıf kollojen ağı yerine bir fosfolipid membran ile çevrelenir. Trigliseritler depo yağlar olarak bilinirler . ( Huss H.H. ,1995 )

Fosfolipidlerin tümü membran yapılarındadır . Bu membranlar arasında dış hücre zarı, endoplazmik retikulum ve diğer hücre içi tübüler sistemleri ve mitokondri gibi organel membranlar yer alır . Membranlar fosfolipidlere ek olarak kolesterol de içerirler. Kolesterol membranın dayanıklılığını sağlar. Yağsız balıklarında filetoda kolesterol oranı tüm lipidlerin %6 sı kadardır. Bu oran hemen hemen memelilerdeki gibidir.( Huss H.H. ,1995 )

Balıklar lipidleri enerji kaynağı olarak kullanmak üzere nasıl depoladıklarına bağlı olarak iki gruba ayrılırlar:

a )Yağsız balıklar b) Yağlı balıklar

Yağsız balıklar enerji deposu olarak karaciğerlerini kullanırlar . Yağlı balıklar lipidleri tüm vücutlarında depolarlar . Yağlı balıklarda lipid deposunu oluşturan yağ hücreleri tipik olarak dokularda, kaslarda, yüzgeç ve kuyruğu hareket ettiren kaslarda bulunur . Bazı türlerde çok büyük miktarlarda lipid karın boşluğunda depolanır . Çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak, balıklar düşük sıcaklıklarda daha az veya çok yağ içerirler . Yağı tüm



vücutta depolayan balıklarda ise yağ kas yapısında yer alır . Koyu kaslar yağsız balıklarda bile kas hücreleri arasında bazı trigliseridleri ihtiva ederler . Çünkü bu kaslar lipidleri katabolize ederek direk enerji kaynağı olarak kullanabilmektedirler . Açık kaslar enerji kaynağı olarak glikojene bağlıdır, anaerobik metabolizmaya sahiptirler . Koyu kaslarda enerji kaynakları CO<sub>2</sub> ve suya kadar katabolize edebilirken, açık kaslarda laktik asit oluşur . Açık kaslarda enerji elde edilir ancak laktik asit oluşumundan dolayı maksimum hızda uzun süre çalışamazlar . Bu nedenle koyu kaslar sürekli yüzme hareketlerinde, açık kaslar ise ani hareketlerde kullanılır (örneğin avlanma durumunda)( Kiessling ve ark. 1991, Huss H.H. 1995) .

Lipid depoları uzun göçlerde ve gonad oluşumu sırasında kullanılır( Ando ve ark.,1985) .Uzun göçlerde fosfolipidler de enerji kaynağı olarak kullanılabilirler (Love,1970).

Balık yağı memeli yağından farklıdır . Temel farklılık balık yağının yaklaşık % 40 ını uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin oluşturmasıdır. Memeli yağları yağ asiti molekülünde nadiren 2'den farklı çift bağ içerirken balık yağı 5 veya 6 çift bağ içeren yağ asitleri içerir (Stansby ve Hall, 1967).

İnsan beslenmesinde linoleik ve linolenik asit gibi yağ asitleri önemlidir, çünkü insan vücudunda sentezlenemezler . Balık yağlarında bulunan yağ asitlerinin ~%2'sini bu yağ asitleri oluşturur . Bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında bu oran çok düşüktür . Fakat balık yağları doymamış çoklu yağ asitlerini de içerirler, ki bu yağ asitleri cilt hastalıklarını engellemek için gereklidir. ( Huss H.H. ,1995 )

## 2.1. 2. Proteinler

Balık kaslarında bulunan proteinler 3 gruba ayrılır:

### 1. Yapısal proteinler (actin, myosin, tropomyosin ve actomyosin)

Bu proteinler toplam proteinlerin % 70-80 inini oluşturur . (Bu oran memelilerde % 40 tır) Bu proteinler, yüksek iyonik (0.5 M) nötral tuz çözeltilerinde çözünebilirler . ( Spinelli ve ark . ,1972 )

### 2. Sarkoplazmik proteinler (myoalbumin, globulin ve enzimler)

Bu proteinler düşük iyonik (  $<0.15 \text{ M}$  ) nötral tuz çözeltilerinde çözülebilir. Toplam proteinlerin %25-30 unu oluştururlar.( Spinelli ve ark. ,1972 )

### 3. Bağ doku proteinleri (kollojen)

Proteinlerin %3 ünü oluştururlar. (Memelilerde bu oran % 17dir.)

Yapısal proteinler kontraktil hareketlidirler ve kas hareketini sağlarlar. Yapısal proteinlerin aminoasit kompozisyonu memelilerdeki aynı tip proteinlere benzerdir, ancak fiziksel özellikleri biraz farklıdır . İzoelektrik noktası (pI) pH 4.5-5.5 arasındadır . Bu pH değerlerinde proteinlerin çözünürlüğü minimumdur. ( Spinelli ve ark. ,1972 )

Balık proteinlerinin konformasyonu fiziksel çevre nedeniyle kolaylıkla değişir . Yüksek tuz konsantrasyonları ve ısı denatürasyona neden olur ve denatürasyon sonucu protein yapısı geri dönüşsüz olarak değişir . Protein denatürasyonu kontrollü şartlar altında teknolojik amaçlarla kullanılabilir . Buna güzel bir örnek surimi üretimidir . Surimide myofibrillar proteinlerin jel oluşturma yeteneği kullanılır . Tuz ve stabilizerler kıyılmış kas proteinlerine eklenip kontrollü olarak ısıtılıp soğutulularak proteinlerin kuvvetli bir jel oluşturması sağlanır (Suzuki,1981).

Sarkoplazmik proteinlerin çoğunu hücre metabolizmasında yer alan enzimler oluşturur, mesela glikojenin anaerobik olarak ATP'ye çevrilmesi reaksiyonlarında olduğu gibi . Kas hücrelerindeki organeller hasar görürse (endoplazmik retikulum, mitokondri, lizozim gibi) bunlarda bulunan metabolik enzimler protein fonksiyonuna geçerler . ( Rehbein ve ark ., 1978 , Rehbein 1979 ,Salfi ve ark .,1975 )

Deri ve yüzgeç dokularındaki kollojen proteinlerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri farklıdır (Mohr,1971) . Balıklardaki kollojen proteinler ısıya daha dayanıklıdır . Hidroksiprolin içeriği balıklarda memelilere göre genellikle daha düşüktür (Sato ve ark., 1989) .

Farklı balık türleri dokularında farklı miktarlarda kollojen içerirler . Kollojen dağılımı balıkların yüzme alışkanlıkları ile ilişkilidir (Yoshinaka ve ark. 1988) . Farklı balıklarda farklı miktar ve tür kollojenlerin bulunması balık kasının tekstürünü etkiler (Montero ve Borderias, 1989).

Balık proteinleri süt, yumurta ve memeli eti gibi tüm temel aminoasitleri içerir . Temel aminoasitlerin değişik ürünlerdeki yüzdeleri izelge 2.2'de verilmiştir .

Çizelge 2.2. Temel aminoasitlerin değişik ürünlerdeki yüzdeleri

| Aminoasit          | Balık eti | Süt  | Kırmızı et | Yumurta |
|--------------------|-----------|------|------------|---------|
| Lysine             | 8.8       | 8.1  | 9.3        | 6.8     |
| Tryptophan         | 1.0       | 1.6  | 1.1        | 1.9     |
| Histidine          | 2.0       | 2.6  | 3.8        | 2.2     |
| Phenylalanine      | 3.9       | 5.3  | 4.5        | 5.4     |
| Leucine            | 8.4       | 10.2 | 8.2        | 8.4     |
| Isoleucine         | 6.0       | 7.2  | 5.2        | 7.1     |
| Threonine          | 4.6       | 4.4  | 4.2        | 5.5     |
| Methionine-cystine | 4.0       | 4.3  | 2.9        | 3.3     |
| Valine             | 6.0       | 7.6  | 5.0        | 8.1     |

Kaynak :Braekkan ,1976 ; Moustgard ,1957

Tahıllar genellikle lysine ve/veya sülfür içeren aminoasitler (methionine ve cysteine) açısından fakirdir . Fakat balık proteinleri bu aminoasitler açısından oldukça zengindir . ( Braekkan ,1976 ; Moustgard ,1957 )

### 2.1.3.. Azotlu Bileşikler

Azotlu bileşikler suda çözünebilir, düşük moleküller ağırlıkla, nitrojen (azot) içeren protein olmayan bileşiklerdir . NPN (protein olmayan azotlu bileşikler) toplam nitrojenin (azotun) % 9-18 ini oluşturur. ( Shewan 1974 )

Azotlu bileşiklerin en önemli komponentleri uçucu bazlar (amonyak, trimetilaminoksit) , creatine, serbest aminoasitler, nükleotitler ve prine bazlarıdır. Balıkta bulunan protein olmayan azotlu bileşikler izelge 2.3'te verilmiştir . ( Shewan ,1974 )

Balık kaslarındaki TMAO ( trimetilaminoksit )miktarı cinse, sezona ve bölgeye bağlıdır. ( Shewan ,1974 )

#### 2.1.4. Vitamin Ve Mineraller

Vitamin ve mineral içeriği türe ve sezona bağlı olarak değişir . Genellikle vitamini açısından da zengindir . Balıklar değerli kalsiyum ve fosfor kaynağı olarak bilinirler . Demir, bakır ve selenyum açısından zengindir . Tuzlu su balıkları zengin B vitamini kaynağıdır . Yağlı balıklar aynı zamanda A ve D vitamini bakımından zengindir . Çizelge 2.4 ve 2.5 balık kasının vitamin ve mineral içeriklerini göstermektedir . ( İnal,1992 ;Göğüş ve Kolsarıcı,1992 )

Çizelge 2.3 . Balıkta Bulunan Protein Olmayan Azotlu Maddeler

| Protein olmayan azotlu maddeler  | mg / 100 g balık eti |
|--|----------------------|
| Creatine   | 63                   |
| Trimetilaminoksit  | 55                   |
| Taurin   | 47                   |
| Purin derivatları  | 31                   |
| Arsenin  | 24                   |
| Serbest aminoasitler,üre,amonyak,düşük değerli aminler ve henüz tanımlanmamış maddeler | 12                   |

Kaynak : PERK.E,1995

Çizelge 2.4 .Balık kasının vitamin içeriği ( mg / 100 g balık eti )

| Vitamin                       | Miktar |
|-------------------------------|--------|
| Riboflavin (B <sub>2</sub> )  | 120    |
| Thiamin ( B <sub>1</sub> )    | 50     |
| Nicotinic acid                | 3000   |
| B <sub>12</sub>               | 1      |
| Pantotenic acid               | 500    |
| Piridoksin ( B <sub>6</sub> ) | 500    |
| Biotin                        | 5      |
| Folik asit                    | 80     |
| C                             | 3000   |
| A                             | 25     |
| D                             | 15     |
| E                             | 12     |

Kaynak :İNAL.T,1992

Çizelge 2.5. Balık etinin mineral içeriği

| Element | Ortalama ( mg/ 100 g et ) | Minimum ve maksimum( mg / 100 g et ) |
|---------|---------------------------|--------------------------------------|
| Na      | 72                        | 30-134                               |
| K       | 275                       | 19-502                               |
| Ca      | 79                        | 19-881                               |
| Mg      | 38                        | 4.5-452                              |
| P       | 190                       | 68-550                               |
| S       | 191                       | 130-257                              |
| Fe      | 1.5                       | 1-506                                |
| Cl      | 197                       | 3-761                                |
| Si      | 4                         | -                                    |
| Mn      | 0.818                     | 0.0003-25.2                          |
| Zn      | 0.955                     | 0.23-2.1                             |
| As      | 0.37                      | 0.24-0.6                             |

Kaynak : Göğüş ,Kolsarıcı ,1992

## 2. 2. Bakteriyolojik Değişiklikler

### 2.2.1. Canlı Balıklardaki Bakteriyel Flora

Canlı veya yeni yakalanmış balıkta mikroorganizmalar dış yüzeyde (deri ve solungaçlarda) ve bağırsaklarda bulunur. Toplam canlı sayısı çok büyük değişkenlik göstermektedir. ( Liston ,1980 ; Shewan ,1962 )

Yeni yakalanmış bir balığın bakteriyel florası türden çok balığın yakalandığı çevreye bağlıdır (Shewan,1977). Balık soğuk temiz suda yakalanmışsa toplam canlı sayımları daha düşüktür, daha ılık sularda yakalanan balıklarda ise biraz daha yüksektir . Balık yüzeyinde çok çeşitli bakteriler bulunabilmektedir . Bakteriler yaşama sıcaklıklarına bağlı olarak gruplandırılabilirler. ( Huss H.H. ,1995 )

Ilık sularda daha çok mezofiller izole edilir . Serin sularda yaşayan balıklarda psikrofik G(-) çubuklar dominanttır . *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella* ve *Flavobacterium* bu mikroorganizmalar arasındadır. *Vibrionaceae* (*Vibrio* ve *Photobacterium* ) ve *Aeromonadaceae* (*Aeromonas* sp) yine tipik balık mikroflorasına aittir . *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium* , *Lactobacillus* ve *Coryneforms* balık mikroflorasına ait G (+) mikroorganizmalardır . Fakat genellikle G(-) bakteriler floraya hakimdir . ( Huss H.H. ,1995 )

Kirli sularda daha yüksek sayılarda *Enterobacteriaceae* bulunabilir.Çizelge 2.6'da temiz sularda avlanan balıklara ait mikroflora verilmiştir . ( Fujioka ve ark .,1988 )

Çizelge 2.6 . Temiz sularda avlanan balıklarda mikroflora

| Gram negatif                   | Gram pozitif         |
|--------------------------------|----------------------|
| <i>Pseudomonas</i>             | <i>Bacillus</i>      |
| <i>Moraxella</i>               | <i>Clostridium</i>   |
| <i>Acinetobacter</i>           | <i>Micrococcus</i>   |
| <i>Shewanella putrefaciens</i> | <i>Lactobacillus</i> |
| <i>Flavobacterium</i>          | <i>Coryneforms</i>   |
| <i>Cytophaga</i>               |                      |

Kaynak : Huss ,1995

### 2.2.2.Mikrobiyel Bulaşma

Taze canlı veya yeni avlanmış balık eti sterildir. Çünkü balığın bağışıklık (immune) sistemi bakterilerin balık etine girişini engeller . Balık öldüğünde, bağışıklık sistemi özelliğini kaybeder ve bakterilerin balığa geçişi için herhangi bir engel kalmaz . Balık derisinin yüzeyinde bakteriler koloni oluşturma yeteneğindedirler . Depolama sırasında bakteriler kas fibrilleri arasında ilerleyerek kasın içine doğru nüfuz ederler . Murray ve Shewan (1979) buzda depolama sırasında çok az bakterinin kasa nüfuz edebildiğini göstermişlerdir . .Sadece çok az bir miktarda bakteri kasa nüfuz edebildiğinden mikrobiyel gelişme balığın yüzeyindedir ve kaslardaki bozulma genellikle bakteriyel enzimlerin balık kasına nüfuz etmesinin sonucudur . Balığın bozulması farklı hızlardadır . Balıkların derileri çok farklı yapıdadırlar. Bazılarının derisi sadece dermis ve epidermisten oluşur, bazıları ise kalın bir mukoz tabakasına sahiptir . (Murray ve Fletcher ,1976 ; Hjellmland ve ark. ,1983 )

### 2.2.3.Depolama Sırasında Mikroflorada Meydana Gelen Değişiklikler:

Genellikle balıklar yakalandıktan sonra bağırsakları çıkartılarak buz içinde saklanır . Burada mikrobiyel bulaşma, doğal olarak işlem sırasında hijyenik koşulların uygulanma derecesine bağlıdır . Örneğin mikrobiyel yükü gittikçe artan yıkama suyunda mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla, suya klor veya kalsiyum hipoklorür ilavesi önerilir . Ayrıca kalsiyum veya sodyum hipoklorür içeren buz kullanımı olumlu sonuçlar vermiş ve bu buz içinde muhafaza balığın kalitesini uzun süre korumasını sağlamaktadır . Günümüzde bazı ülkelerde balığın taşınması sırasında bozulmasını önlemek amacı ile buza klortetrasiklin ilavesine izin verilmektedir . (Gökten ,1990 )

Balık öldükten sonra balıktaki mikroorganizmalar logaritmik gelişme (exponential growth) fazına girerler . Bu buzlanmış balık için de aynıdır, çünkü soğutulan balıktaki mikroflora bu sıcaklıklara adapte olmuştur . Buzlanmış balık anaerobik şartlarda depolandığında veya CO<sub>2</sub> içeren atmosferde depolandığında psikrofik bakteri sayısı (*S. Putrefaciens* ve *Pseudomona* gibi) aerobik şartlarda depolanan balıktakinden daha düşüktür ( Gram , 1990) .

Mikrofloranın içeriği depolama sırasında çok büyük değişiklikler gösterir. Aerobik buzda depolama sırasında flora neredeyse tamamen *Pseudomonas* spp.'den ve *S. putrefaciens*'ten( *Swanella putrefaciens*) oluşmaktadır . 25 °C'de mezofilik flora (*vibrionaceae* ) ve kirli sularda yakalanan balıklarda *Enterobacteriaceae* hakimdir . Bozucu flora ve bozucu bakteri kavramları birbirinden farklıdır . Bozucu flora balık bozulduğunda bulunan mikroorganizmaları tarif eder . Bozucu bakteri ise kötü tat ve koku oluşturan spesifik bir grup mikroorganizmayı kasteder . Bozulan balıklarda bulunan mikroorganizmaların çoğunun bozulmada bir rolü yoktur . (Dalgaard ,1993 )

Bozulmuş balıktan izole edilen mikroorganizmalardan hangisinin bozulmaya neden olduğunu tespit etmek çok güç bir iştir . Ayrıntılı duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal çalışma gerektirir . Öncelikle depolama sırasında duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişiklikler kontrol edilmelidir . Kimyasal bileşiklerin ölçümleri yapılmalıdır . Sonra bakteriler izole edilmelidir . Saf ve karışık kültürler steril balıkta bozulma potansiyeli tespiti açısından (kötü tat, koku ve kimyasal değişiklikler) kontrol edilmeli ve son olarak da bozulma aktivitesi kontrol edilmelidir (gelişme hızı, kötü tat ve kokuyu oluşturan maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi) (Dalgaard, 1993).

Bazı bakteriler bozulma ile ilişkili kimyasalları oluşturabilirler ancak çok az miktarlarda oluştururlar ki, bu mikroorganizmalar spesifik bozulma yapıcı bakterilere dahil edilmezler . Bazı bakteriler hidrojen sülfür üretme yeteneğindedir, bazıları ise TMAO'ü ( trimetilaminoksit ) indirger . TMAO'ün TMA'ya ( trimetilamin ) indirgenmesi redoks indikatörü ile renk değişimi gözlenerek takip edilir . Hidrojen sülfür oluşumu FeS (demirsülfat )presipitasyonu ile tespit edilir (Gren ve ark. ,1987) .

#### 2.2.4.Bakteriyel Gelişme Sırasında Meydana Gelen Biyokimyasal Değişimler:

Bozulma sırasında balıklarda bakterilerce birçok neon bileşikler oluşur (Shewan,1962). Bunlar arasında trimetilamin, uçucu sülfür bileşikleri, aldehitler, ketonlar, esterler ve hipozantinler yer alır. Bu uçucu bileşiklerin üretiminde karbonhidratlar (ör. Laktat ve riboz gibi) , nükleotidler (ör. İnosine



monophosphate ve inosine) ve diğer NPN (protein olmayan azotlu bileşikler ) bileşikleri kullanılır. Sülfid ve amonyakların oluşmasında aminoasitler önemli rol oynarlar. ( Shewan ,1962 )

Mikroorganizmalar anaerobik fermentasyona göre aerobik oksidasyon ile daha fazla enerji elde ederler . 1 mol. glikoz Kreb's çemberine girdiğinde 6 mol karbondioksit ve 36 mol ATP ( adozintrifosfat ) elde edilir . Fermentasyonda ise 1 mol glikoz için 2 mol ATP ve 2 mol laktik asit elde edilir . ( Huss H.H. ,1995 )

#### 2.2.4.1.TMAO'in İndirgenmesi:

Balıkta oksijen tüketen mikroorganizmaların üremesi anaerobik veya mikroaerofilik ortam oluşumuna neden olur . Fakat bu her zaman anaerobik bakterilerin gelişimini teşvik etmez . Balıkta bulunan bazı mikroorganizmalar bazı molekülleri oksijenli solunum yapabilirler . Balıktaki mikroorganizmaların bir kısmı TMAO'ü elektron akseptörü olarak kullanıp anaerobik respirasyon yapar . İndirgenmiş bileşik, TMA, bozulma yapan balıklardaki dominant bileşiklerdir . Tipik balık kokusu bu bileşiktendir . ( Dalgaard ve ark .,1993 )

*Altenomonas, Photobacterium, Vibrio* ve *S. Putrefaciens* gibi bakteriler TMAO'ü indirgeyebilen mikroorganizmalardır . *Aeromonas* ve *Enterobacteraceae* TMAO'ü indirgeyen mikroorganizmalar arasındadır . TMAO indirgenmesi *E.coli* (*Escherichia coli* ) ve *Proteus spp* (Stenberg ve ark., 1982) gibi fermentatif, fakültatif anaerobik bakterilerde (Sakaguchi ve ark.,1980) ve fermentatif olmayan *S.putrefaciens* gibi (Easter ve ark.,1983; Ringo ve ark.,1984) mikroorganizmalarda da çalışılmıştır. Aerobik gelişme sırasında *S.putrefaciens* Kreb's döngüsünü kullanır (Ringo ve ark., 1984) . *S.putrefaciens* 'in anaerobik respirasyon sırasında da Kreb's döngüsünü kullandığını savunmuşlardır . Elektronlar aynı zamanda başka bir metabolik yoldan da, serine yolu, elde edilmektedir (Scott ve Nealson,1994) . *S. putrefaciens* TMAO'ü bağı anaerobik respirasyonda karbon kaynağı olarak format ve laktat gibi pek çok substratı kullanabilir . Acetat ve succinate gibi oksijenli solunumda kullanılan bileşikler TMAO terminal elektron akseptörü olduğunda

kullanamazlar (DiChristina ve DeLong,1994), öte yandan asetat anaerobik TMAO redüksiyonunun bir ürünüdür (Ringo ve ark., 1984; Scott ve Nealson,1994).

Diğer taraftan şekerler ve laktat *Proteus spp.* TMAO'yu indirgerken kullanılan temel substratlardır . Bu redüksiyon sonunda üretilen asetat temel ürünlerden biridir (Kjosbakken ve Larsen,1974) .

Hypoxanthine de TMA ile birlikte üretilen bir üründür Hipozanthine nükleotitlerin otolitik dekompozisyonu ile oluşur, fakat bakteriler tarafından da oluşturulabilir . Pek çok bozulma yapıcı bakteri inosine veya inosine monophosphate'ı kullanarak hypoxanthine oluşturur . *Pseudomonas spp.*(Surette ve ark.,1988) ve *S.putrefaciens* (Van Spreekens,1977; Jorgensen ve Huss,1989; Gran, 1989) ve *P. Phosphoreum* (Van Spreekens,1977) bu mikroorganizmalar arasındadır . Balık bozulduğunda TMAO azalır, TMA miktarı maksimum seviyesine ulaşır . ( Dalgaard,1993 )

Uçucu sülfür bileşikleri bozulan balıkların tipik komponentleridir ve pek çok bozulma yapan bakteri bir veya daha fazla uçucu sülfür bileşiği oluştururlar . *S. putrefaciens* ve bazı *Vibrionaceae* sülfür içeren aminoasit l-cysteine<sup>2</sup>den (Stenstroem ve Molin,1990; Gran ve ark. 1987 ) H<sub>2</sub>S oluştururlar . Fakat ne *Pseudomonas* ne de *P. Phosphoreum* önemli miktarda H<sub>2</sub>S oluşturamazlar . Bozulma sırasında diğer bir sülfür içeren aminoasit olan methionine'den methylmercaptan (CH<sub>3</sub>SH) ve dimethylsulphide (( CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S) oluşturulur . Sülfür içeren taurine balık kasında yüksek konsantrasyonlarda bulunan bir serbest aminoasittir . Balığın depolanması sırasında yok olur . (Shewan ,1962 )

*S.putrofaciens* ve *Vibrionacea* bozulmalarında H<sub>2</sub>S ve TMA oluşur, ancak *Pseudomonas* bozulmalarında bu bileşikler oluşmazlar (Gran ve ark. 1989; Gran ve ark. 1990). Meyvemsi, çürük, sülfidril tat ve kokular *Pseudomonas* bozulmalarının tipik özellikleridir . *Pseudomonas ssp.* aldehitler, ketonlar, esterler ve sülfidler üretirler ( Edwards ve ark. 1987; Miller ve ark. 1973 a,1973 b). Fakat bu tipik kokulardan hangi bileşiklerin sorunlu olduğu bilinmemektedir . *Pseudomonas fragi'nin* oluşturduğu meyvemsi koku monoaminocarboksilik aminoasitlerden kaynaklanmaktadır. ( Edwards ve ark. ,1987 )

Anaerobik depolamada TMA oluşumu amonyak oluşumu ile birlikte devam eder (Haaland ve Njaa,1988) . Balıkların uzun süre anaerobik olarak depolanması hızlı bir  $NH_3$  oluşumunu ve aminoasitlerin daha fazla parçalanması ve asetik, bütirik ve propiyonik olarak düşük yağ asitlerinin birikmesine yolaçar . *Bacteroidaceae* familyasına ait *Fusobacterium* cinsi bir zorunlu anaerob olup kuvvetli bir  $NH_3$  üreticisidir (Kjosbakken ve Larsen, 1974; Storroe ve ark. 1975,1977) . Bu mikroorganizmalar sadece bozuk balıkta ürer, henüz hidrolize olmuş proteinler üzerinde proteolitik aktiviteleri çok düşüktür.Yağlı balıklarda yağda meydana gelen değişiklikler genellikle kimyasaldır, oksidasyon gibi . Mikrobiyolojik yağ bozulmaları daha azdır, fakat bozulmanın bir parçasıdır. ( Huss ,1995 )

### 2 .3 . Balıkta meydana gelen diğer değişimler

Balık da diğer hayvanlar gibi kas ölümünden sonra kimyasal değişimlere uğrayarak sertleşir . Bu olay rigor mortis olarak bilinir . Canlı dokuda bulunan enzimler kas kontraksiyonu ve relaksiyonunu sağlar , fakat ölüm sonucu bu enzimler indirgenme reaksiyonlarına katılır ve glikojen laktik aside indirgenir . İndirgenme sonucunda pH düşer, kas asitleşir . (Göğüş ve Kolsarıcı ,1992 )

Balıklarda pek çok duyuşal değişimler de meydana gelir . Bu değişimler balığın kalite göstergesi olup kalite sınıflandırılması bu kriterlere göre yapılmaktadır . (Huss,1995 ) Duyusal kalite kriterleri Çizelge 2.7.'de verilmiştir .

Balıklardaki fiziksel değişimler görünümün matlaşması , pH değişimi , elektrik iletkenliğindeki değişikliklerdir . Matlaşma yüzey neminin kaybedilmesi sonucu meydana gelir . Su kaybı ve membranlardaki geçirgenlik azalması ile intraoküler basınç düşer . Göz yuvarlağı küçülür ve kornea içeri çöker . Gözün ışık geçiren sıvıları geçirgenliklerini kaybederler . Gözde ışığı kırma özelliği değişir ve matlık oluşur . Balıklarda pH türe bağılı değişiklik göstermekte olup hafif alkalidir (7.05 -7.33). PH , glikojen miktarı ve rigor mortisle yakından alakalıdır . Balıklarda bozulmaya bağılı olarak elektrik iletkenliği de değişim gösterir, dokulardaki yüksek ve alçak frekanslı alternatif akımlar arasında direnç farkı yaratan hücre membranları özelliklerini kaybeder ve direnç farkı azalır .(Dokuzlu ,1996 )

Çizelge2. 7. Balıklarda Tazelik Değerinin belirlenmesi

| Inceleme konusu                    | 3   | 2  | 1   | 0  |
|------------------------------------|---|--|---|--|
| Deri                               | Canlı ve parlak ,renk kaybı yok,şeffaf ve akıcı mukoza                      | Canlı fakat parlak olmayan renk,hafif bulanık mukoza                           | Solmuş ve ton kaybeden renk, sütümsü mukoza               | Solgun renk,sütlü mukoza ( saydam değil )                      |
| Göz                                | Dışbükey kornea,siyah parlak gözbebeği                                      | Dışbükey,hafif çökmüş yansımalar gösteren saydam tabaka,siyah,solgun gözbebeği | Yassı saydamsız kornea,saydamsız gözbebeği                | Merkezde içbükey sütümsü kornea,gr renkli gözbebeği            |
| Solungaçlar                        | Parlak renk,mukoza yok  | Daha az renkli,hafif berrak mukoza lekeleri                                    | Renk kaybına uğramış,saydamsız mukoza                     | Sarımsak sütümsü mukoza  |
| Et ( karından kesit )              | Mavimsi,yarı şeffaf,pürüzsüz,parlak orijinal renginde hiçbir değişiklik yok | Kadifemsi cilalı,keçemsi,hafif renk değişmiş                                   | Hafif saydamsız   | Saydamsız  |
| Ömurga boyunca renk                | Renklenme yok   | Hafif pembe  | Pembe   | Kırmızı  |
| Organlar                           | Böbrekler ve diğer organ kalıntıları ve aortun içindeki kan parlak kırmızı  | Böbrekler ve diğer organ kalıntıları donuk kırmızı,kan renk kaybediyor         | Böbrekler ve diğer organ kalıntıları ve kan soluk kırmızı | Böbrekler ve diğer organ kalıntıları ve kan kahverengimsi      |
| Et                                 | Sıkı ve esnek ,pürüzsüz yüzeyli   | Esneklik azalmış   | Hafif yumuşak,esneklik az,cilalı,solgun yüzey             | Yumuşak ve gevşek,deriden kolayca ayrılan pullar,pürüzlü yüzey |
| Omurga                             | Ayrılmadan kırılıyor  | Yapışık  | Az yapışık  | Yapışık değil  |
| Karın zarı                         | Tamamen yapışık   | Yapışık  | Az yapışık  | Yapışık değil  |
| Solungaçlar , deri , karın boşluğu | Deniz yosunu kokulu   | Ne kötü ne de deniz yosunu kokulu  | Hafif ekşi  | Ekşi   |

Kaynak: AB Direktifi 2455 / 70

Balıklarda meydana gelen kimyasal değişimler oluşan kimyasal ve mikrobiyolojik yıkımlar ile meydana gelir . ( Dokuzlu ,1996 )

#### 2.4. Salamura Yöntemi

Salamura yöntemi yağlı balıklara uygulanır. Baharat,sirke ,tuz ve diğer katkı maddelerinin kullanılmasıyla değişik ürünler elde edilir . Bu ürünlerin mikroflorası tuz ve düşük pH'dan olumsuz etkilenmeyen ve işleme sırasında özellikle tuzdan gelerek balığa eklenmiş mikroorganizmalardan oluşur . Sirke ilavesi bir çeşit asitlendirme işlemidir . ( Varlık,1990 )

Doğal fermentasyon ürünlerinde mikroorganizma faaliyetleri sonucunda organik asitler oluşmakta ve arzu edilen tat, koku, yapı ve asitlik oluşmaktadır. Oysaki günümüzde asitlendirme işleme doğrudan asidin ürüne eklenmesi şeklinde yapılmaktadır . Asitlendirerek koruma yönteminde su aktivitesi, pH,sıcaklık ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli değişmekte ve ürünün korunması sağlanmakta yani mikroorganizma faaliyetleri engellenmektedir .Çizelge 2.8 'de çeşitli gıda koruma yöntemleri ve bu yöntemlere ait koruma parametreleri verilmiştir . ( Varlık,1990 )

Salamura ürünleri salamurası tüketilen ve tüketilmeyen olarak ikiye ayrılmaktadırlar . Salamurası tüketilmeyen ürünler grubuna giren ürünlerde salamura süzülerek ayrılmakta yeni koruyucu olarak çeşitli yağlar kullanılmaktadır . Ürünü asitleştirmeyi amaçlayan salamura işlemi florayı tamamen veya kısmen yok etmektedir . Bu elde edilen pH ile bağlantılıdır. Asitli ürün grubuna giren ürünlerde ,ki salamura hamsi ve sardalya bu grupta yer alırlar, pH 4.6'dan küçük olmak durumundadır . Salamura ürünlerde tuz koruyuculuk teşkil edecek kadar yüksek konsantrasyonda değildir. Asıl koruyucu asittir . Asitlendirme işlemi balığın bütününün salamura ile temasını sağlayacak şekilde yapılmalı ve homojen bir şekilde asitlendirme sağlanmalıdır (Anonim,2000 a)

Balıkların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların çoğu proteolitik mikroorganizmalardır ve genellikle % 2 asidin üzerinde canlılıklarını kaybederler. ( Dokuzlu ,1996 )

Çizelge 2.8 . Gıda koruma yöntemleri ve koruma parametreleri

| Parametre Proses     | Yüksek sıcaklık | Düşük sıcaklık | a <sub>w</sub> | pH | Eh | Koruyucu | Starter kültür |
|----------------------|-----------------|----------------|----------------|----|----|----------|----------------|
| Konserve             | x               | *              | *              | *  | *  | *        | o              |
| Soğutma              | *               | x              | *              | *  | *  | *        | o              |
| Dondurma             | *               | x              | x              | o  | *  | *        | o              |
| Kurutma              | *               | o              | x              | *  | o  | *        | o              |
| Kürleme              | *               | *              | x              | *  | *  | x        | *              |
| Tuzlama              | o               | *              | x              | *  | *  | *        | o              |
| Şeker ilavesi        | *               | o              | x              | x  | *  | *        | o              |
| Asitlendirme         | o               | *              | o              | x  | *  | *        | *              |
| Fermentasyon         | *               | *              | x              | x  | *  | x        | x              |
| Tütsüleme            | *               | *              | *              | *  | *  | x        | o              |
| Tütsüleme ve kurutma | *               | o              | x              | *  | *  | *        | o              |
| Oksijenini alma      | *               | *              | o              | *  | x  | *        | *              |
| Orta nemli gıdalar   | *               | *              | x              | *  | *  | x        | *              |

x : Asıl parametre

\*: ikincil parametre

o: proses için genellikle önemsiz parametre

Kaynak : Megapesca HACCP Eğitim Notları ,1999 .

Salamura işlemi bir çeşit kimyasal ve fiziksel değişimler dizisidir. Asit , tuz ve mikroorganizmalar protein ve yağların yıkımına neden olmakta ve ürünün kendine has tat, koku ve aromasını oluşturmaktadır . Yağ oksidasyonunu azaltmak ve balıkların yüzeye çıkmasını engellemek için salamurada bekletme işleminin kapalı kaplarda veya baskılı kaplarda yapılması tavsiye edilmektedir . Salamura hazırlanırken son üründe elde edilmesi istenen asit ve tuz değerleri dikkate alınmalı , aynı zamanda salamura ve balık miktarı belirlenip salamuranın asit ve tuz değerleri böylelikle ayarlanmalıdır . İdeal balık /salamura oranı 1.5 /1 olup salamuranın asitliği % 5-

8, tuzu ise % 10-14 olmalıdır . Bu oranlar iyi ayarlanamamışsa istenen kalitede ürün elde edilemez .Ürün çok sert veya yumuşak olabildiği gibi yeterli olgunlaşma da sağlanamayabilir . Salamurada bekletme süresince balık ve salamura arasında bir asit -tuz geçişi söz konusudur . Balık bünyesinde asit ve tuz oranı artarken salamurada düşmektedir ve bu geçiş denge sağlanana dek devam etmektedir . Sirke yani asit proteinlere etki etmekte ve yıkıma neden olmaktadır . Salamurada bekletme süresi balığın yapısına bağlı olmakla birlikte 24 saat yeterlidir . Protein yıkımı ile balık kırmızı et rengini kaybederek beyazlamaktadır . Salamurada bekletme sıcaklığı önemli olup yüksek sıcaklıklar dekarboksilasyona sebep olmakta ve ürün bozulmaktadır .( Dokuzlu ,1996 )

Salamura tekniği ile üretilen ürünler için aranan mikrobiyolojik tolerans değerleri Çizelge 2 .9'de verilmiştir .

Çizelge 2 .9 . İşlenmiş ( füme , salamura vb . ) Balıklarda Aranacak Analizler

| Mikroorganizma               | Tolere Değeri ( adet / g )            |
|------------------------------|---------------------------------------|
| Mezofilik aerobik bakteri    | n = 5 c = 2 m = 100.000 M = 1.000.000 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | n = 5 c = 2 m = 500 M = 5000          |
| <i>Koliform</i>              | n = 5 c = 2 m = 93 M = 95             |
| <i>Escherichia coli</i>      | n = 5 c = 2 m = 3 M = 6               |

Kaynak : Anonim ,2000 b

n : Bir örneğin farklı yerlerinden alınan deney numunesi sayısı

c : M değerinin bulunabileceği en yüksek numune sayısı

m : ( n-c ) sayıdaki deney numunesinde bulunabilecek en yüksek değer

M : ( c ) sayıdaki deney numunesinde bulunabilecek en yüksek değeri

## 2.5. Analizi Yapılan Mikroorganizmalar , Özellikleri ve Önemleri

Analizi yapılan mikroorganizmalar ait özet bilgiler Çizelge 2.10'de verilmiştir .

Çizelge 2.10. Mikroorganizmaların gelişme koşulları

| Mikroorganizma          | pH          | Gelişebildiği sıcaklık ( ° C) | Gelişebildiği % tuz değeri | Gram boyama | Oksijen gereksinimi         |
|-------------------------|-------------|-------------------------------|----------------------------|-------------|-----------------------------|
| Koliform                | 4.4-9.0     | 2.0-50.0                      | 6                          | Negatif     | Fakültatif anaerobik        |
| <i>Salmonella</i>       | 4.-9.0      | Minimum 3.5                   | Maksimum 9                 | Negatif     | Fakültatif anaerobik        |
| <i>Staphylococcus</i>   | 4.0-9.8     | 6.7-47.8                      | Maksimum 10                | Pozitif     | Fakültatif anaerobik        |
| <i>Listeria</i>         | 4.1-9.6     | 1.0-45.0                      | Maksimum 10                | Pozitif     | Aerobik veya mikroaerofilik |
| <i>Escherichia coli</i> | 4.4-9.0     | Minimum 4.4                   | 6-8                        | Negatif     | Fakültatif anaerobik        |
| Toksijenik küfler       | 1.6 Minimum | -                             | Değişken                   | -           | Aerobik                     |

Kaynak . Anonim ,1994

### 2.5.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* gıda kaynaklı hastalıklara neden olan enterotoksin üretme yeteneği olan *Staphylococcus* türüdür . Eğer hijyenik şartlarda sağlanamıyorsa , proses sırasında veya sonradan kontaminasyon söz konusu ise gelişebilir . *Staphylococcus aureus*'un patojen olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir . Bu bakteri cilt hastalıkları ve kontamine gıda ürünlerini tüketen insanlarda intoksikasyona neden olmaktadır . *Staphylococcus aureus* ısı işlemleriyle ve hemen hemen tüm dezenfektan maddelerle çok kolaylıkla yok edilebilir . Bu yüzden onun veya enterotoksininin işlenmiş gıdalarda veya cihazlarda bulunması genellikle kötü bir sanitasyon göstergesidir . *Staphylococcus aureus* çok ciddi gıda zehirlenmelerine sebep olabilir . (Anonim ,1998 )



Mikroskopta üzüm salkımları şeklinde kok biçimindedir .Aerobik veya fakültatif anaerobiktir . Aminoasit ve vitaminlere gereksinim duyar . Tuza dayanıklıdır . Koagülaz ve penisilinaz üretir . Mannitolü fermente eder ve sarı pigment oluşturur . Mezofilik olup Gram pozitifdir .Optimum pH 7 – 7.5 olup pH 4.5 – 9.3 aralığında kolaylıkla gelişirler . 15 –45 °C'de gelişirler . Optimum gelişme sıcaklığı 30 –37°C'dir . ( Anonim ,1994 )

Staphylococlar sıcakkanlı hayvanların yaşamlarına adapte olmuşlardır . Cilt ve ilgili bezlerde oluşturdukları metabolizma ürünleri önemli rol oynamaktadır . Bunlar yine patojen bakteriler tarafından oluşturulan deri solunumunu engelleyici yüzeylerin kolonizasyonunun önlenmesinde de önemli fonksiyona sahiptirler . Staphylococlar burun ,koltuk altı,cilt dokusu ,perine dokuları, yutak dokusu, göbük dokusu ,sindirim sistemi ,ürogenital organlarda bulunabilmektedirler . Staphylococlar burun dokusu salgılarının normal bileşenlerindedir . Burun dokuları ile solunum dokusuna ait sinüslerden kolaylıkla izole edilebilirler . Staphylococlar insan dışkısından da izole edilebilmektedirler Staphylococ enfeksiyon ve intoksikasyonlarının asıl kaynağı deri tabakasındaki staphylococcal lezyonlar ve deri dokusunun iç kısmındaki dokulardır . Bu lezyonlar , genellikle çevrede kolaylıkla bulunabilen , nadiren saf kültürlerden oluşan patojen organizmaların çok yüksek konsantrasyonlarda lokalize olmuş halini içermektedir . Deri tabakası bakteriyel kontaminasyonlar için çok iyi bir bariyerdir . Bu nedenle de staphylococcal lezyonlar genellikle deri dokusunda epitel tabakası zarar gördüğü ya da yaralandığı zaman ortaya çıkmaktadır . Lezyonlar gıda ile temas insanlarda oluştuklarında büyük tehlike yaratabilmektedirler .( Anonim,1998 )

Staphylococlar doğada yaygın olarak bulunmaktadırlar . Toprak , kum , su kaynakları , deniz, kanalizasyon atıkları ,bitkiler , yemler , et ,tavuk ve süt ürünleri ile tozda bulunmaktadır . ( Anonim ,1998 )

Patojenite mekanizması ;

- a) Enfeksiyon : Hastalık yapma yeteneğine bağlıdır . özelliklerine bağlıdır .
- b) İntoksikasyon : Mikroorganizmanın ürettiği enterotoksinler nedeniyle meydana gelir . Pepsin , tripsin gibi proteolitik enzimlere dayanıklıdır . Bu nedenle de bu enterotoksinler sindirim sisteminden etkilerini koruyarak

geçebilirler . Gıdalarda enterotoksin üretimini etkileyen faktörler sıcaklık , pH ,su aktivitesi ,atmosferik koşullar ve diğer mevcut mikroorganizmalardır . ( Anonim ,1998 )

Zehirlenme genellikle mide bulantısı , kusma , mide krampları ve sindirimden 2-4 saat sonra görülen diyare , baş ağrısı , kas krampları şeklinde kendini belli etmektedir . Ölümler nadirdir ve özellikle çocuk ve yaşlılarda görülür . Duyarlı bir bireyde hastalığın meydana gelmesi için gerekli enterotoksin miktar 1mikrogram ile 100 nanogram arasında değişmektedir . Toksinin asıl etkisi sindirim sistemi dokusu üzerinedir . Enterotoksinin en belirgin etkisi sindirim sistemine ait dokuların yüzeylerindeki hücrelerin zarar görmesine ve iltihaplanma meydana gelmesine yol açarak sindirim sistemine bağlı dokular üzerinde olmaktadır . Enterotoksinden dolaşım sistemi de etkilenmektedir . Ancak toksin emilimi gerçekleştiğinde , mide bulantısı ve diyare oluşumuna yol açması gereksinim duyulan enterotoksin miktarı aşağıda verilen çok önemli semptomlar için yeterli olmamaktadır . Bu semptomlar arasında yüksek ateş ve çok düşük kan basıncı , hipertansiyon , idrara çıkmada azalma , akciğerlerde ödem , damarlarda kan birikmesi , şok ve ölüm sayılabilir. ( Anonim ,1998 )

Bu mikroorganizma ile mücadele edebilmek için hijyen kurallarına uyulmalı ve personel bu konuda eğitilmelidir . Proses boyunca balık ve diğer yardımcı maddeler çeşitli yüzeylerle temas halindedir . Bu yüzeylerde bu ürünler kolayca kontamine olabilir . Yine gıda kalıntıları bu yüzeylerde birikebilmekte ve bu mikroorganizmaların gelişimini destekleyebilmektedir . Bu tip kontaminasyonların engellenmesinde temizlik ve dezenfeksiyon önem kazanmaktadır . ( Ünlütürk ,Turantaş ,1998 )

Gıdalarda staphylococcal gelişimin engellenmesinde kullanılan temel yöntemlerden birisi de soğutma sıcaklıklarıdır . Mossel ve Van Netten enterotoksin oluşumu ve gelişimini sınırlayıcı sıcaklık , su aktivitesi ve pH değerlerini Çizelge 2.11'de belirtildiği şekilde sıralamışlardır . ( Mossel , Van Netten ,1990 )

Staphylococlarda enterotoksin oluşumu esas olarak sıcaklık ile kontrol edilebilmektedir . Jermilerin çoğalması ve toksin oluşumu hemen hemen

tamamıyla 7 ° C'nin altında inhibe edilmektedir . Bu sıcaklık derecesinde sadece Staphylococlar üzerinde belirgin şekilde etkiye sahip olan psikrotrofik bozulma yapan mikroorganizmalar gelişir . Staphylococlarda , özellikle Gram (- ) mikroorganizmalarla kıyaslandıkları zaman dondurma ve çözme canlılık üzerinde çok düşük bir etkiye sahiptir . ( Mossel ve Van Netten ,1990 )

Çizelge 2.11. Jerm gelişimi ve enterotoksin üretiminde sınırlayıcı sıcaklık değerleri ile su aktivitesi ve pH değerleri

|                      | Aerobik<br>( °C ) | Koşullar |     | Anaerobik | Koşullar |     |
|----------------------|-------------------|----------|-----|-----------|----------|-----|
|                      |                   | aw       | pH  |           | aw       | pH  |
| Gelişme              | 7-46              | 0.83     | 4.0 | 7-46      | 0.90     | 4.6 |
| Enterotoksin oluşumu | 10-45             | 0.84     | 4.0 | 10-45     | 0.90     | 5.3 |

Kaynak : Mossel ve Van Netten ( 1990 )

*Staphylococcus aureus* 46 ° C'nin üzerindeki sıcaklıklarda uygun besi ortamında gelişebilirler ancak daha yüksek sıcaklıklara duyarlıdır . Vejetatif hücrelerin enterotoksinleri ısıya oldukça dayanıklıdır. *Staphylococcus aureus* daima *Acetivobacter* , *Aeromonas* , *Bacillus* , *Enterobacteraceae* , *Enterococcus* , *Lactobacillaceae* , *Pseudomonas* , *Staphylococcus epidermidis* ve *Streptococcus* gibi yaygın bozucu mikroorganizmaların etkileşimine çok duyarlıdır . Genellikle gıdaların depolandığı sıcaklık derecelerinde bu tür antogonistik gelişme ve toksin oluşumunu sınırlayabilmektedir . Bozucu mikroorganizmaların gelişimi genellikle *Staphylococcus aureus* popülasyonu önemli miktarda toksin üretme sayılarına ulaşmadan gıdanın tadında , renk , koku ve konsistensinde kolaylıkla tespit edilebilir değişimler meydana gelmektedir . Bunların aksine su aktivitesi azalacak olursa (0.95 ve daha az ) bozucu mikroorganizmaların gelişmesi duracak ve Staphylococlar gelişme yeteneği kazanacaklardır . Staphylococlar gıdada % 55 ve daha yüksek tuz konsantrasyonlarında dominant hale geleceklerdir . ( Anonim ,1998 )

### 2.5.2. *Salmonella*

Gram negatif , çubuk şeklinde , sporsuz , fakültatif aerobik , oksidaz negatif , katalaz pozitif, nitratı nitrite indirgeyen , safra tuzlarına tolere eden , halofil olmayan glikozu ve diğer birçok karbonhidratı fermente ederek asit veya asit – gaz oluşturan bakterilerdir . Triptofandan indol oluşturmazlar . 5 ile 47°C arasında gelişebilirler . Optimum pH 6.5 –7.5 olup pH 4 –9 arasında üreyebilirler ( Anonim ,1994 )

*Salmonella* cinsinde yer alan önemli bir bakteri *Salmonelle typhi*'dir . Tifo hastalığına neden olur. Tifo hastalığı çok ağır seyreden ateşli bir hastalık olup bağırsakların bu bakteri ile enfeksiyonu sonucu ortaya çıkar . *Salmonella paratyphi* ise paratifo adı ile bilinen daha hafif seyreden bir bağırsak rahatsızlığıdır . *Salmonella typhimrium* ile *Salmonella enteridis* gıda maddelerinde en fazla süt,peynir, et, sucuk ve sosis gibi besinlerde görülür. Bu gıda maddelerinin yenmesinden sonra adı geçen bakterilerin oluşturdukları endotoksinler nedeniyle ,8-48 saat sonra mide ve bağırsakları tahriş eden, kusmalı diyareye neden olan gıda zehirlenmeleri görülür . Gıda maddesi yenmeden önce ısıtılmış da olsa, enterotoksin ısıya hassas olmadığından, yine gıda zehirlenmelrine neden olur. *Salmonella*'lar genellikle suda bile üreyebilirler. Bu nedenle yeterince durultulmamış lağım sularının tarımda kullanımı veya diğer sulara karışması sonucu bu bakteriler kolaylıkla insan ve hayvanlara geçebilirler . Tifo epidemileri çoğunlukla içme suyuna lağım sularının karışması sonucu ortaya çıkmaktadır. İnsanlar ise bu mikroorganizmaları vücutlarında uzun süre tutarak çevrelerine yaymaktadırlar . Personelin idrar ve gaita testlerinin sık sık yaptırılması gerekmektedir. Hasta personel bu tür işlerde çalıştırılmamalıdır.( Anonim, 1998 )

Özel geliştirme faktörleri gerektirmezler ve çoğu suşu tanımlı medyalarda üretilebilir. Çoğu suşu gaz oluşturur. Fakat tifo hastalığına neden olan *S. typhi* asla gaz üretmez . Laktozu fermente etmeyen suşları mevcuttur. Çoğu suşu insan ve hayvanlar için patojendir. *S.typhi*, *S.paratyphi* ve *S. sendai* insanlarda septisemiya neden olur . Bu suşlar hayvanlar için patojenik değildirler . Bazı suşlar ise sadece hayvanlar için patojendir . Bazı suşlar ise hem insan hem de

hayvanlar için patojeniktir, Bu tür enfeksiyonlar genellikle gıda kaynaklıdır. Bağırsak florasında yer alırlar. Salmonella kümes hayvanları ve kümes hayvanlarından elde edilen ürünlerde , et ve et ürünlerinde ve süt ve süt ürünlerinde iyi bilinen bir kontaminanttır. ( Anonim ,1998 )

Süt sığırları ,kümes hayvanları ve diğer hayvanların yanında doğal olarak enfekte kuş pisliklerinde ,atık su ve sularda , gıda fabrikalarındaki çevresel kirlilik ve tozlarda , gıda ile yemlerde Salmonella uzun süre canlı kalabilmektedir. Özellikle yağsız sütte ve yumurta ürünlerinde uzun süre canlı kalmaktadır. Yine pek çok peynir türünde gerekli depolama periyotlarından uzun süre canlı kalabilmektedir . Dondurma sıcaklıklarında Salmonella sayısındaki azalma çok sınırlıdır. Dondurulmuş gıdalarda çok uzun süreler canlılığını sürdürebilmektedir. Pastörizasyon sıcaklıklarında ölmektedir.( Anonim ,1998 )

Genellikle total flora içinde düşük oranda Salmonella bulunduğundan mümkün olduğunca Salmonella dışındaki mikroorganizmaların inhibe edilmesi gerekmektedir . Böylece Salmonella üyelerinin yeterince yüksek sayılara ulaşmasına izin verilebilir . Salmonellalar kolaylıkla yıkıma uğradığı ve hücreler gıdaların ısısal işlemleri sırasında , dondurulmaları ,eritilmeleri , osmotik basınç değişimleri yada uzun süreli depolamalarda zarar gördükleri veya aktivitelerini yitirdikleri için tüm gıdalar ve çevresel örneklerde tercihen ön zenginleştirme veya seçici olmayan zenginleştirme yöntemleri uygulanmaktadır . Ön zenginleştirmede ortamın besleyici bileşimi belirleyici faktör olmamasına karşın inkübasyon süresi son derece kritiktir . Ön zenginleştirmede zarar görmüş Salmonella hücreleri kendilerini yenilemektedir. Bunun neticesinde de seçici zenginleştirme Salmonella analizlerinde çok önemli bir aşamayı oluşturmaktadır. Genellikle yüksek düzeyde gelişen kompetitif flora engellenmekte ve salmonellaların yüksek düzeyde gelişimine olanak tanınmaktadır. Bu amaçla da zenginleştirme yapılmaktadır. ( Anonim ,1998 )

Hemen hemen tüm gıdalar yanlış işleme ve uygun olmayan hijyen koşulları neticesinde Salmonellalar ile bulaşabilmektedir . Kontaminasyon gıdalarla direk ilişkisi bulunan kişilerce gerçekleşmekte ve taşınmaktadır. Salmonellosise Salmonella grubu canlı bakterilerin bulaşması yol açmaktadır. Canlı hücrelerin sindirim sistemine ulaşması gerekmektedir. Hastalığa yol açan

bakteri sayısı suşun tipine göre değişmektedir. Patojenite ile ilişkili olarak iki temel grup mevcuttur .( Anonim , 1998 ; Ünlütürk ve Turantaş ,1998 )

1 ) Tifo ve paratifo hastalıkları

2 ) Gastro intestinal enfeksiyonları

Salmonella ile kontamine olmuş gıda maddesi sindirildikten sonra 7 – 72 saat içinde belirtiler görülmeye başlar. Tifo vakalarında inkübasyon periyodu 7 – 21 gün arasında değişmektedir . Tifo vakalarının klinik seyri septisemi ,endokarditis ,perikarditis ve menenjit ve lökopeni ile karakterize edilmektedir. Genellikle mide iltihabı görülmemektedir. Yüksek ateş yada peritonitisle sonuçlanan sindirim sistemi deformasyonundan dolayı ölümler görülebilmektedir. Geleneksel Salmonellosis vakalarında genellikle gastro intestinal sistemle ilgili belirtiler görülmektedir. Bunlar ateş , baş ağrısı , diyare ,mide krampları , karın ağrısı ve sık sık kusma isteğidir.( Anonim ,1998 )

### 2.5.3. *Escherichia coli* ve Koliformlar

Koliformlar G (-) , oksidaz negatif, sporsuz, çubuk şeklinde aerobik ve fakültatif anaerobik , safra tuzları veya diğer yüzey aktif reaktifler varlığında gelişebilen ,laktozu fermente ederek 37°C'de 48 saatte asit ve gaz oluşturan mikroorganizmalardır. Koliform tahmin testlerinde pozitif sonuç brilliant green lactose bile brothta 37°C'de 48 saatte gaz oluşumu ile belirlenir.( Anonim,1998)

*E.coli* ve *A.aerogenes* adındaki iki bakteri koliform grubu veya diğer adıyla coli-aerogenes grubunu oluştururlar. Glukoz,laktoz ve diğer karbonhidratların fermentasyonu sonucu pürüvat oluşur daha sonra pürüvat laktik ,asetik ve formik asite dönüştürülür. *E.coli* ve *A. aerogenes* glüköz, laktoz ve pepton içeren sıvı besiyerinde iyi gelişir . Laktozu katabolize edebilmesi , bir ekzoenzim olan beta-galaktozidaza sahip olduklarını gösterir . Formik asitin bir kısmı CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'e parçalanır İçinde Durham tüpleri bulunan laktozlu besiyerinde oluşan gaz Durham tüplerinde toplanır, ancak *A. aerogenes* , *E.coli*'ye oranla iki misli fazla gaz üretir. *E.coli*'de 1/1 oranında H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> oluşurken , *A.aerogenes* H<sub>2</sub>'e oranla fazla CO<sub>2</sub> üretmektedir.Eosin metilen blue agar besiyeri oldukça selektif bir ortamdır. *E.coli* kolonileri bu besiyerinde yeşil ,metalik pırıltılıdır. *E.coli* bağırsak florasında bulunur, ancak bağırsakta *E.coli*'den başka bakteriler

de mevcuttur . *A.aerogenes E.coli*'den pek az sayıda farklı biyokimyasal özelliği ile ayrılır. Bu karışık asit fermentasyonu özelliği koliformu İMVIC testleri yardımıyla diğer mikroorganizmalardan ayırmaya yardımcı olur. İMVIC testinde indol testi, Voges-Proskauer testi, sitrat testi ve metil red testi yapılır. *E. coli* İMVIC testi uygulandığında + + - - sonuç verir , *Enterobacter aerogenes* bütandiol- formik fermentasyonu yapar ve İMVIC testinde - - + +sonuç verir.Bu özellikler su ve gıda analizlerinde kullanılır. 24 saatte 44° C'de laktozdan gaz ve triptofandan indol üreten koliformlar termotolerant veya fekal koliformlar olarak bilinirler . ( Anonim ,1994 )

*E.coli* özellikle çocuklarda diyare etmeni olarak bilinmektedir. Klinik belirtileri sulu diyare , mide krampları ,mide bulantısı , su kaybından kaynaklanan düşük ateş , sıvı ve elektrolit kaybından kaynaklanan asidosis'tir. Hastalık süreci 8 – 44 saatte belirtilerin ortaya çıkmasını izleyen 3 –19 gün arasında değişmektedir. ( Anonim ,1998 )

Gıdalarda koliform bulunması kötü sanitasyon koşullarının , yetersiz veya yanlış uygulamaların veya tekrar bulaşmanın bir göstergesi olarak kabul edilir . koliformlar içinde fekal orijinli olanların yanısıra olmayanlar da mevcuttur . Gıdada koliform bulunması fekal kontaminasyon veya enterik patojen varlığının kesin göstergesi değildir . Çünkü koliformlar bağırsak florası dışında birçok ortamda yaygın olarak bulunmaktadır . Koliformlar doğada yaygın olarak bulunmaları , vücut dışında üreyebilmeleri ve bazı suşlarının fekal orijinli olması nedeniyle sanitasyon göstergesi olarak kullanılır . *E.coli*'nin habitatı ise insan ve diğer sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemidir . *E.coli*'nin gıdada bulunması fekal orijinli olması nedeniyle gıdada dışkı bulaşığı olduğunun göstergesidir . *E.coli* sularda uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir . Bu nedenle de kontamine sularla kolaylıkla bulaşabilmektedir . ( Ünlütürk , Turantaş ,1998 )

#### 2.5.4. *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* balık ,sebze plantasyonları ,nehir suları , pis su kaynakları , vahşi hayvanlar , böcekler ve gıdaların büyük bir kısmından ve gıda üretim bölgelerinden izole edilmiştir. Ayrıca bu mikroorganizma sağlıklı bireylerin % 77sinden de izole edilmiştir. ( Anonim ,1998 )

Hayvan ve insanlarda patojendir. Hamile hayvanlarda uterusun enfeksiyonunu izleyen yavru atma ,ölü doğum yada doğumdan sonra ilk dört haftada kaydedilen ölümler görülür . Direk temas ile alınan bakteri gözlere ve deriye nüfuz ederek enfeksiyonlara neden olmaktadır . Gıda yolu ile alındığında ise bu bakteri hücreleri insan vücudunda makrofajlara yerleşir ve öncelikle halsizlik , hafif ateş ve ishal gibi belirtilere neden olur . Makrofajların içinde çoğalarak bu hücreleri parçalayan ve hücre dışına çıkan bakteri septisemiaya neden olur . Kan yolu ile vücutta çeşitli dokulara yayılır . ( Anonim ,1998 )

Enfeksiyon döngüsü aşağıda verilmiştir :

Enfekte hayvan – dışkı ve idrara *L.monocytogenes* salgılanması – kontamine gübre ve toprak – arzu edilir koşullarda gelişme – kontamine yemlerin tüketimi ile enfeksiyon

*L.monocytogenes*'in en yaygın bulaşma kaynağı çevresel kaynaklardır. Fekal kontaminasyon en yaygın kontaminasyon kaynağıdır. Diğer bir kontaminasyon kaynağı da alet –ekipmanlardır . Proses alanlarında iyi hijyen koşullarının sağlanmasının *L.monocytogenes*'le kontaminasyonunun önlenmesinde önemi büyüktür. Bu mikroorganizma ile kontaminasyonun önlenmesinde dezenfeksiyon büyük önem taşımaktadır . *L.monocytogenes*'in minimum gelişme sıcaklığı 1 ° C olarak belirtilmektedir. ( Ünlütürk ,Turantaş ,1998 )

Sonuç olarak *Listeria monocytogenes* doğada yaygın şekilde bulunmaktadır. Uygun hijyen uygulamaları ve normal temizleme programlarının düzenli kullanımı üründeki *L.monocytogenes* sayısının sınırlanmasında son derece önemli rol oynamaktadır. Bu olguda özellikle organizmanın rutin şekilde kullanılan temizleme maddelerine karşı özel bir dayanıklılık mekanizmasının olmamasından kaynaklanmaktadır . Organizma buzdolabı koşullarında gelişebilmektedir . Ancak mikroorganizmanın generasyon süresi 5° Cde 13 – 24 saat olduğu için normal depolama koşulları altında gıdalarda aşırı gelişme meydana gelememektedir. ( Anonim ,1998 )

#### 2.5.5. Kûf ve Mayalar

Doğada hava , toprak , su ve organik maddeler üzerinde bulunan funguslar , ökaryotik ve heterotrof mikroorganizmalardır . Küfler miselyum



oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanırken , mayalar tek hücreli ve genellikle miselyum oluşturmayan yapılar olarak tanımlanmaktadır . Bazı küfler ve mayalar gıda üretiminde kullanılırken bazıları da saprofit özellikte olup gıdanın bozulmasına , üretimin istenmeyen şekilde sonuçlanmasına yol açmaktadır . Maya ve küfler oldukça geniş pH ( 2 –9 ) aralığında , depolama sıcaklığında ( 10 –35 ° C ) ve su aktivitesinde üreyebilmektedirler . Aynı zamanda yüksek tuz ve şeker konsantrasyonuna sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmektedirler . Bazı türler psikrotrof özellikte olup buzdolabı sıcaklığında gelişerek gıdaların bozulmasına neden olabilmektedir . Bozulmaya yol açan maya ve küfler gıdalarda acı tat ve kötü koku oluşumu , gaz oluşturma özellikleri sayesinde istenmeyen bir takım değişikliklere neden olabilmektedirler . Bazı küfler ise bulaştıkları gıda maddesinde gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler nedeniyle zehirlenmelere neden olabilmektedirler . ( Ünlütürk ve Turantaş ,1998 ; Anonim ,2000 d)

#### 2.5.6. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri :

Steril olmayan gıdalarda bulunmasına izin verilenler sadece saprofit karakterli ve gıdada bulunması doğal olan mikroorganizmalardır . Bunlar arasında toplam mezofilik aerobik sayısı gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılan yaygın şekilde başvurulmuş bir kriterdir . Toplam bakteri ya da toplam canlı bakteri olarak tanımlanan aslında toplam mezofilik aerobik bakteri sayısıdır . Gıdaların mikrobiyolojik analizinde en önemli olan mezofil ve aerob sınırlarda gelişen bakterilerdir . Nötr pH da ve çoğu bakterinin gelişebileceği düzeyde yeterli besin maddesi içeren ancak hiçbir inhibitör içermeyen bir genel besiyerinde mezofil ve aerob inkübasyon koşullarında gelişebilen bakteriler gıdalarda en çok rastlanan saprofit ve patojen bakterilerdir . Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ile genel işletme koşulları , işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları hakkında bilgi edinilebilir .

( Ünlütürk ve Turantaş ,1998 ; Anonim ,2000 d )

### 2.5.7. Toplam Psikrotrofik Bakteri Sayısı

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı gibi kalite kriteri olarak kullanılabilen bir parametredir . Aynı şekilde genel işletme koşulları , işleme sonrası depolama ve taşıma koşulları hakkında bilgi edinmek amacıyla kullanılır. ( Ünlütürk , Turantaş ,1998 )



### 3.MATERYAL VE METOT

#### 3.1.Materyal

Ülkemizde vakum ambalajlanmış ,soğutulmuş, sirkeli ,tuzlu balık konservesi üreten , iç piyasada ve / veya dış piyasada büyük pazar payına sahip 3 firmaya ait 4 tip ürün ( sade , biber soslu , sarımsak soslu , salamura sebze katkılı ) olmak üzere toplam 60 konserve örneği piyasadan alınmıştır . Örnekler analizlerin yapılacağı zamana kadar buzdolabında 0 - 5 ° C'de muhafaza edilmiştir . 250 g'lık ambalajlar kullanılmıştır .

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1. pH Değerinin Ölçümü

Konserve örneklerinin yağ ve salamuraları süzdürüldükten sonra kalan fileto ve sos , sebze vs. karışımı blendırda parçalanarak filtre kağıdından süzülüp süzüntüden pHmetre yardımı ile pH değeri ölçülmüştür . Ölçümler için kullanılan pHmetre sıcaklık ayarlıdır ( WTW pH 3301).

##### 3.2.3. % Tuz Tayini

Konserve örneklerinin yağ ve salamuraları süzdürüldükten sonra kalan fileto ve sos ,sebze vs. karışımı blendırda parçalanarak filtre kağıdından süzülüp süzüntü numune olarak kullanılmıştır. Süzüntüden 1 ml . alınıp potasyum dikromat indikatörü ( % 5lik ) damlatılmış ve 0.1 N AgNO<sub>3</sub> ile sabit kiremit kırmızı renge kadar titre edilerek sonuçlar aşağıdaki formüle göre % tuz olarak hesaplanmıştır . ( Anonim, 1986 )

$$\% \text{ tuz} = \frac{V \times F \times 0.00585 \times 100}{M}$$

M

V : Harcanan 0.1 N AgNO<sub>3</sub> miktarı ,ml

F: 0.1 N AgNO<sub>3</sub> çözeltisinin faktörü

M: Titre edilen örnek miktarı, ml

### 3.2.3.Toplam Mezofilik Aerobik Canlı Sayımı

Seyreltme çözeltileri :

Peptone –saline çözeltisi : ( Oxoid )

Kompozisyonu :

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Peptone                  | 1.0 g     |
| Sodium chloride ( NaCl ) | 8.5 g     |
| Distile su               | 1000 ml . |

Hazırlanışı :

Bileşenler distile suda çözülmüştür . pH sterilizasyondan sonra  $7.0 \pm 0.1$  (  $25^{\circ} \text{C}$ 'de ) olacak şekilde ayarlanmıştır .

Besiyeri kompozisyonu ( Plate Count Agar ) : ( Oxoid )

|                     |         |
|---------------------|---------|
| Tryptone            | 5.0 g   |
| Yeast extract       | 2.5 g   |
| Glucose monohydrate | 1.0 g   |
| Agar                | 16.0 g  |
| Distile su          | 1000 ml |

Besiyeri hazırlanması :

Bileşenler distile suda çözülerek kaynatılarak çözülmüştür . Kaynatma işlemine agar saydamlaşınca kadar devam edilmiştir . pH sterilizasyondan sonra  $7.0 \pm 2$  (  $25^{\circ} \text{C}$ 'de ) olacak şekilde ayarlanmıştır . Besiyeri  $121 \pm 1^{\circ} \text{C}$ 'de 15 dakika sterilize edilmiştir .  $45^{\circ} \text{C}$ 'ye soğutularak kullanılmıştır . (Anonim ,2001 )

Deney numunesi ve ilk seyreltmenin hazırlanması :

Ambalaj aseptik olarak açılmıştır . 50 g . numune steril stomacher poşetine aseptik olarak tartılmıştır . Seyreltme çözeltisi ilave edilerek 500 ml .'ye tamamlanmıştır . Stomacherde homojen hale gelinceye kadar parçalanmıştır .  $10^{-1}$  seyreltme hazırlanmıştır .( Anonim ,2001 )

Daha ileri seyreltmelerin hazırlanması :

İlk dilüsyondan 1 ml steril bir pipetle alınarak 9 ml steril seyreltme çözeltisine ilave edilmiştir . Aktarma sırasında pipet seyreltme çözeltisine temas etmemesine dikkat edilmiştir . Tüp tüp karıştırıcı yardımı ile

karıştırılmıştır .Böylece  $10^{-2}$  seyreltme elde edilmiştir . Bu seyreltmeden 1 ml . alınıp yeniden 9 ml . seyreltme çözeltisi içeren tüpe aktarılarak  $10^{-3}$  seyreltme hazırlanmıştır . Bu şekilde devam edilerek  $10^{-6}$  'ya kadar seyreltmeler hazırlanmıştır . Numunenin tartımından ilk seyreltmenin sonuna kadar geçen zaman 15 dakikadan uzun olmamalıdır . ( Anonim ,2001 )

#### İnokülasyon ve inkübasyon

İki steril petri kutusu alınmıştır. Her bir steril petriye pipetle 1 ml test numunesi ( hazırlanmış seyreltmeden ) aktarılmıştır . Uygun seyreltmeler seçilerek her bir seyreltme için 2 adet petri kutusuna seyreltmeden 1 ml. aktarılmıştır . Petrilere 12 – 15 ml . besiyeri ilave edilerek 8 şeklinde hareket ettirilerek numune ile besiyerinin iyice karışması sağlanmıştır . Karışımın katılaşması için petrilere soğuk ve yatay bir yüzeyde kendi haline bırakılmıştır . Katılaşmış petri kutuları ters çevrilerek  $35 \pm 1$  ° C'deki inkübatörde  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . ( Anonim ,2001 )

#### Kolonilerin Sayımı :

Petrlere koloni sayıcısında kuvvetli ışık altında incelenmiştir .25 –250 koloni içeren petrilere ayrı ayrı sayılmıştır . Toplu iğne başı büyüklüğündeki kolonilerin sayıma ilave edilmesi açısından önemlidir . Petri içindeki çözünmemiş parçacıklar veya çökelmiş maddeler kolonilerle karıştırılmamalıdır . Şüpheli objeler dikkatle gerektiğinde daha çok büyüyen büyüteç ile yeniden incelenmiştir . Yayılmış koloniler bir tek koloni olarak sayılmıştır . Eğer petrinin dörtte birinden az kısmı yayılmış kolonilerle kaplanmışsa petrinin etkilenmemiş kısmındaki koloniler sayılarak tüm petri için karşılık gelen sayı hesaplanmıştır . Eğer petrinin dörtte birinden fazlası yayılmış kolonilerle kaplanmış ise bu petri sayıma dahil edilmemiştir . ( Anonim ,2001 )

#### Yayılmış koloniler 3 çeşittir :

1. Zincirler şeklinde fakat tam olarak birbirinden ayrılmamış koloniler
2. Agar ve petri kutusu arasında kalan su filminde gelişen koloniler
3. Agarın yüzeyinde veya kenarlarındaki su filminde gelişen koloniler

Sonuçların hesaplanması :

25 – 250 koloni içeren petriyer sayılmıştır . Her gram veya ml. deki üründeki mikroorganizma sayısı ( N adet ) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır .

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1 n_2) d}$$

Bu formülde

$\Sigma C$  : sayılmak üzere ayrılmış tüm petriyerdeki kolonilerin toplamı

$n_1$  : ilk seyreltmedeki petri sayısı

$n_2$  : ikinci seyreltmedeki sayılan petri sayısı

$d$  : ilk seyreltmeye karşılık gelen seyreltme faktörü

Elde edilen sonuçlar yuvarlanmıştır . Yuvarlama yapılacak sayı 5 ise solundaki rakama bağlı olarak yuvarlama yapılmıştır . 5 sayısının solundaki rakam tek ise bir üst rakama , çift ise bir alt rakama yuvarlanmıştır . ( Anonim ,2001 )

Örnek :

Bir sayımda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiş olsun .

İlk seyreltme (  $10^{-2}$  ) : 168 ve 215 koloni

İkinci seyreltme (  $10^{-3}$  ) : 14 ve 25

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1 n_2) d}$$

$$N = \frac{168 + 215 + 14 + 25}{(2 + (0.1 \times 2)) \times 10^{-2}} = 422 / 0.022 = 19182$$

Yuvarlama yapılırsa 19000 veya  $1.9 \times 10^4$  adet mikroorganizma / g

Eğer test numunesine karşılık gelen petri kutuları 10'dan az koloni içeriyorsa sonuç < 10 adet /ml veya gram numune olarak belirtilmiştir . Eğer sadece 250 koloniden fazla koloni içeren petriyer var ise 250'ye yakın

petrilerdeki koloniler sayılmış ve seyreltme faktörü ile çarpılarak tahmini sayı / gram veya ml olarak belirtilmiştir . ( Anonim ,2001 )

#### 3.2.4. Toplam psikrotrotrof bakteri sayımı

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı metodunda anlatıldığı gibi dilüsyon hazırlanmıştır . İnokülasyon yine 3.2.3. maddesinde belirtildiği gibi toplam mezofilik aerobik bakteri sayımına göre yapılmıştır . Petriler  $4\pm 1$  ° C'deki inkübatörde 10 gün inkübasyona bırakılmıştır . Koloni sayımı yine toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı metodunda belirtildiği şekilde yapılmıştır .

( Anonim ,2000 d )

#### 3.2.5. Koliform ve *Escherichia coli* Sayımı

Besiyeri ve Çözeltiler ( Oxoid )

1. Brilliant green lactose bile ( BGLB ) broth ( % 2 )
2. Laurylsulphatetryptose ( LST ) broth
3. EC broth ( *Escherichia coli* broth )
4. Levine's eosin methylene blue ( L-EMB ) agar
5. Tryptone broth
6. MR- VP ( Methylred-Voges Proskauer )broth
7. Koser's citrate broth
8. Plate count agar ( PCA )
9. Kovacs' reagent
10. Voges-Proskauer ( VP ) reagents
11. Gram boyaları
12. Methylred indikatörü

Tahmin testi ( Presumptive test ) :

3 dilüsyon hazırlanmıştır . Her bir dilüsyondan 5 LST tüpüne 1'er ml aktarılmıştır . İnokülasyonu tamamlanan tüpler  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . Durham tüplerinde inkübasyon sonucu gaz oluşan tüpler pozitif , gaz oluşmayanlar negatif olarak kabul edilmiştir . ( Anonim ,2001)

Doğrulama Testi ( Confirmative test ) :

Pozitif kabul edilen gaz oluşumu görülen tüplerden öze ile alınarak BGLB tüplerine aseptik olarak aktarılmıştır . BGLB tüpleri  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . Gaz üretimine bakılarak gaz oluşmuş tüp sayısına göre MPN tabloları kullanılarak ( Ek 1 ) koliform sayısı hesaplanmıştır .

( Anonim ,2001 )

*E. coli* için doğrulama testi :

LST tüplerinden gaz oluşturanlar seçilmiştir . Öze ile EC broth tüplerine LST tüplerinden alınan koloniler inoküle edilmiştir . EC broth tüpleri  $45.5 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . EC broth tüplerinden öze ile alınıp L- EMB agar yüzeyine çizim yapılmıştır . Petriler  $35 \pm 1$  ° C'de 18- 24 saat inkübasyona bırakılmıştır . Petri kutuları *E. coli* açısından kontrol edilmiştir . *E. coli* kolonileri koyu kırmızı merkezli , düz , metalik , veya metalik olmayan kolonilerdir . 2 şüpheli koloni morfolojik ve biyokimyasal testler için PCA yatık agarlarına aktarılmıştır ve  $35 \pm 1$  ° C'de 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır . Eğer bu koloniler tipik *E. coli* kolonileri değil ise diğer koloniler de incelenmiştir . *E. coli* tespiti için 2 adet Gram boyama yapılmıştır . Gram negatif , kısa çubuk ve koklar için biyokimyasal testler uygulanmıştır .( Anonim,2001 )

İndol testi :

Tryptone broth tüpleri inoküle edilip  $35 \pm 1$  ° C'de  $24 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . 0.2 – 0.3 ml. Kovacs' reaktifi ilave edilerek indol üretimi test edilmiştir . Üstte parlak kırmızı renk pozitif sonuç kabul edilmiştir .

( Anonim, 2001 )

Voges- Proskauer ( VP ) Reaksiyonu :

MR – VP broth tüpleri inoküle edilip  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . İnkübasyon sonunda brothtan 1 ml . alınıp boş steril tüpe aktarılmıştır . Üzerine 0.6 ml alpha –naphthol çözeltisi , 0.2 ml . % 40,0'lık KOH eklenip karıştırılmıştır . Bir miktar creatine kristali eklenip çalkalanmıştır . 2 saat beklenip renk değişimi incelenmiştir . Eosin pembesi renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir . ( Anonim ,2001 )

Methyl red testi :



MR- VP tüpleri VP testinden sonra tekrar  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . 5 damla methyl red çözeltisi ilave edilerek renk oluşumu incelenmiştir . Parlak kırmızı renk pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir . Sarı renk negatiftir . ( Anonim ,2001 )

Citrate testi :

Koser's citrate broth inoküle edilerek  $35 \pm 1$  ° C'de  $96 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . Bulanıklık oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir . ( Anonim ,2001 )

Laktozdan gaz üretimi :

LST broth tüpleri inoküle edilip  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmıştır . Gaz üretimi olup olmadığı kontrol edilmiştir. ( Anonim ,2001)

Sonuçların değerlendirilmesi :

Laktozu fermente ederek  $35 \pm 1$  ° C'de  $48 \pm 2$  saat inkübasyon sonunda gaz oluşturan Gram negatif sporsuz çubuk veya kok şeklinde IMVIC testlerinde ++- veya +- sonuç veren koloniler *E.coli* olarak kabul edilmiştir . ( Anonim ,2001 )

### 3.2.6.Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* tespiti

Besiyeri ve Reaktifler : ( Oxoid )

- Baird -Parker agar
- Brain heart infusion broth
- Coagulase plasma ( tavşan ) ,EDTA'lı
- Toluidin Blue O-deoxyribonucleic acid aga
- Lysostaphin
- Tryptone yeast extract agar
- Steril parafin oil

Baird -Parker Agar :

Kompozisyonu :

|               |        |
|---------------|--------|
| Tryptone      | 10.0 g |
| Beef extract  | 5.0 g  |
| Yeast extract | 1.0 g  |

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| Sodium pyruvate       | 10.0 g  |
| Glycine               | 12.0 g  |
| Lithium chloride 6 HO | 5.0 g   |
| Agar                  | 20.0 g  |
| Distile su            | 1000 ml |

#### Besiyerinin hazırlanması :

Bileşenler distile suda çözülerek kaynatılmıştır . 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir . 45 °C'ye soğutulmuş ve 95 ml besiyerine 5 ml Egg -Yolk Tellurite çözültisi ( 45°C'de ) aseptik olarak ilave edilmiştir .

( Anonim,2001 )

#### İzolasyon ve Sayım :

- Ekimi yapılacak her dilüsyon için aseptik olarak 1 ml. numune süspansiyonu 3 adet Baird-Parker agar petrisine aktarılmıştır . ( 1 ml. inokül eşit olarak 3 petriye 0.4 ml . ,0.3 ml. , 0.3 ml. olarak bölünmüştür . )
- İnokül agar yüzeyine steril cam çubuk yardımıyla yayılmıştır .
- Petriler inokül absorbe oluncaya kadar bekletilmiştir . Eğer inokül 10 dakikada absorbe olmazsa petriler 1 saat daha inkübatöre konmuştur .
- Petriler ters çevrilerek 35 -37° C'de 45 –48 saat inkübasyona bırakılmıştır .
- Tipik *Staphylococcus aureus* görünümündeki kolonileri içeren düşük dilüsyonlu ( 20- 200 koloni içeren ) petriler seçilir. *Staphylococcus aureus* kolonileri çok üreme olmayan petrilerde yuvarlak , pürüzsüz , konveks , nemli ,2-3 mm. çapında , gri – koyu siyah ,genellikle açık renkli ( beyaza yakın ) kenarlı etrafı berrak halka ile sarılı kolonilerdir ve öze ile dokunulduğunda yağimsı , yapışkan yapıya sahiptirler . ( Anonim ,2001 )

#### Kolonilerin Sayımı ve Raporlanması :

*Staphylococcus aureus* mevcutmuş gibi görünen çeşitli tipte koloniler mevcutsa her tip koloni miktarı sayılmıştır . En düşük dilüsyonların ekildiği petriler < 20 koloni ihtiva ediyorsa (tipik *Staphylococcus aureus* görünümünde ) ve yüksek dilüsyon petrileri tipik koloni ihtiva etmiyorlarsa bu petriler *Staphylococcus aureus* sayımı için kullanılmıştır . Tipik olmayan koloniler sayılmamıştır . Sayılan her tipten koloniden birer koloni seçilerek koagülaz testi

yapılmıştır .Üçlü petri setleri üzerindeki koagülaz pozitif test veren koloniler sayılmış ve toplanmıştır . Toplam dilüsyon faktörü ile çarılıpılarak *Staphylococcus aureus* / g. olarak raporlanmıştır . ( Anonim ,2001 )

Koagülaz testi :

Şüpheli *Staphylococcus aureus* kolonileri 0.2 – 0.3 ml . BHI sıvısı ihtiva eden küçük tüplere aktarılmış ve iyice emülsifiye edilmiştir . BHI süspansiyonundan öze dolusu uygun bir muhafaza vasatına ( TSA gibi ) inoküle edilmiştir . BHI süspansiyonu ve slantı 18 – 24 saat 35 – 37 °C'de inkübe edilmiştir . Slant kültürü oda sıcaklığında tekrarlama gerektiğinde kullanılmak üzere saklanmıştır . EDTA ile sulandırılmış koagülaz plazmadan 0.5 ml . BHI kültürüne ilave edilmiş ve karıştırılmıştır . 35 –37 °C'de inkübe edilmiş ve 6 saatlik periyotlarda pıhtı oluşumu kontrol edilmiştir . Sadece belirgin ve tam bir pıhtı (dibe oturan ) numuneler pozitif olarak kabul edilmiştir . ( Anonim ,2001 )

Diğer testler :

Katalaz testi : TSA yatık agarlarında geliştirilen kolonilerden lamele alınıp % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılmış ve gaz çıkışı gözlenmiştir . Gaz oluşumu katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir . ( Anonim, 2001 )

Anaerobik glikoz fermentasyonu : % 0.5 glikoz içeren karbonhidrat fermentasyon tüpleri öze ile inoküle edilmiştir . İnokulumun tüpün dibine ulaştığından emin olunmalıdır . Agar yüzeyi en az 25 mm kalınlığında steril parafin ile kaplanmıştır . 37 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır . İndikatörün tüp boyunca sarıya dönüşmesi anaerobik asit üretimini gösterir . Bu da *Staphylococcus aureus* varlığının göstergesidir . ( Anonim ,2001 )

Anaerobik mannitol fermentasyonu : Agarda izole edilen kolonilerden öze ile 0.2 ml. phosphate –saline buffer çözeltilisine aktarılmış ve emülsifiye edilmiştir . Şüpheli kolonilerin bir kısmı 0.1 ml . phosphate –saline buffer çözeltilisine kontrol olarak aktarılmıştır . 0.1 ml . lysostaphin ( % 1 NaCl içeren 0.02 M phosphate saline buffer içinde çözünmüş ) orijinal tüpte konsantrasyonu 25 mikrogram lysostaphin / ml . olacak şekilde ilave edilmiştir . İki tüpte 35 °C'de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır . Test tüpünde bulanıklık olmuşsa test pozitif

kabul edilmiştir . 2 saat içinde bulanıklık yok olmuyorsa test negatif kabul edilmiştir . *S.aureus* genellikle pozitifdir . ( Anonim ,2001 )

### 3.2.7.Küf ve Maya Tespiti :

Besiyeri ( Oxoid ) :

Potato Dextrose Agar Kompozisyonu :

| Bileşen        | g / litre |
|----------------|-----------|
| Potato extract | 4.0       |
| Glucose        | 20.0      |
| Agar           | 15.0      |

PH  $5.6 \pm 0.2$

Laktik asit çözeltisi : ( Merck )

Laktik asit çözeltisi kompozisyonu :

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Laktik asit ( % 90 ) | 11 ml  |
| Distile su           | 100 ml |

Laktik asit çözeltisi hazırlanması

11 ml % 90'lık laktik asit distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır . 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir . ( Anonim ,2001 )

Potato Dextrose Agar hazırlanması . :

Bileşenler distile suda çözülerek kaynatılmıştır . Kaynatma işlemine agar saydamlaşınca kadar devam edilmiştir . Besiyeri  $121 \pm 1$  ° C'de 15 dakika sterilize edilmiştir . 45 ° C'ye soğutulularak kullanılmıştır . pH sterilizasyondan sonra laktik asit çözeltisi kullanılarak  $3.5 \pm 2$  ( 25° C'de ) olacak şekilde ayarlanmıştır . pH ayarlanması agar 45 ° C'ye soğutulduktan sonra yapılmıştır . ( Anonim ,2001 )

İşlem :

Hazırlanmış olan seyreltmelerden Potato Dextrose Agara dökme plak yöntemi ile inokülasyon yapılmıştır . Petri kutuları 20 - 25 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılarak oluşan koloniler sayılmıştır. Sonuçlar adet küf / g konserve ve adet maya / g konserve olarak verilmiştir . ( Anonim ,2001 )

### 3.2.8. Listeria Tespiti:

Analiz yöntemi birbirini takip eden iki zenginleştirme aşamasından oluşur . Bu seçici zenginleştirme aşamalarında optimum gelişme koşulları sağlanarak flagella oluşumu sağlanır . Daha sonra ikinci zenginleştirme medyası 80 °C'de 20 dakika ısıtılarak flagella antijeni ekstrakte edilir. Son aşama ise antijenin tespitidir . Listeria kiti B flagella antijenine spesifik monoklonal antikor içerir . Ekstrakte edilen flagella antijeni test kitinin numune küvetine pipetlendiğinde burada yer alan mavi latex ile işaretlenmiş antikorlarla reaksiyon meydana gelir . Oluşan kompleks mavi renkli olup kapılar hareket ile sonuç küvetine doğru ilerler . Sonuç küvetinde gözlenen mavi çizgi Listeria varlığını göstermektedir . Flagella antijeni mevcut değilse sonuç küvetinde herhangi bir renk değişimi gözlenmez . Kontrol küvetinde testin önceki aşamalarının doğruluğu kontrol edilir . ( Anonim ,2000 c )

Seyreltme Çözeltileri ve Besiyerleri : ( Oxoid )

- Half Fraser Broth ( 1 / 2 FB )
- Buffered Listeria Enrichment Broth ( BLEB )
- Listeria test kitleri ( Oxoid Listeria Rapid Test )

#### Half Fraser Broth

| İçeriği :                    | g / lt    |
|------------------------------|-----------|
| Protease peptone             | 5.0       |
| Tryptone                     | 5.0       |
| Lab Lemco powder             | 5.0       |
| Yeast extract                | 5.0       |
| Disodiumhydrogenphosphate    | 12.0      |
| Sodiumchloride               | 20.0      |
| Potassiumdihydrogenphosphate | 1.35      |
| Aesculin                     | 1.0       |
| Lithium chloride             | 3.0       |
| PH                           | 7.2 ± 0.2 |

**Half Fraser Selective Supplement :**

Her kutu 225 ml broth için kullanılır .

**İçeriği :**

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Ferric ammonium citrate  | 112.50 mg |
| Nalidixic acid           | 2.25 mg   |
| Acriflavinehydrochloride | 2.8125 mg |

**Hazırlanması :**

14.35 g Half Fraser Broth 225 ml distile suda çözülmüş ve  $121 \pm 2$  °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir . 50 °C'ye soğutulmuştur . Aseptik olarak 1 kutu Half Fraser Selective Supplement hazırlamak için ( 1: 1 ) steril etanol / distile su karışımında supplement içeriği eritilip çalkalanarak karıştırılmıştır . Hazırlanan supplement Half Fraser Brotha aseptik olarak ilave edilmiştir .

( Anonim ,2000 c )

**Buffered Listeria Enrichment Broth ( BLEB )**

| İçeriği                          | g / lt |
|----------------------------------|--------|
| Tryptone soya broth              | 30.0   |
| Yeast extract                    | 6.0    |
| Potassiumdihydrogenthiophosphate | 1.35   |
| Disodiumhydrogenthiophosphate    | 9.6    |

PH  $7.3 \pm 0.2$

**Listeria Selective Enrichment Supplement****İçeriği**

Nalidixic acid 20.0 mg ( 40,0 mg /lt'ye eşdeğer )

Cycloheximide 25 mg ( 50.0 mg /lt'ye eşdeğer )

Acriflavine

Hydrochloride 7.5 mg ( 15 mg /lt'ye eşdeğer )

Her kutu 500 ml Buffered Listeria Enrichment Broth için kullanılır . ( Anonim ,2000 c )

**Hazırlanışı :**

23.5 g Buffered Listeria Enrichment Broth 500 ml distile suda çözülmüş  $121$  °C'de 15 dakika otoklavlanmıştır . 50°C'ye soğutulmuş ve aseptik olarak 1

kutu Listeria Selective Supplement ilave edilmiştir . Listeria Selective Supplement hazırlamak için kutu içeriği 2 ml distile suda çözülmüştür .( Anonim ,2000 c )

Numuneden 25 g steril poşet içine tartılmıştır . 225 ml 1/ 2 Fraser Broth ilave edilmiş ve stomacherde parçalanmıştır . Numune  $30 \pm 2$  °C'de 21 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır . Süre önemlidir . İnkübasyon sonunda bu önzenginleştirmeden 0.1 ml alınıp 10 ml steril BLEB'a aktarılmıştır . BLEB tüpleri  $30 \pm 2$  °C'de 21 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır . Süre önemlidir . İnkübasyon sonunda tüpler sarsılmadan alınmıştır . Üstteki kısımdan 2 ml alınarak boş steril test tüpüne aktarılmış ve tüp 80° C'de 20 dakika pastörize edilmiş , daha sonra oda sıcaklığına soğutulmuştur . Kitler oda sıcaklığına ısıtılıp folyosundan çıkarılıp düz zemine konmuştur . 135 mikrolitre pastörize edilmiş BLEB'den numune küvetine aktarılmıştır . 20 dakika sonra sonuç küvetinde mavi çizgi oluşumu Listeria varlığını gösterir . ( Anonim ,2000 c)

### 3.2.9. *Salmonella* Tespiti

Gıdalarda *Salmonella* izole edilmesi için kullanılan metot selektif olmayan bir besiyeri içerisinde 37° C'de 24 saatlik bir ön zenginleştirme işlemi , selektif besiyerlerinde 37 ve /veya 42-43° C'de zenginleştirme işlemi , katı selektif besiyerlerinde tipik kolonilerin izole edilmesi ve bu şüpheli kolonilerin biyokimyasal ve serolojik testlerle doğrulanması yapılarak *Salmonella*'nın tespiti esasına dayanır .

#### Örneğin Hazırlanması :

Aseptik koşullarda 25 g . numune alınıp 225 ml tamponlanmış peptonlu su ile stomacherde homojenize edilmiştir .

#### Ön zenginleştirme :

Homojenize edilen örnekler steril kavanozda  $37 \pm 1$ ° C'de 16- 20 saat inkübe edilmiştir .

**Zenginleştirme :**

İnkübasyondan sonra ön zenginleştirilmiş örnekten 10'ar ml alınıp hem 100 ml tetrathionate besiyeri ve hem de 100 ml selenite cystine besiyerine aşılanmıştır .Aşılanan besiyerleri  $37 \pm 1^\circ$  C'de 48 saat inkübe edilmiştir .

**Plakalara Aşılama Yapılması :**

20-24 saatlik inkübasyonu takiben her zenginleştirme besiyerlerinden içinde bismuth sulphite agar , brilliant green phenol red agar bulunan plakalara aşılama yapılmıştır .  $37 \pm 1^\circ$  C'de 20 –24 saat inkübe edilmiştir .Ayrıca her zenginleştirme besiyerinden 48zsaat sonunda yine yukarıdaki besiyerlerine sürme yapılmıştır ve aşılanan petriyer 37  $\pm$  1° C'de 20 –24 saat inkübe edilmiştir .

**Tipik *Salmonella* Kolonilerinin İncelenmesi :**

İnkübasyonu takiben kullanılan seçici besiyerlerinde aşağıdaki özelliklere sahip koloniler şüpheli koloniler olarak seçilip doğrulama testleri yapılır .

**Bismuth sulphite agar besiyerinde ;**

*Salmonella* kolonileri kahverengi, gri veya siyah olup bazen metalik parlaklık gösterir .

**Brilliant green phenol red agar besiyerinde ;**

*Salmonella* kolonileri renksiz , pembe – koyu kırmızı renkli ,yarı saydam – donuk olup koloniyi çevreleyen pembe – kırmızıdır .

Ancak yapılan çalışmalarda tipik koloniyi rastlanmamıştır .



## 4 .ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. pH Değerleri

Çizelge 4.1. 1.pH sonuçları

| Ürün        | Firma | Tekerrür |      |      |      |      |
|-------------|-------|----------|------|------|------|------|
|             |       | 1        | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Sade        | A     | 3,92     | 3,99 | 4,02 | 4,10 | 4,12 |
|             | B     | 4,20     | 4,21 | 4,27 | 4,31 | 4,40 |
|             | C     | 4,15     | 4,18 | 4,24 | 4,27 | 4,30 |
| Sarımsaklı  | A     | 3,90     | 3,95 | 3,96 | 4,11 | 4,16 |
|             | B     | 4,12     | 4,14 | 4,29 | 4,21 | 4,36 |
|             | C     | 4,11     | 4,11 | 4,22 | 4,28 | 4,31 |
| Biber soslu | A     | 4,00     | 4,22 | 4,31 | 4,28 | 4,45 |
|             | B     | 4,15     | 4,17 | 4,26 | 4,19 | 4,38 |
|             | C     | 3,99     | 4,00 | 4,20 | 4,12 | 4,24 |
| Sebzeli     | A     | 3,82     | 3,90 | 3,98 | 3,96 | 4,11 |
|             | B     | 3,92     | 3,95 | 4,11 | 4,14 | 4,17 |
|             | C     | 3,77     | 3,85 | 4,04 | 4,10 | 4,15 |

Çizelge 4.1.2. PH için varyans analiz tablosu

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Kareler toplamı | Kareler ortalaması | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 0.432           | 0.144              | 8.682***     | 0.0002                  |
| Firma             | 2                  | 0.258           | 0.129              | 7.770**      | 0.0015                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.270           | 0.045              | 2.717*       | 0.0234                  |
| Hata              | 48                 | 0.796           | 0.017              |              |                         |
| Genel             | 59                 | 1.756           | 0.030              |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.1.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( pH )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 4.213          | a     |
| Sarımsaklı    | 4.149          | a     |
| Biber soslu   | 4.197.         | a     |
| Sebze katkılı | 3.998          | b     |

Testte kullanılan Hko: 0.017 LSD değeri = 0.095 'tir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.1.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( pH )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 4.063          | a     |
| B     | 4.223          | b     |
| C     | 4.132          | b     |

Testte kullanılan Hko: 0.017 LSD değeri = 0.082 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Yapılan varyans analizinde ürün çeşitleri arasında  $p < 0.001$  seviyesinde önemli fark olduğu gözlenmiştir. Firmalar arasında  $p < 0.01$  seviyesinde önemli fark tespit edilmiştir . En düşük pH değerine sahip firma 4.063 değeri ile A firması , en yüksek ortalama değere sahip firma 4.223 değeri ile B firması olmuştur . Yapılan LSD testi sonuçlarına göre pH açısından firmalar 2 grupta toplanmaktadır . LSD testi sonuçları incelendiğinde pH açısından ürün çeşitlerinin 2 gruba ayrıldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre sade , sarımsaklı ve biber soslu ürünler arasında pH açısından fark görülmemiştir. Sebze katkılı ürünler daha düşük pH değerine sahip olup diğer grubu oluşturmuştur .

pH değerinin sebze ürünlerde diğer ürün çeşitlerine göre çok düşük olmasının nedeni kullanılan salamura sebzelerin pH değerinin düşük oluşu olarak düşünülmektedir . Sarımsaklı ve biber soslu ürünlerde kullanılan katkı malzemelerinin hem oransal olarak miktarı düşüktür ,hem de gerek sarımsak

gerekse biber sosunun ph değeri marine sebzeler kadar düşük olmadığı düşünülmektedir . Dokuzlu C. ( 1996 ) yaptığı çalışmalarda uygun pH değerlerinin 4.1 - 4.5 aralığında olduğunu göstermiştir . Yaptığımız çalışmalarda pH değerlerinin genel olarak bu aralıkta yer aldığı , ancak bazı ürünlerde daha düşük pH değerlerinde çalışıldığı görülmüştür .

#### 4 . 2 . % Tuz Değerleri

Çizelge 4.2.1. % tuz sonuçları

| Ürün        | Firma | Tekerrür |      |      |      |      |
|-------------|-------|----------|------|------|------|------|
|             |       | 1        | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Sade        | A     | 3,22     | 3,41 | 3,58 | 4,54 | 4,24 |
|             | B     | 3,45     | 3,52 | 4,24 | 4,36 | 4,42 |
|             | C     | 3,76     | 3,76 | 4,12 | 4,36 | 4,42 |
| Sarımsaklı  | A     | 3,52     | 3,58 | 4,12 | 4,76 | 4,12 |
|             | B     | 3,58     | 3,76 | 4,00 | 3,58 | 4,00 |
|             | C     | 3,34     | 3,52 | 4,24 | 3,42 | 4,36 |
| Biber soslu | A     | 4,36     | 4,42 | 4,36 | 4,96 | 5,02 |
|             | B     | 4,42     | 4,54 | 4,48 | 4,42 | 4,84 |
|             | C     | 4,54     | 4,54 | 4,90 | 4,96 | 5,08 |
| Sebzeli     | A     | 4,84     | 4,90 | 4,90 | 5,08 | 5,32 |
|             | B     | 4,48     | 4,54 | 4,84 | 4,48 | 4,90 |
|             | C     | 4,54     | 4,84 | 4,90 | 4,54 | 4,96 |

Çizelge 4.2.2. Varyans analiz tablosu ( % tuz için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Kareler toplamı | Kareler ortalaması | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 10.325          | 3.442              | 27.491***    | 0.0000                  |
| Firma             | 2                  | 0.181           | 0.090              | 0.722 ns     | 0.4953                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.750           | 0.125              | 0.998 ns     | 0.4382                  |
| Hata              | 48                 | 6.009           | 0.125              |              |                         |
| Genel             | 59                 | 17.265          | 0.293              |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde

Çizelge 4.2.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( % tuz )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 3.960          | a     |
| Sarımsaklı    | 3.860          | a     |
| Biber soslu   | 4.656          | b     |
| Sebze katkılı | 4.804          | b     |

Testte kullanılan Hko: 0.125 LSD değeri = 0.260 'dir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.2.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları ( % tuz )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 4.363          | a     |
| B     | 4.243          | a     |
| C     | 4.355          | a     |

Testte kullanılan Hko: 0.017 LSD değeri = 0.082 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

% tuz değerleri hesaplandığında hem ürünler hem de firmalar arasında farklılıklar olduğu görülmüştür . Sade ürünlerde % tuz değeri ortalaması 3.96 olarak tespit edilirken sarımsaklı ürünler için bu değer 3,86 olduğu görülmüştür . Biber soslu ürünlerde ortalama % tuz değeri 4,65 ,sebze katkılı ürünlerde ise 4,80 olarak bulunmuştur .

% tuz değeri için yapılan varyans analizinde ürünler arasında  $p < 0.001$  seviyesinde önemli fark olduğu gözlenmiştir. LSD testi sonuçlarına göre ürünlerin % tuz açısından 2 grup oluşturduğu tespit edilmiştir . Biber soslu ve sebze katkılı ürünler daha yüksek tuzlu ürünler grubunda yer alırken ,sade ve sarımsaklı ürünler daha az tuzlu olan ikinci grubu oluşturmuştur .Varyans analizi sonuçlarına göre firmalar arasında % tuz değeri açısından önemli fark görülmemiştir. Yapılan LSD testi sonuçlarına göre firmaların tek grupta yer aldıkları tespit edilmiştir.

Biber soslu ve sebze katkılı ürünlerde % tuz değerinin sade ve biber soslu ürünlere göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür . Biber soslu ve sebze katkılı ürünlerde kullanılan katkı malzemelerinin % tuz oranının yüksek olması nedeniyle bu ürünlerde % tuz oranının sade ve sarımsaklı ürünlere göre daha yüksek olduğu düşünülmektedir . % tuz değerleri bu ürünlerde mikrobiyolojik gelişmeleri engelleyebilecek kadar yüksek değildir . Ancak belli bir koruyuculuk sağlayabilmektedir . Bu parametre daha çok lezzet ve yapı açısından önem taşımaktadır .

#### 4.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

##### 4.3.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı Sonuçları

Çizelge 4.3.1.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |         |           |           |           |
|-------------|-------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|
|             |       | 1        | 2       | 3         | 4         | 5         |
| Sade        | A     | 180.000  | 330.000 | 390.000   | 760.000   | 810.000   |
|             | B     | 150.000  | 170.000 | 410.000   | 500.000   | 670.000   |
|             | C     | 240.000  | 260.000 | 290.000   | 700.000   | 1.100.000 |
| Sarımsaklı  | A     | 550.000  | 640.000 | 590.000   | 670.000   | 880.000   |
|             | B     | 480.000  | 630.000 | 570.000   | 900.000   | 1.300.000 |
|             | C     | 610.000  | 660.000 | 840.000   | 960.000   | 1.200.000 |
| Biber soslu | A     | 560.000  | 720.000 | 990.000   | 1.300.000 | 1.600.000 |
|             | B     | 280.000  | 330.000 | 1.200.000 | 1.000.000 | 1.500.000 |
|             | C     | 550.000  | 590.000 | 850.000   | 900.000   | 1.300.000 |
| Sebzeli     | A     | 750.000  | 770.000 | 1.400.000 | 1.100.000 | 1.600.000 |
|             | B     | 840.000  | 910.000 | 870.000   | 1.500.000 | 1.800.000 |
|             | C     | 670.000  | 680.000 | 920.000   | 1.300.000 | 1.500.000 |

Çizelge 4.3.1.2. Varyans analiz tablosu ( Toplam mezofilik aerobik bakteri için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 8.899***     | 0.0002                  |
| Firma             | 2                  | 0.038ns      | 0.9513                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.434 ns     | 0.8528                  |
| Hata              | 48                 |              |                         |
| Genel             | 59                 |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.1.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 464.000        | c     |
| Sarımsaklı    | 765.000        | b     |
| Biber soslu   | 911.000        | ab    |
| Sebze katkılı | 1.100.000      | a     |

Testte kullanılan LSD değeri = 258573.938 'tir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.1.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 829.500        | a     |
| B     | 800.000        | a     |
| C     | 806.000        | a     |

Testte kullanılan LSD değeri = 223931.599 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Mikrobiyolojik analiz sonuçları oldukça değişkendir . Sade ürün çeşidinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayım sonuçları minimum 150.000 kob / g konserve , maksimum 1.100.000 kob / g konserve olarak tespit edilmiştir . Ortalama sayım sonucu 464.000 kob / g konserve olup sarımsaklı ürünlerde minimum değer 480.000 kob / g konserve,maksimum değer 1.300.000 kob / g konserve ve ortalama değer 765.000 kob / g konserve olarak kaydedilmiştir . Biber soslu ürünlerde bu rakamlar daha da yükselmiş olup , minimum değer 280.000 kob / g konserve,maksimum değer 1.600.000 kob / g konserve ve

ortalama değer 911.000 kob / g konserve olarak hesaplanmıştır . Salamura sebze katkılı ürünlerde minimum değer 670.000 kob / g konserve , maksimum değer ise 1.800.000 kob / g konserve olarak bulunmuştur . Ortalama değerin 1.100.000 kob / g konserve olarak tespit edildiği bu çeşitte sayım sonuçları oldukça yüksektir .

Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre ürünler arasında  $p < 0.001$  seviyesinde önemli fark olduğu , firmalar arasında önemli fark bulunmadığı görölmüştür. LSD testi sonuçlarına göre firmalar tek grupta yer almış , ürün çeşitleri 3 gruba ayrılmıştır .Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları açısından sade ürünler ilk , biber soslu ürünler ikinci , sebzeli ürünler üçüncü grubu oluşturmaktadır .Sarımsaklı ürünler hem sade hem de biber soslu ürünlere yakındır .

Bu tip ürünlerde Avrupa Birliği ölkelerinin kabul ettiği değerler minimum 100.000 kob /g konserve , maksimum 1.000.000 kob / g konserve olup ortalama değerler göz önüne alındığında sebze katkılı ürünler dışında bu değerlerin üzerine çıkmadığı görölmektedir . Ancak tek tek numuneler düşünöldüğünde zaman zaman maksimum değerlerin üzerinde sayımlar elde edildiği görölmüştür . Taze avlanmış balıklarda deride  $10^2 - 10^7$  adet bakteri /  $cm^2$  , solungaçlarda  $10^3 - 10^6$  adet bakteri /  $cm^2$  , bağırsak içeriğinde  $10^3 - 10^8$  adet bakteri / ml , bulunmaktadır . Salamurada bekletme sonunda bu rakamlar 0 - 2000 kob / g arasında değişmektedir ( Dokuzlu ,1996 ) . Bu sonuçlar dikkate alındığında balıkların salamurada bekletme sonrasında mikrobiyolojik bulaşmaya maruz kaldığı düşünölmektedir . Çalışma koşulları ( genel hijyen ve sanitasyon koşullarına uyulmaması ) ,kullanılan katkı malzemeleri ( sarımsak , biber sosu ,sebze , baharatlar vb.) ve ambalaj malzemelerinin bulaşma etkenleri arasında yer aldıkları düşünölmektedir .

### 4.3.2. Toplam Psikrotrofik Bakteri Sayımı Sonuçları

Çizelge 4.3.2.1. Toplam psikrotrofik bakteri sayısı (kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |         |           |           |           |
|-------------|-------|----------|---------|-----------|-----------|-----------|
|             |       | 1        | 2       | 3         | 4         | 5         |
| Sade        | A     | 120.000  | 350.000 | 640.000   | 770.000   | 1.200.000 |
|             | B     | 350.000  | 450.000 | 510.000   | 900.000   | 1.100.000 |
|             | C     | 560.000  | 610.000 | 740.000   | 860.000   | 1.200.000 |
| Sarımsaklı  | A     | 430.000  | 660.000 | 810.000   | 840.000   | 890.000   |
|             | B     | 440.000  | 470.000 | 580.000   | 600.000   | 800.000   |
|             | C     | 300.000  | 330.000 | 590.000   | 740.000   | 810.000   |
| Biber soslu | A     | 710.000  | 730.000 | 810.000   | 800.000   | 830.000   |
|             | B     | 470.000  | 600.000 | 820.000   | 880.000   | 1.400.000 |
|             | C     | 580.000  | 670.000 | 780.000   | 820.000   | 1.100.000 |
| Sebzeli     | A     | 410.000  | 440.000 | 890.000   | 1.600.000 | 1.800.000 |
|             | B     | 620.000  | 670.000 | 1.200.000 | 1.500.000 | 1.600.000 |
|             | C     | 680.000  | 850.000 | 890.000   | 1.400.000 | 1.500.000 |

Çizelge 4.3.2.2 Varyans analiz tablosu (Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 5.124**      | 0.0040                  |
| Firma             | 2                  | 0.010 ns     | 0.9788                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.290 ns     | 0.9380                  |
| Hata              | 48                 |              |                         |
| Genel             | 59                 |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.2.3 Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları ( Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 690.000        | b     |
| Sarımsaklı    | 619.000        | b     |
| Biber soslu   | 800.000        | b     |
| Sebze katkılı | 1.100.000      | a     |



Testte kullanılan LSD değeri = 248722 'tir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.2.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları(Toplam psikrotrofik bakteri sayımı için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 786.500        | a     |
| B     | 798.000        | a     |
| C     | 800.000        | a     |

Testte kullanılan LSD değeri = 215.399 'dir.

Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre psikrotrofik bakteri sayısı açısından firmalar arasında önemli farklılık görülmemiştir. Ancak ürünler arasında  $p < 0.01$  seviyesinde önemli fark olduğu tespit edilmiştir . Yapılan LSD testi sonuçları incelendiğinde ürün çeşitlerinin 2 farklı gruba ayrıldığı görülmüş , sade , sarımsaklı ve biber soslu ürünlerin benzer olduğu , salamura sebze katkılı ürünlerin diğerlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. LSD test sonuçlarına göre firmalar arasında önemli bir fark tespit edilememiştir.

Dokuzlu (1996 ) psikrotrofik bakteri sayımlarında benzer sonuçlar elde etmiştir . Aynı etkenler bu parametre için de bulaşma kaynağı olarak düşünülmektedir .

#### 4.3.3. Koliform ve *Escherichia coli* Sayımı Sonuçları

Çizelge 4.3.3.1 . Toplam koliform sayım sonuçları (kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |    |    |     |     |
|-------------|-------|----------|----|----|-----|-----|
|             |       | 1        | 2  | 3  | 4   | 5   |
| Sade        | A     | 18       | 61 | 45 | 37  | 82  |
|             | B     | 45       | 45 | 56 | 92  | 120 |
|             | C     | 56       | 92 | 56 | 92  | 140 |
| Sarımsaklı  | A     | 61       | 68 | 68 | 93  | 110 |
|             | B     | 45       | 56 | 93 | 100 | 100 |
|             | C     | 36       | 37 | 56 | 45  | 92  |
| Biber soslu | A     | 18       | 37 | 37 | 56  | 120 |
|             | B     | 37       | 56 | 55 | 68  | 92  |
|             | C     | 56       | 68 | 92 | 55  | 92  |
| Sebzeli     | A     | 68       | 68 | 92 | 93  | 140 |
|             | B     | 56       | 56 | 68 | 110 | 140 |
|             | C     | 55       | 56 | 92 | 68  | 93  |

Çizelge 4.3.3.2. Varyans analiz tablosu ( Koliform sayım sonuçları için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Kareler toplamı | Kareler ortalaması | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 3502.983        | 1167.661           | 1.480ns      | 0.2309                  |
| Firma             | 2                  | 348.233         | 174.117            | 0.221ns      | 0.8038                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 7605.767        | 1267.628           | 1.606ns      | 0.1654                  |
| Hata              | 48                 | 37880.00        | 789.167            |              |                         |
| Genel             | 59                 | 49336.983       | 836.220            |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.3.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları( Koliform sayım sonuçları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 69.133         | ab    |
| Sarımsaklı    | 70.667         | ab    |
| Biber soslu   | 62.600         | a     |
| Sebze katkılı | 83.667         | b     |

Testte kullanılan Hko: 789.167 LSD değeri = 20.643 'tir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.3.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( Koliform sayım sonuçları için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 68.600         | a     |
| B     | 74.500         | a     |
| C     | 71.450         | a     |

Testte kullanılan Hko:789.167 LSD değeri = 17.878 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre hem firmalar hem de ürünler arasında koliform sayım sonuçları açısından önemli fark görülmemiştir . LSD testi sonuçlarına göre ürünler 2 ana gruba ayrılmıştır . Sade ürünler en düşük sayım sonucu ile ilk grupta , sebze katkılı ürünler en yüksek sayım sonucu ile son grupta yer almıştır . Sarımsaklı ve biber soslu ürünler arasında fark görülmemiş olup bu iki gruba da benzer oldukları tespit edilmiştir . LSD testi sonuçları incelendiğinde firmalar arasında fark olmadığı görülmüştür .

Dokuzlu ( 1996 ) maksimum koliform değerini 50 adet / g balık olarak tespit etmiş olup örneklerin çoğunda koliform tespit etmemiştir . Elde ettiğimiz sonuçlarda koliform değerleri bu sonuçlarla karşılaştırıldığında oldukça yüksektir . Avrupa Birliği ülkelerinin kabul ettiği minimum ve maksimum değerler 93 ve 95 kob / g konserve olup bu değerlerin üzerinde sayım sonuçlarının mevcut olduğu görülmüştür . Bu konuda daha fazla titizlik gösterilmesi gerekmekte olup ambalajlama sırasında bulaşmaların olduğu düşünülmektedir .

Çizelge 4.3.3.5 . *Escherichia coli* sayım sonuçları ( kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |     |     |     |     |
|-------------|-------|----------|-----|-----|-----|-----|
|             |       | 1        | 2   | 3   | 4   | 5   |
| Sade        | A     | 1,8      | 0   | 3,7 | 2   | 3,7 |
|             | B     | 0        | 0   | 0   | 3,7 | 5,5 |
|             | C     | 0        | 0   | 1,8 | 3,7 | 3,7 |
| Sarımsaklı  | A     | 0        | 0   | 1,8 | 0   | 1,8 |
|             | B     | 0        | 1,8 | 1,8 | 2   | 2   |
|             | C     | 0        | 1,8 | 0   | 3,7 | 3,7 |
| Biber soslu | A     | 1,8      | 0   | 3,7 | 3,7 | 5,6 |
|             | B     | 0        | 0   | 1,8 | 2   | 3,7 |
|             | C     | 1,8      | 1,8 | 0   | 3,7 | 5,6 |
| Sebzeli     | A     | 3,6      | 0   | 3,7 | 5,5 | 5,5 |
|             | B     | 1,8      | 1,8 | 3,7 | 2   | 5,6 |
|             | C     | 1,8      | 0   | 3,7 | 3,6 | 5,6 |

Çizelge 4.3.3.6. Varyans analiz tablosu ( *E.coli* sayım sonuçları için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Kareler toplamı | Kareler ortalaması | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 10.924          | 3.641              | 2.149 ns     | 0.1139                  |
| Firma             | 2                  | 2.989           | 1.495              | 0.882 ns     | 0.4274                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 12.573          | 2.095              | 1.236 ns     | 0.3155                  |
| Hata              | 48                 | 50.844          | 1.695              |              |                         |
| Genel             | 59                 | 77.330          | 1.886              |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.3.7. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları( *E.coli* sayım sonuçları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 3.289          | ab    |
| Sarımsaklı    | 2.267          | b     |
| Biber soslu   | 3.200          | ab    |
| Sebze katkılı | 3.685          | a     |

Testte kullanılan Hko: 1.695 LSD değeri = 1.254'tür.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.3.8. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( *E.coli* sayım sonuçları için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 3.421          | a     |
| B     | 2.800          | a     |
| C     | 3.286          | a     |

Testte kullanılan Hko: 1.695 LSD değeri = 1.006'dır.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre firmalar ve ürün çeşitleri arasında *E.coli* sayım sonuçları açısından önemli fark gözlenmemiştir . Yapılan LSD testi sonuçları incelendiğinde ürünlerin 2 gruba ayrıldığı ve sarımsaklı ürünler ile biber soslu ürünlerin bu açıdan benzer olduğu ve aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir . LSD testi sonuçlarına göre firmalar arasında *E.coli* sayım sonuçları arasında fark tespit edilememiştir .

#### 4.3.4. Koagülaz Pozitif *Staphylococcus aureus* Sayım Sonuçları

Çizelge 4.3.4.1 . Koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları ( kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |      |      |      |      |
|-------------|-------|----------|------|------|------|------|
|             |       | 1        | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Sade        | A     | 550      | 2800 | 4600 | 4900 | 6800 |
|             | B     | 2.000    | 4500 | 4700 | 5500 | 6700 |
|             | C     | 2.100    | 2300 | 1500 | 1700 | 6500 |
| Sarımsaklı  | A     | 2.500    | 3800 | 4300 | 4600 | 5700 |
|             | B     | 3.500    | 4600 | 4200 | 4900 | 6400 |
|             | C     | 3.500    | 4900 | 4700 | 5700 | 6300 |
| Biber soslu | A     | 500      | 3400 | 4200 | 5100 | 5100 |
|             | B     | 800      | 3100 | 2600 | 2800 | 5400 |
|             | C     | 550      | 2900 | 3500 | 3900 | 4700 |
| Sebzeli     | A     | 300      | 2600 | 3800 | 3600 | 6900 |
|             | B     | 600      | 3400 | 2900 | 3700 | 4600 |
|             | C     | 1200     | 5000 | 4700 | 5300 | 7000 |

Çizelge 4.3.4.2. Varyans analiz tablosu ( *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 1.624 ns     | 0.1949                  |
| Firma             | 2                  | 0.014 ns     | 0.9739                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.997 ns     | 0.4390                  |
| Hata              | 48                 |              |                         |
| Genel             | 59                 |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$

\*\* : Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$

\*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.4.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları( Staphylococcus aureus sayım sonuçları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 3810.00        | ab    |
| Sarımsaklı    | 4640.0         | a     |
| Biber soslu   | 3236.667       | b     |
| Sebze katkılı | 3706.667       | ab    |

Testte kullanılan Hko: 3147291.667LSD değeri = 1303.658 'tir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.4.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( Staphylococcus aureus sayım sonuçları için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 3802.5         | a     |
| B     | 3845.0         | a     |
| C     | 3897.5         | a     |

Testte kullanılan Hko: 3147291.667 LSD değeri = 1129.001'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre firmalar ve ürün çeşitleri arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Yapılan LSD testi sonuçlarına göre ürünler 2 grupta yer almaktadır . Firmalar tek grup olarak ifade edilmektedir .. Bu mikroorganizma göz önüne alındığında Avrupa Birliği üyesi ülkelerinin kabul ettiği minimum ve maksimum değerlerin 500 ve 5000 adet / g konserve olduğu görülmektedir . Bu değerlerle analiz sonuçlarında elde edilen değerler karşılaştırıldığında maksimum değerlerin kabul edilebilir sınırın üzerinde olduğu görülmüştür .

## 4.3.5. Kf ve Maya Sayım Sonuçları

Çizelge 4.3.5.1 . Kf sayımı sonuçları ( kob / g konserve )

| rn        | Firma | Tekerrür |      |      |      |      |
|-------------|-------|----------|------|------|------|------|
|             |       | 1        | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Sade        | A     | 100      | 500  | 450  | 200  | 2000 |
|             | B     | 300      | 1800 | 2300 | 2400 | 2500 |
|             | C     | 400      | 2700 | 2100 | 3000 | 3500 |
| Sarımsaklı  | A     | 1000     | 1900 | 2400 | 2100 | 2800 |
|             | B     | 1000     | 2300 | 2800 | 2600 | 3100 |
|             | C     | 1100     | 2500 | 2900 | 2100 | 4600 |
| Biber soslu | A     | 800      | 3300 | 2800 | 3500 | 4700 |
|             | B     | 420      | 2800 | 2400 | 3200 | 5500 |
|             | C     | 1900     | 3100 | 3500 | 3800 | 4900 |
| Sebzeli     | A     | 4700     | 6300 | 6600 | 5900 | 8200 |
|             | B     | 3700     | 4700 | 6500 | 6100 | 7300 |
|             | C     | 4200     | 6300 | 5700 | 6800 | 9000 |

Çizelge 4.3.5.2. Varyans analiz tablosu ( Kf sayım sonuçları için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| rn çeşidi       | 3                  | 37.459 ***   | 0.0000                  |
| Firma             | 2                  | 1.648 ns     | 0.2016                  |
| rn * firma      | 6                  | 0.621 ns     | 0.7147                  |
| Hata              | 48                 |              |                         |
| Genel             | 59                 |              |                         |

ns: nemsiz

\*: nemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$ \*\*: nemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$ \*\*\*: nemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$

Çizelge 4.3.5.3. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları( Kūf sayım sonuçları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değeri | Sonuç |
|---------------|-----------------|-------|
| Sade          | 1616.667        | c     |
| Sarımsaklı    | 2346.667        | bc    |
| Biber soslu   | 3108.000        | b     |
| Sebze katkılı | 6133.333        | a     |

Testte kullanılan Hko: 1575998.333 LSD değeri = 922.514 'dir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.5.4. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( Kūf sayım sonuçları için )

| Firma | Ortalama değeri | Sonuç |
|-------|-----------------|-------|
| A     | 3012.5          | a     |
| B     | 3186.0          | a     |
| C     | 3705.0          | a     |

Testte kullanılan Hko: 1575998.333 LSD değeri =798.921 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Kūf sayım sonuçlarını değerlendirmek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde ürünler arasında  $p < 0.001$  seviyesinde önemli fark olduğu tespit edilmiştir . Varyans analizi sonuçlarına göre firmalar arasında önemli bir fark bu açıdan tespit edilememiştir . Yapılan LSD testi sonuçlarına göre ürünler kūf sayım sonuçları açısından 3 ana gruba ayrılmış , biber soslu ürünlerin sarımsaklı ve sebze katkılı ürünlere benzer olduğu tespit edilmiştir . LSD testi sonuçlarına göre firmalar arasında kūf sayım sonuçları bakımından fark görülmemiştir .



Çizelge 4.3.5.5. Maya sayımı sonuçları ( kob / g konserve )

| Ürün        | Firma | Tekerrür |       |       |       |       |
|-------------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|
|             |       | 1        | 2     | 3     | 4     | 5     |
| Sade        | A     | 1600     | 2300  | 2600  | 2400  | 3500  |
|             | B     | 2600     | 3000  | 2700  | 2500  | 3500  |
|             | C     | 2600     | 3000  | 3800  | 3200  | 3400  |
| Sarımsaklı  | A     | 2100     | 3500  | 3100  | 2900  | 5600  |
|             | B     | 2800     | 6400  | 4900  | 5900  | 9000  |
|             | C     | 3700     | 5100  | 5300  | 6300  | 6500  |
| Biber soslu | A     | 2900     | 6200  | 6500  | 7000  | 7200  |
|             | B     | 4200     | 7100  | 6800  | 5900  | 9800  |
|             | C     | 4300     | 6400  | 6200  | 6900  | 8500  |
| Sebzeli     | A     | 7600     | 9100  | 8900  | 9400  | 11000 |
|             | B     | 5600     | 13000 | 15600 | 11200 | 18000 |
|             | C     | 3400     | 10800 | 11000 | 9900  | 16000 |

Çizelge 4.3.5.6. Varyans analiz tablosu ( Maya sayım sonuçları için )

| Varyasyon kaynağı | Serbeslik derecesi | Hesaplanan F | Alfa tipi hata ihtimali |
|-------------------|--------------------|--------------|-------------------------|
| Ürün çeşidi       | 3                  | 31.979 ***   | 0.0000                  |
| Firma             | 2                  | 2.995 ns     | 0.0580                  |
| Ürün * firma      | 6                  | 0.628 ns     | 0.7091                  |
| Hata              | 48                 |              |                         |
| Genel             | 59                 |              |                         |

ns: önemsiz

\*: Önemli % 5 alfa seviyesinde  $p < 0.05$ \*\*: Önemli % 1 alfa seviyesinde  $p < 0.01$ \*\*\*: Önemli % 0.1 alfa seviyesinde  $p < 0.001$ 

Çizelge 4.3.5.7. Ürün çeşitleri için çoklu t –testi sonuçları( Maya sayım sonuçları için )

| Ürün çeşidi   | Ortalama değer | Sonuç |
|---------------|----------------|-------|
| Sade          | 2846.667       | c     |
| Sarımsaklı    | 4873.333       | b     |
| Biber soslu   | 6393.333       | b     |
| Sebzeli katkı | 10700.000      | a     |

Testte kullanılan Hko: 5205250.000 LSD değeri =1676.548 'dir.

Not : Aynı harfli ürünler aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.3.5.8. Firmalar için çoklu t –testi sonuçları( Maya sayım sonuçları için )

| Firma | Ortalama değer | Sonuç |
|-------|----------------|-------|
| A     | 5270.0         | a     |
| B     | 7025.0         | b     |
| C     | 6315.0         | ab    |

Testte kullanılan Hko: 5205250.000 LSD değeri =1451.933 'dir.

Not : Aynı harfli firmalar aynı grupta yer almaktadır.

Maya sayım sonuçları için yapılan varyans analizlerine göre ürünler arasında  $p < 0.001$  seviyesinde önemli fark olduğu tespit edilmiştir . Varyans analizi sonuçlarına göre firmalar arasında ise maya sayım sonuçları açısından önemli fark görülmemiştir . Maya sayım sonuçları için yapılan LSD testi sonuçları incelendiğinde ürünlerin 3 grupta toplandığı görülmüş , sarımsaklı ve biber soslu ürünlerin benzer olduğu tespit edilmiştir . Yine LSD testi sonuçlarına göre firmaların maya sayım sonuçları yönünden 2 gruba ayrıldığı B firmasının A ve C firmalarına benzediği , ancak A ve C firmalarının farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir .

Küf ve mayalar da genel hijyen ve sanitasyon koşullarının uygun olmadığının göstergesidir . Küf ve mayalar yüksek tuz konsantrasyonlarına ve düşük pH değerlerine dayanıklı olup bu tip ürünlerde bu nedenle önem taşımaktadırlar . Doğada yaygın olarak yer almakta ve kolaylıkla bulaşabilmektedirler .

#### 4.3. 6 . *Salmonella* Tespiti Sonuçları

Örneklerin hiçbirinde *Salmonella* tespit edilememiştir . *Salmonella* uygun olmayan hijyen ve sanitasyon koşulları neticesinde bulaşabilmektedir .

#### 4.3.7 . *Listeria* Tespiti Sonuçları

Örneklerin hiçbirinde *Listeria* tespit edilememiştir . *Listeria* da diğer mikroorganizmalar gibi uygun olmayan hijyen ve sanitasyon koşullarının bir göstergesidir .



## 5 . SONUÇ VE ÖNERİLER

Marinasyon tekniği ile üretilen bu ürünlerde pH değerlerinin 3.77 ile 4.45 arasında değiştiği görülmüştür . Analizi yapılan mikroorganizmaların minimum gelişebildikleri pH değerleri Çizelge 2.10'da verilmiş olup bakteriler için 4.0 - 4.4 arasında olduğu , küfler için ise 1.6'ya kadar düştüğü görülmektedir . Bu ürünler için tavsiye edilen pH aralığının 4.1 -4.5 olduğu düşünüldüğünde örneklerin analizi yapılan mikroorganizmaların gelişimi için uygun olduğu görülmektedir .

Örneklere % tuz değerlerinin 3.22 ile 5.32 arasında olduğu tespit edilmiştir . Analizi yapılan mikroorganizmaların hepsinin % 6 tuza toleranslı oldukları düşünülürse ürünlerdeki % tuz değerleri mikrobiyolojik gelişmeyi durdurabilecek etkiye sahip değildir .Ancak belli bir koruyuculuk sağlayabilmektedir .

% tuz ve pH değerlerinin lezzet , yapı ve mikrobiyolojik koruyuculuk açısından optimum düzeyde tutulması gerekmektedir . Yüksek % tuz ve düşük pH değerleri mikrobiyolojik açıdan avantaj sağlamaktadır . Tuz miktarı için ürünün organoleptik kalitesini bozmayacak yüksek değerlerde , pH ( < 4.2 ) için düşük değerlerde çalışılması önerilebilir .

Örneklere *Staphylococcus aureus* bulunması bulaşma göstergesi olarak kabul edilmektedir . Özellikle ağız ve burun bölgelerinde ve vücut salgılarında yaygın olarak bulunduğundan personel kaynaklı bulaşma etmeni olarak bilinmektedir . Toksin oluşturma yeteneği nedeniyle hastalık etmenidir . Örneklere koagülaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayılarının yüksek olduğu görülmüştür . Personel eğitimi ve genel hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmesi ile bu mikroorganizma ile bulaşma minimum seviyeye indirilebilmektedir . İşletmelerde personel hijyen ve sanitasyon konusunda eğitilmeli ve personelin kişisel hijyenine dikkat etmesi sağlanmalıdır .

Gıda maddelerinde koliform bulunması kötü hijyen ve sanitasyon veya tekrar bulaşma göstergesi olarak kabul edilmektedir . *Escherichia coli* mevcudiyeti ise fekal bulaşma göstergesi olarak bilinmektedir . Bu tip ürünlerde balığın kendisinden ayıklama sırasında bulaşmalar olabileceği gibi ambalajlama ve üretim aşamalarında

personel ve alet - ekipman kaynaklı bulaşmalar da meydana gelebilir .Personel eğitimi ve genel hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmesi ile bu mikroorganizmalar ile bulaşma ortadan kaldırılabılır .

Örneklere *Salmonella* ve *Listeria* tespit edilememiş olup bu mikroorganizmalar da bulaşma göstergesi olarak kabul edilmektedirler . Bu mikroorganizmalar sular ile bulaşabilmekte olup işleme aşamasında kullanılan suyun mikrobiyolojik kalitesi önemlidir .

Küf ve mayalar ise ortam , personel ,alet -ekipman gibi kaynaklar aracılığı ile kolaylıkla bulaşabilmekte olup düşük pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarına oldukça dayanıklıdır . Bu özellikleri nedeniyle bu ürünlerde bulunabilirler .

Toplam mezofilik aerobik bakteri ve toplam psikrofilik bakteri sayıları gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde birer kriter olarak kabul edilmektedirler . Bu sayımların sonuçları örneklerde oldukça yüksek olup hem balık hem katkı maddeleri hem de işletme koşullarının kontrol altında tutulması gerektiğini göstermektedir .

Bu tip ürünler ülkemizde pek bilinmemektedir . Mikrobiyolojik yüklerinin yüksek olması nedeniyle de ihracat problemleri ile karşılaşmaktadır . Hem bu ürünlerin gerek yurt içi gerekse yurt dışında tanıtımı yapılmalı , hem de organoleptik ve mikrobiyolojik kalitelerinin yükseltilmesi gerekmektedir . Tüm hammadde sağlama ve üretim aşamalarında görev alan personelin genel hijyen ve sanitasyon konusunda bilinçlendirilmesi mikrobiyolojik problemlerin çözülmesine yardımcı olacaktır . İşletmelerin iyi üretim uygulamalarına uygun bir şekilde dizayn edilmeleri ve bina ve çevrelerinin gıda maddeleri üretmeye uygun olarak inşa edilmesi gerekmektedir .

**KAYNAKLAR**

- ANDO,S. ,M.HATANO and K. ZAMA .1985a. A consumption of muscle lipid during spawning migration of chum salmon .Bull.Jap.Soc.Sci. Fish ,51:1817-1824.
- ANDO,S.,M.HATANO and K.ZAMA .1985b. Deterioration of chum salmon muscle during spawning migration-1.Changes in proximate composition of chum salmon muscle during spawning migration Comp. Biochem.Physiol.80 B,p.303-307
- ANDO,S. And M. HATANO.1986.Biochemical characteristics of chum salmon muscle during spawning migration . Bull. Jap. Soc. Sci. Fish ,52:1229-1235.
- ANON. 1993-1995 . Devlet İstatistik Enstitüsü Yıllığı, Ankara
- ANON. 1994. Bergeys Manuel of Determinative Bacteriology
- ANON. 1996 . TSE 591, Yemeklik Tuz , Türk Standartları Enstitüsü , Ankara ,s.7
- ANON.1998. Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar. Ege Ün. Ziraat Fak. Yayın No:527 s. 351
- ANON. 2000 a. Su Ürünleri ve İşleme tesisleri Kritik Kontrol Noktaları , Tarım ve Köyişleri Bakanlığı , Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü ,Ankara .
- ANON. 2000 b. Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı , Tarım ve Köyişleri Bakanlığı , Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü ,Ankara , s.90-105.
- ANON. 2000 c. Oxoid El Kitabı ( Teknik Kimya ) ,s.120
- ANON.2000 d. BAM ( Bacteriological Analysis Manuel ) , FAO
- ANON.2002.Balıklarda Soğuk Zincir Uygulaması ve Balık Satış Yerlerinin Durumu.Standard,Türk Standardları Enstitüsü Sayı:484,s.49-50.
- ANON.2002. Su ürünleri ve su ürünleri işleme tesislerinde HACCP analizleri,Gıda 2002,Haziran sayısı
- BRAEKKAN,O.R. and G.BOGGE.1964.Growth inhibitory effect of extracts from milt of different fishes and pure protamines on microorganisms. Fiskeridir.Skr.IV,p.1-22
- BRAEKKAN, O.R. 1976. Den emaeringstriessige betydning av fisk. Fiskets Gang, 35.

DALGAARD,P.1993.Evaluation and prediction of microbial fish spoilage.Ph.D.Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.

DİCHRİSTİNA,T.J. and E.F. DELONG.1994.Isolation of anaerobic respiratory mutants of *Shewanella putrefaciens* and genetic analysis of mutanats deficient in anaerobic growth on Fe. *J. Bacteriol.*176:1464-1474.

DOKUZLU ,C.1996.Marinat Hamsi Üretimi Sırasında Kullanılan Asit-Tuz Oranlarının Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkileri ve Raf Ömrünün Belirlenmesi . Doktora Tezi,Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı ,Bursa.

EASTER,M.C.,D.M.GİBSON and F.B.WARD .1983 .The induction and location of trimethyl-amine N-oxide reductase in *Alteromonas* sp. NCMB 400.*J.Gen.Microbiol.*129:3689-3696.

EDWARDS ,R.A. ,R.H. DAİNTY and C. M. HİBBARD.1987. Volatile compounds produced by meat pseudomonads and related reference strains during growth on been stored in air at chill temperatures. *J.Appl.Bacteriol.*62:403-412.

FUJİOKA, R.S. , K. TENNO and S. KANSAKO .1988 . Naturally occuring fecal coliforms and fecal streptococci in Hawaii's freshwater streams. *Toxic Assess.*3, p. 613-630 .

GRAM,L.,G.TROLLE and H.H.HUSS.1987. Detection of spesific spoilage bacteria from fish stored at low and high temperatures.*Int.J.Food Microbiol.*4:65-72.

GRAM,L.,J.OUNDO and J.BON.1989. Storage life of Nile perch dependent on storage temperature and initial bacteria load. *Trop.Sci.* 29:221-236.

GRAM, L. 1990. Spoilage of Three Senegalese fish species stored in ice and at ambient temperature. Paper presented at SEAFOOD 2000 in Halifax, Canada. 12-16 May 1990.

GÖĞÜŞ,A.K. ve KOLSARICI ,N. 1992.Su Ürünleri Teknolojisi,Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi veTeknolojisi Bölümü,s.3-11,18-19,45-47.

GÖKTAN,D.1990. Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi.Ege Üniversitesi Basımevi Cilt:1 Et Mikrobiyolojisi.

HAALAND,H. And L.R.NJAA .1988. Ammonia and total volatile nitrogen in preserved and unpreserved stored whole fish . *J.Sci. Food Agric.* 44, p335-342.

HIELMLAND, K., M. CHRISTIE and J. RAA .1983. Skin mucous protease from rainbow trout .1.Biological significans. J.Fish. Biol. 23,p13-22.

HUSS ,H.H. 1995 .Quality and Quality Changes in Fresh Fish ,FAO Fisheries Technical Paper ,348

İNAL ,T.1992. Besin Hijyeni ,Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü . Final Ofset ,İstanbul

JORGENSEN,B.R. and H.H.HUSS.1989. Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish. Int.J.Food Microbiol. 6:295-307.

KAMAL,M.,T.MOTAHIRO and T.İTAKURA.1986. Inhibitory effect of salmine sulfate on the growth of molds .Bull.Jap.Soc.Sci. Fish,52:1061-1064.

KISSLING,A. ,T.AASGAARD,T. STOREBAKKEN,L.JOHANSSON and K.H.KISSLING.1991.Changes in structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout in relation to ration and age III.Chemical composition .Aquaculture ,p. 93:373-387.

KJOSBAKKEN and LARSEN .1974.Bacterial decomposition of fish stored in bulk.Isolation of anaerobic ammonia producing bacteria. Institute of Technical Biochemistry,NTH,University of Trondheim.

LİSTON,J. 1980. Microbiology in Fishery Science. In: H.Huss, M.Jacobsen , and J. Liston ( eds. ) Quality Assurance in the Fish Industry. Proceedings of an International Conference , Copenhag , Denmark ,Augus.1992. Elsevier , Amsterdam , p 93-105.

LOVE,R.M.1970.The Chemical Biology of Fishes Academic Press ,London

MİLLER III,A.,R.A. SCANLAN,J.S. LEE and L.M. LIBBEY .1973 a. Identification of volatile compounds produced in sterile fish muscle by *Pseudomonas fragi*. Appl.Microbiol.25:952-955.

MİLLER III,A.,R.A. SCANLAN,J.S. LEE and L.M. LIBBEY .1973b. Identification of volatile compounds produced in sterile fish muscle by *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* and an *Achromobacter* species. Appl.Microbiol. 26:18-21.



MOHR,V.1971. Onthe constitution and physical -chemical properties of the connective tissue of mammalian and fish skeletal muscle Ph.D.Thesis,University of Aberdeen.

MONTERO,P. And J.BORDERÍAS .1989. Distribution and hardness of muscle connective tissue in hake and trout .Z.Lebensm.-Unters.Forsch.,189:214-217.

MOSSEL , D.A.A and VAN NETTEN ,P. 1990. Staphylococcus aureus and related staphylococci in foods: ecology, proferation, toxinogenesis , control and monitoring, J.Appl. Bacteriol. Symp. Suppl. p123-145.

MOUSTGARD, J.1957. Laerebog i Husdvrenes Fysologi og Ernæringsfysiologi , A/S C.Fr. Montersen , Copenhag.

MURRAY ,J. And J.R. BURT .1969. The Composition of Fish .TorryAdvis. Note 38 , Torry Research Station , Aberdeen .

MURRAY C.K. and T. C. FLETCHER .1976. The immunohistochemical location of lysozyme in plaice tissues. J.Fish Biol. 9, p 329-334.

PERK ,E. 1995 . Farklı Cins Balıklarda Tazelik Kriterlerinin İncelenmesi . İ.Ü. Su Ürünleri Fak. Avlanma ve İşleme Teknolojisi A.B.D. Yüksek Lisans Tezi

REHBEİN, H. 1978. An enzymatic method for differentiating thawed and fresh fish fillets. İtal. J. Food Sci. IV. P75-86.

REHBEİN,H. 1979. Development of an enzymatic method to differentiate fresh and frozen and thawed fish fillets. Z. Lebensm. Unters.- Forsch. 169 ,p 263-265.

REINITZ, G.L., L.E. ORME and F.N. HITZEL .1979. Variations of body composition and growth among strains of rainbow trout .Trans.Am. Fish Soc,108:204-207.

RINGOE, E., E. STENBERG and A.R. STROEM.1984. Aminoacid and lactate catabolism in trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens*.Appl.Environ.Microbiol.47:1084-1089.

SALFI, V., F.FUCETOLA and G. PANNUNZIO .1985. A micromethod for the differentiation of fresh from frozen fish muscle. J. Sci. Food. Agric. 36 ,p 811-814.

STANSBY, M.E.1962. Proximate composition of fish. In: E. Heen and R. Kreuzer (ed ) Fish in nutrition .Fishing News Books Ltd, p.55-60, London

STANSBY, M.E. and A.S. HALL.1967. Chemical composition of commercially important fish of the USA Fish Ind. Res., p.3,29-34.

SATO, K., R. YASHINOKA and M. SATO.1989. Hydroxyproline content in the acid-soluble collagen from muscle of several fishes .Bull.Jap.Soc.Sci. Fish ,55: 1467.

SHEWAN J.M. 1962. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: J. Hawthorn & J. Muil Leich ( eds. ) Recent advances in food science, 1, p 167-193.

SHEWAN ,J. M. 1974. The biodeterioration of certain proteinaceous foodstuffs at chill temperatures.

SHEWAN, J.M.1977. The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: Proceedings of the Conference on

Handling ,Processing and Marketing of Tropical Fish.,Tropical Products Institute ,London.p.51-66.

SPINELLI , J. , B. KOURY and R. MILLER .1972. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. Isolation and propertise of myofibrillar and sarcoplasmic fish protein . J. Food Sci. 37 ,p 599.

STENBERG,E.,O.B.STYR-VOID and A.R.STROEM.1982.Trimethylamine oxide respiration in *Proteus* sp.strain NTCH 153:electron transfer-dependent phosphorylation and L.-serine transport.J.Bacteriol.149:22-28.

SAKAGUCHI,M.,K.KAN and A.KAWAI.1980.Induced synthesis of membrane-bound c-type cytochromes and trimethylamine oxide reductase in *Ecsherichia coli*. In:J.J.CONNELL,(ed.) *Advanced in Fish Science and Technology*. Fishing News Books,Farnham,England,p.472-476.

SCOTT,J.H. and K.H.NEALSON.1994.A biochemical study of the intermediary carbon metabolism of *Shewanella putrefaciens*.J. Bacteriol.176:3408-3411.

SURETTE,M.E.,T.A. GILL and P.J. LEBLANC.1988.Biochemical basis of postmortem nucleotide catabolism in cod and its relationship to spoilage.J.Agric. Food Chem.36:19-22.

STORROE,1,N.DYRSET and H.LARSEN.1975. Bacterial decomposition of fish stored in bulk. 2 . Enumaration and characterization of anaerobic ammonia-producing bacteria. Inst.Technical Biochemistry, NTH,University of Trondheim.

STORROE, I, N. DYRSET and H. LARSEN. 1975. Bacterial decomposition of fish stored in bulk. 3. Physiology of anaerobic ammonia producing bacteria. Inst. Technical Biochemistry, NTH, University of Trondheim.

SOYER, A. 1999. Su Ürünleri İşletmelerinde Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri HACCP Seminer Notları, Ankara. Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü

SOYER, A. 1999. Su Ürünlerinde Kalite Yönetimi Seminer Notları, Ankara. Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü.

SUZUKI, T. 1981. Fish and Krill Protein: Processing technology. Applied Science Publ. , Ltd., London .p 62-147.

ÜNLÜTÜRK, A. ve TURANTAŞ , F. 1998. Gıda Mikrobiyolojisi , Ege Ün. İzmir, s 87-106.

VAN SPREEKENS, K.J.A. 1977. Characterization of some fish and shrimp spoiling bacteria. Antonie Leeuwenhoek 43:283-303.

VARLIK , C. Ve GÖKOĞLU , N. 1988. Balıklarda rigor mortis ve kalite üzerine etkisi . İstanbul Ün. Su Ürünleri Fak. S. 98-102.

## EK 1

## EN MUHTEMEL SAYI (EMS veya MPN) TABLOSU

| $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | İlk dilüsyonun ml . sindeki MPN koloni sayısı | $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | İlk dilüsyonun ml . sindeki MPN koloni sayısı |
|-----------|-----------|-----------|---|-----------|-----------|-----------|---|
| 0         | 0         | 0         | <1.8  | 4         | 0         | 3         | 25  |
| 0         | 0         | 1         | 1.8   | 4         | 1         | 0         | 17  |
| 0         | 1         | 0         | 1.8   | 4         | 1         | 1         | 21  |
| 0         | 1         | 1         | 3.6   | 4         | 1         | 2         | 26  |
| 0         | 2         | 0         | 3.7   | 4         | 1         | 3         | 31  |
| 0         | 2         | 1         | 5.5   | 4         | 2         | 0         | 22  |
| 0         | 3         | 0         | 5.6   | 4         | 2         | 1         | 26  |
| 1         | 0         | 0         | 2   | 4         | 2         | 2         | 32  |
| 1         | 0         | 1         | 4   | 4         | 2         | 3         | 38  |
| 1         | 0         | 2         | 6   | 4         | 3         | 0         | 27  |
| 1         | 1         | 0         | 4   | 4         | 3         | 1         | 33  |
| 1         | 1         | 1         | 6.1   | 4         | 3         | 2         | 39  |
| 1         | 1         | 2         | 8.1   | 4         | 4         | 0         | 34  |
| 1         | 2         | 0         | 6.1   | 4         | 4         | 1         | 40  |
| 1         | 2         | 1         | 8.2   | 4         | 4         | 2         | 47  |
| 1         | 3         | 0         | 8.3   | 4         | 5         | 0         | 41  |
| 1         | 3         | 1         | 10  | 4         | 5         | 1         | 48  |
| 1         | 4         | 0         | 11  | 5         | 0         | 0         | 23  |
| 2         | 0         | 0         | 4.5   | 5         | 0         | 1         | 31  |
| 2         | 0         | 1         | 6.8   | 5         | 0         | 2         | 43  |
| 2         | 0         | 2         | 9.1   | 5         | 0         | 3         | 58  |
| 2         | 1         | 0         | 6.8   | 5         | 1         | 0         | 33  |
| 2         | 1         | 1         | 9.2   | 5         | 1         | 1         | 46  |
| 2         | 1         | 2         | 12  | 5         | 1         | 2         | 63  |
| 2         | 2         | 0         | 9.3   | 5         | 1         | 3         | 83  |

## EK 1

## EN MUHTEMEL SAYI (EMS veya MPN) TABLOSU

| $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | İlk dilüsyonun ml . sindeki MPN koloni sayısı | $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | İlk dilüsyonun ml . sindeki MPN koloni sayısı |
|-----------|-----------|-----------|---|-----------|-----------|-----------|---|
| 2         | 2         | 1         | 12  | 5         | 2         | 0         | 49  |
| 2         | 2         | 2         | 14  | 5         | 2         | 1         | 70  |
| 2         | 3         | 0         | 12  | 5         | 2         | 2         | 94  |
| 2         | 3         | 1         | 14  | 5         | 2         | 3         | 120   |
| 2         | 4         | 0         | 15  | 5         | 2         | 4         | 150   |
| 3         | 0         | 0         | 7.8   | 5         | 3         | 0         | 79  |
| 3         | 0         | 1         | 11  | 5         | 3         | 1         | 110   |
| 3         | 0         | 2         | 13  | 5         | 3         | 2         | 140   |
| 3         | 1         | 0         | 11  | 5         | 3         | 3         | 180   |
| 3         | 1         | 1         | 14  | 5         | 3         | 4         | 210   |
| 3         | 1         | 2         | 17  | 5         | 4         | 0         | 130   |
| 3         | 2         | 0         | 14  | 5         | 4         | 1         | 170   |
| 3         | 2         | 1         | 17  | 5         | 4         | 2         | 220   |
| 3         | 2         | 2         | 20  | 5         | 4         | 3         | 280   |
| 3         | 3         | 0         | 17  | 5         | 4         | 4         | 350   |
| 3         | 3         | 1         | 21  | 5         | 4         | 5         | 430   |
| 3         | 3         | 2         | 24  | 5         | 5         | 0         | 240   |
| 3         | 4         | 0         | 21  | 5         | 5         | 1         | 350   |
| 3         | 4         | 1         | 24  | 5         | 5         | 2         | 540   |
| 3         | 5         | 0         | 25  | 5         | 5         | 3         | 920   |
| 4         | 0         | 0         | 13  | 5         | 5         | 4         | 1600  |
| 4         | 0         | 1         | 17  | 5         | 5         | 5         | > 1600  |
| 4         | 0         | 2         | 21  |           |           |           |   |

## TEŐEKKÖRLER

Öncelikle tez çalışmam sırasında yakın ilgi ve desteğini benden esirgemeyen , beni yönlendiren , cesaretlendiren hocam Sn. Prof. Dr. Fikri Başoğlu'na , bana yüksek lisansımın her aşamasında destek veren ve yardımcı olan anne ve babama ,çok sevdiğim kardeşim kimya mühendisi Hale Oktaylar'a , hayat arkadaşım makine mühendisi Erkan Keyik'e ve istatistiksel çalışmalarımda yardımcı olan hocam Doç. Dr. İlhan Turgut'a ve SÜTAŞ A. Ő.'ne teőekkürlerimi sunuyorum .



**TE. TÜRKİYE ÖZGÜRLEŐM KURUMU  
KURUMUNUN BAŐKANLIŐI**

## ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Polatlı – Ankara’da doğmuştur. İlk , orta ve lise öğrenimlerini Polatlı’da tamamlamıştır. 1997 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi , Mühendislik Fakültesi , Gıda Mühendisliği Bölümü’nden mezun olmuştur . Selçuk Gıda İhracat İthalat A. Ş ‘de Proses Kalite Sağlama ve Mikrobiyoloji Laboratuvar Şefi olarak , Turbel Gıda A.Ş.’de Gıda Mühendisi ve Sorumlu Fabrika Müdürü olarak görev yapmıştır . Halen SÜTAŞ A. Ş.’de Mikrobiyoloji ve Kalite Sağlama Uzmanı olarak görev yapmaktadır. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde yüksek lisanas eğitimine devam etmektedir.

