ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Saadet GÖKDOĞAN TEKİN

ORGANİK ASİTLERİN BAKTERİLERİN BİYOJEN AMİN ÜRETİMİ VE GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN *İN-VİTRO* İNCELENMESİ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

ADANA-2016

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANİK ASİTLERİN BAKTERİLERİN BİYOJEN AMİN ÜRETİMİ VE GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN *İN-VİTRO* İNCELENMESİ

Saadet GÖKDOĞAN TEKİN

DOKTORA TEZİ

SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 25 / 11 /2016 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

……...	……	……
Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL	Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL	Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE
……	……..	
Doç. Dr. Berna KILINÇ	Yard. Doç. Dr. Yekta GEZGİNÇ	
ÜYE	ÜYE	

Bu Tez Enstitümüz Su Ürünleri Avlama Ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2014-2526

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

ORGANİK ASİTLERİN BAKTERİLERİN BİYOJEN AMİN ÜRETİMİ VE GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN *İN-VİTRO* İNCELENMESİ

Saadet GÖKDOĞAN TEKİN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ AVLAMA VE İŞLEME TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
Yıl: 2016, Sayfa: 116
Jüri : Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
: Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL
: Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
: Doç. Dr. Berna KILINÇ
: Yard. Doç. Dr. Yekta GEZGİNÇ

Bu çalışmada, % 0.5 konsantrasyonda üç farklı organik asidin (propiyonik, asetik ve formik asit) iki farklı aminoasit (histidin ve tirosin) dekarboksilaz sıvısında referans bakteri *(Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas hydrophila, Salmonella* Paratyphi A*, Campylobacter jejuni* ve *Yersinia enterocolitica*) ve laktik asit bakterilerin (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis, Lactobacillus plantarum, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve *Pediococcus acidolactici*) gelişimi ve biyojen amin üretimine etkisi incelenmiştir. Organik asitlerin bakterilere karşı minimium inhibisyon konsantrasyonu (MIK) ve minimum bakterisit konsantrasyonu (MBK) mikrodilüsyon yöntemine göre belirlenmiştir. Test edilen organik asitler arasında formik asit ve bunu takiben asetik asit diğer asitlere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Test edilen formik aside karşı en hassas türler 0.78 mg/mL MIK değeri ile *E. coli*, *E. faecalis*, *S.* Paratyphi A ve *S. aureus* olmuştur. Organik asitlerin referans bakteriler üzerindeki MBK değerleri genellikle 50 mg/mL'nin üzerinde olmuştur. Laktik asit bakterilerinde bu değer 6.52 mg/mL' ye kadar düşmüştür. Aminoasit dekarboksilaz sıvısında genellikle en düşük bakteriyel yük formik asitte *Pd. acidolactici* bakterisinde (5.38 log kob/mL) gözlenmiştir. Bakteriler tarafından başlıca üretilen biyojen aminler dopamin, agmatin, putresin ve tiramin olmuştur. Histidin dekarboksilaz sıvısında histamin üretimi 0.12 mg/L (*S.* Paratyphi A) ve 28.56 mg/L (*A. hydrophila*) arasında değişkenlik gösterirken, laktik asit bakterileri tarafından üretilen en yüksek histamin değeri 2.38 mg/L (*Lb. plantarum*) olmuştur. Tirosin dekarboksilaz sıvısında en yüksek tiramin üretimi referans bakteriler için 578.22 mg/L (*E. coli*), laktik asit bakterileri için ise 22.05 mg/L (*Lc. lactis*) olmuştur. Organik asitlerin biyojen amin üretimindeki etkisi aminoasit dekarboksilaz sıvısına, asit tipine, bakteri türüne ve spesifik biyojen amine göre değişkenlik göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Propiyonik asit, Asetik asit, Formik asit, Histamin, Tiramin

ABSTRACT

PhD THESIS

INVESTIGATION OF *IN-VITRO* ANTIMICROBIAL EFFECCTS OF ORGANIC ACIDES ON THE BIOGENIC AMINE PRODUCTION AND BACTERIAL GROWTH

Saadet GÖKDOĞAN TEKİN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FISHING AND SEAFOOD PROCESSING TECHNOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
Year: 2016, Pages:116
Jury : Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL
: Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL
: Assoc. Prof. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA
: Assoc. Prof. Dr. Berna KILINÇ
: Assoc. Prof. Dr. Yekta GEZGİNÇ

In this study, the effects of tree different organic acids (propionic, acetic and formic acid) at doses of 0.5 % on growth and biogenic amine production of eight reference bacterial strains(*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas hydrophila, Salmonella Paratyphi A, Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica*) and five lactic acid bacteria (*Lactococcus lactic* subsp. *lactic, Lactobacillus plantarum, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and *Pediococcus acidolactici*) were investigated in two different amino acid (histidine and tyrosine) decarboxylase broth. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of organic acids against test strains were determined by using broth microdilution method. Among organic acids tested, formic acid showed the highest antimicrobial activity, followed by propionic acid. *E. coli, E. faecalis*, S. Paratyphi A and *S. aureus* were the most susceptible strains against formic acid, with MIC value of 0.78 mg/mL. MBC of reference strains was generally above 50 mg/mL, whilst lactic acid bacteria had 6.52 mg/mL of MBC. The lowest bacterial load in amino acid decarboxylase broth was observed by *Ps. acidolactici* (5.38 log cfu/mL) in the presence of formic acid. The main amines produced by bacteria were dopamine, agmatine, putrescine and tyramine. In histidine decarboxylase broth, histamine production was in range from 0.12 mg/L (*S.* Paratyphi A) to 28.56 mg/L (*A. hydrophila*), although the highest histamine production by lactic acid bacteria was found as 2.38 mg/L (*Lb. plantarum*). In tyrosine decarboxylase broth, the highest tyramine production was 578.22 mg/L for *E. coli* as references strains and 22.05 mg/L for *Lac.* subsp. *lactis* as lactic acid bacteria. The effect of organic acids on biogenic amine production varied depending on amino acid decarboxylase broth, type of acid, bacterial strains and specific biogenic amines.

Key words: Propionic acid, Acetic acid, Formic acid, Histamine, Tiramine.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Gıdalarda bulunan bazı organik asitler ortamın ya da hücre içinin pH'sını düşürerek veya hücre membranının geçirgenliğini değiştirip substrat taşınımını bozarak ya da mikroorganizmaların yaşamı için gerekli bazı metallerle şelat oluşturarak antimikrobiyal etki göstermektedirler.

Gıdalarda en çok bulunan organik asitler, asetik asit, malik asit, sitrik asit, laktik asit, karbonik asittir. Organik asitler yapılarında karbon bulunduran asitlerdir ve bunlar formik, asetik, propiyonik, bütirik, fumarik, sorbik, sitrik ve malik asit ve bunların tuzlarıdır.

Organik asitler gıda koruma katkı maddesi olarak gıda sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Organik asitlerin antimikrobiyal etkisi, öncelikle gıdaların su fazında asiditeyi azaltma yeteneklerine bağlıdır. Gıda fermentasyonları sırasında oluşan organik asitler, pH'ı düşürerek birçok mikroorganinizmanın üremesini engeller veya inhibe ederler. Asite tolerans gösteren mikroorganizmalar zarar görmezken *Clostridium perfiringens, Escheria coli* ya da *Salmonella* türleri gibi bazı mikroorganizmaların büyüme oranı pH 5'in altında azalmaktadır.

Biyojenik aminler genellikle serbest aminoasitlerin mikrobiyal enzimlerle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Aminoasit dekarboksilasyon alfa-karboksil grubun uzaklaşmasıyla meydana gelir. Biyojenik aminler insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan toksik maddelerdir. Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır.

Biyojen aminler arasında histamin insanlarda scombroid (histamin) zehirlenmesine yol açan histidin amino asidinden üretilen önemli bir toksin maddedir. Kadaverin ve putresin histamin toksisitesini arttırdığından dolayı balık ve balık ürünlerinde önemli olmaktadır. Putresin, ornitin, kadaverin ise lizin aminoasidinin dekarboksilasyonu sonucu oluşur.

Histamini üretmede yetenekli olan bakteri türleri ile diğer aminleri üretmede yetenekli olan bakteri türleri genellikle benzer olmaktadır. Substrat varlığı, sıcaklık, pH gibi faktörler ve sodyum sülfit, sodyum nitrat, glisin ve tuz gibi koruyucu kimyasallar gıdalarda ki biyojem amin dekorbaksilaz aktivitesini ve de biyojen amin birikimini sınırlamaktadırlar.

Bu çalışmada, üç farklı organik asitin (propiyonik, asetik ve formik asit) iki farklı aminoasit (histidin ve tirosin) dekarboksilaz sıvısında 9 farklı referans bakteri (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas hydrophila, Salmonella* Paratyphi A, *Camplylobacter jejuni* ve *Yersinia enterocolitica)* ve 5 farklı laktik asit bakteri (*Lactococcus lactic* subsp. *lactic, Lactobacillus plantarum, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve *Pediococcus acidolactici*)' nin gelişimi ve biyojen amin üretimine etkisi incelenmiştir. Organik asit uygulamalarının referans bakterileri ve laktik asit bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkisi minimium inhibisyon konsantrasyonu (MIK) ve minimum bakterisit konsantrasonu (MBK) ile belirlenmiştir. Test edilen organik asitler arasında formik asit ve propiyonik asit, asetik aside kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Formik asite karşı en hassas türler 0.78 mg/ml MIK değeri ile *E. coli, E. faecalis, S.* Paratyphi A ve *S. aureus* olmuştur. Organik asit katkılarının referans bakteriler üzerindeki MBK değerleri genellikle 50 mg/mL'nin üzerinde olmuştur. Laktik asit bakterilerinde bu değer 6.52 mg/mL' ye kadar düşmüştür. Aminoasit dekarboksilaz sıvısında genellikle en düşük bakteriyel yük formik asitte *Pd. acidolactici* bakterisinde (5.38 logkob/mL) gözlenmiştir.

Organik asit uygulamaları amonyak üretimini önemli düzeyde düşürmüştür ($p<0.05$).Bu çalışmada histidin dekarboksilaz sıvısında en yüksek AMN üretimi *Y. enterocolitica* tarafından gerçekleşmiştir (440.12mg/L).

Uygulanan organik asitlerden formik asit AMN üretimini arttırırken propiyonik ve asetik asitin bakterinin AMN üretimini düşürdüğü tespit edilmiştir. Organik asit

uygulaması *C. jejuni* ve *S. aureus* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.05).

Histidin dekarboksilaz sıvısında PUT, KAD, TİR, DOP ve AGM en yüksek sırasıyla *S.* Paratyphi A, *S. aureus, P. aeruginosa, Y. enterocolitica, K. pneumoniae* tarafından gerçekleşmiştir.

Tirosin dekarboksilaz sıvısında PUT, KAD, AGM, TİR ve DOP en yüksek *S.aureus*, *S.* paratyphi A, *E. coli* tarafından gerçekleşmiştir.

Histidin dekarboksilaz sıvısında histamin üretimi 0.12 mg/L (*S.* Paratyphi A) ve 28.56 mg/L (*A. hydrophila)* arasında değişkenlik gösterirken, tiramin üretimi 5.43mg/L ile en fazla *E. coli* tarafından üretildiğitespit edilmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *E. coli* 578.22 mg/L ile en yüksek tiramin üretirken, *S.* Paratyphi A 6.29 mg/L ile en yüksek histamin üreten bakteri olmuştur.

Histidin dekarboksilaz sıvısında test edilen laktik asit bakterleri arasında *Leu. mesenteroides*en yüksek PUT ve KAD üreten *Pd. acidolactici* ise en yüksek AGM ve DOP ürreten bakteri olmuştur.

Yaptığımız çalışmada tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerinin biyojen amin üretimi bakteri türüne göre değişkenlik göstermiştir. Bazı laktik asitler yüksek dozajlarda amin üretirken bazı laktik asitlerin ise amin üretme yeteneğine sahip olmadıkları saptanmıştır.

Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterileri arasında en düşük 0.69 mg/L histamin üretimi (*Leu. mesenteroides*) olmuştur. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterileri ise en yüksek 22.05 mg/L (*L. lactis*), en düşük 11.12 mg/L (*St. thermophilus)* tiramin üretmişlerdir.

Organik asitlerin biyojen amin üretimindeki etkisi aminoasit dekarboksilaz sıvısına, asit tipine, bakteri türüne ve spesifik biyojen amine göre değişkenlik göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, yürütülmesinde ve yazımında bilgi ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yeşim ÖZOĞUL'a; proje aşamasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Fatih ÖZOĞUL'a; projenin laboratuar uygulamalarında yardımını esirgemeyen ve emeği geçen Doç. Dr. Esmeray KÜLEY BOĞA' ya ve çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Mustafa DURMUŞ ve Dr. Esra BALIKÇI' ya, Arş. Gör. Yılmaz Uçar' a Arş. Gör. Elif Tuğçe AKSUN' a Yüksek Su Ürünleri Mühendisi İlknur YUVKA' ya yardım ve yakın ilgilerinden dolayı teşekkür ederim.

Doktora eğitimimi tamamlama sürecinde her zaman yanımda olup bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen eşim Önder TEKİN' e teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi destekleriyle bana her zaman yardımcı olan sevgili annem Filiz GÖKDOĞAN' a ve sevgili babam İsmail GÖKDOĞAN' a göstermiş oldukları sabır, anlayış ve verdikleri emekten dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her aşamasında bana destek olan ve ihtiyaç duyduğumda her zaman yanımda olan kardeşim Kimyager Ali Sait GÖKDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ X
ŞEKİLLER DİZİNİ XII
SİMGELER VE KISALTMALAR XIV
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Biyojen Aminler 7
2.2. Organik Asitler 12
3. MATERYAL VE YÖNTEM 21
3.1. Materyal 21
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bakteri Türleri 21
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Organik Asitler 21
3.2. Organik Asitlerin Antimikrobiyal Aktivite Analizi 21
3.3. Aminoasit Dekarboksilaz Sıvısının Hazırlanması 22
3.3.1. Histidin ve Tirosin Dekarboksilaz Sıvısına Bakterilerin Aşılanması 22
3.3.2. Aminoasit Dekarboksilaz Sıvısında Toplam Bakteriyel Gelişimin Belirlenmesi 23
3.3.3. Biyojenik Amin Analizi için Bakteriyel Dekarboksilaz Sıvısının Ekstraksiyonu 23
3.3.4. Biyojenik Amin Analizi 23
3.3.5. Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması 24
3.3.6. Ekipman ve Kolon 24
3.4. İstatistik Analiz 25

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 27
4.1. Organik Asitlerin Antimikrobiyal Aktivitesi 27
4.2. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Bakteriyel Gelişim 30
4.3. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Bakteriyel Gelişim 32
4.4. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 34
4.5. Histidin Dekorboksilaz Sıvısında Laktik asit Bakterileri Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 48
4.6. Tirosin Dekorboksilaz Sıvısında Refrans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 57
4.7. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 71
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 81
KAYNAKLAR: 87
ÖZGEÇMİŞ 107
EKLER 108

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 2.1. Biyojen amin oluşum aşaması 8
Çizelge 2.2. Biyojen aminler ve kimyasal yapıları 9
Çizelge 2.3. Organik asitlerin sınıflandırılması ve bazı özellikleri. 15
Çizelge 4.1. Organik asitlerin referans bakteriler üzerindeki MIK ve MBK değerleri 27
Çizelge 4.2. Organik asitlerin laktik asit bakteriler üzerindeki MIK ve MBK değerleri 29
Çizelge 4.3. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişimi 31
Çizelge 4.4. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerinin bakteriyel gelişimi 32
Çizelge 4.5. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişimi 33
Çizelge 4.6. Tirozin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerinin bakteriyel gelişimi 34
Çizelge 4.7. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 40
Çizelge 4.8. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 51
Çizelge 4.9. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 62
Çizelge 4.10. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi 74

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. Azot Uçurma Evaparatoru 24
Şekil 3.2. Biyojen Amin Analizi İçin Kullanılan HPLC Cihazı 25
Şekil 4.1. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi.....37
Şekil 4.2. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından histamin üretimi 44
Şekil 4.3. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından tiramin üretimi 46
Şekil 4.4. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi.....50
Şekil 4.5. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından histamin üretimi 54
Şekil 4.6. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından tiramin üretimi 55
Şekil 4.7. Tirozin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi.....59
Şekil 4.8. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından histamin üretimi 66
Şekil 4.9. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından tiramin üretimi 69
Şekil 4.10. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi.....72
Şekil 4.11. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından histamin üretimi 76
Şekil 4.12. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterileri tarafından tiramin üretimi 78

SİMGELER VE KISALTMALAR

MIK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MBK	: Minimum bakterisit konsantrasyonu
KONT	: Kontrol
PROP	: Propiyonik asit
AST	: Asetik asit
FORM	: Formik asit
AMN	: Amonyak
PUT	: Putresin
KAD	: Kadaverin
SPD	: Spermdin
TRPT	: Triptamin
FEN	: Feniletilamin
SPN	: Spermin
HİS	: Histamin
SER	: Serotonin
TİR	: Tramin
TMA	: Trimetilamin
DOP	: Dopamin
AGM	: Agmatin

1. GİRİŞ

Organik asitler insanlar için gerekli besin maddesi bileşenleridir. Organik asitlerin çoğu zararsız olup, bu asitler aroma ve lezzet bileşiklerini de yapılarında bulundururlar. Doğada saf olarak bitkisel ve hayvansal organizmada bulunabilirler ve ayrıca doğal yollardan da elde edilebilirler. Hayvan vücudunda kullanılıp, metobolize olduktan sonra karbondioksit ve suya okside olurlar. Dolayısıyla canlı organizma için herhangi bir sağlık sorunu ya da bir risk oluşturabilecek hiçbir kalıntı bırakmazlar. Gıdalarda bulunan bazı organik asitler ortamın ya da hücre içinin pH'sını düşürerek veya hücre membranının geçirgenliğini değiştirip substrat taşınımını bozarak ya da mikroorganizmaların yaşamı için gerekli bazı metallerle şelat oluşturarak antimikrobiyal etki göstermektedirler (Ova, 2001).

Gıdalarda en çok bulunan organik asitler, asetik asit, malik asit, sitrik asit, laktik asit ve karbonik asittir. Organik asitler yapılarında karbon bulunduran asitlerdir ve bunlar formik, asetik, propiyonik, bütirik, fumarik, sorbik, sitrik ve malik asit ve bunların tuzlarıdırlar (Anonim, 2011).

Laktik asit diğer tüm organik asitler gibi karboksilli asitler grubuna giren zayıf bir asittir. Kas, kan ve vücudun değişik organlarında bulunur. Laktat ile aynı anlamda kullanılır. Laktat, laktik asitin anyonudur (Vikipedi; 2006). Laktoz (süt şekeri) fermente süt ürünlerinde kullanılan starter bakteriler tarafından bir ön fermentasyona uğratılır. Bunun sonucunda emilimi daha kolay olan laktik asit oluşur (Yeniel, 2006). Temel kaynağı glikojen olarak adlandırılan karbonhidratın yıkımı sonucu oluşan bir yan üründür. Laktik asit özellikle gıda sanayinde asitlendirici, tatlandırıcı ve antimikrobiyal madde olarak ve ayrıca deri, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde uzun yıllardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır (Harsa, 2001).

Günümüzde asetik asit doğada yaygın olması ve sanayide kullanım alanının oldukça geniş olması nedeniyle kullanılan en önemli endüstriyel organik asitlerden biridir. Asetik asit bakteri, küf ve mayalar üzerinde koruyucu etkiye

sahiptir. Ancak bakteri ve mayalar üzerinde daha etkilidir. Özellikle Salmonella ve koliform bakterileri üzerinde öldürücü etkisi vardır (Ünlütürk ve Turantaş, 2003). Gıda sanayisinde kullanılan asetik asit fermantasyon ile elde edilmektedir ve bu dünya asetik asit üretiminin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Yoneda ve ark., 2001). Asetik asit ve tuzları gıda tüzüğünde kullanılmasında sakınca olmayan gıda katkı maddeleri içinde yer almaktadır. Fermente olabilir karbonhidrat içeren gıdalarda (örneğin asetik asit fermantasyonuna uğrayan sosis tipi ürünleri) laktik asit bakterileri ve mayaların çoğalmasını önlemek için % 3,6 bulunması gerekmektedir (Anonim, 2011). Hububat ürünlerinde, et ve balık ürünlerinde, sirkecilikte, malt şurubu ve konsantratlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Saldamlı, 1985).

Metanoik asit olarak da adlandırılan ve karboksilli asitlerin ilk üyesi olan formik asit (HCO_2H), keskin kokulu renksiz ve korozif bir sıvıdır (Bruice, 2003; Othmer, 1994). Formik asit ve türevleri endüstride oldukça önemli bir yer tutar. Karbonil grubuna bağlı hidrojen atomu bulundurduğundan hem aldehit hem de asit yapısındadır. Formik asit, çiftlik hayvanları için besin maddesi, gıda ürünlerinin bozulmasını engelleyici ve antibakteriyel madde olarak kullanılır (Önder, 2006).

Süksinik asit hafif acı ve ekşi bir lezzete sahip, kokusu olmayan bir organik asittir. Doğal olarak bazı sebzelerde bulunur. Bu asit Krebs çevrimi ya da mikroorganizmaların yağları metabolize etmesi sırasında oluşan bir asittir (Boulton ve ark., 1996). Süksinik asit bakteriler tarafından metabolize edilemeyen bir asit olduğu için kararlı bir asittir (Coulter ve ark., 2004). Süksinik asit, tartarik asit veya malik asidin özel bakterilerle fermantasyonuyla elde edilebilir. (Anonim, 2011).

Fumarik asit doğada yaygın olarak bulunan bir organik asit olup, ürünü kararlı halde tutmak ve ekşilik kazandırmak amacıyla birçok işlenmiş üründe güvenli gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Fumarik asit ayrıca toksik ve hidroskopik olmayan özelliğinden dolayı farmokolojik endüstride asitleştirici olarak kullanılmaktadır (Kirk ve Othmer, 1952; Carta ve ark., 1999). Şeker ilaveli gıdalarda kullanım dozajı % 0.12- 0.50 oranındadır. % 1-1.5 oranında kullanımda

Listeria monocytogenes, *Escherichia coli* 0157:H7 ve *Salmonella typhimurium* patojenlerine karşı koruyucudur (Oweley, 1993).

Çeşitli çalışmalarda laktik asit, formik asit ve propiyonik asidin antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve bu organik asitlerin gelecekte daha önemli bir yere sahip olabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle organik asitlerin, hem sağlık açısından hem de ekonomik açıdan değerleri büyüktür (Anonim, 2011). Ayrıca propiyonik asit ve tuzları (Na ve Ca propiyonat) GRAS (tüketimi genellikle güvenli) maddeler grubunda yer alırlar. Ekmek, diğer fırın ürünleri ve peynirde antimikotik olarak kullanılmaktadır. Tuzlar paketleme materyallerinde antimikotik özelliklerinden dolayı kullanılabilirler. Na ve Ca tuzlarının genel kullanım dozları % 3 düzeyinde (Çelikyurt ve Arıcı, 2008) olmalarına karşın, sınırlamalar için izin verilen değer, ekmekçilikte % 0.32 ve peynirlerde % 0,3 olarak saptanmıştır (Yaralı, 2014). Reçel, kabuğu soyulmuş elma dilimleri, incir, siyah üzüm, kiraz, bezelye ve fasulyeye küflerin çoğalmasını geciktirmek için % 0.2-0.4 oranında propiyanat katıldığı belirtilmiştir (Anonim, 2011). Doğal koruyucu madde olmasından dolayı antibiyotiklerin yerini alabilecek çok güçlü bir potansiyele sahip olması nedeniyle gıda sektöründe büyük bir önem kazanmışlardır. Bitkisel ve hayvansal organizmada doğal saf olarak bulunabilirler ve doğal yollardan elde edilebilirler.

Organik asitler gıda koruma katkı maddesi olarak gıda sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Organik asitlerin antimikrobiyal etkisi, öncelikle gıdaların su fazında asiditeyi azaltma yeteneklerinebağlıdır. Gıda fermentasyonları sırasında oluşan organik asitler. pH'ı düşürerek birçok mikroorganinizmanın üremesini engeller veya inhibe ederler. Asite tolerans gösteren mikroorganizmalar zarar görmezken *Clostridium perfiringens*, *Escheria coli* ya da *Salmonella* türleri gibi bazı mikroorganizmaların büyüme oranı pH 5'in altında azalmaktadır (Çelik, 2007). Sodyum klorür, kür tuzları, baharatlar, bakteriyosinler, diğer doğal antimikrobiyaller, düşük oksijen ve su aktivitesi, organik asitlerin antimikrobiyal etkinliklerini etkileyen faktörler arasında yer alır (Samelis, 2003). Gıdalardaki

organik asitlerin antimikrobiyal etkisi, kullanılan asit türü, konsantrasyonu ve uygulama yöntemine bağlıdır. Organik asitlerin antimikrobiyal etkisi ayrıca sıcaklık, pH, su aktivitesi, oksijen, tuz ve diğer antimikrobiyallere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu faktörler, mevcut mikroorganizmaların sayıları ve çeşitleri, bunların metabolik aktivite ve mikrobiyal etkileşimleri gibi asitlerin antimikrobiyal etkisini arttırabilir veya azaltabilir. Genel olarak, organik asitlerin etkisi düşük pH'da veya antimikrobiyal faktörlerle birlikte artış gösterir. Zayıf asitlerin düşük pH'da nötral pH'a göre daha güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bu asitler arasında, asetik ve propiyonik asit en güçlü inhibitör olup maya, küf ve bakterilerin üremesinin engellemesi için kullanılır (Suomalainen ve Mayra-Makinen, 1999). Ayrıca, düşük pH, hücre biyokütlesini, büyüme oranını ve gecikme fazını azaltırken, sıcaklığın, organik asitlerin antimikrobiyal etkinlikleri üzerinde önemli etkisi vardır (Lund ve Eklund, 2000).

Sorrells ve ark. (1989) yaptıkları bir araştırmada organik asitlerden, sırasıyla asetik, laktik sitrik, malik ve HCl asidin *L. monocytogenes*'in gelişimini etkilediğini bulmuşlardır. pH 4.4 ile 5.2 arasında asitlerin *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe edici etkisi asetik > laktik > HCI şeklindedir (Sorrells ve ark., 1989). Benzer olarak Young ve Foegeding (1993) sitrik, laktik ve asetik asitlerin asit konsantrasyonlarına dayalı olarak patojen gelişimini etkilediğini bildirmişlerdir. Asetik, laktik ve sitrik asit % 0.1' lik tryptose broth'ta *L. monocytogenes*'in büyümesini inhibe ettiğini Ahamad ve Marth (1989) belirtmişlerdir. Ray (1992), Daeschel ve Penner (1992) laktik asitin diğer antimikrobiyal faktörlerle, diasetil, hidrojen peroksit, laktoperoksidaz ve reuterin, sinerjisi araştırılmış ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal potansiyelin artmasına yardımcı olduğu bulunmuştur. Jin ve ark. (1996), tavuk bağırsağından izole ettikleri *Lactobacillus* spp. tarafından üretilen organik asitlerin patojenik bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yapılan bir araştırmada, 13 *Lactobacillus* ve 5 *Pediococcus* suşunun bir antimikrobiyal olan 2-pyrodilone-5-karboksilik asit (PCA) ürettiklerini, PCA'nın *Enterobacter cloacae*

1575, *Pseudomonas flourescens* KSLG ve *Pseudomonas putida* 1560-2 bakterileri üzerine inhibisyon etki gösterdiği bulunmuştur (Yang ve ark., 1997).

Biyojenik aminler insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan toksik maddelerdir. Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (Brink ve ark., 1990; Silla-Santos, 1996). Biyojenik aminler düşük molekül ağırlıklı organik bazlardır ve mikrobiyal, bitki ve hayvan metabolizması tarafından sentezlenmektedirler (Brink ve ark., 1990). Biyolojik olarak aktif aminler sinir ve metabolizma gibi biyolojik sistemlerde önemli fonksiyonlara sahip olmalarından dolayı önemlidir (Zhang ve ark 2008). Biyojen aminlerin aynı zamanda kanseri tetikleyici etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu aminler ayrıca gıda kalitesini belirlemede bir gösterge sağlamaktadır (Anderson, 2008).

Aminoasitler, bakteriyel faaliyetler veya proteolitik aktivitenin bir sonucu olarak proteinden ayrılarak serbest forma geçebilir (Brink ve ark., 1990). Biyojenik aminler genellikle serbest aminoasitlerin mikrobiyal enzimlerle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Aminoasit dekarboksilasyon alfa-karboksil grubun uzaklaşmasıyla meydana gelir (Shalaby, 1996). Biyojen aminler arasında histamin insanlarda scombroid (histamin) zehirlenmesine yol açan histidin amino asidinden üretilen önemli bir toksin maddedir (Su ve ark., 2000). Kadaverin ve putresin histamin toksisitesini arttırdığından dolayı balık ve balık ürünlerinde önemli olmaktadır (Özogul ve ark., 2002). Putresin, ornitin, kadaverin ise lizin aminoasidinin dekarboksilasyonu sonucu oluşur.

Çoğu bakteri histamin üretimine yol açan histidin dekarboksilaz aktivitesine sahiptir (Ababouch ve ark., 1991; Lopez-Sabater ve ark., 1996; Tsai ve ark., 2005). *Escherichia, Salmonella, Clostridium* ve *Bacillus* gibi bazı patojenik bakterilerin histidin dekarboksilaz aktivitesi gösterdiği rapor edimiştir (Ordonez ark., 1999). Diğer patojenlerden *A. hydrophil*a'nın histamin, kadaverin ve putresin (Middlebrooks ve ark., 1988); *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*'in kadaverin ve

tiramin ürettiği bulunmuştur (Özogul ve Özogul, 2007). Aminoasit dekarboksilaz bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Bacillus, Citrobacter, Clostridium, Klebsiella, Escherichia, Salmonella, Shigella* gibi türlerin bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Brink ve ark., 1990). İnsanlarda histamin zehirlenmesine dahil edilen balıklarda histamin üreten bakteriler; *Morganella morganii* (Arnold ve Brown, 1978). *Klebsiella pneumoniae* (Taylor ve ark., 1979), *Hafnia alvei* (Havelka, 1967)'dir. Aynı zamanda *Proteus vulgaris, P. mirabilis, Clostridium perfringens, Enterobacter aerogenes* ve *Vibrio alginolyties*'inde histamin ürettiği bulunmuştur (Arnold ve ark., 1980; Frank ve ark., 1985). Middlebrooks ve ark. (1988), bozulmuş balıktan dekarboksilaz aktiviteli *Acinobacter iwoffi, Pseudomonas putrefaciens, Aeromonas hydrophila* gibi 3 bakteri türü izole etmesinin yanı sıra, Lopez-Sabater ve diğ. (1994), *Plesiomonas shigelloides* gibi yeni bir histamin üreticisi tespit etmiştir. Yatsunami ve Echigo (1993), fermente balıkta histamin üreten bakteri olarak *Staphylococcus, Vibrio*, ve *Pseudomonas*'ı teşhis etmişlerdir. Bakteriler çeşitli aminoasit dekorbaksilaz içerdikleri için, gıdalardan diğer bir çok aminler teşhis edilebilmektedir (Lovenberg, 1973). Histamini üretmede yetenekli olan bakteri türleri ile diğer aminleri üretmede yetenekli olan bakteri türleri genellikle benzer olmaktadır (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994).

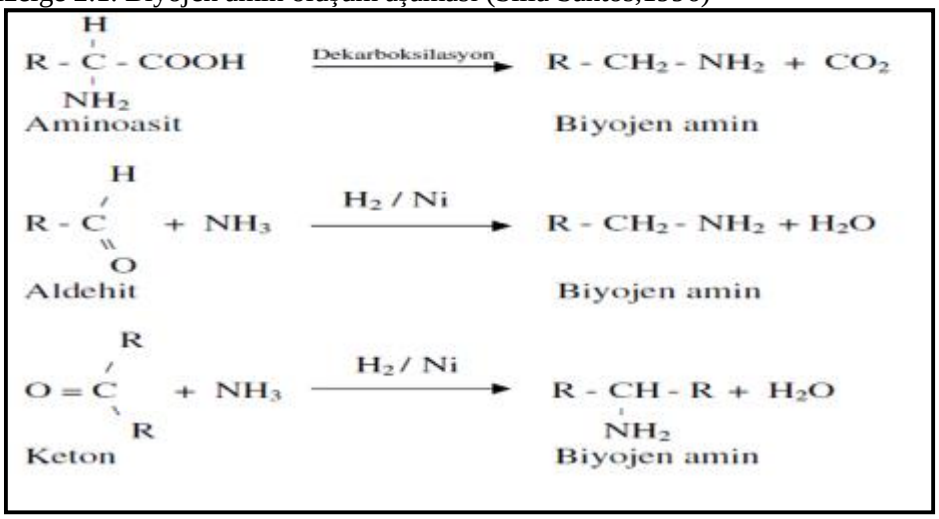
Başta histamin olmak üzere biyojen aminler insanlarda konsantrasyonlarına bağlı olarak toksik özellik gösterdiği için tespiti büyük bir önem arz etmektedir. Gıdalarda bulunabilen bazı spesifik patojen ve bozucu bakterilerin histamin, tiramin, agmatin, putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi biyojenik amin üretebilme yeteneğinin tespiti aynı zamanda gıda kalitesi bakımından da önemli olmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada asetik asit, propiyonik ve formik gibi organik asitlerin bakterilerin biyojen amin üretimi ve gelişimi üzerindeki antimikrobiyal etkileri incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biyojen Aminler

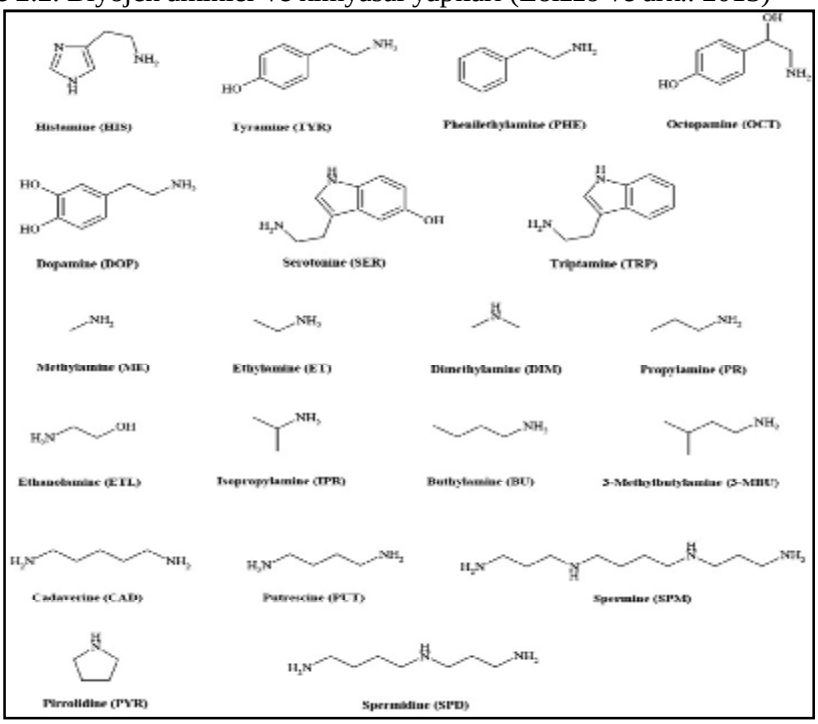
İnsan, hayvan ve mikroorganizmaların metabolik ürünleri olan biyojen aminler, düşük molekül ağırlıklı olup, amonyakta bulunan bir, iki veya üç hidrojen atomunun alkil ve aril grupları ile yer değiştirmesi sonucu oluşan bazik karakterli bileşiklerdir (Hornero-Mendez ve Garrido-Fernandez, 1997; Özoğul ve ark., 2004; Yeğin ve Üren, 2008). Aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucu ortaya çıkan biyojen aminler uçucu özelliklerine göre iki gruba ayrılmaktadır (Brink ve ark., 1990). Feniletilamin uçucu amin sınıfında yer alırken, uçucu olmayan aminler büyük bir biyojen amin sınıfını oluşturmaktadır (Zhang ve ark., 2008). Biyojen aminler insan ve hayvanlarda fizyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar. DNA, RNA ve protein sentezinin neredeyse tüm basamaklarında rol aldıkları için hücre büyüme ve çoğalmasında önemlidir (Yeğin ve Üren 2008). Bazı aminlerin insanlarda hormon olarak, kan sirkülasyonunun regülasyonunda transmitter madde olarak sinir sisteminde ve düz kaslarda önemli görevleri bulunmaktadır (Graf, 1992). Biyojen aminler temel olarak aminoasitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu sonucu oluşmaktadırlar (Silla Santos, 1996). Biyojen amin oluşum aşaması Çizelge 2.1.’ de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Biyojen amin oluşum aşaması (Silla Santos,1996)



Gıdalarda oluşan başlıca önemli biyojen aminler histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, 2-fenilethil amin, spermin, spermidin ve agmatindir. Biyolojik aminlerin alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin, feniletilamin) ve heterocyclic (histamin, triptamin) olmak üzere üç farklı kimyasal yapısı bulunmaktadır (Shabaly 1996; Silla Santos 1996; Alper ve Temiz, 2001; Ölmez 2000; Kurt ve Zorba, 2008). Biyojen aminler ve kimyasal yapıları Çizelge 2.2. ‘de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Biyojen aminler ve kimyasal yapıları (Loizzo ve ark.. 2013)



Biyojen aminler temelde gıdalardaki aminoasitlerin, belirli bazı mikroorganizmaların (*Clostridium, Lactobacillus, Escherichia, Aerobacter, Salmonella, Shigella, Aeromonas, Pseudomonas, Vibrio* ve *Photobacterium* vs.) dekarboksilaz enzimleriyle dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994; Gökoğlu ve Varlık 1995; Hernandez-Jover ve ark., 1996; Izquierdo-Pulido ve ark. 1996; Alper ve Temiz, 2001). Mikroorganizmalar tarafından üretilen biyojenik aminler insanlarda potansiyel toksisiteye yol açmasından dolayı gıda güvenliği açısından oldukça önemlidir (Garai ve ark., 2007). Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (Askar ve Treptow, 1986; Ten Brink ve ark., 1990; Silla Santos, 1996; Aygün, 2003; Vatansever, 2004; Özdestan ve Üren, 2006).

Gıda kaynaklı intoksikasyona neden olan ve biyojenik aminlerin en önemlisi olan histamin potansiyel olarak tehlike içermekte ve histamin zehirlenmesine neden olmaktadır (Lehane ve Olley. 2000; Taylor 1986). Histamin, tiramin, triptamin ve 2-feniletilamin insanlarda baş ağrısı, düz kas kontraksiyonu, hipo veya hipertansiyon, gastrik asit salınımı ve alerjik reaksiyonları içeren hem sinir hem de damar sistemleri üzerindeki etkilerinden dolayı gıdalarda mevcut olan en önemli aminlerdir (Millichap ve Yee. 2003; Pessione ve ark. 2005). Skombroid zehirlenmelerinde histaminin yanı sıra kadaverin, putresin ve tiraminin de toksik etkileri olduğu bilinmektedir (Halász ve ark., 1994; Rice ve ark., 1976), Putresin, kadaverin, spermin ve spermidin, histamin toksisitesini güçlendirici etki etmektedir (Halasz ve ark., 1994, Edward ve Sardine 1981, Joasten 1988, Bjeldanes ve ark.. 1978). Benzer şekilde putresin biyojen amini, diaminoksidaz ve hidroksimetiltransferaz gibi detokside edici enzimleri engellemesi ve nitrozaminleri oluşturan nitritlerle reaksiyona girmesinden dolayı histamin ve tiramin toksisitesini arttırıcı etki etmektedir (Warthesen ve ark., 1975; Eerola ve ark.,1997).

Gıdalarda biyojen amin oluşumunu etkileyen faktörler; serbest aminoasitlerin varlığı, aminoasitleri dekarboksile edebilecek mikroorganizmaların varlığı ve mikroorganizmaların gelişerek dekarboksilaz enzimini üretebilecekleri uygun ortam koşulları şeklinde sıralanabilmektedir (Yeğin ve Üren, 2008).

Dekarboksilaz enzimini oluşturarak aminoasitlerin dekarboksilasyonunda rol alan birçok mikroorganizma arasında *Escherichia coli, Proteus morganii, P.mirabilis, Pseudomonas reptilivora, Enterococcus faecalis, E. faecium, E. durans, Salmonella, Shigella, Betabacterium ve Lactobacillus* türleri, *Raoultella planticola, R. ornithinolytica* bulunmaktadır (Halasz ve ark., 1994; Kamantonis 1998; Renata ve ark., 1999; Kanki ve ark., 2002).

Biyojen amin oluşumunda fermente gıdalarda kullanlan starter kültürlerin de gıdadaki normal mikrobiyal flora ile etkileşimleri sonucu direkt veya indirekt olarak etkili olduğu belirtilmiştir (Beutling 1996; Silla Santos 1996; Scheuer ve

Rödel 1995). Süt endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan *Streptococcus lactis* ve *Lactobacillus helveticus* gibi bazı bakteriler histamin üreticileri olarak tanımlanmıştır (Shalaby 1996).

Ordonez ve ark., (1997) tarafından yapılan bir çalısmada peynir üretiminde kullanılan ticari starter kültürlerin yüksek oranda tiramin ve putresin üretimine yol açarken diger biyojen amin üretimlerinde azalmaya neden oldukları saptanmıstır.

Saf kültür denemeleri sonuçlarına göre aerobik kosullar altında depolanan domuz etinde *Enterobacteriaceae* oldukça fazla miktarda kadaverin üretirken, *Pseudomonas* türleri baslıca biyojen amin olarak putresin üretmektedirler (Shalaby, 1996).

Beutling (1996), gıdalarda uygun ısı (20-37 °C) ve pH (5-7) ile yeterli miktarda (bir gramda $>10^6$) amin oluşturabilen mikroorganizma olması halinde amin oluşumunun hızlandığını; ancak tuz oranının %5'ten fazla olması durumunda ise biyojen amin oluşumunun azaldığını bildirilmiştir.

Maijala (1993) tarafından yapılan bir çalısmada *Lactobacillus bulgaricus*'un aminoasit ilave edilerek zenginleştirilmiş MRS broth'da daha fazla histamin, tiramin ve triptamin ürettigi tespit edilmistir. Benzer sekilde ortamda glikoz gibi fermente olabilen karbonhidratların bulunması da bakterilerde hem gelismeyi hem de dekarboksilaz aktivitesini arttırmaktadır. *Enterobacter cloacae* 20 ^{0}C'de 24 saatlik bir inkübasyon sonrasında 2 mg/ml putresin üretirken 10 ^{0}C'de amin üretimini gerçeklestirememektedir. *Klebsiella pneumoniae* sıcaklıga karşı fazla duyarlı degildir ancak 10 ^{0}C'de 20 ^{0}C'ye göre daha az oranda kadaverin üretimi gerçekleştirmektedir (Halasz ve ark., 1994).

Çolak ve Uğur (2002) tarafından yapılan bir çalışmada oda sıcaklığında muhafaza edilen sucuk örneklerinde belirlenen pütresin miktarının, buzdolabında depolanan örneklere göre artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalısmada Gouda peynirlerinde, histamin miktarının depolama sıcaklıgı arttıkça artıs gösterdigi tespit edilmistir (Stratton ve ark., 1991).

Carnobacterium divergens'in tiramin üretiminin araştırıldıgı bir çalısmada % 10 NaCl'un tiramin oluşumunu inhibe ettigi tespit edilmistir (Masson ve ark., 1986).

Tuzlanmış yarı konserve edilmiş hamsiden izole edilen ve en yüksek histamin aktivitesi gösteren mikroorganizmalar 37ºC'de 24 saatlik inkübasyondan sonra 2123, 11 ve 110 ppm üretmekte yetenekli olan sırasıyla *Morganella morganii, Bacillus* spp'in 2 üyesi ve *Staphylococcus xylosus*'un 1 üyesi olmuştur (Rodriguez-Jerez ve ark., 1994).

Substrat varlığı, sıcaklık, pH gibi faktörler ve sodyum sülfit, sodyum nitrat, glisin ve tuz gibi koruyucu kimyasallar gıdalarda ki biyojem amin dekorbaksilaz aktivitesini ve de biyojen amin birikimini sınırlamaktadırlar. (Bover- ve ark., 2001; Cantoni ve ark., 1994; Suzzi and Gardini 2003; Özogul ve Özogul 2005; Özogul ve Özogul 2007; Mah ve Hwang 2009). Gıdalarda bulunabilen bazı spesifik patojen ve bozucu bakterilerin biyojenik amin üretebilmesi gıda kalitesi bakımından büyük önem arz etmektedir. Gıdalarda meydana gelen mikrobiyal gelişimi ve biyojen amin oluşumunu önlemek amacıyla antimikrobiyal maddeler olan organik asitler kullanılmaktadır.

2.2. Organik Asitler

Son zamanlarda gıda teknolojisinin gelişmesiyle gıda güvenliğinin toplum sağlığı açısından önemi gün geçtikçe artmaktadır. Benzer şekilde tüketicilerin güvenli ve yüksek kaliteli gıdalara karşı olan talepleri de gün geçtikçe artış göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde toplumun büyük bir kısmı gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklara maruz kalmaktadır. Gıda ürünlerinde istenmeyen bir unsur olan patojenlerin varlığı, dünya genelinde gıda kaynaklı hastalıkların temel sebeplerinden birisidir (Buchanan ve Whiting, 1996; Telli ve ark., 2006). Bu nedenle son yıllarda tüketicilerin az işlem görmüş gıda ürünlerini tercih etmeleri nedeniyle gıdaların besin değerinde kayıplara neden olan koruyucu yöntemler yerine kullanılabilecek alternatif yöntemler önem kazanmıştır (Hızarcı.2011).

Gıda ürünlerinde en önemli mikrobiyal tehlikeler *Salmonella, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Campylobacter, Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica ve Clostridium* gibi patojenlerdir. *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella* spp. *Yersinia* spp. ve *Clostridium* spp. kusma ve ishal gibi mide ve bağırsak rahatsızlıkları ile ilişkili bir çok vakadan sorumludur (Friedman ve ark., 2002; Demirci ve ark., 2008). Diğer mikrobiyal tehlikeler ise bakteriler tarafından üretilen biyojen aminler ve küfler tarafından üretilen mikotoksinlerdir (Aymerich ve ark., 2006).

Patojen bakterilerin gelişimini inaktive etmek veya engellemek için kullanılan kimyasal koruyucu katkı maddeleri ve yapay antimikrobiyaller kullanılmaktadır (Turner ve ark.. 2007). Kimyasal koruyucu katkı maddeleri ve yapay antimikrobiyaller ucuz olmaları, yüksek düzeyde stabilite ve güçlü aktivite göstermelerinden dolayı tercih edilirken, canlı organizmada toksik aktiviteye sahip olduğu ve insanlar için kanserojen etki gösterdiği belirlenmesinden dolayı mikroorganizmaların kontrol altına alınmasında doğal antimikrobiyallerin kullanımı büyük bir önem arz etmektedir(Akgül, 1989; Akgül ve Ayar, 1993; Torre ve ark., 2000; Schlundt, 2002; Bandoniene ve ark., 2002; Suja ve ark., 2004; Yingming ve ark.,2004; Tajkarimi ve ark.,2010; Newell ve ark., 2010).

Gıdaların bileşiminde antimikrobiyal etkiye sahip birçok madde bulunmaktadır (Ova, 2001). Gıda bileşiminde antimikrobiyal madde olarak bulunan organik asitler, kimyasal yönden yağ asitleri ve amino asitler gibi organik karboksilik asitler olarak kabul edilmektedir. Organik asitlerin genel formülleri. RCOOH şeklindedir. Organik asitlerin tümünün mikroflora üzerinde etkileri yoktur. Kısa zincirli (C1-C7) formik, asetik, propiyonik ve bütirik asitler gibi basit monokarboksilik asitler ile laktik, malik, tartarik ve sitrik asit gibi hidroksil grubunun genellikle α karbonuna baglı olan karboksilik asitlerin spesifik antimikrobiyal etkisi vardır. Organik asitlerin tuzları da mikroflora üzerinde olumlu etkiler sergilemiştir. Antimikrobiyal aktiviteye sahip organik asitlerin yarı dissosiye olduğu pH değeri 3-5 arasında değişir (Dibner ve Buttin, 2002).

Gıdalarda bulunan bazı organik asitler de ortamın ya da hücre içinin pH'sını düşürerek veya hücre membranının geçirgenliğini değiştirip substrat taşınımını bozarak ya da mikroorganizmaların yaşamı için gerekli bazı metallerle şelat oluşturarak antimikrobiyal etki göstermektedirler (Ova, 2001).

Gàlvez ve ark., (2010) yaptıkları çalışma sonucunda laktik asit bakterileri tarafından üretilen organik asitlerin pH değerini düşürmelerinden ve antibakteriyel etkilerinden dolayı biyokoruyucu olarak bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu organik asitler, laktik asit, asetik asit, formik asit, fenillaktik asit, kaproik asit ve propiyonik asittir (Leroy ve Vuyst, 2004; Ouwehand ve Vesterlund, 2004).

Farklı organik asitlerin antimikrobiyal etkileri, ortamdaki konsantrasyona ve pH ya bağlı olarak değişim göstermektedir. Aynı zamanda her bir asitin kendine özgü bir antimikrobiyal aktivite spektrumu vardır. Örnegin; laktik asit, bakteriler üzerinde daha etkili iken. sorbik asit küflenmeyi önleyici etkiye sahiptir. Formik, propiyonik gibi bazı asitler ise daha genis bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler ve bakteri ve mayalar da dahil olmak üzere funguslar üzerinde de etkili olabilirler (Dibner ve Buttin, 2002). Organik asitlerin sınıflandırılması ve bazı özellikleri Çizelge 2.3.' de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Organik asitlerin sınıflandırılması ve bazı özellikleri (Dibner ve Buttin, 2002).

Asit	Kimyasal Adı	Formülü	Molekül Ağırlığı	pKa
Formik	Formik Asit	HCOOH	46,03	3,75
Asetik	Asetik Asit	CH_3COOH	60,05	4,76
Propiyonik	2-Propanoik Asit	CH_3CH_2COOH	74,08	4,88
Bütirik	Bütanoik Asit	$CH_3CH_2CH_2COOH$	88,12	4,82
Laktik	2-Hidroksipropanoik Asit	$CH_3CH(OH)COOH$	90,08	3,83
Sorbik	2-4-Heksandienoik Asit	CH_3CH:$CHCH$:$CHCOOH$	112,1[illegible]	4,76
Fumarik	2-Bütenedioik Asit	$COOHCH$:$CHCOOH$	116,07	3,02
HMB	2-Hidroksi-4-Metiltio Bütanoik Asit	$CH_3SCH_2CH_2CH(OH)COOH$	149,00	3,86
Malik	Hidroksibütanedioik Asit	$COOHCH_2CH(OH)COOH$	134,09	3,40
Tartarik	2-3-Hidroksi-Bütanedioik Asit	$COOHCH(OH)CH(OH)COOH$	150,09	2,93
Sitrik	2-Hidroksi-1,2,3- Propanetrikarboksilik Asit	$COOHCH_2C(OH)(COOH)CH_2COOH$	192,14	3,13

Ray (2001), yaptığı çalışmada LAB üyelerinin karakteristik fermentasyon ürünü olan laktik asit ve asetik asidin pH düşüşünü sağlayarak bozulma etkeni veya patojen (*Salmonella* ve *Listeria* spp.) bakterilerin gelişimini sınırladığı veya inaktive ettiği ifade edilmiştir. Aynı zamanda iki organik asitin de direkt antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Zayıf asitler olan laktik ve asetik asidin çözünmemiş formları hidrofobik özellikleri nedeniyle bakteri içerisine nüfus ederek hücre içinde çözündüğü ve bunun sonucunda stoplazmada gerçekleşen pH düşüşü nedeniyle, hücre ölümü meydana geldiğini bildirmiştir. Asetik asit çözünürlük sabilitesi daha yüksek olması nedeniyle (pKa 4.75) belirli bir pH ve konsantrasyonda laktik asitten (pKa 3.1) daha güçlü antimikrobiyal etki göstermektedir (Holzapfel ve ark.. 1995).

Ouwehand ve Vesterlund (2004), yaptıkları araştırmada laktik asit bakterilerinin ürettiği bazı metabolitler bazı mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkiler göstermektedir. Antimikrobiyal etkinin ana kaynağı olan metabolitler

başta laktik asit olmak üzere organik asitlerdir. Laktik asit bakterilerinin temel metaboliti laktik asit olmasına rağmen asetik asitin inhibe edici etkisinin daha fazla olduğu belirtilmektedir. Asetik asit ve propiyonik asitin laktik asitten daha güçlü etki sahibi olması pKa değerleriyle (belirtilen sırayla 4.87, 4.75 ve 3.08) açıklanabilir; örneğin pH 4 değerinde laktik asidin sadece % 11'i çözünmemiş asetik asidin % 85 ve propiyonik asidin % 92'si çözünmemiş olarak bulunmaktadır. Laktik asit ve asetik asitin birlikte kullanımı *Salmonella typhimurium* üzerine olan etkisine bakıldığında bu asit gelişiminde ki inhibisyon etkisinin her iki asidin bireysel etkisinden daha fazla olduğu görülmüş ve asitlerin sinerjistik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Ortamdaki pH düşüşünün de aynı zamanda diğer antimikrobiyal metabolitlerin etkisini arttırdığı görülmüştür. Organik asitlerin hedef mikroorganizmaya karşı etki mekanizması, çözünmemiş formda bulunan organik asitlerin hücre zarındaki yağı çözerek hücre içine nüfuz etmesi ve hücre içinin normalde nötr olan pH'ını düşürerek hücrenin inaktivasyonuna yol açması olarak açıklanmıştır.

Bazı organik asitlerin antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Özellikle zayıf lipolifik asitler olan laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit; gram negatif mikroorganizmaların hücre zarından geçerek hücre içi pH'yı ve mikroorganizmaların aminoasit metabolizmasını degistirmektedir. Mikroorganizma, düşen hücre içi pH dengesini korumak için enerjisinin büyük bir kısmını harcar ve bu nedenle büyüme ve gelişmesi yavaşlar (Yıldırım, 2002).

Sindirim sisteminin doğal mikroflorasını oluşturan mikroorganizmalar laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit gibi organik asitler üretirler. Bu organik asitlerin yem katkı maddesi olarak kullanımı ile sindirim kanalındaki mikroflora dengesi yararlı mikroorganizmalar lehine çevrilir ve patojenik mikroorganizmaların üremeleri engellenir (Çakmakçı ve Karahan, 1999; Şanlı ve Kaya, 1991). Laktik asit, fumarik asit, propiyonik asit, sitrik asit, formik asit, asetik asit gibi organik asitler hayvan beslemede geniş kullanım olanaklarına sahiptir (Alp ve ark, 1999; Çakmakçı ve Karahan, 1999). Yem katkı maddesi olarak kullanılan

organik asitler sindirim kanalında pH'yı düşürerek asidik ortam yaratırlar. Oluşan asit ortamı patojen mikroorganizmaların gelişimini önler (Canibe ve ark., 2001; Çakmakçı ve Karahan, 1999; Şanlı ve Kaya, 1991). enzim aktivitesini yükseltir (Kahraman ve ark.,1999). Ayrıca asidik ortama ve enzim aktivitesinin yükselmesine bağlı olarak demir, kalsiyum, fosfor, magnezyum, çinko gibi minerallerin, protein ve amino asitlerin sindirilebilirliği ve yararlılığı artmaktadır (Canibe ve ark., 2001; Porres ve ark., 2001; Omogbenigun ve ark., 2003).

Et marinasyonlarında organik asitler yaygın şekilde kullanılmakta hücre içi pH değerini düşürerek daha güvenilir ve kaliteli et ürünleri eldesine katkı sağlamaktadır. Bunların kullanımına bağlı olarak su tutma kapasitesinde artış şekillenmekte. et proteinlerinin çözülebilirliği gelişerek duyusal özellikler iyileşmektedir (Aktaş ve ark.,2003). Et kalitesine yönelik katkıları yanı sıra, önemli patojenlere karşılık antimikrobiyel etki göstermesi de bu yaygın kullanıma destek vermektedir (Burke ve Monahan, 2003; Alvarado ve McKee, 2007; Cadun ve ark., 2008). Organik asitler meyvelerde birçok fizyolojik olayda (tat oluşumu, olgunlaşma vb.) etkili olduğu gibi insan sağlığı acısından da büyük öneme sahiptir (Cemeroğlu ve Acar, 1986; Savran, 1999).

Asetik asit en çok etin olgunlaştırılmasında, sebze konserveleri, sos, mayonez, turşu ve ketçaplarda kullanılır. Laktik asit ise en fazla turşular, salamuralar, sebze ve zeytin ürünlerinde kullanılır. Sitrik asit doğal olarak en fazla limonda bulunmakta ve en çok alkolsüz içeceklerde kullanılır. Sebze konserveleri, mayonez, soslar, meyveli ürünler, reçel ve marmelatlarda da kullanılır. Malik asit doğal olarak elma, kayısı, muz, kiraz, üzüm, portakal kabuğu, şeftali, armut, erik, havuç bezelye, patates gibi meyve ve sebzelerde bulunur. Tartarik asit ise meyve kökenli bir asit olduğundan çoğunlukla meyve içeren işlenmiş gıda ürünlerinde kullanılmaktadır (Çakmakçı ve Çelik,1995)

Sitrik asit, laktik asit ve asetik asit gibi organik asitler doğal ortamlarda sentezlendiklerinden dolayı tüketiciler için sağlık riski taşımamaları nedeniyle

önerilmekte ve gıda korumada yüksek etkiye sahiptirler (Serdaroglu ve ark., 2006; Aktaş ve Kaya, 2003).

Leroy ve Vuyst (2004) , laktik asit bakterilerinin ürettiği organik asitlerin gıdaya asidik bir aroma vermenin yanında proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin de aroma bileşiklerinin oluşumuna katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Sorrells ve ark., (1989) yaptıkları çalışmada asetik, propiyonik ve laktik asitden gıda kaynaklı bakteriyel patojenlere karsı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmektedir. pH 4.4 ile 5.2 arasında asitlerin *L. monocytogenes'*in gelisimini inhibe edici etkisi asetik > laktik > HCI olarak belirtilmiştir.

Nunheimer ve Fabion (1940) *L. monocytogenes'*e ve *Staphylococcus aureus*'a karşı asetik asitin antimikrobiyel etkisinin laktik asite oranla daha yüksek olduğu açıklanmıstır. Diğer çalışmalarda ise starter kültürlerden üretilen üç zayıf organik asidin aynı pH derecelerinde Salmonella spp. L. monocytogenes ve pek çok diger mikroorganizmalara karsı antimikrobiyel etki sıralamaları propiyonik > asetik > laktik seklinde olduğunu bildirmiştir.

Yemencioğlu ve Özkan (2004), koruyucu madde olarak kullanılan asetik asit (sirke asidi) ve laktik asidin (süt asidi) etkisinin genel olarak ortamın pH derecesini düşürmesinden kaynaklandığını bildirmiştir. Ancak asetik asitin hücre duvarını aşarak hücreye girebildiği ve plazmayı denatüre ederek etki ettiği saptanmıştır. Asetik asit sahip olduğu antimikrobiyal etkiyi dissosiye olmamış molekülleri ile gerçekleştiğinden dolayı ortamın pH değeri düştükçe asetik asidin etki derecesi de artmaktadır. Asetik asit bakterilere karşı daha fazla antimikrobiyal etkiye sahipken, patojen bakteriler ve özellikle *Salmonella* asetik asidine karşı daha duyarlıdırlar. Buna karşın laktik asidinin antimikrobiyal etkisi çok sınırlı olup etkisi daha çok anaerob bakterilere karşıdır. Bir çok maya ve küf, laktik asidi metabolizmalarında kullanmaktadırlar. Ancak ortam pH derecesini düşürmede laktik asidinin büyük önemi vardır. Turşu üretiminde mikroorganizmalar tarafından doğal yolla laktik asit oluşumu gerçekleştirilerek ürünün dayanıklılığı sağlanmaktadır

Nir ve Senköylü (2000), organik asitlerin (formik, asetik, propiyonik asitler vb.) ortamda yeterli ölçüde dissosiye olmamış asit molekülleri bulunması ve bakterilerle uzun süre bir arada bulunmaları koşuluyla, gram (-) bakteriler üzerinde bakteriostatik ve bakterisidal etki yaptıklarını in vitro çalısmalarıyla ortaya koymuşlardır.

Rubin (1978) yaptığı bir araştırmada, laktik asit ve asetik asit bir arada *Salmonella typhimurium*' un gelişme hızını tek başına asetik asitten daha fazla düşürdüğü gözlenmiştir.

Yang (2000), asetik asidin laktik asit ve sitrik aside göre *L. monocytogenes*e karşı inhibe edici etkisinin daha fazla olduğunu rapor etmiştir. Asetik asit *Bacillus cereus*'un gelişmesini inhibe etmede daha etkili olmuştur. Laktik asit pH'yı düşürürken asetik asidin etkinliğinde artışa sebebiyet vererek; asetik asit laktik asitle sinerjistik etki göstermiştir.

Duman ve Aydın (2008), yapmış oldukları çalışmada laktik asit, sitrik asit, salisilik asit ve sorbik asit ile karşılaştırmalı olarak, 26 çeşit bitkinin su ekstraktının, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes. Y. enterocolitica* ve *S. aureus* suşlarına karşı in vitro etkinlikleri araştırmışlardır. Test edilen tüm asit solüsyonlarının *Y. enterocolitica* ve *S. aureus* suşlarını inaktive ettiği, ancak sorbik asidin *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'i geşimini sayısal olarak düşürdüğünü saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan bakteri türleri

Çalışmada kullanılangıda kaynaklı patojen ve diğer referans türler Ç.Ü Su Ürünleri Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarında mevcut stok kültürler kullanılmıştır. Bu kültürler; *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Aeromonas hydrophila* (NCIMB1135), *Salmonella* Paratyphi A (NCTC13), *Camplylobacter jejuni* (ATCC 33560) ve *Yersinia enterocolitica* (NCTC 11175) dır.

Laktik asit bakteri türleri ise, *Lactococcus lactic* subsp. *lactic* (IL 1403), *Lactobacillus plantarum* (FI8595), *Streptococcus thermophilus* (NCFB2392), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (DSMZ 20346) ve *Pediococcus acidolactici* (ATCC 25741) dir.

3.1.2. Çalışmada kullanılan organik asitler

Çalışmada propiyonik asit (Sigma-P1386- 54^{c}), asetik asit (Sigma-45725-40^{c}), ve formik asit (Sigma-06419- 48^{c}) kullanılmış olup, bu maddeler Sigma-Aldrich'den temin edilmiş ve çalışmada % 0.5 konsantrasyonda kullanılmışlardır.

3.2. Organik Asitlerin Antimikrobiyal Aktivite Analizi

Organik asit uygulamalarının bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkilerini belirlemek amacıyla minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) ve minimum bakterisit (MBK) konsantrasyonu CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008) mikrodilüsyon metoduna göre yapılmıştır. 50 µg/ml'lik hazırlanan stok solüsyon steril tüpler içerisinde 0.19 µg/ml düzeyine kadar seyreltilmiştir. İçerisinde sadece stok solüsyon yada saf kültür bulunan tüp kontrol olarak değerlendirilmiş olup, Mueller Hinton Broth içeren diğer tüpler test

mikroorganizmalarını ve seyreltik stok solüsyonları içermiştir. Kullanılan tüpler tekrarlı hazırlanarak, 30 ºC'de 48 saat inkübe edilmiştir. Test tüplerindeki bakteriyel gelişimler kontrol tüplere göre kıyaslanmış ve bakteriyel gelişimde en düşük inhibisyon gözlenen tüpler MİK olarak kaydedilmiştir.

3.3.Aminoasit Dekarboksilaz Sıvısının Hazırlanması

Bakterilerin biyojen amin üretimini belirlemek amacıyla histidin ve tirosin dekarboksilaz sıvısı kullanılmıştır. Aminoasit dekarboksilaz sıvıları Klausen ve Huss (1987) tarafından kullanılan yönteme göre yapılmıştır.

Bu amaçla, 500 mL saf su içerisine 1 g peptone,0.5 g Lab-Lemco, 2.5 g NaCl, 2.5 mg pyridoxal-HCl ve 4.01 g L-TİRosine veya L-histidin eklenerek, pH ayarlaması yapılmıştır (6.5). Histidin ve tirosin dekarboksilaz sıvılarından 10'ar mL alınarak tüpler içerisine aktarılmış ve 121 ºC'de 15 dk otoklavlama işlemi gerçekleştirilmiştir**.**

3.3.1. Histidin ve Tirosin Dekarboksilaz Sıvısına Bakterilerin Aşılanması

Histidin ve tirosin dekarboksilaz sıvısı (Klausen ve Huss, 1987) tarafından kullanılan yönteme göre hazırlanmıştır. Nutrient broth (Merck – 1.05443.0500)'da ve MRS broth (Merck – 1.10660.0500)'da geliştirilen (37 °C'de 24 saat) gıda kaynaklı patojen ve laktik asit bakterilerineden (10^6 kob/ml) 0.5'er ml (10^6 kob/mL) alınarak histidin ve tirosin dekarboksilaz sıvısına aşılanmıştır. Bakteri aşılanan amnoasit dekarboksilaz sıvıları kontrol grubuna herhangi bir organik asit katkısı eklenmeyip, muamele grupları % 0.5 oranında organik asit (propiyonik, asetik ve formik asit) eklenmiştir**.** Sonrasında tüpler 37 °C'de yaklaşık 3 gün inkübe edilmiştir.

3.3.2. Aminoasit Dekarboksilaz Sıvısında Toplam Bakteriyel Gelişimin Belirlenmesi

Aminoasit dekarboksilaz sıvısında gelişen her bir bakteriyel kültürden 0.1 ml alınarak uygun seyreltmeler hazırlanmış (10^{-10}'a kadar), sonrasında Plate Count Agar üzerine aşılama yapılmıştır. Petri kutuları 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir.

3.3.3. Biyojenik Amin Analizi için Bakteriyel Dekarboksilaz Sıvısının Ekstraksiyonu

Her bir inoküle kültürden 5 ml alınarak üzerine 2 ml % 6 trikloroasetik asit (TCA) eklenmiştir. Bu örnekler 8000 rpm'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen örnekler sonrasında filtrelenmiştir.

3.3.4. Biyojenik Amin Analizi

Bakterilerin türevlendirilme prosedürü Özoğul ve ark., (2004) yöntemine göre yapılmıştır. Ekstrakte edilen bakteri solüsyonundan 4 ml alınarak üzerine 1 mL 2 M sodyum hidroksit ve 40 µl benzoil chloride eklendikten sonra 30 sn vorteksde karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 20 dk. oda sıcaklığında (24^{o}C) bırakılmıştır. Benzolasyon işlemi 2 mL doymuş sodyum hidroksit eki ile durdurularak, solüsyon iki kez 2mL dietil eter ile ektrakte edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra üst organik faz temiz tüp içerisine alınarak azotta uçurulmuştur. Tüp içerinde bulunan kalıntılar 1 mL asetonitrilde çözdürülerek, HPLC tüplerine aktarılmıştır.



Şekil 3.1. Azot uçurma evaparatoru (tab 40 wel/ wt evaparator)

3.3.5. Standart Amin Solüsyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bütün biyojen amin standartları Sigma–Aldrich (Munich. Germany)'den sağlanmıştır. Triptamin hidroklorid (122.8 mg), putresin dihidroklorid (182.9 mg), 2-feniletilamin hidroklorid (130.1 mg), kadaverin dihidroklorid (171.4 mg), spermidin trihidroklorid (175.3 mg), spermin tetrahidroklorid (172.0 mg), histamin dihidroklorid (165.7 mg), tiramin hidroklorid (126.7 mg), 5-hidroksitriptamin (serotonin) (133.9 mg), 3-hidroksitiramin hidroklorid (dopamin) (123.8 mg). agmatin sülfat (175.4 mg). ammonia chloride (296.9 mg) ve trimetilamin hidroklorid (161.7 mg) 10 mL ultra saf suda çözdürülmüştür. Her bir amin için serbest bazın son konsantrasyonu 10 mg/mL olmuştur.

3.3.6. Ekipman ve Kolon

Biyojen amin analizi için bir SPD-M20A diode array dedektör, iki kanallı gradient pompa (Shimadzu LC-10AT), autosampler (SIL 20AC), kolon fırını (CTO-20AC), FCV-11AL dalga birimli communication bus module (CBM-20A) sahip Shimadzu Prominence HPLC cihazı (Shimadzu. Kyoto. Japan) kullanılmıştır

(Şekil 3.3). Biyojen amin analizi için ters-fazlı Spherisorb 5 Si C18 pH-St. 250X4.6 mm kolon (FENomenex. Macclesfield. Cheshire. UK) kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Biyojen amin analizi için kullanılan HPLC cihazı

3.4. İstatistik Analiz

İstatistik analizler SPSS 18.0 (SPSS Inc.. Chicago. IL. USA) kullanılarak yapılmıştır. $P<0.05$ olarak tanımlanan önemli farklılıkları belirlemek için ANOVA kullanılmıştır. Her muamele grupları için üç tekrarlı olarak istatistik karşılaştırma yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Organik Asitlerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Çizelge 4.1 Propiyonik, asetik ve formik asidin referans bakteriler üzerindeki MIK ve MBK değerlerini göstermektedir. Gıdalarda kullanılan organik asitlerin yapıları ve bakteriler üzerindeki etkileri oldukça farklıdır (Nakai ve Siebert, 2003). Karkaslar üzerinde yapılan çalışmalarda organik asitlerin, karkas dekontaminasyonu üzerinde yeterli etki göstermemesine rağmen, patojenlerinin sayısını azalttığına dair sonuçlar bildirilmiştir (Theron ve ark., 2007).

Çizelge 4.1. Organik asitlerin referans bakteriler üzerindeki MIK ve MBK değerleri (mg/mL)

	Propiyonik asit (%0.5)		Asetik asit (%0.5)		Formik asit (%0.5)	
Bakteriler	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
E. coli	6.52	>50	6.52	>50	0.78	12.5
E. Faecalis	6.52	>50	6.52	>50	0.78	>50
P. aeruginosa	3.12	>50	6.52	>50	6.52	>50
A. hydrophila	3.12	>50	6.52	>50	6.52	>50
C. jejuni	6.25	>50	6.52	>50	6.52	>50
S. Paratyphi A	6.52	>50	6.52	>50	0.78	>50
Y. enterocolitica	6.25	>50	6.52	>50	6.52	25
S. aureus	0.78	50	6.52	50	0.78	>50
K. pneumoniae	6.52	>50	6.52	>50	6.52	50

Çalışmamızda uygulanan organik asit muameleleri arasında propiyonik ve formik asitin asetik asite kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. Çalışmamızda propiyonik asit uygulamasına karşı en duyarlı tür 0.78 mg/mL MIK değeri ile *S. aureus* olmuştur. *P. aeruginosa* ve *A.hydrophila* bakterilerinin MIK değeri 3.12 mg/mL, *E. coli. E. faecalis. C. jejuni. S.*

Paratyphi A, *Y. enterocolitica* ve *K. pneumoniae* 6.52 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Propiyonik asidin bakteriler üzerindeki MBK değerleri 50 mg/mL veya üzeri bir değer olarak kaydedilmiştir.

Asetik asit bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etkiye sahiptir. Genel olarak patojen bakteriler ve özellikle *Salmonella*'lar asetik asite karşı çok duyarlıdırlar (Yemenicioğlu ve ark., 2004). *L. monocytogenes*'e ve *S. aureus*'a karşı asetik asitin antimikrobiyal etkisinin laktik asite oranla daha yüksek olduğu açıklanmıştır (Nunheimer ve Fabion, 1940). Bu çalışmada asetik asitin antimikrobiyal etkisi kullanılan referans bakterilerinin hepsinde aynı etkiyi göstermiş olup 6.52 mg/mL MIK değeri olarak belirlenmiştir. Asetik asitin bakteri üzeindeki MBK değerleri ise >50 mg/mL olarak saptanmıştır. Doores (2005), yaptığı bir çalışmada mikroorganizmaların asetik aside farklı oranlarda duyarlılık gösterdiğini belirtmişir. *Saccharomycess cerevisiae* (pH 3.9) ve *Aspergillus niger*'i (pH 4.1) inhibe etmek için gerekli olan asit konsantrasyonu, *Bacillus cereus* (pH 4.9) ve *S. aureus*'u (pH 5.0) inhibe etmek için gereken konsantrasyondan daha fazla olduğunu gözlemlemiştir. Doores, (2005) *S. aureus* üzerinde yaptığı bir araştırmada ise kullanılan organik asitler arasında bakterinin en çok asetik aside duyarlı olduğunu belirtmiştir. Adam ve Hall (1988) yaptıkları araştırmada asetik asidin *Salmonella enteritidis* ve *Escherichia coli* üzerinde zayıf bir inhibitör etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada formik asit katkısına en fazla hassasiyet gösteren türler *E. coli, E. faecalis, S.* Paratyphi A, *S. aureus* olup, formik asidin MIK değeri 0.78 mg/mL olmuştur. *P. aeruginosa, A. hydrophila, C. jejuni, K. pneumoniae* bakterisinin MIK değerleri ise 6.52 mg/mL olarak belirlenmiştir. Virto ve ark (2004), sitrik asit kullanarak, farklı sıcaklıklarda (4, 20 ve 40 °C) ve farklı konsantrasyonlarda (% 1-20 v/v), *Y. enterocolitica* üzerindeki inhibe edici etkisini araştırmışlar ve 4 ve 20°C'lerde bir inaktivasyon görülmesine rağmen 40°C'de her hangi bir inaktivasyon görülmediğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise zayıf organik asitler (sitrik, laktik ve malik asit) ile ultrason uygulamasının kombine

etkisinin *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* ve *L.monocytogenes* üzerindeki etkisi incelenmiş; kullanılan sitrik asit konsantrasyonu arttıkça (% 0.3- 2.0) inhibe olan mikroorganizma sayısında bir artış gözlendiği, en etkili sonucun ise % 2.0 lik sitrik asit konsantrasyonunda görüldüğü belirtilmiştir (Hun-Gu ve ark., 2011). Çalışmamızda formik asit katkısı bakteri türüne göre farklı MBK değerleri sergilemiştir. Formik asidin *E.coli ‘* e karşı MBK değeri 12.5 mg/mL olurken, *Y. enterocolitica* bakterisine karşı *25* mg/mL, *K. pneumoniae*'na karşı ise MBK değeri 50 mg/mLolarak tespit edilmiştir. Formik asidin diğer test edilen bakterilere karşı MBK değeri ise >50 mg/mL olarak gözlenmiştir. Çalışmamızda test edilen organik asitler bakterilerin MBK değerlerine etki düzeyi sırasıyla formik asit, propiyonik asit ve asetik asit olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2 propiyonik, asetik ve formik asitin laktik asit bakterileri üzerindeki MIK ve MBK değerlerini gösterilmektedir. Propiyonik asit katkısına en duyarlı tür 3.12 mg/mL MIK değeri ile *L. lactis* bakterisi olmustur.*Lb. plantarum* ve *Pd. acidolactici* bakterilerine karşı 25 mg/mL MIK değeri göstermiş olup, bu asit katkısının diğer test edilen bakterilere karşı MIK değeri 50 mg/mL olarak belirlenmiştir. Propiyonik asidin bakteriler üzerindeki MBK değerleri 50mg/mL olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Organik asitlerin laktik asit bakteriler üzerindeki MIK ve MBK değerleri (mg/mL)

	Propiyonik asit (%0.5)		Asetik asit (%0.5)		Formik asit (%0.5)	
Bakteriler	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
St. thermophilus	50	50	6.52	50	12.5	25
Lb. plantarum	25	50	6.52	25	6.25	12.5
Leu. mesenteroides	50	50	6.52	50	12.5	25
Pd. acidolactici	25	50	6.52	50	6.25	25
L. lactis	3.12	50	6.52	50	6.52	25

Uygulanan organik asitlerden asetik asit katkısına karşı bakteriler aynı etkiyi göstermiş olup MIK değerleri 6.52 mg/mL olarak kaydedilmiştir. Asetik asidin laktik asit bakterilerine karşı MBK değeri ise 50 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Ancak asetik asidin *Lb. plantarum*' a karşı MBK değeri 25 mg/mL olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda formik asit uygulamasına karşı en hassas türler 12.5 mg/ml MIK değeri ile *St. thermophilus* ve *Leu. mesenteroides* olmuştur. *Lb. plantarum* ve *P acidolactici* bakterilerin MIK değeri 6.25 mg/mL olup, *L. lactis* formik asite karşı en dirençli tür olmuştur (6.52 mg/mL). Formik asit uygulamasına karşı bakterilerin MBK değerleri *Lb. plantarum* bakterisi için 12.5 mg/mL olurken diğer laktik asit bakterileri için 25 mg/mLolarak gözlenmiştir

4.2. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişim

Çizelge 4.3. histidin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişimi göstermektedir. Çalışmada kontrol grubunun genellikle organik asit içeren gruplardan daha yüksek düzeyde bakteri yükü içermiş olduğu tespit edilmiştir. Test edilen organik asit grupları arasında genellikle en düşük bakteriyel yük propiyonik asit (6.65 log kob/mL) bunu takiben formik asitte (6.72 log kob/mL) gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişimi (log kob/mL)

Bakteriler	Kontrol	Propiyonik Asit (%0.5)	Asetik Asit (%0.5)	Formik Asit (%0.5)
E. coli	8.60±0.07	8.52±0.09	8.39±0.05	8.16±0.08
E. feacalis	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	8.67±0.73
P. aeruginosa	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
A. hydrophila	8.58±0.00	8.27±0.21	8.40±0.04	8.22±0.34
C. jejuni	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
S. Paratyphi A	8.88±0.00	8.82±0.09	8.88±0.00	8.73±0.00
Y. enterocolitica	9.06±0.00	6.65±0.10	8.71±0.64	6.72±0.23
S. aureus	9.18±0.00	7.99±0.06	8.82±0.09	8.21±0.21
K. pneumoniae	8.45±0.00	8.34±0.12	8.45±0.00	8.45±0.00

Kontrol gruplarında en yüksek bakteriyel gelişim ***E. feacalis, P. aeruginosa*** ve ***S. aureus, C. jejuni***' de (9.18 log kob/ml) gözlenirken en düşük gelişim ise ***A. hydrophila'*** da (8.40 log kob/g) gözlenmiştir. Tzatzarakis ve ark. (2000) tarafından yapılan bir araştırmada 2435 ppm konsantrasyonunda propiyonik asidin *Fusarium oxysporum* gelişmesini sınırlandırdığı ancak sorbik asit ve sorbattan daha az etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada organik asitler arasında en yüksek inhibisyon etki 2.41 log kob/mL azalış ile propiyonik asitte (% 0.5) ***Y. enterocolitica*** bakterisine karşı gözlenmiştir. Yine aynı bakteriye karşı formik asit (% 0.5) katkısının da 2.34 log kob/ml oranında bakteri yükünü azalttığı kaydedilmiştir. Comes ve Beelman (2002), içerisinde herhangi koruyucu bulunmayan ***E. coli*** O157:H7 inoküle edilen elma suyuna % 0.15 fumarik asit ile % 0.05 sodyum benzoat ilave ettikleri çalışmada ***E. coli*** O157:H7 gelişmesi üzerinde 5 log bir azalma sağladığını gözlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada asit katkılarının ***E.coli'*** nin bakteriyel gelişimini azalttığı, özellikle asetik asitin (% 0.5) bakterinin gelişimini 0.44 log kob/g oranında düşürdüğü belirlenmiştir. Greer ve Dilts (1992) yaptıkları bir çalışmada, sığır kas dokusu eti üzerinde % 3'lük laktik ve asetik asit

katkılarının mikroorganizma sayılarında 1 logaritmik bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalşmamızda *A. hydrophila* bakteriyel gelişimi propiyonik ve formik asit (% 0.5) katkısı ile sırasıyla 0. 31- 0.36 log kob/ml oranında azalış göstermiştir.

Çizelge 4.4. histidin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişimi göstermektedir. Çalışmada kontrol grubu ile organik asit içeren gruplar arasında bakteriyel yük açısından önemli değişimler gözlenmemiştir. Organik asit uygulamaları içerisinde en düşük bakteriyel yük *St. thermophilus* bakterisinde 9.03 log kob/ml olarak formik asitte belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerinin bakteriyel gelişimi (log kob/mL)

Bakteriler	Kontrol	Propiyonik Asit (%0.5)	Asetik Asit (%0.5)	Formik Asit (%0.5)
St. thermophilus	9.18±0.00	9.06±0.00	9.06±0.00	9.03±0.00
Lb. plantarum	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
Leu. mesenteroides	9.18±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00	9.16±0.00
Pd. acidolactici	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
L. lactis	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00

4.3. Tirozin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişim

Tirosin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim Çizelge 4.5'de verilmiştir. Kontrol grubunda bakteriyel gelişim 9.02 log kob/ml (*K. pneumoniae*) ile 9.18 log kob/g (*E. feacalis, P. aeruginosa, A. hydrophil, C. jejuni, S.* Paratyphi A ve *Y. enterocolitica*) arasında değişkenlik göstermiştir.

Çizelge 4.5. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakterilerin bakteriyel gelişimi (log kob/mL)

Bakteriler	Kontrol	Propiyonik Asit (% 0.5)	Asetik Asit (% 0.5)	Formik Asit (% 0.5)
E. coli	9.12±0.09	8.28±0.00	8.41±0.07	8.18±0.21
E. feacalis	9.18±0.00	9.16±0.00	8.79±0.56	8.48±0.28
P. aeruginosa	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
A. hydrophila	9.18±0.00	7.57±0.12	8.22±0.34	8.56±0.00
C. jejuni	9.18±0.00	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
S. Paratyphi A	9.18±0.00	9.15±0.04	9.16±0.00	9.06±0.00
Y. enterocolitica	9.18±0.00	9.16±0.00	7.42±0.07	6.37±0.30
S. aureus	8.31±0.07	7.09±0.80	8.19±0.15	8.22±0.34
K. pneumoniae	9.02±0.06	8.76±0.00	8.79±0.09	8.45±0.00

Organik asitler histidin dekarboksilaz sıvısına kıyasla tirosin dekarboksilaz sıvısında daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olmuştur. Çalışmada, organik asitlerin etkisi bakteri türüne göre değişkenlik göstermesine karşın formik asit ve onu takiben propiyonik asit bakteriyel gelişimde yüksek inhibisyon aktivite sergilemiştir. Çalışmamızda formik asit katkısı *Y. enterocolitica* üzerinde önemli inhibasyon etki göstermiş olup bakteriyel gelişimde 2.81 log kob/ml azalış sergilemiştir. Young ve Foegeding (1993) sitrik, laktik, asetik asitlerin asit konsantrasyonlarına dayalı olarak patojen gelişimini etkilediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda propiyonik asit *A. hydrophila* gelişimi üzerinde 1.61 log kob/g, asetik asit ise *Y. enterocolitica ve S. aureus* gelişimi üzerine sırasıyla 1.76 ve 0.12 log kob/g azalış sağlamıştır. Asetik ve propiyonik asit en güçlü inhibitör olup maya, küf ve bakterilerin üremesinin engellemesi için kullanılır (Suomalainen ve Mayra-Makinen, 1999). Gonzalez-Fandos ve Dominguez (2006) yaptıkları bir çalışmada çiğ tavuk etine 5 dk 0.55 mol/l laktik asit uygulamasının mezofil bakteri sayısında 0.68-3.13 log'luk azalma sağladığı ortaya konmuştur. 0.55 mol/l laktik asit uygulanan çiğ tavuk etleri 7 gün boyunca 4 ^{0}C'de depolanmış ve depolama

sonunda *L. monocytogenes* sayısında 1.74 log azalma kaydedilmiştir 0.22 mol/l laktik asit sığır etine uygulandığında *L. monocytogenes* sayısında 0. günde 1.56 log azalmaolduğu ortaya gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişimi göstermektedir. Çalışmada Kontrol grubunda en düşük bakteriyel gelişim 8.99 log kob/mL ile *Pd. acidolactici*' de tespit edilmiştir

Çizelge 4.6. Tirozin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerinin bakteriyel gelişimi (log kob/mL)

Bakteriler	Kontrol	Propiyonik Asit (% 0.5)	Asetik Asit (% 0.5)	Formik Asit (% 0.5)
St. thermophilus	9.18±0.00	9.16±0.00	8.45±0.00	8.13±1.49
Lb. plantarum	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00
Leu. mesenteroides	9.06±0.00	9.06±0.00	8.32±1.22	8.02±1.19
Pd. acidolactici	8.99±0.23	8.97±0.30	8.58±0.00	5.38±0.00
L. lactis	9.16±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00	9.18±0.00

Test edilen organik asit grupları arasında genellikle en düşük bakteriyel yük formik ve asetik asitte gözlenmiştir (sırasıyla 5.38 ve 8.32 log kob/mL). Çalışmamızda formik asit katkısı *Pd. acidolactici* üzerinde önemli inhibasyon etki göstermiş olup bakteriyel gelişimde 3.61 log kob/mL azalış sergilemiştir.

4.4. Histidin Dekarboksil Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi

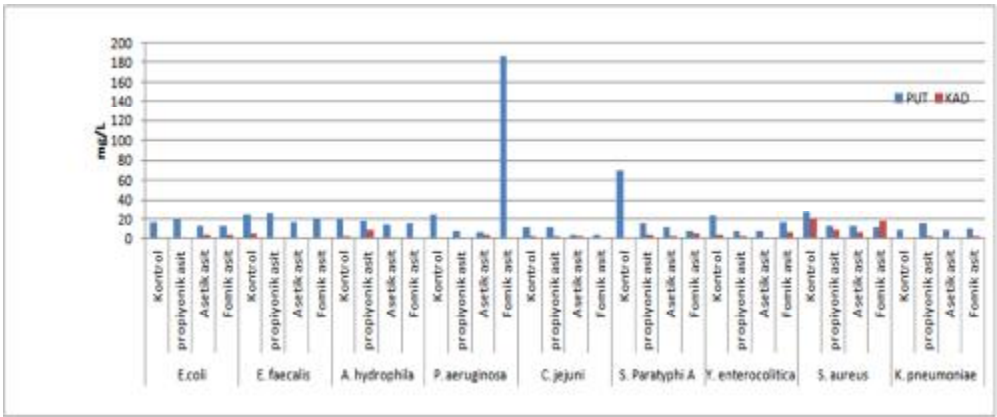
Histidin dekarboksil sıvısında referans bakterilerin amonyak ve biyojenik amin üretimi Çizelge 4.7' de verilmiştir. Çalışmada kullanılan standart biyojenik amin kromotogramı Ek 1'de verilmiştir.

Araştırmada *C. jejuni* tarafından üretilen biyojenik aminlere özgü kromotogramlar Ek 2-5'de verilmiştir.

Bu çalışmada *Y. enterocolitica* tarafından üretilen amonyak (AMN) miktarı 440.12 mg/L olup, bu üretim oranı ile *Y. enterocolitica*'nın referans bakteriler arasında en yüksek AMN üreten bakteri olduğu gözlenmiştir. Uygulanan organik asitlerden formik asit AMN üretimini arttırırken propiyonik ve asetik asitin bakteriler tarafından AMN üretimini düşürdüğü tespit edilmiştir. Organik asit uygulaması *C. jejuni* ve *S. aureus* tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0.05$). *S. aureus* tarafından amonyak üretimi 2712.86 mg/L olarak bildirilmiştir (Küley ve ark., 2016). Özoğul ve ark., (2015) *Salmonella* Paratyphi A bakterisinin kontrol grubu amonyak üretim seviyesini 418.52 mg/L olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda *S.* Paratyphi A' nın AMN üretimi 93.81mg/L olarak gözlenmiştir. Asetik asit katkısı bu bakteri tarafından üretilen AMN miktarını etkilemezken, propiyonik ve formik asit katkılarının istatiksel olarak aynı oranda AMN üretimini düşürdüğü belirlenmiştir (78.89 mg/L). Yine bir referans bakterisi olan *E.coli* de ise üretilen AMN miktarını propiyonik asit ve asetik asit uygulaması etkilemez iken formik asit uygulamasının AMN miktarını önemli düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir. Gökdoğan ve ark. (2011), *E. coli'* nin AMN üretim miktarını 236.23 mg/L olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada, *P. aeruginosa'* nin AMN üretimi 171.77 mg/L olarak belirlenmiştir. Formik asit uygulamasıyla bu miktar 132.65 mg/L ' ye düşmüştür. Küley ve ark. (2016) yaptıklarıbir çalışmada *K. pneumoniae* ve *A. hydrophila* bakterilerinin AMN üretiminin sırasıyla 2527.21- 4122.25 mg/L olarak gerçekleştirildiğini bulmuşlardır. Bu çalışmada *A. hydrophila* ' nın AMN üretimi 448.57 mg/L olarak gözlemlenmiştir. Formik asit bu bakterinin AMN üretimini azaltır iken (266.42 mg/L) propiyonik asit bu üretimi teşvik etmiştir(521.95 mg/L). *K. pneumoniae* tarafından AMN üretimi 419.58 mg/L olarak bulunmuştur. Besiyerinde propiyonik asit varlığı bu üretimi 176.96 mg/L düşürürken, asetik asit varlığı bu üretimi 530.86 mg/L' e yükseltmiştir.

Referans bakteriler tarafından üretilen biyojen aminlerden Putresin (PUT) *S.* Paratyphi A, kadaverin (KAD) *S. aureus*, histamin (HİS) *P. aeruginosa*, tirosini

(TİR) ve dopamin (DOP) *Y. Enterocolitica*veagmatin (AGM) ise *K. pneumoniae* tarafından en yüksek seviyede üretilen biyojen amin olmuştur. Küley (2016), *S. Paratyphi A* ve *Y. enterocolitica* bakterileri tarafından pütresin üretimini sırasıyla 1.75 ve 267.54 mg/L olarak bulmuştur. Geopfert ve Hicks (1969) yaptıkları bir çalışmada formik, asetik, propionik, bütirik ve HCl asidin *Salmonella typhimurium'*a karşı etkili olduğunu kaydetmişlerdir. Bu çalışmada *S.* Paratyphi A tarafından PUT üretimi 70.30 mg/L olmuştur. Bu araştırmada organik asit uygulamalarının *S.* Paratyphi A tarafından PUT üretimini önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir. Formik asit uygulamasının *S.* Paratyphi A bakterisinin PUT üretimini 7.74 mg/L'e kadar düşürdüğü gözlemlenmiştir. *A. hydrophila* tarafından PUT üretimi 23.89 mg/L'den propiyonik asit ve asetik asit uygulamaları ile sırasıyla 7.40 mg/L. 6.52 mg/L'e düşmüştür. Formik asit ise bu bakterinin PUT üretimini teşvik etmiş ve PUT üretimini 186.80mg/L'e yükselttiği kaydedilmiştir. *Y. enterocolitica* tarafından PUT üretim oranı 23.38 mg/L iken, organik asit uygulamalarıyla PUT üretimi 7.31 mg/L' ye kadar düştüğü gözlenmiştir. *S. aureus* bakterisi tarafından üretilen PUT miktarı 26.87 mg/L olup, organik asit muamelelerinin bu miktarı önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Küley (2016), *C. jejuni* bakterisinin PUT üretimini 43.28 mg/L olarak gözlemlemiştir. Yapılan bu çalışma *C. jejuni* tarfından PUT üretimi (11.03 mg/L) daha düşük olmuştur. Uygulanan organik asitlerden propiyonik asitinbu bakteri tarafından üretilen PUTüretim miktarını değiştirmediği gözlenirken, asetik ve formik asitin PUT üretimini düşürdüğü belirlenmiştir. Landete ve ark. (2008) *P. aeruginosa'*nın *E. faecalis'*den daha yüksek PUT ürettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda *E. faecalis* ve *P aeruginosa* bakterilerinin PUT üretimi sırasıyla 24.86 mg/L ve 19.48 mg/L olarak gözlenmiştir. Propiyonik asitin her iki bakterinin de PUT üretimine etki etmediği gözlenir iken asetik ve formik asitin bakterilerin PUT üretimini düşürdüğü kaydedilmiştir. Gıda kaynaklı patojen bakteriler histidin dekarboksilaz sıvısında 9.8 ve 19.2 mg/L arasında PUT üretmiştir (Özogul, 2011).



Şekil 4.1. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi

De las Rivas ve ark. (2006), *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *L. monocytogenes*'in kadaverin üretiminden sorumlu lizin dekarboksilaz aktiviteye sahip olduğunu belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada *S. aureus* tarafından kadeverin (KAD) miktarı 21.08 mg/L ile referans bakteriler arasında en yüksek seviyede KAD üreten bakteri olduğu bulunmuştur. Uygulanan organik asit muameleleri bakterinin KAD üretimini önemli düzeyde düşürmüştür. Bakteriyel KAD üretimini en fazla düşüren asetik asit varlığında gözlenmiştir (5.75 mg/L). Nunheimer ve Fabian (1940) yaptıkları bir çalışmada, asetik, laktik, sitrik, malik, tartarik ve HCl asidin *S. aureus*'u inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda *E. faecalis* bakterisinin KAD üretimi 5.13 mg/L olarak kaydedilmiş olup, organik asit uygulamalarının bu miktarı 0.82 mg/L' ye (asetik asit) düşürdüğü gözlenmiştir. Gökdogan ve ark (2016), histidin dekorboksilaz sıvısında *E. faecalis, L. monocytogenes* ve *S.aureus* bakterilerinin sırasıyla 3.05, 2.04 ve 1.67 mg/L KAD ürettiklerini tespit etmişlerdir. Ozkaya (2001), yapmış olduğu çalışmasında *E. coli* EC03' nin beyin-kalp infüzyon sıvısında 454.8 mg/L değer ile önemli bir KAD üreticisi olduğunu belirtmiştir. Yapılan bu çalışma da *E. coli*'nin KAD üretimi 1.44 mg/L olup, propiyonik asit uygulaması üretime etki etmezken, asetik ve formik asit uygulamalarının üretimi teşvik ettiği bulunmuştur. *P. aeruginosa* bakterisinin

KAD üretimini propiyonik asit uygulaması üretimi teşvik ederek 8.79 mg/L' ye yükseltirken asetik asit ve formik asit uygulamaları KAD üretimni sırasıyla 1.54 mg/L ve 0.45 mg/L' ye düşürdüğü gözlenmiştir. Histidin dekarboksilaz sıvısında *Klebsiella* üyelerinin 16 ve 32 mg/L düzeyinde kadaverin ürettiği bulunmuştur (Özogul ve Özogul, 2007; Özogul, 2011). Küley (2016), *K. pneumoniae'*nin 13.80 mg/L KAD ürettiğini belirtmiştir. Yapılan bu çlışmada *K. pneumoniae* tarafından üretilen KAD miktarı 1.26 mg/L olmuştur. Asetik asit uygulamasının bu oranı etkilemediği gözlenirken propiyonik ve formik asitin bakterinin KAD üretimini arttırdığı belirlenmiştir. *Y. enterocolitica* tarafından üretilen KAD miktarı 3.70mg/Lolup, uygulanan propiyonik ve asetik asit bu miktarı sırasıyla 2.45ve 1.72 mg/L' ye düşürmüştür. Formik asit ise bakterinin KAD üretimini teşvik ederek üretimi 6.60 mg/L' ye yükselttiği gözlenmiştir.

Spermidin (SPD) ve spermin (SPN) bütün organizmalarda dekarboksile S-adenosilmetiyoninden 1 veya 2 amino grubun ayrılması ile putresinden oluşur (Smith, 1981). *E. coli* bakterisi tarafından üretilen SPD miktarı 12.56 mg/L olup. propiyonik asitin bu miktarı düşürürken (7.75 mg/L), asetik ve formik asitin bu miktarı yükselttiği belirlenmiştir. De las Rivas ve ark. (2006) *E. coli* ve *Salmonella typhimurium*'u içeren gram negatif ve ayrıca gram pozitif bakterilerin bakteriyel ornitin dekarboksilaz enzimine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. *S.* paratyphi A bakterisinin SPD üretimi 1.24 mg/L olup, organik asit muamelelerinin bu miktarı yükselttiği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmadakontrol grubunda *P. aeruginosa* ve *Y. enterocolitica'* nın SPD üretmediği belirtilmiştir (Küley, 2016). Çalışmamızda *Y. enterocolitica* bakterisi tarafından SPD üretimi 6.64mg/L olarak tespit edilmiştir. Propiyonik ve asetik asit bu bakteri tarafından SPD üretimini düşürüken, formik asitin üretimi yükselttiği saptanmıştır. *P aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerinin SPD üretimini propiyonik asit muamelesi yükseltirken, asetik ve formik asit muameleleri bakterilerin üretimlerini düşürdüğü kayıtlara geçmiştir. Küley (2016), *S. aureus* ve *C. jejuni* bakterilerinin SPD miktarını yüksek düzeyde

ürettiklerini belirtmiştir (sırasıyla 131.79 ve 123.78 mg/L). *S. aureus* balık infüzyon sıvısında 658.11 mg/L SPD üretilmiştir (Yavuzer, 2016).

Bensid ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin SPN üretmi gerçekleştirmediklerini belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin SPN üretmediği gözlenmiştir. Formik asit *S. aureus'* un, asetik asit ise *K. pneumoniae'* nın SPN üretimini teşvik ettikleri gözlenmiştir. *S.* Paratyphi A' nın 20.04 mg/L ile test edilen bakteriler arasında en yüksek SPN üretimini gerçekleştiren bakteri olduğu kaydedilmiştir. Organik asit varlığı ile bu bakterinin SPN üretimi önemli ölçüde inhibe edilmiş ve formik asit varlığında 2.13 mg/L' ye kadar düşüş gösterdiği belirlenmiştir. *E. coli* tarafından SPN üretimi 14.77 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Formik asit uygulaması üretimini 7.21 mg/L' ye düşürmüş olup, propiyonik ve asetik asit uygulamaları da üretimi önemli düzeyde düşürerek bakterinin SPN üretimini inhibe edecek noktaya ulaştırdığı (0.00 ve 0.41mg/L) gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada *E. faecalis* bakterisinin SPN üretmediği belirtilmiştir (Özogul ve ark. 2016). Mevcut çalışmada *E. faecalis* bakterisinin SPN üretimi 0.43 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik ve formik asit uygulamaları ile bu bakterinin SPN üretim miktarında artış kaydedilirken, asetik asit uygulmasının bakterinin SPN üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi (mg/L)

Mikroorganizmalar	AUH	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
E. coli	364.91±26.95^{a}	17.25±0.54^{a}	1.44±0.08^{c}	12.56±0.53^{a}	1.36±0.11^{b,c}	2.56±0.15^{a}	14.77±1.20^{a}	3.95±0.27^{a}	4.43±0.37^{a}	5.43±0.30^{a}	0.82±0.02^{c}	60.92±1.48^{a}	85.23±2.40^{a}	KONT
	368.50±34.26^{a}	19.64±1.45^{a}	1.16±0.15^{c}	7.75±0.53^{c}	1.42±0.07^{b}	2.62±0.25^{a}	0.00±0.00^{c}	3.54±0.20^{b}	13.77±1.18^{a}	1.32±0.07^{d}	0.09±0.01^{d}	28.90±1.72^{c}	44.13±1.69^{c}	PROP
	340.75±28.25^{a}	12.94±0.47^{c}	3.65±0.33^{a}	20.54±1.91^{a}	1.22±0.11^{c}	2.23±0.06^{b}	0.41±0.04^{c}	2.51±0.16^{c}	9.18±0.82^{b}	1.93±0.15^{c}	1.21±0.09^{b}	40.05±3.26^{b}	64.91±0.66^{b}	AST
	213.79±2.96^{b}	13.38±0.31^{c}	3.29±0.12^{b}	21.52±1.13^{a}	2.46±0.07^{a}	4.09±0.17^{a}	7.21±0.52^{b}	1.08±0.06^{d}	11.98±1.16^{b}	3.69±0.25^{b}	0.90±0.07^{b}	39.47±2.31^{b}	62.99±1.65^{b}	FORM
E. faecalis	98.94±5.27^{a}	24.86±0.62^{a}	5.13±0.42^{a}	3.50±0.10^{c}	0.25±0.01^{d}	0.84±0.04^{c}	0.43±0.03^{c}	16.74±0.85^{a,b}	3.36±0.04^{c}	1.72±0.02^{c}	0.26±0.02^{c}	52.45±4.84^{a}	66.08±3.44^{a}	KONT
	95.18±3.78^{a,b}	25.24±1.72^{a}	1.13±0.06^{b}	9.65±0.52^{a}	2.63±0.16^{a}	1.38±0.13^{b}	1.18±0.16^{b}	12.19±0.70^{b}	2.74±0.16^{b}	0.65±0.02^{b}	0.11±0.03^{c}	35.07±2.52^{b}	63.97±5.23^{a,b}	PROP
	88.18±3.94^{a,b}	16.21±0.84^{c}	0.82±0.07^{b}	3.58±0.17^{c}	1.18±0.07^{b}	2.19±0.05^{a}	0.00±0.00^{c}	7.37±0.54^{b}	5.85±0.28^{a}	8.21±0.62^{a}	0.52±0.03^{a}	38.89±0.71^{b}	56.24±3.89^{b}	AST
	83.96±6.50^{b}	21.09±0.51^{a,b}	1.03±0.06^{b}	8.77±0.02^{a}	0.95±0.04^{c}	0.00±0.00^{c}	2.84±0.16^{b}	25.15±0.65^{a}	5.11±0.46^{b}	50.48±0.59^{a}	0.31±0.03^{b}	39.61±2.49^{b}	61.99±3.52^{a,b}	FORM
P. aeruginosa	171.77±12.56^{a}	19.48±1.24^{a}	2.50±0.11^{a}	2.96±0.21^{a}	0.00±0.00^{c}	0.33±0.02^{c}	0.33±0.02^{b}	21.52±1.16^{c}	1.38±0.15^{c}	5.00±0.06^{b}	0.34±0.01^{a}	46.71±0.47^{a}	80.54±4.84^{a,b}	KONT
	141.39±9.47^{a,b}	18.11±1.18^{a}	8.79±0.35^{a}	5.14±0.28^{a}	0.49±0.03^{a}	2.03±0.14^{a}	0.25±0.00^{c}	30.42±2.55^{a}	5.03±0.31^{a}	5.85±0.22^{a}	0.16±0.02^{c}	40.97±3.24^{a}	76.14±4.58^{a,b}	PROP
	156.64±12.21^{a,b}	13.60±1.26^{b}	1.54±0.05^{c}	2.59±0.14^{b,c}	0.36±0.02^{b}	1.55±0.07^{b}	0.91±0.08^{b}	25.22±0.65^{a}	5.88±0.10^{a}	1.10±0.06^{b}	0.09±0.00^{b}	44.22±3.21^{a,b}	74.40±4.58^{a}	AST
	132.65±2.50^{b}	14.97±0.72^{b}	0.45±0.01^{d}	2.44±0.19^{c}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{c}	0.39±0.01^{b}	21.21±0.16^{c}	0.90±0.06^{b}	2.82±0.03^{c}	0.24±0.01^{a}	47.99±1.21^{a}	84.03±4.38^{a}	FORM
A. hydrophila	448.57±21.48^{a}	23.89±1.77^{a}	1.65±0.01^{a}	4.03±0.23^{a}	4.23±0.03^{a}	0.00±0.00^{b}	3.50±0.04^{a}	28.56±0.37^{a}	143.42±3.12^{a}	1.11±0.05^{a}	1.36±0.04^{a}	39.34±3.42^{a}	65.91±1.42^{a}	KONT
	521.95±35.49^{a}	7.40±0.61^{c}	0.89±0.03^{c}	1.38±0.06^{c}	8.66±0.63^{a}	0.00±0.00^{b}	2.36±0.15^{b}	1.10±0.06^{d}	107.08±7.20^{b}	0.47±0.03^{c}	0.92±0.06^{b}	30.19±1.03^{b}	68.58±5.87^{a,b}	PROP
	427.56±4.45^{b}	6.52±0.34^{c}	3.81±0.24^{a}	4.53±0.20^{a}	1.88±0.17^{a}	0.00±0.00^{b}	1.81±0.17^{c}	4.58±0.05^{c}	40.84±0.15^{c}	0.72±0.06^{b}	1.29±0.06^{a}	38.41±0.38^{a}	77.51±3.43^{a}	AST
	266.42±14.22^{c}	186.80±13.96^{a}	0.14±0.01^{d}	0.55±0.03^{d}	25.52±15.72^{a}	0.00±0.00^{b}	14.38±0.63^{b}	30.67±1.71^{a}	42.49±0.68^{c}	0.59±0.01^{c}	65.88±6.69^{a}	17.59±0.15^{c}	32.14±2.83^{c}	FORM

AUH, amoniyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HİS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-feniletilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TİR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin; AGM, agmatin. X aritmetik ortalama, y standart sapma. (a-d): Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır (P < 0.05). n=3

Çizelge 4.7' nin devamı

Mikroorganizmalar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
C. jejuni	152.47^{a}±12.14^{AB}	11.03±0.41^{a}	1.96±0.12^{b}	2.33±0.10^{ab}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{a}	0.59±0.02^{c}	20.94±0.49^{a}	3.87±0.28^{a}	1.81±0.09^{b}	0.63±0.02^{a}	33.96±1.52^{b}	70.09±5.39^{b}	KONT
	112.77±8.86^{b}	11.22±0.73^{a}	2.17±0.15^{ab}	2.23±0.08^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{a}	1.41±0.05^{a}	6.93±0.65^{b}	3.41±0.14^{b}	0.94±0.06^{c}	0.17±0.01^{b}	37.40±0.52^{a}	81.60±2.84^{a}	PROP
	77.26±2.35^{c}	3.42±0.29^{b}	2.20±0.10^{a}	3.48±0.08^{a}	0.82±0.04^{a}	0.00±0.00^{a}	0.86±0.01^{b}	3.73±0.07^{c}	5.09±0.15^{c}	2.05±0.11^{a}	0.11±0.01^{c}	33.25±0.90^{b}	57.59±1.46^{c}	AST
	123.39±11.81^{b}	3.28±0.24^{b}	1.25±0.06^{c}	3.33±0.19^{a}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00^{d}	5.02±0.45^{c}	1.34±0.11^{d}	0.79±0.06^{c}	0.06±0.02^{d}	24.90±1.96^{c}	68.09±5.99^{b}	FORM
S. Paratyphi A	93.81±3.65^{a}	70.30±5.07^{ab}	1.34±0.02^{d}	1.86±0.09^{c}	11.42±0.71^{a}	2.77±0.03^{a}	20.04±1.38^{a}	0.12±0.01^{d}	57.17±0.15^{a}	1.55±0.08^{c}	0.14±0.01^{b}	30.92±0.05^{c}	59.07±1.62^{b}	KONT
	79.48±4.61^{b}	15.27±1.25^{b}	3.68±0.23^{b}	4.07±0.38^{b}	5.60±0.05^{b}	0.00±0.00^{d}	2.55±0.25^{b}	1.67±0.03^{b}	18.57±1.32^{b}	14.41±1.13^{a}	0.03±0.00^{c}	42.71±2.25^{b}	81.75±4.23^{a}	PROP
	89.93±2.58^{a}	11.43±0.68^{c}	2.97±0.05^{c}	6.93±0.55^{a}	1.91±0.08^{d}	1.32±0.04^{c}	2.58±0.15^{b}	2.00±0.10^{a}	17.20±1.51^{b}	5.69±0.43^{b}	0.73±0.06^{b}	39.96±2.52^{b}	44.97±2.02^{c}	AST
	78.89±4.26^{b}	7.74±0.52^{d}	4.39±0.18^{a}	4.45±0.27^{b}	2.78±0.15^{c}	0.38±0.02^{b}	2.15±0.17^{b}	0.99±0.05^{c}	9.17±0.51^{c}	14.30±0.72^{a}	0.06±0.00^{c}	48.21±1.02^{a}	75.13±6.23^{a}	FORM
Y. enterocolitica	440.12±38.14^{b}	23.38±0.74^{a}	3.70±0.26^{b}	6.64±0.31^{b}	0.91±0.06^{b}	372.40±16.81^{a}	0.37±0.01^{b}	26.75±1.64^{b}	62.14±3.98^{a}	17.78±1.20^{a}	0.07±0.00^{d}	68.56±1.75^{a}	46.73±1.86^{c}	KONT
	302.91±18.67^{c}	7.31±0.23^{c}	2.45±0.07^{c}	2.05±0.06^{c}	0.23±0.00^{c}	1.49±0.09^{b}	2.20±0.16^{a}	0.68±0.04^{c}	3.48±0.14^{c}	14.85±0.58^{b}	0.24±0.01^{a}	49.45±2.49^{b}	68.46±5.79^{b}	PROP
	327.34±5.02^{c}	7.85±0.42^{c}	1.72±0.07^{d}	2.55±0.07^{c}	0.00±0.00^{c}	0.39±0.01^{b}	0.00±0.00^{c}	0.38±0.01^{c}	3.01±0.19^{c}	0.83±0.06^{c}	0.12±0.00^{b}	42.62±0.21^{c}	74.70±0.99^{a}	AST
	632.64±48.8^{a}	17.31±1.15^{b}	6.60±0.31^{a}	17.43±1.34^{a}	7.25±0.26^{a}	0.65±0.02^{b}	2.27±0.09^{a}	43.48±2.79^{a}	10.19±0.78^{b}	15.77±0.49^{b}	0.11±0.00^{c}	22.37±1.30^{d}	45.40±2.45^{c}	FORM
S. aureus	371.60±11.68^{a}	26.87±0.52^{a}	21.08±1.94^{a}	3.74±0.24^{b}	1.25±0.02^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	4.17±0.19^{a}	6.39±0.10^{b}	0.75±0.02^{c}	0.31±0.00^{a}	22.06±1.33^{c}	69.64±1.80^{b}	KONT
	180.97±7.41^{c}	12.44±0.51^{b}	9.53±0.69^{c}	4.10±0.30^{a}	8.31±0.61^{a}	0.48±0.02^{c}	0.00±0.00^{b}	1.35±0.00^{b}	6.07±0.52^{b}	4.16±0.10^{c}	0.11±0.00^{c}	37.21±1.80^{a}	83.72±4.46^{a}	PROP
	297.24±10.81^{b}	12.23±1.04^{b}	5.75±0.30^{d}	2.62±0.15^{d}	2.19±0.15^{b}	0.73±0.03^{b}	0.00±0.00^{b}	0.43±0.01^{c}	2.08±0.15^{c}	5.79±0.34^{b}	0.24±0.02^{b}	26.47±0.97^{b}	58.87±1.40^{c}	AST
	195.92±7.99^{c}	12.15±1.00^{b}	18.16±0.99^{b}	3.11±0.24^{c}	0.49±0.03^{d}	1.07±0.03^{a}	0.87±0.02^{a}	0.52±0.03^{c}	15.14±0.79^{a}	7.70±0.15^{a}	0.09±0.00^{d}	37.98±1.23^{a}	73.50±4.09^{b}	FORM
K. pneumoniae	419.58±31.33^{b}	9.50±0.63^{bc}	1.26±0.05^{c}	2.27±0.14^{c}	0.56±0.02^{c}	3.83±0.05^{a}	0.00±0.00^{b}	0.24±0.01^{b}	10.54±0.89^{a}	2.26±0.09^{a}	0.35±0.01^{a}	48.14±3.19^{a}	88.12±3.68^{a}	KONT
	176.96±7.66^{d}	15.03±0.77^{a}	2.87±0.04^{a}	1.89±0.09^{d}	0.12±0.01^{b}	2.36±0.10^{c}	0.00±0.00^{b}	1.27±0.06^{a}	2.14±0.11^{c}	1.12±0.08^{c}	0.09±0.00^{d}	31.58±1.53^{d}	66.53±0.67^{c}	PROP
	530.86±32.62^{a}	8.79±0.49^{c}	1.25±0.09^{c}	3.95±0.07^{a}	0.66±0.03^{a}	3.25±0.18^{b}	0.34±0.07^{a}	0.18±0.01^{b}	9.03±0.26^{b}	0.68±0.04^{d}	0.14±0.00^{c}	36.54±1.30^{c}	57.31±1.77^{d}	AST
	364.14±12.35^{c}	10.83±0.92^{b}	2.19±0.15^{b}	2.78±0.03^{b}	0.65±0.02^{a}	2.17±0.17^{c}	0.00±0.00^{b}	0.12±0.00^{c}	2.93±0.16^{c}	1.96±0.06^{b}	0.27±0.01^{b}	42.81±1.59^{b}	73.25±1.32^{b}	FORM

AMN, amonyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HİS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-fenil-etilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TİR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin; AGM, agmatin. X aritmetik ortalama, y standart sapma, (a-d) Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır ($P < 0.05$). n=3

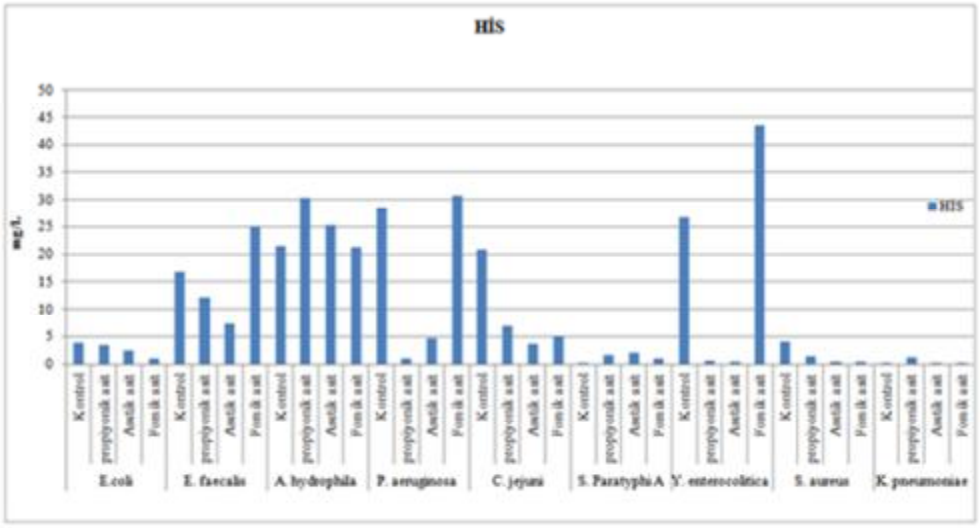
Yavuzer (2016), hamsi infüzyon dekarboksilaz sıvısında *S. aureus* tarafından triptamin (TRPT) üretimini 140.95 mg/L olarak gerçekleştiğini belirtmiştir. Çalışmamızda histidin dekorboksilaz sıvısında aynı bakterinin TRPT üretimi 1.25 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit uygulamalarından propiyonik ve asetik asit bakterinin TRPT üretimini yükseltirken, formik asitin bu oranı düşürdüğü tespit edilmiştir. Gökdogan (2011), yaptıkları çalışmada, histidin dekorboksilaz sıvısı içerisinde *E. faecalis* bakterisinin TRPT üretimini 1.96 mg/L olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada *E. faecalis'* in 0.25 mg/L TRPT ürettiği gözlenmiştir. Mevcut çalışmada, organik asit katkılarının bakteriyi TRPT üretimini teşvik ettiği kaydedilmiştir. Çalışmamızda *S.* Paratyphi A bakterisi tarafından TRPT üretiminin (11.42 mg/L),asetik asit varlığında üretimin 1.91 mg/L' ye düştüğü gözlenmiştir. *Y. enterocolitica* formik asit varlığında 7.25 mg/L TRPT üretimi gerçekleştirmiş olup, asetik asit uygulaması ise bakterinin TRPT üretimini tamamen inhibe etmiştir. *P. aeruginosa* bakterisi tarafından kontrol grubunda TRPT üretilmeniştir. Formik asit uygulamasının TRPT üretimi üzerinde herhangi bir etki yaratmamıştır. Propiyonik ve asetik asit uygulamaları ise bakterinin TRPT üretimini yükselttiği belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada *Y. enterocolitica* bakterisinin 2-feniletilamin (FEN) üretimi 372.40 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit uygulamaları sonucu bu üretimin 0.39 mg/L' ye (asetik asit) kadar düşüş gösterdiği kaydedilmiştir. Küley (2016) *C. jejuni* bakterisinin FEN üretmediğini belirtirken, *A. hydrophila* bakterisinin FEN üretimini 0.97mg/L olarak kaydetmiştir. Bu çalışmada *C. jejuni* ve *A. hydrophila* bakterilerinde FEN üretimi gerçekleşmemiş olup, FEN üretiminde organik asit muamelelerinin de etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada *E. faecalis* bakterisinin FEN üretimini 7.87 mg/L olarak belirtilmiştir (Gökdogan, 2011). Bu çalışmada *E. faecalis* ve *P. aeruginosa* sırasıyla 0.84 ve 0.33 mg/L FEN üretimi gerçekleştirmiştir. Formik asit uygulaması ile bakterilerin FEN üretiminin tamamen engellendiği kaydedilmiştir. Küley (2016) *S.* Paratyphi A

tarafından 2-feniletilamin üretimi 14.12 mg/L iken, *S. aureus, P. aeruginosa, C. jejuni ve A. hydrophila* FEN üretmediğini bulmuştur.

Özogul (2011) histidin (HİS) dekarboksilaz sıvısında histaminin(HİS) gıda kaynaklı patojenler arasında sadece *E. faecalis, K. pneumoniae* ve *L. monocytogenes* tarafından üretildiğini (<0.58 mg/L) bildirmiştir. *K. pneumoniae'*nin histidinden yüksek oranda HİS ürettiği (>3400 mg/L), *E. faecalis'*in ise zayıf HİS üreticisi (<10 mg/L) olduğu bulmuştur (Özogul ve Özogul, 2007). Özoğul (2011) histidin dekarboksilaz sıvısında gram pozitif bakterilerin HİS üretimini 1 mg/L'den daha düşük düzeyde olduğunu bulmuştur. Lopez-Sabater ve ark. (1996) kültür ortamında *K. pneumoniae*'nin 216 ppm HİS ürettiğini belirtmiştir. Özoğul (2011) yine yaptığı bir çalışmada *K. pneumoniae* gram negatif bakterisi hariç diğer gram negatif bakterilerinin HİS üretmediğini bulmuştur. Bu çalışmada *K. pneumoniae* bakterisinin HİS üretimi miktarı 0.24 mg/L olarak belirlenmiştir. Asetik asit katkısı bu bakterinin üretimini etkilemezken, propiyonik asit üretimi teşvik etmiş (1.27 mg/L), formik asit ise düşürmüştür (0.12 mg/L). *K. pneumoniae* ve *C. jejuni* bakterilerinin sırasıyla 4.96 ve 37.56 mg/L HİS ürettiği belirtilmiştir (Küley, 2016). Yapmış olduğumuz bu çalışmada *C. jejuni* tarafından üretilen HİS miktarı 20.94 mg/L olmuştur. Propiyonik asit ile HİS üretimi 6.93 mg/L' ye, formik asit uygulamasıyla 5.02 mg/L' ye, asetik asit uygulaması ile 3.73 mg/L' ye kadar düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Özoğul (2011) histidin dekorboksilaz sıvısında *S. aureus'* un HİS üretim yeteneğine sahip olmadığını belirtmiştir. Bu çalışmada *S. aureus* bakterisi tarafından HİS üretimi 4.17 mg/L olduğu bulunmuştur. Organik asit varlığında bu bakteri tarafından HİS üretimi 0.43 mg/L' ye düşmüştür. Chang ve ark., (2008) *S. aureus* izolatlarının kültür ortamında 12.7 ile 33.0 mg/kg HİS ürettiğini rapor etmiştir. Arjinin dekarboksilaz sıvısında *E. coli*'nin 4.40 mg/L HİS ürettiği rapor edilmiştir (Bensid, 2016). Mevcut çalışmada *E. coli* bakterisinin HİS üretimi 3.95 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit uygulamalarının bakterinin HİS üretimini düşürdüğü kaydedilmiştir. Gökdogan (2011), histidin dekarboksilaz sıvısında *A.*

hydrophila' nın 0.67 mg/L HİS ürettiğini bulmuştur. Bu çalışmada *A. hydrophila'*nın HİS üretimi 28.56 mg/L olmuştur. Formik asit uygulamasının bu bakteri tarafından HİS üretim miktarını 30.67 mg/L olarak teşvik edildiği tespit edilmiştir. Propiyonik ve asetik asit uygulamalarının ise HİS üretimini sırasıyla 4.58 – 1.10 mg/L' ye düşürdüğü belirlenmiştir. Küley (2016) yaptıkları bir çalışmada *Y. enterocolitica'* nın 0.14 mg/L HİS ürettiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada *Y. enterocolitica* tarafından HİS üretimi 26.75 mg/L olup, formik asit uygulaması bakterinin HİS üretimini yükseltirken, propiyonik ve asetik asit bu üretimi önemli düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir.



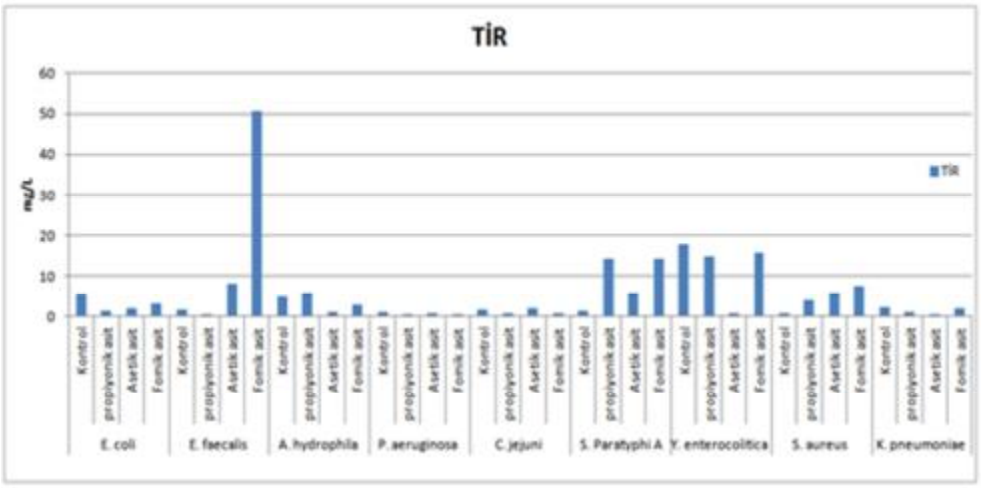
Şekil 4.2. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından histamin üretimi

Bensid (2016) yapmış olduğu bir çalışmada arjinin dekarboksilaz sıvısında *A. hydrophila* bakterisinin serotonin (SER) miktarını 120.79 mg/L bulurken, Hamed ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada ise lizin dekarboksilaz sıvısında bakterinin SER üretimini 5.58 mg/L olarak rapor etmiştir. Bu çalışmada *A. hydrophila* tarafından üretilen SER miktarı 143.42 mg/L olup, bu üretim oranı ile

A. hydrophila'nın test bakterilerin arasında en yüksek SER üreten bakteri olduğu gözlenmiştir. Organik asit uygulamalarının bu bakteri tarafından SER üretim miktarını 40.84 mg/L düşürdüğü tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada organik asit uygulamalarının *C. jejuni, S.* Paratyphi A, *Y. enterocolitica. S. aureus* ve *K. pneumoniae*'nin SER üretimini önemli düzeyde azalttığı belirlenmiştir.Küley (2016) histidin dekarboksilaz sıvısında *K. pneumoniae'* nın 142.66 mg/L SER ürettiğini rapor etmiştir. *E. coli* tarafından SER üretimi 4.43 mg/L olarak gözlenmiştir. Organik asit uygulamalarının bu üretim miktarını 13.77 mg/L' ye kadar yükselttiği tespit edilmiştir.

Histidin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler tarafından tiramin (TİR) birikimi 1.1 ve 13.4 mg/L arasında olmuştur **(**Gökdogan ve ark., 2012). Küley (2016) *Y. enterocolitica* bakterisinin TİR üretimini 0.61 mg/L olarak rapor etmiştir. Yapılan bu çalışma ile *Y. enterocolitica* tarafından üretilen TİR miktarı 17.78 mg/L olarak saptanmıştır. Propiyonik ve formik asit bakterinin TİR miktarını istatiksel olarak aynı oranda düşürdüğü tespit edilmiştir. Asetik asit uygulaması ile üretim 0.83 mg/L' ye kadar düşüş sergilemiştir. Gökdogan (2011) yaptıkları bir çalışmada *K. pneumoniae* tarafındanTİR üretimini 1.52 mg/L olarak bulmuştur. Çalışmamızda *K. pneumoniae* tarafından TİR üretimi 2.26 mg/L olarak gerçekleştiği belirlenmiştir. Organik asit uygulamaları TİR üretimini önemli düzeyde düşürmüştür. Özoğul (2011) yaptığı çalışmada histidin dekorboksil sıvısında gram negatif bakterilerin TİR üretim aralığını 0.18 mg/L (*A. hydrophila)* 3.13 mg/L (*E. coli*) arasında olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma da *A. hydrophila* ve *E.coli* bakterilerinin sırasıyla TİR üretimleri 5.43-1.11 mg/L olarak bulunmuştur. Bakterilerin TİR üretimlerinin organik asit uygulamaları ile düşüş gösterdiği gözlenmiştir.Yapılan bir araştırmada *S. aureus* tarafından TİR üretimi 71 mg/L olarak belirlenmiştir (Küley 2016). Ozogul ve ark., (2016)lizin dekarboksilaz sıvısında *S.* Paratyphi A tarafından TİR üretimini 2.33 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmada *S.* Paratyphi Ave *S. aureus* bakterilerinin TİR üretimi sırasıyla 1.55 ve 0.75 mg/L olarak kaydedilmiştir. Organik asit uygulamalarının

bakterilerin TİR üretimini yükselttiği belirlenmiştir. Özoğul (2011) yaptığı bir çalışma da histidin dekarboksilaz sıvısında gram pozitif bakterilerden *E. faecalis* ve *S. aureus'* un tiramin üretim miktarlarını sırasıyla 1.41 ve 0.27 mg/L olarak bulmuştur. Patojen özellikte olmayan *staphylococci* üyelerinin zayıf tiramin üreticisi olduğu belirtilmiştir (Masson ve ark., 1997). *P. aeruginosa* bakterisinin TİR üretimi 5.00 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik asit uygulaması ile bu bakterinin TİR üretimi 5.85 mg/L'e yükseldiği, formik ve asetik asit uygulaması ile sırasıyla 2.82-1.10 mg/L'e düştüğü görülmüştür. Bensid ve ark. (2016) *P. aeruginosa* tarafından TİR üretimini 1.49 mg/L olarak belirtirken, Gökdogan ve ark. (2016) bakterinin TİR üretimini 1.90 olarak rapor etmişlerdir.



Şekil 4.3. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından tiramin üretimi

Çalışmamızda *E. faecalis* tarafından trimetilamin (TMA) üretimi 0.26 mg/L olup, propiyonik ve formik asit uygulamaları bu üretim miktarına herhangi etki etmemiştir. Asetik asit uygulaması ise üretimi 0.52 mg/L' ye yükseltmiştir. Yapılan bir çalışmada lizin dekarboksilaz sıvısında *E. faecalis* bakterisinin TMA üretimi 0.15 mg/L olarak belirtilmiştir (Ozogul ve ark., 2016). Küley (2016) *A. hydrophila* bakterisinin TMA üretimini 53.66 mg/Lolarak rapor etmiştir. Mevcut

çalışmada *A. hydrophila* tarafından üretilen TMA değeri 1.36 mg/L olup, propiyonik ve asetik asit uyglamaları istatistiksel olarak, bu bakterinin TMA üretim miktarına etki etmemiştir. Formik asit uygulaması ise üretim miktarını 65.88 mg/L'e yükseltmiştir. Organik asit uygulamalarının *P. aeruginosa, C. jejuni, S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterileri tarafından üretilen TMA değerini düşürdükleri gözlenmiştir. *Y. enterocolitica* bakterisinin TMA üretimi 0.07 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit muameleleri bu bakterinin TMA üretimini teşvik etmiştir. Histidin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojen bakteriler tarafından kontrol grubunda TMA üretimini 13.50 mg/L'ın altında olduğunu bulunmuştur (Küley,2016).

Y. enterocolitica' nın 11.82 mg/L dopamin (DOP) miktarı ile test edilen bakteriler arasında en yüksek seviyede DOP üreten bakteri olduğu bulunmuştur. Organik asit varlığı, bakterilerin DOP üretim miktarını azalttığı gözlenmiştir. Mah ve Hwang (2009) balıklardan izole edilen *Enterobacter* üyelerinin DOP üretmediğini rapor etmiştir. Gökdogan (2011) *E. faecalis'* in 11.82 mg/L DOP ürettiğini belirtmiştir. Yapılan bu çalışma da *E. faecalis* bakterisi tarafından DOP üretim miktarı 52.45 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit katkısı ile bu üretimin 35.07 mg/L' e düştüğü gözlemlenmiştir. *S.* Paratyphi A ve *S. aureus* bakterilerinin de DOP üretimi organik asit uygulamalarıyla düşüş göstermiştir.

Küley (2016), kontrol grubunda bakteriler tarafından agmatin(AGM) üretiminin 39.18 mg/L (*S. aureus)* ve 254.91 mg/L (*A. hydrophila)* arasında değişkenlik gösterdiğini bulmuştur. *A. hydrophila* tarafından en yüksek seviyede üretilen aminlerden birisi AGM olup, üretim miktarı 88.12 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit uygulaması bu bakteri tarafından AGM üretimini 57.31 mg/L' ye düşürmüştür. *E.coli* tarafından üretilen AGM miktarı 85.23 mg/L olup, organik asit uygulamalarının bu üretimi düşürdüğü belirlemiştir. Küley (2016) histidin dekarboksilaz sıvısında *C. jejuni* tarafından AGM üretimini 104.18 mg/L oldugunu gözlemlemişlerdir. Mevcut çalışmada *C. jejuni* tarafından AGM üretim miktarı 70.09 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik asit katkısı bu miktarı 81.60

mg/L'e yükseltmiştir. Asetik ve formik asit katkıları ise bu üretimi sırasıyla 57.59-68.09 mg/L'e düşürmüştür. Gökdoğan (2011) histidin dekarboksilaz sıvısında *E. faecalis, S. aureus* ve *L. Monocytogenes* bakterilerinin AGM üretimini sırasıyla 13.86, 9.42 ve 2.95 mg/L olarak rapor etmiştir.

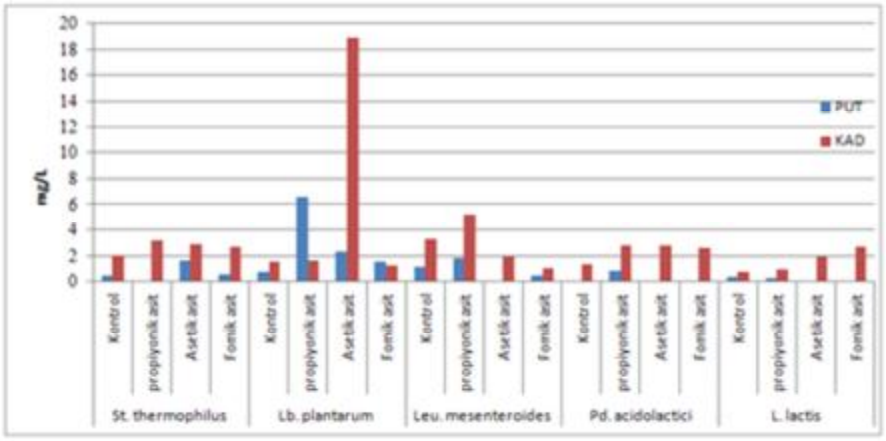
4.5. Histidin Dekorboksilaz Sıvısında Laktik asit Bakterileri Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi

Histidin dekorboksilaz sıvısındalaktik asit bakterilerin amonyak ve biyojenik amin üretimi Çizelge 4.8 ' de verilmiştir. Araştırmada *St. thermophilus* tarafından üretilen biyojenik aminlere özgü kromotogramlar Ek 10-11'de verilmiştir.

AMN üretimi bakımından önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Yapılan bu çalışmada *Leu. mesenteroides* bakterisi 103.43 mg/L ile en yüksek AMN üretimi gerçekleştiren bakteri olmuştur. Uygulanan organik asit katkıları ile bakterinin AMN üretiminde önemli düşüşler gözlenmiştir. Küley ve ark. (2013), yapmış olduğu bir çalışmada *Leu. mesenteroides* bakterisi tarafından AMN üretiminin 572.68 mg/L olarak belirtmiştir. Yapılan bir başka çalışmada *St. thermophilu* ve *Lb. plantarum'*un sırasıyla 677.56 ve 616.13 mg/L AMN ürettiği bulunmuştur. (Küley ve Özogul 2011). Çalışmamızda *St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* bakterilerinin AMN üretimi sırasıyla 74.55 ve 73.66mg/L olarak tespit edilmiştir Propiyonik asit uygulaması bakterilerin AMN üretiminidüşürdüğü, asetik asitin ise bakterilerin AMN üretimini yükselttiği gözlenmiştir. Propiyonik ve asetik asitin ayrıca *Pd. acidolactici*ve *L. lactis* bakterilerinin AMN üretimini arttırdığı kaydedilmiştir. Formik asit uygulamasının bakterilerin AMN üretimi üzerinde farklı etkiler gösterdiği gözlenmiştir. *Pd. acidolactici*'nın AMN üretimine formik asitin herhangi bir etkisi olmamasına karşın, *L. lactis* tarafından AMN üretimini önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($P<0.05$).

Leu. mesenteroides tarafından en yüksek seviyede üretilen aminler PUT ve KADolup, AGM ve DOP *P acidolactici*bakterisi tarafından en yüksek düzeyde üretilen aminler olmuştur.

Aminoasit dekarboksilaz bütün bakterilerde geniş ölçüde bulunmamasına rağmen, *Lactobacillus, Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptir (Brink ve ark., 1990). Çalışmamızda *St. thermophilus* tarafından üretilen PUT miktarı 0.49 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik asit uygulaması PUT üretimini tamamen inhibe ederken, asetik asit uygulaması bu üretimi arttırmış, formik asit ise bakterinin PUT üretimi üzerine herhangi bir etki göstermemiştir. *Lb. plantarum* bakterisi 10.49mg/L PUT üretmiştir (Özogul, 2011). *Lb. plantarum* tarafından üretilen PUT miktarı 0.79 mg/L olup organik asit uygulamalarının bu üretimi artırdığı belirlenmiştir. Küley ve ark. (2013) yaptığı bir çalışmada *Leu. mesenteroides* tarafından PUT üretiminin44.16mg/L olduğunu rapor etmiştir. Çalışmamızda*Leu. mesenteroides* tarafından PUT üretimi 1.13 mg/L olup, propiyonik asit uygulaması PUT üretimini 1.81 mg/L' ye yükseltmiştir. Formik asit uygulamasının PUT üretimini azalttığı gözlenirken, asetik asitin PUT üretimini inhibe ettiği belirlenmiştir. *Pd. acidolactici* PUT üretimi gerçekleştirmemiş olup, propiyonik asitin üretimi 0.83 mg/L' e yükselttiği gözlenmiştir. *L. lactis* tarafından PUT üretimi 0.42 mg/L olarak bulunmuştur. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *L. lactis* PUT (32.09mg/L) üretmiştir (Küley ve ark., 2013) Propiyonik asit uygulamasıyla PUT üretimi 0.23 mg/L'e düşmüş olup, asetik ve formik asit uygulamaları ile PUT üretimi tamamen inhibe edilmiştir.



Şekil 4.4. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi

Et ürünlerinde laktik asit bakterileri değişik miktarlarda putresin, kadaverin, triptamin, feniletilamin ve tiramin üretmektedirler (Santos, 1996; Suzzi ve Gardini, 2003; Bover-Cid ve ark., 2001). Yapılan çalışmada en yüksek KAD üretiminin 3.25 mg/L ile *Leu. mesenteroides* tarafından gerçekleştirildiği gözlenirken, ile en düşük KAD üretimi *L. lactis* bakterisi tarafından (0.76mg/L) gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Küley ve Özogul (2011), *Lb. plantarum* tarafından üretilen KAD miktarını 6.11 mg/L olarak rapor etmiştir. Bu çalışmada *Lb. plantarum* bakterisi tarafından üretilen KAD miktarı 1.51 mg/L olarak tespit edilmiştir. Asetik asit uygulaması bu bakterinin KAD üretmini 18.86 mg/L' ye yükseltirken, propiyonik ve formik asit uygulamalarının KAD üretimi üzerine bir etkisi gözlenmemiştir. Yapılan bir çalışmada balık infüzyon sıvısında *Pd. acidolactici* tarafından KAD üretimi 196.83mg/L olarak belirlenmiştir (Küley ve ark., 2013). Çalışmamızda *Pd. acidolactici* tarafından üretilen KAD miktarı 1.33 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit uygulamalarının bu üretimi arttırdığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 8. Histidin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi (mg/L)

Mikroorganizmalar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
St. thermophilus	74.55±4.42^{d}	0.49±0.03^{b}	2.04±0.18^{d}	5.55±0.28^{d}	0.25±0.01c	0.19±0.01^{a}	2.51±0.13^{b}	2.12±0.08^{b}	5.49±0.16^{d}	1.89±0.07^{d}	0.12±0.00^{c}	39.91±0.80^{c}	91.23±7.35^{a}	KONT
	52.99±0.71^{c}	0.00±0.00^{c}	3.17±0.08^{a}	32.91±0.87^{b}	0.33±0.00b	0.00±0.00^{b}	5.45±0.37^{a}	1.03±0.05^{a}	10.62±0.40^{c}	6.02±0.25^{c}	0.12±0.00^{c}	55.13±4.23^{b}	78.09±3.25^{b}	PROP
	115.07±5.20^{a}	1.63±0.10^{a}	2.91±0.12^{b}	49.34±3.37^{a}	0.55±0.05a	0.00±0.00^{b}	0.88±0.04^{c}	1.97±0.04^{c}	15.22±0.97^{a}	15.92±0.77^{a}	0.46±0.03^{b}	81.95±2.20^{a}	73.88±6.51^{b}	AST
	70.55±4.03^{b}	0.54±0.02^{b}	2.66±0.13^{c}	16.71±0.03^{c}	0.00±0.00d	0.00±0.00^{b}	1.08±0.01^{c}	2.27±0.02^{a}	13.28±0.69^{b}	13.79±0.01^{b}	0.92±0.01^{a}	55.09±4.88^{b}	81.01±6.81^{ab}	FORM
Lb. plantarum	73.66±6.29^{b}	0.79±0.05^{d}	1.51±0.06^{b}	5.73±0.21^{c}	0.00±0.00^{d}	1.71±0.09^{a}	2.32±0.07^{c}	2.38±0.12^{b}	8.89±0.65^{d}	1.95±0.10^{b}	0.33±0.01^{b}	23.61±1.42^{c}	10.59±0.53^{c}	KONT
	52.58±1.64^{c}	6.59±0.34^{a}	1.59±0.03^{b}	4.90±0.36^{d}	0.56±0.01^{c}	0.00±0.00^{b}	2.31±0.05^{c}	3.26±0.24^{a}	27.97±0.28^{a}	0.68±0.02^{c}	0.09±0.00^{c}	40.34±2.27^{a}	6.66±0.25^{d}	PROP
	87.77±3.41^{a}	2.34±0.07^{b}	18.86±0.95^{a}	13.78±0.20^{b}	2.19±0.06^{a}	0.00±0.00^{b}	19.03±0.25^{b}	1.72±0.05^{c}	21.42±0.76^{b}	2.86±0.08^{a}	0.39±0.01^{a}	34.37±1.36^{b}	23.37±0.26^{b}	AST
	66.16±3.77^{b}	1.49±0.09^{c}	1.21±0.05^{b}	6.65±0.59^{b}	1.08±0.01^{b}	0.00±0.00^{b}	3.09±0.23^{a}	1.09±0.06^{d}	12.88±0.63^{c}	2.14±0.16^{b}	0.00±0.00^{d}	19.76±0.61^{d}	72.55±3.95^{a}	FORM
Leu. mesenteroides	103.43±5.57^{a}	1.13±0.07^{b}	3.25±0.20^{b}	4.69±0.16^{b}	0.35±0.01^{d}	0.00±0.00^{b}	19.02±1.13^{a}	0.69±0.04^{d}	11.77±0.47^{c}	1.86±0.14^{c}	1.20±0.06^{a}	51.73±3.58^{c}	70.85±1.87^{a}	KONT
	37.38±2.80^{c}	1.81±0.06^{a}	5.19±0.16^{a}	8.41±0.27^{a}	2.38±0.16^{b}	22.80±1.93^{a}	0.44±0.03^{d}	1.75±0.09^{b}	16.94±0.69^{a}	3.47±0.06^{a}	0.70±0.06^{b}	67.27±3.45^{a}	64.50±3.83^{c}	PROP
	36.04±2.90^{c}	0.00±0.00^{d}	1.88±0.10^{c}	8.18±0.39^{a}	0.95±0.05^{c}	0.31±0.02^{b}	2.84±0.15^{c}	2.35±0.09^{a}	6.90±0.43^{d}	0.17±0.00^{d}	0.08±0.00^{d}	17.79±0.90^{d}	35.41±0.34^{d}	AST
	74.33±5.64^{b}	0.43±0.01^{c}	1.08±0.06^{d}	2.84±0.15^{c}	4.33±0.14^{a}	0.00±0.00^{b}	5.63±0.28^{b}	1.23±0.08^{c}	15.27±0.67^{b}	2.36±0.14^{b}	0.56±0.03^{c}	58.00±1.82^{b}	55.91±2.58^{b}	FORM
Pd. acidolactici	42.64±2.03^{c}	0.00±0.00^{b}	1.33±0.04^{c}	4.13±0.11^{c}	0.00±0.00^{d}	0.00±0.00^{b}	2.34±0.06^{b}	1.31±0.09^{c}	6.62±0.08^{d}	0.69±0.00^{c}	0.35±0.02^{c}	297.46±0.65^{a}	253.75±1.67^{a}	KONT
	124.23±11.82	0.83±0.02^{a}	2.83±0.08^{a}	39.12±1.68^{a}	3.80±0.29^{a}	0.95±0.02^{a}	0.43±0.01^{c}	2.50±0.17^{a}	27.69±0.93^{a}	4.95±0.18^{a}	1.83±0.09^{a}	81.45±15.35	94.21±6.99^{d}	PROP
	99.11±3.46^{b}	0.00±0.00^{b}	2.79±0.08^{a}	6.27±0.04^{b}	0.81±0.05^{b}	0.00±0.00^{b}	2.75±0.14^{a}	1.78±0.03^{c}	17.43±1.25^{b}	3.12±0.12^{b}	1.00±0.03^{b}	91.74±0.74^{a}	118.32±0.99^{b}	AST
	43.40±0.50^{c}	0.00±0.00^{b}	2.58±0.03^{b}	5.42±0.27^{bc}	0.35 ±0.01^{c}	0.00±0.00^{b}	0.43±0.01^{c}	1.43±0.02^{b}	9.81±0.41^{c}	0.40±0.01^{d}	0.38±0.02^{c}	81.95±2.42^{c}	106.63±5.53^{c}	FORM
L. lactis	69.14±0.81^{c}	0.42±0.02^{a}	0.76±0.01^{d}	6.44±0.48^{c}	0.94±0.06^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}	1.29±0.08^{d}	7.73±0.31^{c}	0.26±0.01^{c}	1.58±0.09^{b}	58.00±3.20^{bc}	9.45±0.11^{c}	KONT
	108.84±6.50^{a}	0.23±0.01^{b}	0.97±0.04^{c}	7.31±0.48^{b}	0.30±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.69±0.03^{b}	1.49±0.05^{c}	8.58±0.58^{c}	1.11±0.02^{b}	0.40±0.01^{b}	55.64±1.98^{c}	5.96±0.33^{c}	PROP
	93.44±7.14^{b}	0.00±0.00^{c}	1.92±0.08^{b}	5.61±0.15^{d}	2.45±0.22^{b}	1.43±0.09^{a}	19.75±0.66^{a}	1.76±0.09^{b}	12.36±0.31^{b}	5.01±0.36^{a}	1.89±0.10^{b}	69.39±3.69^{b}	27.71±0.16^{b}	AST
	39.71±1.06^{d}	0.00±0.00^{c}	2.71±0.19^{a}	9.40±0.07^{a}	10.66±0.91^{a}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{c}	2.25±0.09^{a}	20.77±1.05^{a}	0.16±0.00^{c}	36.71±1.87^{a}	138.05±12.09	73.60±4.97^{a}	FORM

AMN; amonyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HİS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-fenil-etilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TİR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin. AGM, agmatin. X aritmetik ortalama, y standart sapma, (a-d) Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır ($P < 0.05$). n=3

Küley ve Özogul (2011), *St. thermophilus* bakterisi tarafından SPD üretimini 19.78 mg/L olarak rapor etmiştir. Yapılan bir araştırmada *Pd. acidolactici'* nin SPD üretimi1.64mg/L bulunmuştur (Küley ve ark., 2013). Bu çalışmada *Pd. acidolactici* ve *St. thermophilus* bakterileri tarafından SPD üretimi sırasıyla 4.13 ve 5.5 mg/L olarak tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarıyla bakterilerin SPD üretiminde artış gözlenmiştir. *Leu. mesenteroides* bakterisinin SPD üretimi 4.69 mg/L olup, propiyonik ve asetik asit uygulamaları üretimi aynı oranda arttırırken (8.41 ve 18.18 mg/L), formik asitin üretimi düşürdüğü kaydedilmiştir (2.84 mg/L).

Fermente sosislerden izole edilen *Lb. plantarum*' un (7 suş) hiç birinin TİR, FEN, TRPT, PUT ve KAD üretmediği belirlenmiştir (Bover-Cid, 2001). Yapılan bu çalışmada *Lb. plantarum* (0.00mg/L), *Leu. mesenteroides* (0.35mg/L) ve *Pd. acidolactici* (0.00mg/L) laktik asit bakterilerinin TRPT üretimini organik asit uygulamalarının arttırdığı gözlenmiştir. *St. thermophilus* bakterisi tarafından TRPT üretimi 0.25 mg/L olup, propiyonik ve asetik asidin üretimi arttırdığı gözlenirken, formik asitin üretimi tamamen inhibe ettiği tespit edilmiştir. Küley ve Özogul (2011), *L. lactis'* in TRPT üretimini 0.88 mg/L olarak belirtmiştir. Çalışmamızda *L. lactis* bakterisinin TRPT üretimi 0.94 mg/L olarak saptanmıştır. Propiyonik asit uygulaması bakterinin TRPT üretimini etkilemezken, asetik ve formik asit uygulamaları üretimi sırasıyla 2.45 ve 10.66 mg/L' ye yükselttiği gözlenmiştir.

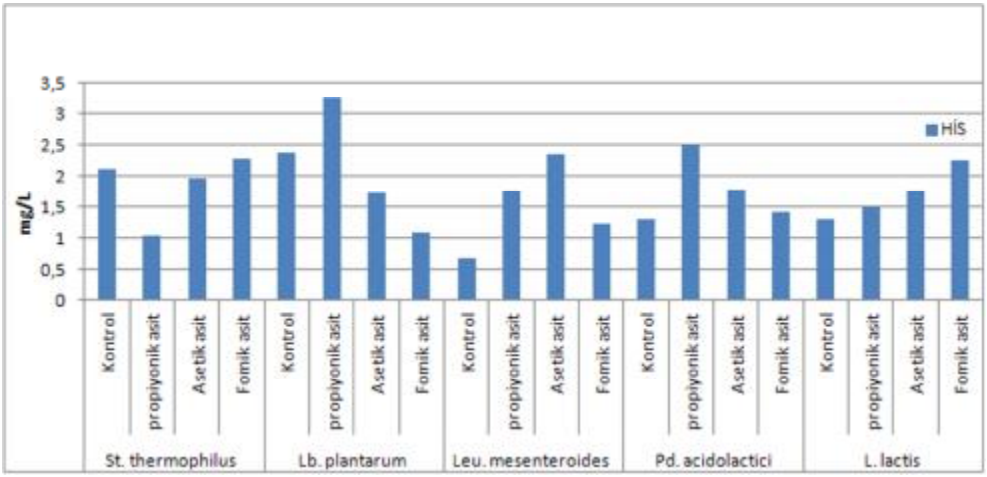
Özogul (2011) histidin dekarboksilaz sıvısında *St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* bakterilerinin sırasıyla 13.26 ve 10.95mg/L FEN ürettiğini belirtmiştir. Mevcut çalışmada *St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* bakterilerinin FEN üretimi 0.19 ve 1.71 mg/L olup organik asit uygulamalarının bakterinin FEN üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. *Leu. mesenteroides* ve *Pd. acidolactici* bakterilerinin FEN üretimini gerçekleştirmediği, propiyonik asitin bakterilerin FEN üretimini arttırdığı belirlenmiştir. Küley ve ark., (2013) yapmış olduğu bir çalışmada ornitin dekarboksilaz sıvısında *L. lactis* bakterisinin FEN üretimini 1.63 mg/L olarak rapor

etmiştir. *L. lactis* tarafından FEN üretimi gerçekleşmemiş olup, asetik asit uygulaması üretimi 1.43 mg/L' ye yükseltmiştir. Propiyonik ve formik asit uygulamalarının üretim üzerine herhangi bir etkisine rastlanmamıştır.

Küley ve ark., (2013), yaptığı çalışmada *L. lactis*' in SPN üretimini 0.53 mg/L olarak bulmuştur. Çalışmamızda SPN üretimi gerçekleştirmeyen tek laktik asit bakterisinin *L. lactis* olduğu tespit edilmiştir. Formik asit uygulamasının bakterinin PUT üretimine etkisi görülmezken, propiyonik ve asetik asitin bakteriyi üretime teşvik ettiği belirlenmiştir. *Leu. mesenteroides* bakterisinin SPN üretim miktarı 19.02 mg/L olarak kaydedilmiştir. Organik asit uygulamaları ile üretimin önemi düzeyde azaldığı görülmüştür (0.44 mg/L). *Pd. acidolactici* tarafından SPN üretimi 2.34 mg/L olarak gözlenmiştir. Propiyoik asit muamelesinin üretime herhangi bir etkisi belirlenmemiştir. Asetik asit, SPN üretimini 2.75 mg/L'e yükseltirken, formik asit, SPN üretimini 0.43 mg/L'e düşürdüğü tespit edilmiştir. Küley ve ark., (2013), balık infüzyon sıvısında *Pd. acidolactici* tarafından SPN üretimini 17.14 mg/L olarak belirtmiştir.

Maijala (1993) tarafından yapılan bir çalışmada *Lactobacillus bulgaricus*'un aminoasit ile zenginleştirilmiş MRS broth'da daha fazla histamin, tiramin ve triptamin ürettiği tespit edilmiştir. Küley ve Özogul (2011), *Lb. plantarum'* un HiS üretimini 1.57 mg/L olarak rapor etmiştir. Çalışmamızda *Lb. plantarum* tarafından üretilen HİS miktarı 2.38 mg/L olup, propiyonik asit uygulamasının bu oranı yükselttiği belirlenmiştir (3.26 mg/L). Bakterinin HİS üretimini asetik asit 1.72 mg/L' ye, formik asit uygulaması ise üretimi 1.09 mg/L' ye düşürmüştür. Histidin dekarboksilaz sıvısında *St. thermophilus'* un HİS üretimi gerçekleştirmemiştir (Özogul, 2011). Yaptığımız çalışmada laktik asit bakteriler tarafından üretilen HİS miktarı *St. thermophilus* tarafından 2.12 mg/L olarak bulunmuştur. Formik asit uygulaması ile üretim 2.27 mg/L'e yükselttiği tespit edilmiştir. Propiyonik ve asetik asit uygulamaları ile bakterinin HİS üretimini azalttığı gözlenmiştir (1.03, 1.97 mg/L). *Leu. mesenteroides*'in HİS üretimi 0.69 mg/L iken *L. lactis* 1.29 mg/L HİS üretmiştir. Organik asit uygulamalarının bu

üretimi arttırdığı kaydedilmiştir. *Pd. acidolactici* tarafından üretilen HİS miktarı 1.31 mg/L olup, asetik asit uygulaması üretime etki etmezken, propiyonik ve formik asitin üretimi arttırdığı gözlenmiştir (sırasıyla 2.50 ve 1.43 mg/L).

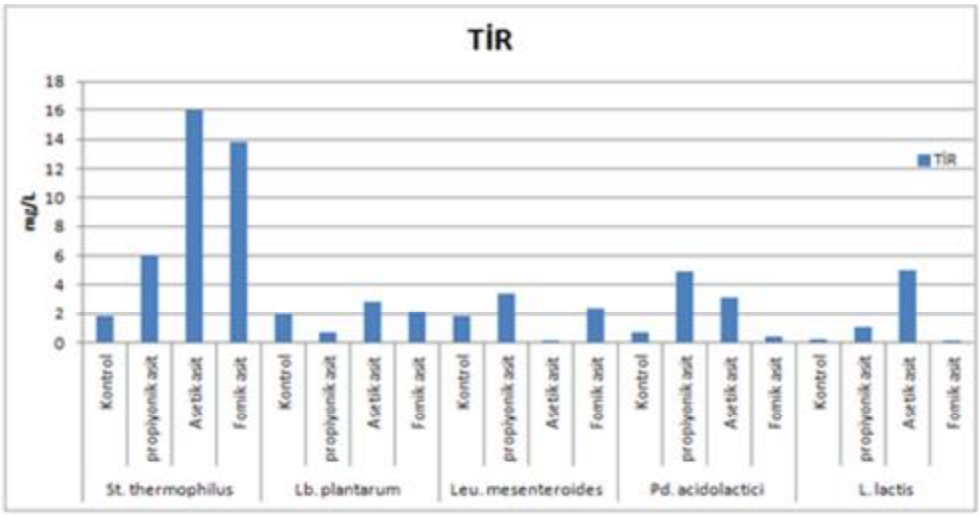


Şekil 4.5. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından histamin üretimi

Yaptığımız çalışmada laktik asit bakterileri tarafından SER üretimi genellikle organik asit uygulamalarıyla artış göstermiştir. Ancak, *Leu. mesenteroides* bakterisinin 11.77 mg/L olan SER üretimi asetik asit uygulamasıyla düşüş göstermiştir (6.90 mg/L).

Et ve et ürünlerinden *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchnerii*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus carnis*, *Lactobacillus divergens* ve *Lactobacillus hilgardii* tiramin gibi biyojen amin üreten laktik bakterileri izole edilmiştir (Shalaby, 1996; Maijala, 1993). Yapılan bu çalışmada laktik asit bakterilerinin TİR üretimi 0.26 (*L. lactis*) ve 1.95 mg/L (*Lb. plantarum*) arasında değişkenlik göstermiştir. Organik asit uygulamalarının *St. thermophilus* tarafından TİR üretimini önemli düzeyde arttırdığı gözlenmiştir. Propiyonik asit uygulamasıyla *St. thermophilus* bakterisinin TİR üretimi 0.68 mg/L'e düşerken, asetik asit uygulaması ile bakterinin TİR üretiminin 2.86 mg/L'e yükseldiği

belirlenmiştir. Formik asitin ise üretime herhangi bir etkisi tespit edilmemiştir. Formik ve propiyonik asit uygulamaları *Leu. mesenteroides* tarafından üretimi teşvik ederek bakterinin TİR üretimini sırasıyla 2.36 ve 3.47mg/L'e yükseltmştir. Asetik asit uygulaması ise üretimi 0.17 mg/L'e düşürdüğü kaydedilmiştir. Propiyonik ve asetik asit uygulamalarının bakterilerin TİR üretimini arttırdığı belirlenmiştir. Formik asit uygulaması *Pd. acidolactici* tarafından üretilen TİR miktarını azaltırken (0.40 mg/L), *L. lactis* tarafından üretilen TİR miktarını etkilemediği tespit edilmiştir. Masson ve ark. (1996), et ürünlerinden izole edilen *Lb. plantarum*' un bazı suşlarının TİR ürettiği belirlemişlerdir. Özogul (2011) histidin dekarboksilaz sıvısında *Lb. plantarum* bakterisinin 0.27 mg/L TİR ürettiğini rapor etmiştir. Bu çalışmada *Lb. plantarum* tarafından TİR üretimi 1.95 mg/L olarak kaydedilmiştir. Propiyonik asit varlığıyla bakterinin TİR üretimi azalırken (0.68 mg/L), asetik ve formik asit varlığıyla bakterinin TİR üretimi artmıştır (sırasıyla 2.86 ve 2.14 mg/L).



Şekil 4.6. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından tiramin üretimi

Çalışmamızda *Leu. mesenteroides* bakterilerisinin TMA üretimi1.20mg/L olarak tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarının bakterinin TMA üretimini düşürdüğü gözlenmiştir. Buna karşın organik asit muamelerinin *L. lactis, Pd. acidolactici, St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* bakterileri üzerinde farklı etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Özogul (2011) histidin dekarboksilaz sıvısında *L. lactis* bakterisinin 0.15 mg/L TMA ürettiğini belirtmiştir. *L. lactis'*in TMA üretimi 1.58 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik asit ilavesi bu bakterinin TMA üretim miktarını 0.40 mg/L' e düşrürken, asetik asit uygulamasının üretim üzerine herhangi bir etkisi görülmemiştir. Formik asit katkısı ise bakterinin TMA üretim miktarını 36.71 mg/L' e kadar önemli düzeyde arttırmıştır. *Lb. plantarum'* un TMA üretim yeteneğine sahip olmadığı belirtilmiştir (Küley ve ark., 2013). Çalışmamızda *Lb. plantarum* tarafından üretilen TMA miktarı 0.33 mg/L olup, propiyonik ve formik asidin TMA üretimini engellediği gözlenmiştir.

Küley ve ark. (2013) *Pd. acidolactici'* nin DOP üretimini 200.71 mg/L olarak rapor etmiştir. Bu çalışmada DOP üretimi 297.46 mg/L ile en fazla *Pd. acidolactici* bakterisi tarafından gerçekleştirmiştir. Organik asit uygulamaları ile bakterinin DOP üretim miktarı 81.95 mg/L'e (formik asit) kadar düşüş gösterdiği belirlenmiştir. *L. lactis* tarafından DOP üretimi 58.00 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Propiyonik ve asetik asit varlığı bu bakterinin DOP üretimi üzerine istatiksel olarak etki göstermezken, formik asit uygulamasının üretimi önemli düzeyde arttırmıştır (138.05 mg/L). Asetik asit uygulaması *Leu. mesenteroides'in* DOP üretimini azaltırken, propiyonik ve asetik asit uygulamalarının üretimi arttırdığı gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada en yüksek AGM üretimi *Pd. acidolactici* bakterisi tarafından gerçekleştirilmiştir (253.75 mg/L). Propiyonik, asetik ve formik asit uygulamalarının bakterinin AGM üretimi önemli düzeyde azalttığı kaydedilmiştir (sırasıyla 94.21, 118.32 ve 106.63 mg/L). Küley ve Özogul (2011), *L. lactis* bakterisinin AGM üretimini 7.24mg/L olarak belirtmiştir. Çalışmamaızda *L. lactis* bakterisi tarafından üretilen AGM miktarı 9.45 mg/L olarak tespit edilmiş, asetik ve formik asit uygulamalarının bu üretimi yükselttiği gözlenirken (sırasıyla 27.71

ve 73.60mg/L), propiyonik asit uygulamasının bakterinin AGM üretimi üzerine istatiksel olarak herhangi bir etkisi görülmemiştir (5.96 mg/L). *Leu. mesenteroides* tarafından AGM üretimi 70.85 mg/L olup, propiyonik, asetik ve formik asitvarlığının bu üretimi düşürdüğü belirlenmiştir (sırasıyla 64.50, 35.41 ve 55.91 mg/L).

4.6. Tirosin Dekorboksilaz Sıvısında Refrans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi

Tirozin dekarboksil sıvısında referans bakterilerin amonyak ve biyojenik amin üretimi Çizelge 4.9 'de verilmiştir. Araştırmada *E. faecalis* tarafından üretilen biyojenik aminlere özgü kromotogramlar Ek 6-9'de verilmiştir.

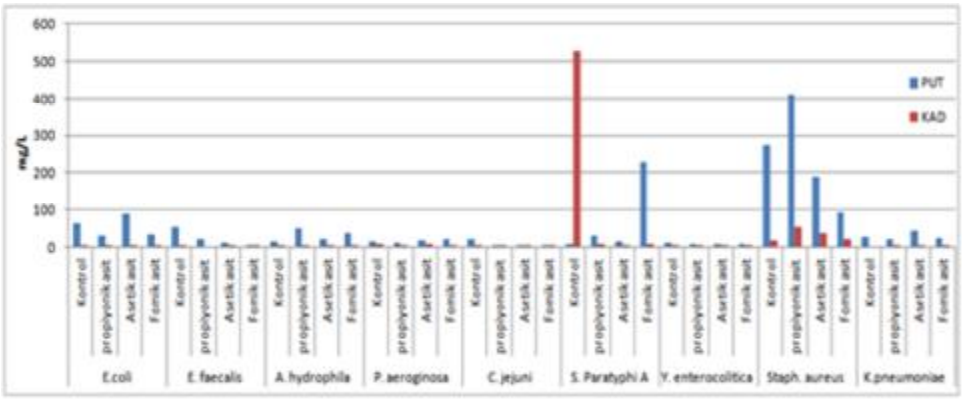
Yapılan bu çalışmada referans bakteriler içerisinde en yüksek AMN üretim miktarı *A.hydrophila* tarafından 404.20 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Bensid ve ark., (2016) yaptıkları bir çalışmada *A. hydrophila* tarafındanAMN miktarını 1250.40 mg/L olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda organik asit uygulamalarının *A. hydrophila* bakterisinin AMN üretimini 179.36 mg/L'e kadar azalttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Hamsi infüzyon dekarboksilaz sıvısında test edilen bozucu bakterilerin yüksek miktarda amonyak üretimi gerçekleştirmiş olduğu ve en yüksek amonyak üretimi *Pseudomonas oryzihabitans* tarafından2 770.23 mg/L olduğu belirtilmiştir (Yavuzer ve ark.,2016).Tirosin dekarboksilaz sıvısında *P. aeruginosa, S.* Paratyphi A ve *S. aureus* bakterilerinin amonyak üretimi sırasıyla 844.24, 836.47, 808.05 mg/L olarak belirtilmiştir (Küley, 2016). tarafından gerçekleşmiştir.Çalışmamızda, *P. aeruginosa* tarafından AMN üretimi 171.77 mg/L olarak saptanmıştır. *E. faecalis, P. aeruginosa, C. jejuni, S.* ParatyphiA ve *S. aureus* bakterileri tarafından üretilen AMN miktarının organik asit katkılarıyla önemli düzeyde azaldığı gözlenmiştir. *E. coli* bakterisinin AMN üretimi 275.01 mg/L olup, asetik asit ugulaması üretim miktarını etkilemezken, propiyonik ve formik asit uygulamaları bakterinin AMN üretimi azalttığı tespit edilmiştir (168.03 ve 142.65 mg/L). *Y. enterocolitica* tarafından üretilen AMN miktarı 286.64 mg/L olup, propiyonik asit

uygulaması bu oranı 234.98 mg/L'e asetik asit uygulaması ise bu oranı 161.08 mg/L'e düşürmüştür. Formik asit uygulaması ise bakteriyi AMN üretimine teşvik ederek üretimi 415.03 mg/L'e yükselttiği belirlenmiştir. *K. pneumoniae* tarafından üretilen AMN miktarı ise 281.05 mg/L olup, propiyonik asitin bu oranı arttırdığı (443.71mg/L), asetik ve formik asitin bu oranı önemli düzeyde düşürdüğüı kaydedilmiştir (66.14, 151.67mg/L). Gökdogan (2011) yaptıkları bir çalışmada *K. pneumoniae*'nın 139.84 mg/L AMN ürettiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmada bakteriler tarafından en yüksek düzeyde üretilen biyojen amin sırasıylaPUT, KAD, TİR, DOP ve AGM olmuştur. Referans bakteriler tarafından üretilen biyojen aminlerden PUT en yüksek üreten *S. aureus*, KAD ve AGM en yüksek *S.* Paratyphi A, TİR ve DOP'ni en yüksek seviyede üreten *E. coli* bakterileri tarafından üretilmiştir.

Ozogul ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada tirosin dekarboksilaz sıvısında *K. pneumoniae, E. coli* and *S.* Paratyphi A gibi *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* üyeleri 11 ve 39 mg/L arasında PUT ürettiğini rapor etmiştir. *Staphylococcus* üyelerinin yüksek miktarda PUT ve FEN (>100 mg/L) oluşturduğu gözlenmiştir (Seitter ve ark., 2011). Yapmış olduğumuz çalışmamızda *S. aureus* bakterisi tarafından üretilen PUT 275.98 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik asit uygulaması ile bu oranın 410.82 mg/L'e yükseldiği gözlenmiştir. Asetik ve formik asit uygulamaları ise bakterinin PUT üretimini sırasıyla 188.55 ve92.18 mg/L'e kadar önemli düzeyde düşürdüğü kaydedilmiştir. *E. co*li tarafından üretilen PUT miktarı 63.27 mg/Lolup, propiyonik ve formik asit uygulamaları PUT üretimini istatiksel olarak aynı oranda azaltırken (30.35mg/L, 33.41mg/L) , asetik asitin bu üretimi arttırdığı (90.72mg/L) gözlenmiştir. Landete ve ark. (2008) *P. aeruginosa'*nın *E. faecalis ve Bacillus* cereus'a kıyasla daha yüksek PUT üretim yeteneğine sahip olduğunu bulmuştur. *Enterobacteriaceae* üyeleri PUT ve CAD üretiminden sorumlu bakterilerdir (Bovercid ve Holzapfel, 1999). Bu çalışmada *E. faecealis* tarafından PUT üretimi 53.90 mg/L olup, propiyonik, asetik ve formikasit bu üretimi sırasıyla 21.95,11.16 ve 4.56 mg/L'e düşürmüştür. *P.*

aeruginosa ve *S.* Paratyphi A bakterileri tarafından PUT üretimi sırasıyla 13.23 ve 6.74 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit katkılarıyla bakterilerin PUT üretiminin önemli düzeyde yükseldiği kaydedilmiştir. Tavuk derisinden izole edilen 7 farklı *Aeromonas* üyesinin PUT (<3.7 mg/L) ve 5 üyesinin de KAD ürettiği (73.8 mg/L) gözlenmiştir (Bunkova ve ark., 2010). *A. hydrophila* bakterisi tarafından PUT üretim oranı 14.98 mg/L iken propiyonik asit uygulaması bu üretimi 11.70 mg/L'e düşmüştür. Asetik ve formik asit uygulamaları ise PUT üretimini sırasıyla 16.65, 19.78 mg/L'e düşürmüştür. *Y. enterocolitica* ve *C. jejuni* tarafından üretilen PUT sırasıyla 27.70 ve 35.49 mg/L düzeyinde olduğu rapor edilmiştir (Küley, 2016). Çalışmamızda *C. jejuni* ve *Y. enterocolitica* bakterilerinin PUT üretiminin organik asit uygulamaları ile düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. *K. pneumoniae* bakterisinin PUT üretimi 28.37 mg/L olarak belirlenmiş olup propiyonik ve formik asitin bu oranı düşürdüğü (19.93 ve 23.59mg/L), asetik asidin ise bu oranı yükselttiği kaydedilmiştir (44.73 mg/L).



Şekil 4.7. Tirozin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi

Küley (2016) gıda kaynaklı patojen bakteriler tarafından kadaverin üretiminin 3.03 mg/L'nin üzerinde olduğunu rapor etmişlerdir. Referans bakterilerde KAD üretimi 527.31 mg/L ile en fazla *S.* Paratyphi A bakterisinde

belirlenmiştir. Organik asit uygulamaları ile bu oranın 1.49 mg/L' ye kadar önemli düzeyde düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (P<0.05). ***E. Faecalis*** tarafından üretilen KAD asetik ve formik asit uygulamaları ile düşüş sergilediği, propiyonik asitin ise bu bakterinin KAD üretimini tamamen inhibe ettiği belirlenmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısındaKAD birikiminin ***E. faecalis*** için 2.5 mg/L ve *S.* Paratyphi A için ise18.6 mg/L arasında olduğurapor edilmiştir (Ozogul ve ark., 2005). ***E. coli*** tarafından üretilen KAD miktarı 4.24 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik ve formik asit katkılarıyla bu oran azalırken (3.12 ve 1.79mg/L), asetik asit katkısıyla üretim de yükseliş olduğu (5.84mg/L) gözlenmiştir. ***P. aeruginosa*** KAD üretimi 1.82 mg/L olup, asetik ve formik asitin üretimi yükselttiği tespit edilmiştir (5.84, 2.56 mg/L). ***A. hydrophila*** ve ***Y. enterocolitica*** bakterilerinin PUT üretimi sırasıyla 7.91, 4.29 mg/L olarak belirlenmiş olup organik asit muamelelerinin bakterilerin PUT üretimini azalttığı kaydedilmiştir. ***C. jejuni*** tarafından KAD üretimi 0.48 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik ve asetik asit katkılarının üretimi istatiksel olarak aynı düzeyde yükselttiği gözlenirken, formik asit katkısının üretimi düşürdüğü (0.14 mg/L) kaydedilmiştir. ***Klebsiella*** üyeleri tirosince zengin besiyerinde 28 mg/LKAD üretmiştir (Özogul ve Özogul, 2007). Çalışmamızda ***S.aureus*** bakterisinin 19.18 mg/L KAD ürettiği gözlenirken, ***K. pneumoniae*** tarafından KAD üretiminin gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Organik asit katkıları ile bu bakterilerin KAD üretim miktarının artış gösterdiği bulunmuştur. Tirosin dekarboksilaz sıvısında ***K. pneumoniae*** 1.29 mg/L KAD üretme yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. (Küley ve Özogul, 2011).

Bensid ve ark. (2016) *S.* Paratyphi A tarafından SPD üretimini 2.63 mg/L olarak belirtmişlerdir. Çalışmamızda *S.* Paratyphi A bakterisi 227.88 mg/L SPD üretimi ile test bakterileri arasında en yüksek seviyede SPD üreten bakteri olduğu tespit edilmiştir. Formik asit uygulaması ile bu miktarın 177.13 mg/L'e düştüğü gözlenirken, propiyonik ve asetik asit katkıları üretime istatiksel olarak aynı oranda etki ederek bakterinin SPD üretim miktarını önemli ölçüde düşürdüğü kaydedilmiştir (5.12 mg/L). Gökdogan (2011) yaptıkları bir çalışmada ***E. coli*** ve ***E.***

faecaliste bakterilerinin SPD üretimini sırasıyla 5.53 ve 6.27 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Küley (2016) ise *C. jejuni* tarafından SPD üretimini 37.71 mg/L olarak bulmuşlardır. *E. coli. E. faecalis* ve *C. jejuni* bakterileri tarafından SPD üretimi sırasıyla 3.32. 3.89 ve 1.88 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Organik asit uygulamaları bu bakteriler üzerinde farklı etkiler göstermiştir. Propiyonik asit ilavesi *E. faecalis* ve *C. jejuni* bakterilerinin SPD üretimini azaltırken. *E. coli* bakterisinin üretimini tamamen inhibe ettiği gözlenmiştir. Asetik asit ilavesi *E.coli*'in SPD üretimini arttırırken, *E. faecalis*' in üretimini azaltmış, *C. jejuni*'nin üretimini ise tamamen durdurduğu tespit edilmiştir. Formik asit katkısının ise *E. coli* ve *C. jejuni* bakterilerinin SPD üretimini arttırdığı, *E. faecalis* bakterisinin üretimine ise % 100 etki ederek üretimini durdurduğu gözlenmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *Klebsiella* spp. tarafından SPD üretimi 22-39 mg/L olmuştur (Özogul ve Özogul, 2007; Kuley ve Ozogul, 2011). Bu çalışmada ise *K. pneumoniae* tarafından SPD üretimi 3.64 mg/Lolmuştur.

Çizelge 4.9. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Referans Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi (mg/L)

Mikroorganizmalar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
E. coli	275.01^{a}±12.44^{AV}	63.27±4.18^{b}	4.24±0.22^{b}	3.32±0.06^{b}	1.53±0.04^{c}	4.12±0.05^{b}	14.51±0.64^{d}	2.26±0.17^{a}	12.93±0.35^{b}	578.22±24.65^{b}	20.16±0.34^{a}	400.08±7.54^{a}	150.24±2.70^{b}	KONT
	168.03±3.06^{b}	30.35±1.25^{c}	3.12±0.06^{c}	0.00±0.00^{d}	1.29±0.05^{d}	0.28±0.01^{d}	20.79±0.30^{b}	0.25±0.01^{d}	17.94±1.12^{b}	700.78±64.29^{a}	9.93±0.33^{b}	247.03±12.30^{c}	127.47±3.74^{c}	PROP
	286.55±6.34^{a}	90.72±6.04^{a}	6.84±0.13^{a}	4.64±0.24^{a}	2.94±0.01^{a}	4.52±0.37^{a}	24.74±1.18^{a}	0.56±0.02^{c}	25.46±1.27^{a}	1517.62±41.39^{a}	9.48±0.22^{b}	359.40±17.84^{a}	144.02±8.99^{b}	AST
	142.65±9.57^{c}	33.41±1.36^{c}	1.79±0.06^{c}	4.06±0.18^{b}	1.60±0.06^{b}	2.24±0.17^{c}	44.79±1.75^{a}	1.16±0.08^{b}	17.05±0.90^{b}	116.57±7.52^{c}	2.14±0.08^{c}	211.22±9.43^{c}	168.83±9.87^{a}	FORM
E.faecalis	104.37±3.39^{a}	53.90±2.16^{a}	1.51±0.13^{a}	3.89±0.35^{a}	1.73±0.05^{a}	1.22±0.07^{a}	11.45±0.50^{c}	3.90±0.05^{a}	11.55±0.15^{b}	29.66±1.88^{a}	5.64±0.39^{a}	375.02±30.80^{a}	77.12±2.47^{c}	KONT
	93.73±3.17^{b}	21.95±1.45^{b}	0.00±0.00^{c}	0.89±0.02^{b}	0.00±0.00^{b}	1.07±0.07^{a}	27.72±1.94^{b}	0.82±0.06^{c}	5.98±0.41^{c}	16.18±0.28^{b}	0.64±0.01^{c}	258.64±19.74^{b}	161.08±8.75^{b}	PROP
	48.38±3.23^{c}	11.16±0.54^{c}	0.45±0.03^{b}	0.72±0.05^{b}	0.00±0.00^{b}	0.88±0.05^{c}	36.37±0.52^{a}	0.29±0.01^{d}	6.83±0.30^{b}	16.74±0.64^{b}	3.56±0.19^{b}	220.01±5.00^{b}	126.66±1.53^{b}	AST
	50.14±2.66^{c}	4.56±0.09^{d}	0.47±0.02^{b}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{b}	0.22±0.01^{d}	35.71±1.49^{a}	0.39±0.01^{b}	6.40±0.16^{bc}	6.26±0.54^{c}	2.48±0.19^{c}	225.56±17.97^{b}	123.17±6.56^{b}	FORM
P. aeruginosa	112.04±4.57^{a}	13.23±0.11^{d}	1.82±0.05^{c}	2.19±0.07^{a}	0.15±0.01^{c}	1.55±0.08^{b}	19.54±0.99^{b}	0.00±0.00^{d}	7.61±0.06^{c}	27.85±1.58^{c}	0.86±0.04^{c}	123.45±5.96^{a}	96.41±3.23^{b}	KONT
	42.41±1.84^{c}	51.23±0.78^{a}	2.00±0.14^{c}	9.13±0.38^{a}	1.55±0.05^{b}	5.33±0.37^{a}	60.57±3.46^{a}	0.63±0.01^{c}	33.24±1.62^{a}	53.81±2.35^{a}	1.93±0.06^{a}	103.45±5.21^{b}	103.43±2.70^{a}	PROP
	106.97±2.55^{ab}	21.46±0.20^{c}	5.84±0.22^{a}	2.54±0.06^{c}	1.44±0.08^{b}	0.95±0.02^{c}	13.48±0.31^{c}	0.79±0.01^{b}	21.57±1.00^{b}	23.15±0.45^{b}	1.31±0.09^{b}	107.96±2.74^{b}	69.19±2.34^{c}	AST
	101.93±3.88^{b}	37.16±1.99^{b}	2.56±0.06^{b}	3.36±0.19^{b}	0.22±0.01^{c}	1.56±0.07^{b}	16.11±0.78^{bc}	1.09±0.02^{a}	20.22±0.46^{b}	33.62±1.87^{b}	1.66±0.07^{a}	78.79±2.48^{c}	88.78±6.35^{c}	FORM
A. hydrophila	484.20±4.32^{a}	14.96±0.24^{c}	7.91±0.48^{a}	37.65±6.79^{b}	7.66±0.34^{c}	0.00±0.00^{c}	32.02±1.74^{c}	4.42±0.04^{c}	69.84±3.59^{b}	18.66±1.30^{c}	1.84±0.04^{a}	68.41±2.53^{b}	143.46±6.66^{a}	KONT
	179.36±1.67^{d}	11.70±0.83^{c}	2.67±0.12^{c}	33.82±6.93^{b}	17.44±0.87^{a}	9.69±0.33^{b}	38.64±1.46^{b}	5.11±0.13^{b}	181.89±7.68^{a}	23.80±0.77^{b}	1.26±0.04^{b}	168.97±7.20^{a}	125.89±7.19^{b}	PROP
	200.60±2.46^{b}	16.65±0.85^{b}	6.79±0.22^{b}	44.94±3.55^{a}	15.91±0.43^{b}	0.00±0.00^{c}	65.77±4.95^{a}	14.66±0.94^{a}	36.54±0.27^{c}	26.29±0.77^{a}	0.46±0.01^{c}	32.93±1.37^{c}	141.49±3.45^{b}	AST
	273.24±12.44^{a}	19.78±0.67^{a}	1.66±0.06^{c}	17.71±6.18^{c}	7.02±0.21^{c}	11.82±6.27^{a}	39.66±2.19^{b}	11.26±0.26^{b}	71.34±4.48^{b}	21.68±0.61^{c}	0.93±0.06^{c}	75.80±1.39^{b}	125.68±7.71^{a}	FORM

AMN, amonyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HIS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-fenil-etilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TIR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin; AGM, agmatin. X aritmetik ortalama, y standart sapma. (a-d) Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır ($P < 0.05$) n=3

Çizelge 4.9' un devamı

Mikroorganizmalar	AMİN	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
C. jejuni	119.60^{a}±5.86^{AB}	19.55±0.49^{B}	0.48±0.04^{B}	1.88±0.07^{B}	3.39±0.02^{B}	0.00±0.00^{C}	15.06±0.37^{A}	0.96±0.06^{B}	11.96±0.13^{C}	34.08±0.31^{C}	1.65±0.04^{D}	156.82±5.49^{B}	127.27±2.93^{D}	KONT
	65.21±2.26^{D}	0.70±0.05^{C}	1.09±0.05^{B}	1.70±0.04^{C}	0.28±0.00^{C}	1.69±0.07^{D}	33.66±1.13^{C}	0.00±0.00^{C}	22.45±1.80^{D}	12.52±0.76^{D}	3.47±0.11^{A}	62.81±3.69^{E}	86.18±0.46^{E}	PROP
	57.36±2.86^{E}	0.49±0.02^{C}	1.17±0.08^{B}	0.00±0.00^{D}	0.43±0.03^{D}	0.59±0.01^{E}	41.63±3.75^{B}	0.09±0.00^{C}	7.80±0.23^{E}	42.59±2.00^{B}	1.32±0.05^{C}	35.91±2.41^{A}	150.05±0.93^{A}	AST
	66.74±2.26^{D}	4.15±0.36^{D}	0.14±0.01^{C}	3.88±0.09^{A}	0.00±0.00^{D}	2.67±0.09^{C}	51.69±0.45^{A}	0.07±0.01^{C}	63.29±2.52^{A}	66.44±1.29^{A}	0.94±0.05^{E}	91.86±0.85^{D}	111.56±0.99^{C}	FORM
S. Paratyphi A	248.49±17.10^{B}	6.74±0.01^{C}	527.31±2.15^{A}	227.89±10.69^{A}	21.20±1.69^{A}	23.48±0.56^{A}	112.49±7.80^{A}	6.29±0.16^{A}	630.97±13.58^{A}	7.31±0.34^{C}	194.48±8.81^{A}	237.81±11.79^{A}	177.56±10.57^{A}	KONT
	165.77±4.41^{B}	30.29±0.57^{A}	8.42±0.18^{B}	6.46±0.24^{C}	2.62±0.14^{C}	3.07±0.10^{D}	17.05±0.95^{C}	0.28±0.01^{C}	19.23±0.46^{C}	153.16±0.41^{A}	0.30±0.01^{C}	95.40±1.34^{B}	92.44±4.40^{C}	PROP
	140.51±1.16^{C}	15.91±1.06^{C}	1.49±0.02^{C}	5.12±0.12^{C}	0.44±0.02^{C}	0.51±0.01^{E}	43.63±1.13^{C}	0.00±0.00^{C}	108.69±7.89^{B}	3.30±0.18^{C}	6.18±0.26^{C}	101.62±3.54^{A}	138.31±3.79^{C}	AST
	112.35±4.73^{C}	229.34±7.52^{A}	7.61±0.18^{C}	177.13±11.66^{B}	110.72±7.16^{A}	1.98±0.04^{C}	51.85±1.14^{A}	0.36±0.02^{C}	297.91±19.92^{A}	10.76±0.40^{D}	76.87±2.94^{A}	73.22±1.69^{C}	152.95±9.59^{B}	FORM
Y. enterocolitica	286.64±10.95^{B}	12.38±0.37^{A}	4.29±0.11^{A}	2.40±0.20^{D}	3.98±0.04^{A}	0.00±0.00^{C}	59.30±2.29^{B}	0.29±0.01^{A}	28.69±0.92^{A}	231.36±20.82^{D}	1.36±0.00^{D}	174.75±0.36^{C}	151.54±13.54^{B}	KONT
	234.98±4.53^{C}	9.18±0.48^{B}	0.80±0.05^{C}	1.85±0.07^{C}	1.07±0.07^{D}	1.29±0.06^{B}	40.82±2.03^{C}	0.00±0.00^{C}	12.54±0.79^{C}	326.30±25.33^{A}	7.45±0.29^{B}	230.18±11.57^{A}	82.02±4.54^{C}	PROP
	161.08±4.03^{E}	8.84±0.58^{C}	1.46±0.01^{C}	1.78±0.09^{C}	0.75±0.02^{C}	1.52±0.03^{D}	47.14±3.36^{B}	0.00±0.00^{C}	15.13±0.09^{C}	220.38±2.14^{B}	0.91±0.03^{C}	249.39±8.33^{A}	277.49±3.07^{A}	AST
	415.03±21.49^{A}	9.56±0.47^{B}	2.63±0.14^{A}	2.64±0.10^{A}	0.00±0.00^{C}	2.95±0.26^{B}	22.09±0.22^{C}	0.00±0.00^{C}	16.17±0.61^{B}	130.53±8.20^{C}	1.07±0.05^{C}	181.75±7.63^{C}	162.48±6.25^{B}	FORM
S. aureus	181.35±9.68^{A}	275.98±1.54^{A}	19.18±0.79^{A}	2.72±0.09^{D}	0.22±0.01^{C}	0.00±0.00^{D}	29.88±0.06^{B}	0.00±0.00^{C}	7.87±0.21^{C}	7.24±0.40^{C}	0.92±0.03^{D}	30.68±1.57^{A}	79.57±5.57^{D}	KONT
	116.35±7.10^{B}	410.82±14.97^{A}	52.66±2.79^{A}	4.53±0.10^{A}	2.24±0.01^{A}	0.00±0.00^{D}	26.66±0.93^{B}	0.00±0.00^{C}	14.98±0.90^{D}	9.98±0.51^{D}	0.83±0.02^{E}	28.97±0.40^{C}	78.59±3.77^{D}	PROP
	101.65±1.86^{C}	188.55±9.77^{C}	36.63±2.50^{B}	2.50±0.07^{C}	1.15±0.05^{B}	0.00±0.00^{D}	38.91±2.26^{A}	0.19±0.01^{C}	11.03±0.83^{C}	14.24±0.68^{A}	1.08±0.04^{B}	1.46±0.06^{E}	110.93±4.25^{B}	AST
	104.24±2.60^{C}	92.18±3.00^{E}	20.19±0.70^{C}	1.99±0.07^{A}	0.50±0.02^{C}	0.00±0.00^{D}	40.43±3.00^{A}	0.62±0.01^{A}	17.86±0.61^{A}	8.71±0.46^{C}	0.47±0.01^{E}	43.91±0.71^{A}	71.60±3.34^{E}	FORM
K. pneumoniae	281.05±10.35^{B}	28.37±1.55^{B}	0.00±0.00^{E}	3.64±0.25^{B}	1.11±0.01^{B}	1.54±0.04^{B}	9.52±0.33^{E}	0.00±0.00^{C}	5.86±0.45^{D}	149.95±1.05^{C}	2.99±0.16^{B}	265.87±7.68^{B}	121.66±5.21^{A}	KONT
	443.71±7.62^{A}	19.93±0.47^{B}	1.18±0.05^{B}	1.91±0.10^{C}	0.17±0.01^{C}	1.72±0.06^{B}	14.72±0.65^{D}	0.77±0.04^{A}	8.00±0.38^{D}	302.87±6.61^{A}	0.32±0.01^{D}	367.60±16.45^{A}	101.64±0.78^{D}	PROP
	66.14±4.17^{D}	44.73±1.11^{A}	0.69±0.01^{D}	5.38±0.34^{A}	0.00±0.00^{D}	0.00±0.00^{D}	20.37±0.42^{B}	0.47±0.01^{B}	6.02±0.31^{D}	283.43±10.99^{B}	0.69±0.01^{B}	220.49±5.82^{D}	102.75±3.49^{D}	AST
	151.67±3.44^{C}	23.59±0.69^{C}	1.42±0.09^{A}	0.70±0.03^{E}	0.26±0.01^{D}	0.57±0.03^{C}	26.37±1.39^{A}	0.76±0.03^{A}	5.22±0.12^{C}	132.48±8.97^{C}	0.33±0.02^{C}	224.38±8.93^{C}	102.15±6.40^{D}	FORM

AMİN, amonyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HİS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-fenil-etilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TİR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin. AGM, aşmatin. X aritmetik ortalama. y standart sapma. (a-d) Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır (P < 0.05). n=3

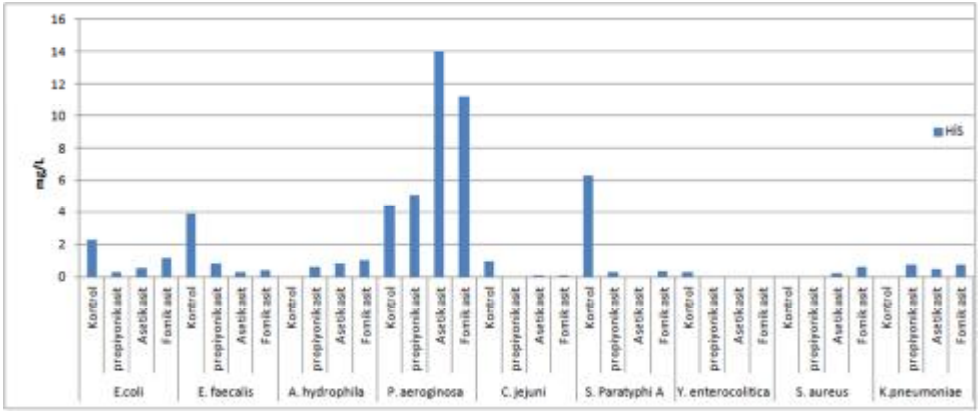
Gökdoğan (2011) *E. faecaliste'* nin TRPT üretimini 0.22mg/L olarak rapor etmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada *E. faecalis* bakterisinin TRPT üretimi 1.73 mg/L olup, organik asit uygulamaları bakterinin TRPT üretimini tamamen inhibe ettiği gözlenmiştir. *C. jejuni* ve *Y. enterocolitica* bakterilerinin TRPT üretimi sırasıyla 3.39 ve 3.98 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Propiyonik ve asetik asit uygulamaları bakterilerin TRPT üretimini azaltırken, formik asit uygulamasının bu üretimi tamamen inhibe ettiği belirlenmiştir. Küley (2016) *S.* Paratyphi A'nın TRPT üretimi gerçekleştirmediğini belirtirken çalışmamızda bu bakteri 21.20 mg/L TRPT üretmiştir. Organik asit uygulamaları ile bakterinin TRPT üretimi değişkenlik göstermiştir. Propiyonik ve asetik asit varlığı TRPT üretimini sırasıyla 2.62, 0.44 mg/L'e düşürürken, formik asit uygulaması üretimi önemli düzeyde arttırarak 110.72 mg/L'e yükselttiği tespit edilmiştir. Ozogul ve ark. (2016) *K. pneumoniae'* nınlizin dekarboksilaz sıvısında TRPT üretme yeteneğinin olmadığını bulmuşlardır. Çalışmamızda *K. pneumoniae* 1.11 mg/L TRPT üretmiş olup, propiyonik ve formik asit bu oranı azaltırken, asetik asitin üretimi tamamen inhibe ettiği kaydedilmiştir.

Bensid ve ark (2016) yaptıkları bir çalışmada arjinin dekarboksilaz sıvısında *E. faecalis* ve *S.* Paratyphi A tarafından FEN üretimini sırasıyla 7.03 ve 9.51 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada *E. faecalis* ve *S.* Paratyphi A bakterilerinin FEN üretiminin organik asit katkıları ile azaldığı belirlenmiştir. *C. jejuni* ve *Y. enterocolitica* tarafından FEN üretimi gözlenmediği, *A.hydrophila*' nın ise 0.97 mg/L olarak üretildiği bildirilmiştir (Küley, 2016). *A. hydrophila*, *C. jejuni* ve *Y. enterocolitica* bakterilerinin FEN üretmediği tespit edilmiştir. Organik asit uygulamaları bakterilerin FEN üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Buna karşın propiyonik asit uygulamasının *A.hydrophila* bakterisinin üretimi üzerine herhangi bir etkisi belirlenmemiştir. *S. aureus* tarafından FEN üretimi gözlenmemiş olup organik asit uyglamalarının üretime herhangi bir etkisi olmamıştır.

Çalışmamızda *E. coli. E. faecaliste. A.hydrophila. C. Jejuni* ve *K. pneumoniae* bakterileri tarafından üretilen SPN organik asit uygulamaları ile artış gösterdiği tespit edilmiştir. Küley (2016), *C. jejuni* ve *A. hydrophila* tirosin dekarboksilaz sıvında sırasıyla 46.78 ve 37.21 mg/LSPN üreten bakteriler olduğunu bulmuşlardır. *S.*Paratyphi A ve *Y. enterocolitica* bakterilerinin SPN üretimi sırasıyla 112.49 ve 59.30 mg/L olarak kaydedilmiştir. Organik asit ilavelerinin, SPN üretim miktarını önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Gökdogan ve ark. (2016) *S.* Paratyphi A tarafından SPN üretimini 24.83mg/L olarak rapor etmişlerdir.

Balık etinin parçalanmasıyla beraber, ette mevcut olan histidin bakteriler tarafından dekarboksile olur ve HİS üretilir (Fadhlaoui-Zid ve ark., 2012). *Escherichia, Salmonella, Clostridium,* ve *Bacillus* gibi bazı patojenik bakterilerin HİS dekarboksilaz aktivitesi gösterdiği bildirilmektedir (Ordonez ve ark., 1999). *Klebsiella oxytoca*'ın lizin dekarboksilaz sıvısında 325 mg/L değer ile en yüksek HİSüreticisi olduğu bulunmuştur (Özoğul ve Özoğul. 2005). Referans bakteriler arasında *P. aeruginosa, S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin HİS üretimi gerçekleştirmediği tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarının bakterilerin HİS üretimini arttırdığı gözlenmiş olup propiyonik asitin *S. aureus* bakterisine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Chang ve ark.(2008) *S. aureus* izolatlarının kültür ortamında 12.7 ve 33.0 mg/kgarasında HİS ürettiğini rapor etmiştir. Küley ve Özoğul (2011) yapmış oldukları bir çalışmada tirosin dekarboksil sıvısı içinde *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerinin HİS üretimini sırasıyla 1.21 ve603.39 mg/L olarak belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada tirosin dekarboksilaz sıvısındaHİSüretimi *S. aureus* bakterisinde 2 mg/L ve *E. faecalis* bakterisinde 51.42 mg/Lolarak rapor edilmiştir (Küley, 2016). Yapmış olduğumuz çalışmada *E. coli* ve *E. faecalis* tarafından üretilen HİS miktarı sırasıyla 2.26, 3.90 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit katkıları ile *E. coli*'nin HİS üretiminin 0.26 mg/L'e, *E. faecalis'in* HİS üretiminin 0.29 mg/L'e kadar düştüğü kaydedilmiştir. *A. hydrophila, E. coli, P. aeuginosa* ve *S. aureus* tirosin dekarboksilaz sıvısında

yüksek miktarda HİS üretirken, *E. faecalis* 1.21 mg/L histamin üretmiştir **(**Kuley ve Ozogul, 2011). *A.hydrophila* tarafından üretilen HİS miktarı 4.42 mg/Lolup, asetik ve formik asit uygulamalarınınüretimi arttırdığı belirlenmiştir (14.06, 11.26 mg/L). *C. jejuni* bakterisi tarafından HİS üretimi 0.96 mg/L şeklinde bulunmuştur. Asetik ve formik asit katkıları üretimi azaltırken, Propiyonik asit katkısının ise üretimi tamamen inhibe ettiği kaydedilmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *S.* Paratyphi A tarafından HİS üretimi 2.03 mg/L olarak gerçekleştiği bulunmuştur (Ozogul ve ark. 2015). *S. paratyphi* tarafından üretilen HİS 6.29 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik ve formik asit varlığının üretimini düşürmüş olup, asetik asit tamamen engellemiştir. Küley (2016) *Y. enterocolitica'* nın HİS üretimini 1.36 mg/L olarak bulmuştur. *Y. enterocolitica* bakterisi 0.29 mg/L HİS üretimi gerçekleştirmiştir. Organik asit uygulamaları ile bakterinin HİS üretimi tamamen inhibe edildiği tespit edilmiştir. Gıdalarda histamin birikimi ve histidin dekarboksilaz aktivitesi mikroorganizma türü, ortamdaki histidine ve karbonhidrat kosantrasyonu (Arnold ve Brown, 1978; Edmunds ve Eitenmiller, 1975), oksijen düzeyi (Frank ve Yoshinaga, 1985), vitaminler ve koenzimler, sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonu (Chen ve ark., 1989), ve kofaktör olarak pyridoksal hidrokloridden (Taylor, 1986) etkilenmektedir.

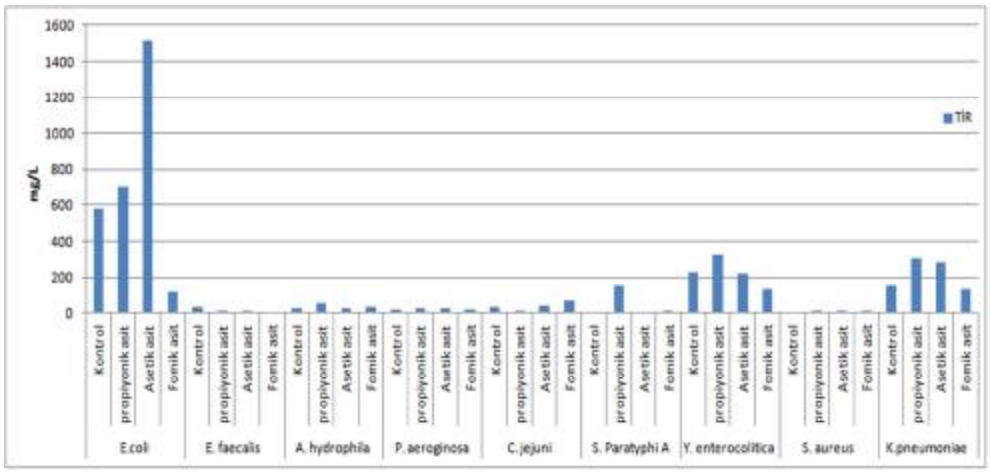


Şekil 4.8. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından histamin üretimi

Özogul ve ark (2016) *S.* Paratyphi A*'* nın lizin dekarboksilaz sıvısında SER üretimini 1.23 mg/Lolarak rapor etmişlerdir.Yapılan bu çalışmada en yüksek SER üretiminin referans bakteriler arasında *S.* Paratyphi A tarafından 630.97 mg/L olarak gerçekleştiği gözlenirken, *K. pneumoniae* bakterisinin SER üretimini 5.86 mg/L ile en az düzeyde ürettiği tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarının bakterilerin SER üretimi üzerine farklı etkileri olduğu kaydedilmiştir. *S.* Paratyphi A' nın SER üretimini 19.23 mg/L'e kadar düşürürken, *K. pneumoniae'*da asitlerin etkileri değişiklik göstermiştir. Organik asit uygulamalarının *E. coli. E. faecalis* ve *Y. enterocolitica* bakterilerinin SER üretimi azalttığı gözlenmiştir. *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerinin SER üretimi sırasıyla 7.61 ve 7.87 mg/L olarak tespit edilmiş olup, organik asit uygulamaları bakterilerin SER üretimini arttırdığı belirlenmiştir. Bensid ve ark., (2016) yaptıkları bir çalışmada *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterileri tarafından SER üretimi sırasıyla 32.75 ve 5.09 mg/L olarak bulmuşlardır.

Von Beutling (1993) yaptığı bir çalışmada, *Enterococcus* ve *Pseudomonas'* ın TİR üretirken, *Escherichia*'nın TİR üretmediğini belirtmiştir. Yaptığımız çalışmada bakterilerin TİR üretiminde en yüksek üretim miktarının 578.22 mg/L ile *E. coli* tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Propiyonik asit uygulaması ile bu oranı 700.78 mg/L'e asetik asit uygulaması ile 1517.62 mg/L'e kadar yükseldiği gözlenmiştir. Formik asit uygulaması ise bu oranı önemli düzeyde düşürmüştür (116.57 mg/L). Küley ve Özoğul (2011) tirosin dekarboksil sıvı içinde üretilen *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerinin TİR üretiminin sırasıyla 1.65 ve 6.25mg/L olarak bulmuşlardır. Yapılan bu çalışma ile *E. faecalis* tarafından üretilen TİR miktarı 29.66 mg/L, *S. aureus* tarafından üretilen TİR miktarı ise 7.87 mg/L olarak saptanmıştır. Organik asit uygulamaları ile *E. faecalis'*in TİR üretimi azalırken, *S. aureus'* unTİR üretiminin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kucerova ve ark. (2009) süt ve peynirden izole edilen *Enterococcus* üyelerinin çoğunun tirosin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Ozogul ve ark. (2005) tirozin dekarboksilaz sıvısında *A. hydrophila* (449 mg/L) ve *S. aureus* (470

mg/L) tarafından tiramin birikiminin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. *Aeromonas* ve *Pseudomonas* spp. üyeleri sırasıyla 1.3 ve 7.27 mg/L TİR üretmiştir (da Silva ve ark., 2002). *P. aeruginosa* tarafından üretilen TİR miktarı 27.85 mg/L olarak belirlenmiştir. Propiyonik ve formik asit ilavesinin üretimi arttırdığı tespit edilmiştir (sırasıyla 53.81 ve 33.02 mg/L). Asetik asit ilavesi ise bu bakterinin TİR üretimini 23.15 mg/L' ye düşürdüğü kaydedilmiştir. *A.hydrophila* ve *C. jejuni* bakterilerinin TİR üretimi sırasıyla 18.86 ve 34.08 mg/L olarak tespit edilmiştir. Organik asit uygulamaları bakterilerin TİR üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Buna karşın propiyonik asit uygulamasının *C. jejuni* bakterisinin TİR üretimi düşürdüğü belirlenmiştir (12.52 mg/L). Kuley ve Ozogul (2011) test edilen gıda kaynaklı patojenlerin tüm üyelerinin tirozini dekarboksile ettiği *S.* Paratyphi A'nın en yüksek dekarboksilaz aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır (39.21 mg/L). Çalışmamızda *S.* Paratyphi A tarafından TİR üretimi 7.31 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik ve formik asit bu üretimi yükseltirken, asetik asitin üretimi düşürdüğü saptanmıştır (3.30 mg/L). *Y. enterocolitica* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin TİR üretimi sırasıyla 231.36 ve 149.95 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik asit uygulaması bakterilerin TİR üretimi artırırken, formik asit uygulaması ise üretimi azaltmıştır. Asetik asit uygulaması ise *Y. Enterocolitica'*nın TİR üretimine etki etmez iken, *K. Pneumoniae'*nın TİR üretimini teşvik ettiği kaydedilmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *P. aeruginosa* önemli düzeyde TİR üretmiştir (1580 mg/L) (Kuley ve Ozogul, 2011). Bu çalışmada *P. aeruginosa'* nınTİR üretimi 27.85 mg/L olarak saptanmıştır. Houicher ve ark. (2013) *Pseudomonas oryzihabitans'*ın tirosin dekarboksilaz sıvısında 1649 mg/L değerinde en yüksek tiramin birikimine yol açan bakteri olduğunu bildirmiştir.Tirosin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler 10 mg/L'nin üzerinde tiramin üretmişlerdir (Küley, 2016).



Şekil 4.9. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler tarafından tiramin üretimi

Küley (2016) gıda kaynaklı patojen bakteriler tarafından TMA üretimini 135 mg/L'ın altında olduğunu rapor etmiştir. Yaptığımız çalışmada *E. coli, .E. faecalis, A.hydrophila. S.* Paratyphi A ve *K. pneumoniae* bakterileri tarafında üretilen TMA miktarının organik asit uygulamalarıyla azalış gösterdiği tespit edilmiştir. Küley ve Özogul (2011) test edilen patojen bakteriler arasında tirosin dekarboksilaz sıvısında *P. aeruginosa*'nın TMA üretiminden sorumlu başlıca bakteri olduğunu (57 mg/L), diğer bakterilerin 5 mg/L'nin altında TMA ürettiğini rapor etmiştir. *P. aeruginosa* tarafından üretilen TMA miktarı 0.86 mg/L olup, organik asit katkısının bakteriyi TMA üretimine teşvik ettiği saptanmıştır. *C. jejuni* TMA üretimini 1.65 mg/L olarak gerçekleştirmiştir. Propiyonik asit varlığı bu oranı 3.47 mg/L'e yükselttiği gözlenmiştir. Asetik ve formik asit uygulamalarının ise üretimi sırasıyla 1.32 ve 0.94 mg/L'e düşürdükleri kaydedilmiştir. *Y. enterocolitica* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin TMA üretimi sırasıyla 1.36. 2.99 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit uygulmalarının bakterilerin TMA üretimi üzerine farklı etkiler gösterdiği belirlenmiştir. *A.hydrophila* 53.66 mg/L TMA üretmiştir (Küley, 2016).Bu çalışmada bu bakteri tarafından TMA üretimi 1.84

mg/L olup, organik asit katkılarının bakterinin TMA üretimini düşürdüğü kaydedilmiştir.

Kim ve ark. (2009) balık türlerinden izole edilen *Enterobacter* üyelerinin dopamin üretmediğini bildirmişlerdir. Çalışmada en yüksek DOP üretimi *E. coli* bakterisi tarafından gerçekleştirilmiştir (400.08 mg/L). Propiyonik, asetik ve formik asit uygulamalarının bu üretimi önemli düzeyde azalttığı kaydedilmiştir (sırasıyla 247.03, 359.40 ve 211.22 mg/L). *E. faecalis, P. aeruginosa, S.* Paratyphi A ve *C. jejuni* bakterileri tarafından üretilen DOP miktarı organik asit ilaveleri ile önemli düzeyde azalma gösterdiği saptanmıştır. Küley ve Özogul (2011) gıda kaynaklı patojenlerin tirosin dekarboksilaz sıvısında 0.83 mg ile 17.3 mg/100 g arasında DOP ürettiğini bulmuşlardır. *Y. enterocolitica* ve *K. pneumoniae* bakterilerinin DOP üretimi sırasıyla 174.75 ve 265.87 mg/L olarak tespit edilmiştir. Organik asit katkıları ile bakterilerin DOP üretiminin önemli ölçüde arttığı kaydedilmiştir. Gökdogan (2011) yaptıkları bir çalışmada *K. pneumoniae* tarafından DOP üretimini 13.14 mg/L olarak bulduklarını belirtmiştir.

Tirosin dekarboksilaz sıvısında patojen bakteriler 3.5 ve 130 mg/L arasında AGM üretmiştir (Küley ve Özogul, 2011).Yaptığımız çalışmada bakterilerin AGM üretiminde en yüksek üretimi 177.55 mg/L ile *S.* Paratyphi A tarafından gerçekleştirildiği gözlenirken *E. faecalis* bakterisinin AGM üretimini 77.12 mg/L ile en düşük düzeyde olmuştur. Organik asit ugulamaları*S.* Paratyphi Atarafından üretilen AGM miktarını azaltırken, *E. faecalis'in* üretim miktarını teşvik ettiği kaydedilmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında *S. aureus* ve *A. hydrophila* bakterileri tarafından AGM üretimi sırasıyla 39.18 ve 254.91 mg/L olarak bulunmuştur (Küley, 2016). *E. coli* ve *A.hydrophila* bakterilerinin AGM üretimi sırasıyla 150.24 ve 143.40 mg/L olarak tespit edilmiştir. Propiyonik ve formik asit uygulamaları bakterilerin AGM üretimini düşürdüğü gözlenirken, asetik asitin üretim üzerine etkisi gözlemlenmemiştir. Propiyonik ve formik asit uygulamalarının *C. jejuni* ve *S. aureus* bakterilerinin AGM üretimini bakterilerin düşürdüğü gözlenirken, asetik asitin bu üretimi yükselttiği tespit edilmiştir. Bensid

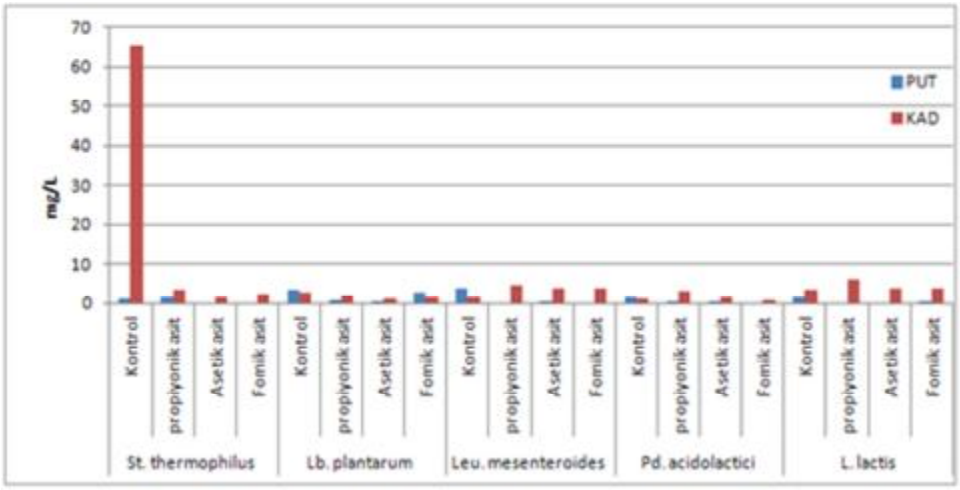
ve ark (2016) yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* bakterisinin AGM üretimini 15.72 mg/L olarak bulduklarını belirtmişlerdir. *K. pneumoniae* tarafından üretilen AGM miktarı 121.66 mg/L olarak saptanmıştır. Organik asit katkıları ile üretimin istatiksel olarak aynı oranda azalış gösterdiği kaydedilmiştir.

4.7. Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi

Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterilerin amonyak ve biyojenik amin üretimi Çizelge 4.10‘ da verilmiştir. Araştırmada *Lb. plantarum* tarafından üretilen biyojenik aminlere özgü kromotogramlar Ek 12-13’de verilmiştir. Tirosin dekarboksilaz sıvısında geliştirilen laktik asit bakteriler içerisinde en yüksek AMN üretimi *Leu. mesenteroides* tarafından 200.66 mg/L olarak belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada *Leu. mesenteroides’* in AMN üretimi 572.68 mg/L olarak bulunmuştur (Küley ve Özoğul, 2011). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar neticesinde organik asit varlığının bakteriler tarafından üretilen AMN miktarını önemli düzeyde düşürdüğü kaydedilmiştir.

Yapılan bir çalışmada *St. thermophilus* tarafından PUT üretimi 30.36 mg/Lbulunmuştur (Küley ve Özoğul, 2011). Bu çalışmada *St. thermophilus* tarafından PUT üretimi 1.31 mg/L olup, propiyonik asit katkısının üretimi 1.69 mg/L’e yükselttiği, asetik ve formik asit katkılarının ise üretimi tamamen inhibe ettiği kaydedilmiştir. Küley ve ark., (2013), *Lb. plantarum’* un PUT üretimini 38.56mg/L olduğunu rapor etmiştir. Çalışmamızda *Lb. plantarum* tarafından üretilen PUT miktarı 3.60 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit uygulamalarının bu üretimi düşürdüğü gözlenmiştir. *Leu. mesenteroides* bakterisinin ürettiği PUT miktarı 3.97 mg/L olarak bulunmuştur. Asetik asitin üretimi düşürdüğü belirlenmiş olup, propiyonik ve formik asidin bakterilerinin PUT üretiminitamamıyla engellediği tespit edilmiştir. *P acidolactici* tarafından PUT üretimi 1.49 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik ve asetik asit uygulamaları bu üretimi istatiksel olarak aynı oranda düşürmüş, formik asit ise üretimi tamamen durdurmuştur. *L.*

lactis bakterisi tarafından PUT üretim düzeyi 1.45 mg/L iken propiyonik ve asetik asit uygulamalarının üretimi tamamen baskıladığı gözlenmiştir.



Şekil 4.10. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından putresin ve kadaverin üretimi

Küley ve ark., (2013) yaptığı bir çalışmada balık infüzyon sıvısında *S. thermophilus*' un KAD üretimini 48.76 mg/L olarak belirtmiştir. Yaptığımız çalışmada bakterilerin en yüksek KAD üretiminin 65.26 mg/L ile *St. thermophilus*tarafından, en düşük üretimin ise *Pd. acidolactici (*1.32 mg/L) tarafından gerçekleştiği bulunmuştur. Organik asit uygulamaları bakterilerin KAD üretimini azalttığı belirlenmiştir. Buna karşın propiyonik asidin *Pd. acidolactici'*nin KAD üretimini artırdığı saptanmıştır (3.09 mg/L). *Lb. plantarum* KAD üretmiştir *(*6.11 mg/L) (Küley ve Özogul, 2011). Bu çalışmada ise *Lb. plantarum* tarafından üretilen KAD miktarı 2.64 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit uygulamaları ile bu bakterinin KAD üretiminin azaldığı belirlenmiştir. *Leu. mesenteroides* ve *L. lactis*tarafından KAD üretimi sırasıyla 1.68 ve 3.51 mg/L olup organik asit uygulamalarının bakterilerin KAD üretimini arttırdığı gözlenmiştir.

Küley ve Özogul (2011) tirosin dekarboksilaz sıvısında *St. thermophilus* tarafından 19.78 mg/L SPD üretildiği gözlenirken mevcut çalışmada *S. thermophilus' un* SPD üretiminin gerçekleştirmediği gözlenmiştir. Propiyonik asit katkısı ile üretim 21.40 mg/L' ye yükseldiği belirlenmiş ancak asetik ve formik asitin bakterinin SPD üretimine herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Organik asit uygulamalarının *Lb. plantarum, Leu. mesenteroides, Pd. acidolactici* ve *L. lactis* bakterileri tarafından üretilen SPD miktarını düşürdüğü gözlenmiş olup, propiyonik asitin *Pd. acidolactici* bakterisinin üretimini tamamen inhibe ettiğikaydedilmiştir.

Çalışmamızda *St. thermophilus* tarafından üretilen TRPT 1.32 mg/L olarakgerçekleşmiştir. Propiyonik asit üretimi 3.50 mg/L'e yükseltirken, asetik ve formik asitin üretimi düşürdüğü gözlenmiştir (0.43 ve1.09 mg/L). Küley ve ark. (2013) *Lb. plantarum* Organik asit uygulamalarının *Lb. plantarum*ve *Leu. mesenteroides* bakterilerinin TRPT üretimini düşürdüğü tespit edilmiştir. *P acidolactici* 0.19 mg/LTRPT üretmiş ve propiyonik ve asetik asit katkıları üretimi yükseltirken (0.75 ve 0.25mg/L), formik asit katkısı üretime etki etmemiştir. Küley ve Özogul (2011), *L. lactis* bakterisinin TRPT üretme yeteneğine sahip olmadığını belirtmiştir. *L. lactis* bakterisinin TRPT üretimi (2.26mg/L) propiyonik ve formik asit uygulaması ile azalış (sırasıyla 1.33 ve 2.03 mg/L) asetik asit uygulaması ile artış (2.58mg/L) gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. . Tirosin Dekarboksilaz Sıvısında Laktik Asit Bakteriler Tarafından Amonyak ve Biyojenik Amin Üretimi (mg/L)

Mikroorganizmalar	AMN	PUT	KAD	SPD	TRPT	FEN	SPN	HİS	SER	TİR	TMA	DOP	AGM	GRUP
St. thermophilus	80.00^{a}±3.21^{ay}	1.31±0.01^{b}	65.26±4.48^{a}	0.00±0.00^{b}	1.32±0.05^{b}	0.00±0.00^{a}	59.55±5.49^{a}	0.00±0.00^{b}	15.45±0.49^{c}	11.12±0.74^{c}	1.50±0.02^{c}	0.00±0.00^{d}	184.40±1.68^{b}	KONT
	53.74±1.94^{b}	1.69±0.13^{a}	3.29±0.12^{b}	21.40±0.35^{a}	3.50±0.18^{a}	0.00±0.00^{a}	46.06±1.63^{b}	0.14±0.01^{a}	28.19±1.54^{b}	14.00±0.77^{b}	4.16±0.26^{a}	465.01±38.68^{a}	163.29±13.15^{b}	PROP
	38.97±1.89^{c}	0.00±0.00^{c}	1.72±0.14^{b}	0.00±0.00^{b}	0.43±0.01^{d}	0.00±0.00^{a}	55.04±4.83^{a}	0.00±0.00^{b}	4.26±0.15^{c}	20.72±0.72^{a}	0.42±0.02^{c}	266.02±6.52^{c}	227.88±12.73^{a}	AST
	75.60±3.10^{a}	0.00±0.00^{c}	2.49±0.07^{b}	0.00±0.00b	1.09±0.08^{c}	0.00±0.00^{a}	60.41±0.09^{a}	0.00±0.00^{b}	29.69±1.00^{a}	13.15±0.14^{b}	2.14±0.13^{b}	261.32±9.86^{b}	226.52±18.72^{a}	FORM
Lb. plantarum	93.47±6.87^{a}	3.60±0.10^{a}	2.64±0.09^{a}	14.87±0.23^{a}	4.49±0.21^{a}	0.00±0.00^{c}	64.74±2.64^{a}	0.00±0.00^{a}	13.56±0.89^{c}	15.54±0.98^{a}	1.90±0.04^{a}	150.31±6.33^{a}	231.77±16.88^{a}	KONT
	88.09±4.35^{a}	0.99±0.03^{c}	1.78±0.14^{b}	0.62±0.01^{b}	2.58±0.24^{b}	2.04±0.08^{a}	62.63±4.06^{a}	0.00±0.00^{a}	11.70±0.68^{c}	9.79±0.85^{b}	0.16±0.00^{c}	83.90±4.23^{d}	43.49±1.81^{b}	PROP
	46.35±0.59^{b}	0.45±0.02^{d}	1.03±0.03^{d}	0.65±0.05^{b}	0.82±0.02^{c}	0.57±0.01^{b}	64.88±5.97^{a}	0.00±0.00^{a}	26.95±0.45^{a}	14.57±0.28^{a}	0.79±0.06^{b}	102.39±2.04^{c}	94.85±2.84^{c}	AST
	34.61±0.69^{c}	2.55±0.18^{b}	1.53±0.11^{c}	0.00±0.00^{b}	0.79±0.04^{c}	0.00±0.00^{a}	28.61±2.56^{b}	0.00±0.00^{a}	22.01±0.65^{b}	6.90±0.33^{c}	0.69±0.03^{b}	133.14±8.06^{b}	64.03±3.44^{d}	FORM
Leu. mesenteroides	200.66±14.02^{a}	3.97±0.16^{a}	1.68±0.11^{c}	17.99±1.33^{a}	2.98±0.16^{a}	3.63±0.21^{a}	35.51±2.01^{b}	0.00±0.00^{c}	74.63±2.25^{a}	13.53±0.38^{c}	1.10±0.06^{c}	269.36±23.81^{a}	228.42±7.99^{a}	KONT
	99.59±5.38^{b}	0.00±0.00^{c}	4.72±0.16^{a}	7.07±0.36^{b}	0.89±0.03^{b}	0.00±0.00^{c}	55.59±3.45^{a}	0.13±0.01^{b}	23.37±0.41^{b}	23.42±0.93^{b}	1.83±0.06^{a}	151.25±9.19^{c}	162.36±9.30^{b}	PROP
	51.55±0.91^{c}	0.24±0.01^{b}	3.86±0.16^{b}	0.50±0.00^{d}	0.63±0.02^{c}	0.60±0.03^{b}	52.23±2.92^{a}	0.17±0.01^{a}	19.90±0.51^{c}	12.07±0.47^{d}	1.48±0.03^{b}	135.53±8.13^{c}	173.21±3.47^{b}	AST
	46.14±0.33^{c}	0.00±0.00^{c}	4.02±0.34^{b}	3.27±0.22^{c}	0.56±0.01^{c}	0.00±0.00^{c}	38.99±1.40^{b}	0.14±0.01^{b}	21.62±1.10^{bc}	30.11±0.77^{a}	0.73±0.05^{c}	184.66±9.52^{b}	111.35±9.71^{c}	FORM
Pd. acidolactici	185.69±10.73^{a}	1.49±0.04^{a}	1.32±0.10^{c}	14.04±1.15^{a}	0.19±0.01^{c}	1.27±0.10^{a}	65.89±5.39^{b}	0.23±0.00^{b}	15.85±0.90^{c}	12.02±0.66^{b}	0.37±0.01^{d}	110.36±8.04^{c}	105.51±4.82^{c}	KONT
	60.50±3.81^{c}	0.24±0.01^{b}	3.09±0.13^{a}	0.00±0.00^{d}	0.25±0.01^{b}	1.04±0.01^{a}	88.17±3.25^{a}	0.00±0.00^{c}	36.30±2.00^{a}	10.49±0.61^{c}	1.76±0.10^{a}	240.74±18.89^{b}	172.74±14.47^{b}	PROP
	77.35±5.00^{b}	0.23±0.01^{b}	1.76±0.14^{b}	9.21±0.73^{b}	0.75±0.03^{a}	0.91±0.05^{c}	64.24±0.68^{b}	0.28±0.01^{a}	28.21±1.95^{b}	14.52±0.84^{a}	1.36±0.06^{b}	355.47±25.79^{a}	211.15±6.60^{a}	AST
	30.95±1.21^{d}	0.00±0.00^{c}	0.70±0.05^{d}	1.69±0.11^{c}	0.18±0.01^{c}	1.02±0.04^{ab}	47.05±2.52^{c}	0.00±0.00^{c}	4.83±0.37^{d}	6.51±0.19^{c}	0.62±0.02^{c}	245.93±14.22^{b}	216.73±6.49^{a}	FORM
L. lactis	242.15±17.38^{a}	1.45±0.09^{a}	3.51±0.18^{c}	19.24±0.36^{a}	2.26±0.02^{b}	17.22±0.67^{a}	84.51±3.13^{a}	0.16±0.01^{d}	23.95±1.96^{b}	22.05±1.02^{b}	0.76±0.03^{d}	480.53±31.22^{a}	141.93±4.36^{a}	KONT
	163.97±9.42^{b}	0.00±0.00^{c}	5.99±0.30^{a}	18.45±0.63^{a}	1.33±0.09^{d}	0.00±0.00^{b}	66.99±0.90^{c}	0.59±0.01^{a}	42.76±2.22a	12.21±0.79^{b}	1.60±0.11^{c}	98.90±8.73^{c}	152.99±9.97^{a}	PROP
	74.72±5.65^{c}	0.00±0.00^{c}	4.02±0.33^{b}	11.18±0.52^{b}	2.58±0.06^{a}	0.00±0.00^{b}	75.13±3.31^{b}	0.28±0.01^{b}	24.27±0.43^{b}	14.33±1.33^{c}	2.16±0.13^{b}	500.61±13.03^{a}	150.87±5.34^{a}	AST
	71.12±1.35^{c}	0.63±0.01^{b}	3.92±0.01^{b}	12.87±0.85^{b}	2.03±0.13^{c}	0.00±0.00^{b}	78.40±0.88^{b}	0.17±0.00^{c}	23.83±1.45^{b}	30.84±1.87^{a}	2.43±0.15^{a}	372.63±16.85^{b}	155.12±13.59^{a}	FORM

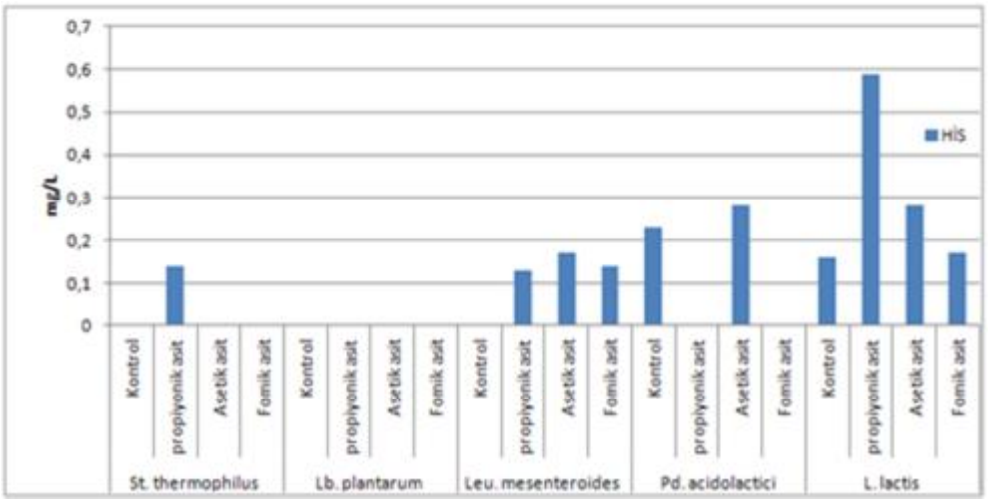
AMN, amonyum; PUT, putresin; KAD, kadaverin; HIS, histamin; SPD, spermidin; TRPT, triptamin; FEN, 2-fenil-etilamin; SPN, spermin; SER, serotin; TİR, tiramin; TMA, trimetilamin; DOP, dopamin. AGM, agmatin. X aritmetik ortalama, γ standart sapma, (a-d) Aynı sütun için farklı harflerle gösterilenler arasında istatistiksel olarak farklılık vardır ($P < 0.05$). n=3

Küley ve Özogul (2011) tirosin dekarboksilaz sıvısında *St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* tarafından FEN üretimini sırasıyla 9.76 ve 12.30 mg/L olarak rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmada *St. thermophilus* ve *Lb. plantarum* bakterilerinin FEN üretimini gerçekleştirmediği tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarının laktik asit bakterilerinin FEN üretimi üzerinde etkili olduğu ve FEN üretimini azalttığı ya da tamamen durdurduğu gözlenmiştir. Ancak, propiyonik ve asetik asit uygulamalarının *Lb. plantarum* bakterisini FEN üretimine teşvik ettiği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada organik asit katkılarının *St. thermophilus, Lb. plantarum, Leu. mesenteroides* ve *Pd. acidolactici'* nin SPN üretimini etkilemediği ya da üretimi arttırdığı tespit edilmiştir. Buna karşın propiyonik asit *St. thermophilus'* un formik asit ise *Pd. acidolactici*'in SPN üretimini azalttığı gözlenmiştir. Küley ve ark. (2013) hamsi infüzyon dekarboksilaz sıvısında*L. lactis* bakterisinin 40.10mg/L SPN ürettiğini belirtmişlerdir. *L. lactis* bakterisinin SPN üretimi 84.51 mg/L olup, organik asit uygulamaları ile bu oranın 66.9 mg/L'e düştüğü kaydedilmiştir.

Histidin dekarboksilaz enzimine sahip bakteri türlerinin sayısı oldukça azdır ve bu türlerden bazıları *Lactobacillus* cinslerine aittir (Rodriguez-Jerez, 1994). Laktik asit bakterileri arasında *St. thermophilus, Lb. plantarum*ve *Leu. mesenteroides* tarafından HİS üretiminin gerçekleşmediği saptanmıştır. Propiyonik asit uygulamasının *St. thermophilus* bakterisinin HİS üretimine teşvik ettiği gözlenmiştir (0.14mg/L). Asetik ve formik asit uygulamalarının ise üretim üzerine herhangi bir etkisi belirlenmemiştir. Çalışmamızda *Lb. plantarum*'un HİS üretimini gerçekleştirmediği tespit edilmiştir. *Leu. mesenteroides* bakterisinin HİS üretiminin organik asit katkılarıyla arttığı kaydedilmiştir (0.13, 0.17 ve 0.14 mg/L) . *L. buchneri* dışındaki bazı laktik asit bakterilerinin de histamin üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (Stratton ve ark.,1991). Bu çalışmada *Pd. acidolactici* tarafından üretilen HİS miktarı 0.23 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik ve formik asit uygulaması üretimi tamamen durdurmuş olup, asetik asit uygulamasının

ise HİS üretimine teşvikettiği gözlenmiştir. *L. lactis* tarafından üretilen HİS miktarı 0.16 mg/L olup, organik asit uygulamalarının bu oranı arttırdığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda fermente sosislerden izole edilen laktik asit bakterilerinin histamin üretmediğini belirtilmiştir (Santos, 1996; Bover-Cid ve ark., 2001; Suzzi ve Gardini, 2003).

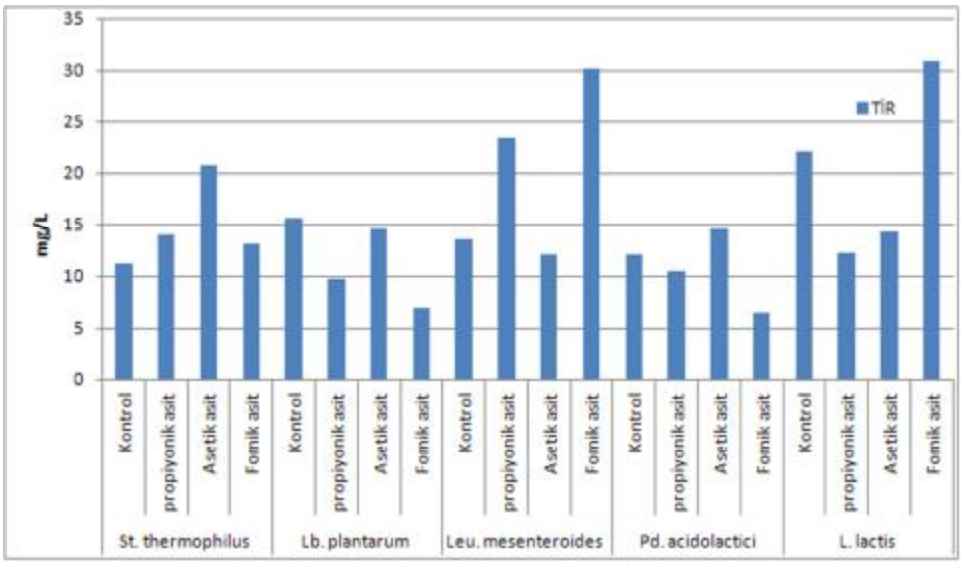


Şekil 4.11. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler tarafından histamin üretimi

Hamsi infüzyon dekarboksilaz sıvısında *Leu. mesenteroides* tarafından 307.15 mg/L SER üretilmiştir (Küley ve ark., 2013). Mevcut çalışmada *Leu. mesenteroides* bakterisinin 74.63 mg/L ile laktik asit bakterileri içerisinde en fazla SER üreten bakteri olduğu tespit edilmiştir. Organik asit uygulamaları ile bakterinin bu üretiminde azalış görüldüğü saptanmıştır. Genel olarak laktik asit bakteriler tarafından üretilen SER miktarının organik asit uygulamaları sonunda artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Et ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus curvatus*' un bazı suşlarının yüksek miktarlarda tiramin ve diğer biyojen aminleri ürettiği belirtmektedir (Masson ve ark., 1996; Bover-Cid ve ark., 2001). Bu çalışmada *Lb. plantarum*

bakterisi tarafından üretilen TİR 15.54 mg/L olarak kaydedilmiştir. Asetik asit uygulaması üretime etki etmezken, propiyonik ve formik asit uygulamasının üretimi düşürdüğü belirlenmiştir (sırasıyla 9.79 ve 6.90 mg/L). Yapılan çalışmada *St. thermophilus* tarafından üretilen TİR miktarı 11.12 mg/L olarak bulunmuştur. Organik asit uygulamaları ile TİR üretiminin arttığı gözlenmiştir. *Leu. mesenteroides* tarafından üretilen TİR miktarı 13.53 mg/L olup, propiyonik ve formik asit ilavesi bu üretimi teşvik ederek bakterinin TİR üretimini sırasıyla 23.42 ve 30.11 mg/L düzeyine çıkmıştır. Asetik asit uygulaması ise üretimi 12.07mg/L'edüşürmüştür. *Pd. acidolactici* bakterisi tarafından üretilen TİR 12.02 mg/Lolarak bulunmuştur. Propiyonik asit uygulamasınınTİR üretimini 10.49 mg/L'e, formik asit uygulamasının ise TİR üretimini 6.51 mg/L'e düşürdüğü gözlemlenmiştir. Asetik asitin ise üretimi 14.52 yükselttiği kaydedilmiştir. Fermente sosislerden izole edilen *Lactobacillus sakei*' nin 17 suşundan üç üyesinin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu ve genellikle dekarboksilaz aktivitesine sahip suşların tiramin ürettikleri, histamin, putresin ve kadaverin üretmedikleri belirlenmiştir (Bover-Cid ve Holzapfel, 1999). Çalışmamızda *L. lactis* bakterisi tarafından TİR üretimi 22.05 mg/L olarak bulunmuştur. Propiyonik ve asetik asit bu üretimi düşürürken (sırasıyla 12.21 ve 14.33mg/L), formik asitin üretimi arttırdığı saptanmıştır (30.11mg/L).



Şekil 4.12. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterileri tarafından tiramin üretimi

Küley ve Özogul (2011), *Lb. plantarum* bakterisi tarafından TMA üretimini 3.09 mg/L olarak belirtmiştir.Yaptığımız çalışmada test edilen laktik asit bakterileri içinde *Lb. plantarum* TMA üretimini en fazla gerçekleştiren bakteri olduğu tespit edilmiştir (1.90 mg/L). Organik asit uygulamalarının *Lb. plantarum* bakterisinin TMA üretimini düşürdüğü gözlenirken, organik asit katkılarının *Pd. acidolactici* ve *L. lactis* bakterilerinin TMA üretimini arttırdığı tespit edilmiştir. *St. thermophilus*bakterisinin TMA üretimi (1.50mg/L) propiyonik ve formik asit uygulamaları ile hafif artış gösterirken (sırasıyla 4.16 ve 2.14mg/L), asetik asit uygulamasının üretimi düşürdüğü belirlenmiştir (0.42 mg/L). Küley ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada *Leu. mesenteroides* bakterisinin 3.59 mg/L TMA ürettiğini rapor etmişlerdir. *Leu. mesenteroides'* in 1.10 mg/L TMA ürettiği bulunmuştur. Propiyoik ve asetik asit uygulamaları ile üretim hafif artış göstermiştir (sırasıyla 1.83 ve1.48 mg/L). Asetik asit uygulaması ise üretimi düşürdüğü tespit edilmiştir (0.73 mg/L).

Çalışmamızda *St. thermophilus* tarafından DOP üretiminin gerçekleşmediği tespit edilirken, Küley ve ark. (2013) yaptığı bir çalışmada *St.*

thermophilus bakterisinin 8.73 mg/L DOP üretimi gerçekleştirdiğini rapor etmiştir. Çalışmamızda *Pd. acidolactici* tarafından110.36 mg/LDOP üretimi gerçekleştiği tespit edilmiştir. Organik asit uygulamalarının *St. thermophilus* ve *Pd. acidolactici* bakterilerinin DOP üretimini önemli düzeyde arttırdığı gözlenmiştir. Buna karşın *Lb. plantarum* ve *Leu. mesenteroides* bakterilerinin organik asit varlığı ile DOP üretiminin azaldığı kaydedilmiştir. *L. lactis* bakterisi tarafından DOP üretimi 480.53 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Propiyonik ve formik asit uygulamaları ile üretimin sırasıyla 98.90 ve 372.63 mg/L'e düştüğü kaydedilmiştir. Asetik asit uygulamasının ise bakterinin DOP üretimi üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Küley ve Özogul (2011) yaptığı bir çalışmada *Lb. plantarum*t arafından AGM üretimini 145.69 mg/Lolarak bulmuştur. Bu çalışmada en yüksek AGM üretimi *Lb. plantarum* bakterisi tarafından gerçekleştirilmiştir (231.77 mg/L). Propiyonik, asetik ve formik asit bu üretimi önemli düzeyde düşürdüğü kaydedilmiştir (sırasıyla 43.49, 94.85 ve64.03 mg/L). *St. thermophilus* bakterisi tarafından üretilen AGM miktarı 184.40 mg/L olarak tespit edilmiştir. Propiyonik asit uygulaması bakterinin AGM üretimine etki etmezken, asetik ve formik asitin bakterinin AGM üretimini istatiksel olarak aynı oranda arttırdığı kaydedilmiştir. *Leu. mesenteroides* tarafından üretilen AGM miktarı 228.42 mg/L olarak belirlenmiştir. Organik asit varlığının AGM üretimini önemli düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. (162.36, 173.21, 111.35mg/L). *Pd. acidolactici'*in bakterisinin AGM üretimini 105.51 mg/L olup, organik asit uygulamalarının AGM üretimini teşvik ettiği belirlenmiştir. *L. lactis* tarafından AGM üretimi 141.93 mg/L olup organik asit uygulamalarının istatiksel olarakherhangi bir etkisi gözlenmemiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, üç farklı organik asitin (propiyonik, asetik ve formik asit) bakterilerin biyojen amin üretimi ve gelişimi üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin in-vitro olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular ve öneriler aşağıda belirtildiği şekilde verilmiştir.

1. Araştırma sonucunda histidin dekorboksilaz sıvısı içinde üretimi gerçekleştirilen referans bakteriler arasında *Y. enterocolitica'* nın yüksek miktarda AMN, TİR ve DOP, *S.* Paratyphi A'nın PUT, *S. aureus*'un KAD, *P. aeruginosa*'nın HİS, *K. pneumoniae'*nın ise AGM ise ürettiği tespit edilmiştir. Genel olarak organik asit uygulamalarının referans bakterilerin biyojen amin ve AMN üretimini azalttığı gözlenmiştir.
2. Araştırma sonucunda histidin dekorboksilaz sıvısı içinde test edilen laktik asit bakterileri arasında *Leu. mesenteroides'* in AMN, PUT, KAD, *Lb. plantarum'* un HİS, *St. thermophilus*' un TİR, *Pd. acidolactici'* nin AGM ve DOP yüksek düzeyde ürettikleri belirlenmiştir. Genel olarak organik asit uygulamalarının laktik asit bakterilerinin biyojen amin ve AMN üretimini azalttığı gözlenmiştir.
3. Yapılan bu çalışmada tirozin dekorboksilaz sıvısı içinde referans bakteriler içerisinde en yüksek AMN üretimi *A.hydrophila* tarafından 404.20 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Referans bakteriler tarafından üretilen biyojen aminlerden PUT en yüksek *S.aureus* tarafından üretilirken, KAD ve AGM en yüksek *S.* Paratyphi A tarafından üretilmiştir. En yüksek TİR ve DOP üretimi *E. coli* tarafından gerçekleşmiştir. Organik asit katkılarının bakterilerin biyojen amin üretimi teşvik ettiği veya üretimi baskıladığı gözlenmiştir.
4. Çalışmanın verileri gözlemlendiğinde tirosin dekarboksilaz sıvısında geliştirilen laktik asit bakterileri içerisinde en yüksek AMN üretimi miktarı

L. lactis tarafından 242.15 mg/L olarak belirlenmiştir. Çalışmada laktik asit bakterilerinin biyojen amin üretimi bakteri türüne göre değişkenlik göstermiştir. Bazı laktik asit bakterilerin yüksek dozajlarda amin üretirken bazı laktik asit bakterilerin ise amin üretme yeteneğine sahip olmadıkları saptanmıştır. Organik asitlerin biyojen amin üretimi üzerindeki etkisi, biyojen amin türüne, organik asit çeşidine ve bakteri türüne göre değişkenlik göstermiştir.

5. Yapılan çalışmanın sonucunda kullanılan üç farklı organik asit etkisinin bakteri türüne, bakterilerin içerisinde üredikleri aminoasit dekorboksilaz sıvısına ve spesifik biyojen amine göre değişim gösterdiği kaydedilmiştir.
6. Çalışmada kullanılan organik asitlerin referans bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin organik aside ve bakteri türüne göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Test edilen organik asitler arasında propiyonik ve formik asitin asetik asite kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir.
7. Çalışmamız da referans bakteriler arasında propiyonik asit uygulamasına karşı en hassas tür 0.78 mg/mL MIK değeri ile *S. aureus* olmuştur. Formik aside karşı en fazla hassasiyet gösteren türler *E. coli, E. faecalis, S.* Paratyphi A, *S. aureus* olup MIK değerleri 0.78 mg/mL olmuştur. Asetik asitin antimikrobiyal etkisi kullanılan referans bakterilerinin hepsinde aynı etkiyi göstermiş olup MIK değeri 6.52 mg/mL olarak belirlenmiştir.
8. Organik asit uygulamalarının referans bakteriler üzerindeki MBK değerleri genellikle 50 mg/mL'nin üzerinde olmuştur. Çalışmamız da en düşük MBK değeri formik asit katkısıyla *E.coli* 'de 12.5 mg/mL olarak belirlenmiştir.
9. Laktik asit bakterileri üzerinde test edilen organik asitler arasında formik asitin uygulanan diğer asitlere göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. Formik asiti takiben asetik asitin laktik asit

bakterilerine karşı etkisinin propiyonik asite kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır.

10. Çalışmamızda laktik asit bakterileri arasında propiyonik aside karşı en hassas tür 3.12 mg/mL MIK değeri ile *L. lactis* olmuştur. Formik aside karşı en fazla hassasiyet gösteren tür *Pd. acidolactici* olup, MIK değeri 6.25 mg/mL olmuştur. Asetik asitin antimikrobiyal etkisi kullanılan laktik asit bakterilerinin hepsinde aynı etkiyi göstermiş olup 6.52 mg/mL olarak gözlenmiştir.
11. Histidin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler arasında kontrol grubunun genellikle birazdaha bakteri yükü içerdiği belirlenmiştir. Gruplar arasında genellikle en düşük bakteriyel yük formik asitte gözlenmiştir. Histidin dekarboksilaz sıvısında kontrol gruplarında en yüksek bakteriyel gelişim 9.18 log kob/mL ile *E. feacalis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. jejuni* için gözlenmiştir. En düşük bakteriyel gelişim ise *Y. enterocolitica* bakterisi tarafından 6.65 log kob/mL (propiyonik asit) olarak kaydedilmiştir.
12. Histidin dekarboksilaz sıvısında organik asitler arasında en yüksek inhibisyon etki 2.41 log kob/mL azalış ile propiyonik asitte *Y. enterocolitica* bakterisine karşı gözlenmiştir. Yine aynı bakteriye karşı formik asit katkısının da 2.34 log kob/ml oranında bakteri yükünü azalttığı kaydedilmiştir. *E.feacalis* gelişimi 9.18 (kontrol) ile 8.67 (formik asit) log kob/mL arasında değişkenlik göstermiştir. *A. hydrophila* bakteriyel gelişimi asetik asit ve formik asit katkısı ile sırasıyla 0.13- 0.18 log kob/mL oranında azalış göstermiştir.
13. Histidin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakterileri arasında kontrol grubu ile organik asit içeren gruplar arasında bakteriyel yük açısından önemli farklılıklar gözlenmemekle beraber organik asit katkılarının ortalama 0.02 log kob/mL oranında bakteriyel gelişimi arttırdıkları

gözlenmiştir. Kontrol grupları içerisinde en düşük bakteriyel yük *St. thermophilus* bakterisinde 9.03 log kob/ml olarak belirlenmiştir.

14. Tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler arasında kontrol grubunun genellikle organik asit içeren gruptan biraz daha yüksek düzeyde bakteri yükü içerdiği belirlenmiştir. Referans bakteriler arasında kontrol grubunda bakteriyel gelişim 9.18 log kob/ml (*E. feacalis, P. aeruginosa, A. hydrophila, C. jejuni, S.* Paratyphi A, *Y. enterocolitica*) ile 8.31 log kob/L (*S. aureus*) arasında değişkenlik göstermiştir. Organik asitler arasında genellikle en düşük bakteriyel yük formik asitte gözlenmiştir.
15. Çalışmamızda tirosin dekarboksilaz sıvısında organik asitler arasında en yüksek inhibisyon etki 2.81 log kob/ml azalış ile formik asitte *Y. enterocolitica* bakterisine karşı gözlenmiştir. Propiyonik asit katkısı *S. aureus* bakterisi üzerinde 1.22 log kob/ml oranında azalış göstererek bakteriyel gelişimi düşürdüğü belirlenmiştir. *A. hydrophila*'nın bakteriyel gelişimi kontrol grubunda 9.18 log kob/ml iken propiyonik asit katkısı ile 1.61 log kob/ml azalış göstermiştir (7.57 log kob/mL).
16. Çalışmada organik asitler histidin dekarboksilaz sıvısına kıyasla tirosin dekarboksilaz sıvısında referans bakteriler üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. Organik asitlerin etkisi bakteri türüne göre değişkenlik göstermesine karşın formik asit diğer test edilen asitlere kıyasla bakteriyel gelişimde daha yüksek inhibisyon aktivite sergilemiş olup, en yüksek inhibisyon etki *Y. enterocolitica* bakterisine karşı olmuştur.
17. Tirosin dekarboksilaz sıvısında laktik asit bakteriler arasında kontrol grubu ile organik asit içeren gruplar arasında bakteriyel yük açısından önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kontrol grupları içerisinde en düşük bakteriyel yük *Pd. acidolactici* bakterisinde 8.99 log kob/mL olarak belirlenirken, en yüksek bakteriyel yük *St. thermophilus* bakterilesi tarafından 9.18 log kob/ml olarak gözlenmiştir. Formik asit katkısı ile *St. thermophilus*'un

bakteriyel gelişimi 8.13 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda formik asit katkısı ***Pd. acidolactici*** üzerinde önemli inhibisyon etki göstermiş olup bakteriyel gelişimde 3.61 log kob/mL azalış sergilemiştir.

Litaratürde organik asitlerin mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmasına karşın, organik asitlerin gıda kaynaklı patojen ve laktik asit bakterileri tarafından biyojen amin üretimi üzerindeki etkilerinin in-vitro incelenmesi üzerine yetersiz çalışmalar mevcuttur. Bu sebeple organik asitlerin referans ve laktik asit bakterilerininbiyojen amin üretimi ve gelişimi üzerindeki etkilerinin in-vitro incelenmesi üzerine yapılan bu araştırmada propiyonik, asetik ve formik asitolarak üç farklı organik asitin antimikrobiyal olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir. İleriye yönelik çalışmalarda daha farklı organik asitler kullanılarak biyojen amin üretimi üzerinde farklı sonuçlar elde edilebilinir. Mevcut çalışmada % 0.5 organik asit konsantrasyonu uygulanmıştır. Bundan sonra ki çalışmalarda farklı organik asit konsantrasyonu kullanılarak antimikrobiyal olarak uygun dozaj belirlenebilir. Ayrıca çalışmada kullanılan bakterilerin yanı sıra su ürünlerinde bulunabilen ve insanlar için risk oluşturan diğer patojen bakteriler üzerine organik asit uygulamaları ile ilgili in vitro yada su ürünleri (in vivo) ile ilgili çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Özellikle su ürünlerinin muhafazısına yönelik çalışmalar yapılarak organik asitlerin duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik parametreler üzerindeki etkisi incelenerek litaratürdeki bu eksiklik giderilebilir.

KAYNAKLAR

Ababouch, L., Afılal, M.E., Benabdeljelıl, H., Busta, F.F., 1991. Quantitative changes in bacteria amino acids and biogenic amines in sardines (*sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28°c) and in ice. International Journal of Food Science and Technology, 26, 297-306.

Adams, M.R., Hall. C.J.,1988. Growth inhibition of foodborne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. Int. J. Food Sci. Technol, 23:287-292.

Agatemor, C., 2009. Antimicrobial activity of aqueous and ethanol extracts of nine nigerian spices against four food borne bacteria. Electronic Journal of Enviromental,Agricultural and Food Chemistry,195-200.

Ağaoğlu, S., Dostbil, N., Alemdar, S., 2007. Antımıcrobial activity of some spıces used in the meat industry. Bull Vet Inst Pulawy, 51:53- 57.

Ahamad, N., Marth, E.H., 1989. Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35 ºC in tryptose broth acidified with acetic, citric, and lactic acids. J Food Prot, 52. 688–695.

Akgül, A., 1989. Baharatların antioksidan özellikleri. Doğa-TR. J. of Agriculture and Forestry, 13: 11-24.

Akgül, A.., Ayar, A., 1993. Yerli baharatların antioksidan etkileri. Doğa-TR. J. of Agriculture and Forestry, 17: 1061-1068.

Aktaş, N., Aksu, M.I.., Kaya, M., 2003. The influence of marination with different salt concentrations on the tenderness. water holding capacity and bound water content of beef. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 27, 1207-1011.

Aktaş, N., Kaya, M., 2001. The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and sensory properties of beef. European Food Research Technology, 213, 88-94.

Alp, M. R., 1996. Probiyotiklerin hayvan beslemede kullanılması. Istanbul Üniv. Vet. Fak. Derg, 22(1), 1-8.

Alper, N.,Temiz, A., 2001. Gıdalardaki biyojen aminler ve önemi. Türk Hij. Den. Biyol. Der, 58 (2): 71-80.

Alvarado,C., Mckee, S., 2007. Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. Journal of Applied Poultry Research, 16, 113-120.

Anonim, 2011. Gıda Katkı Maddesi. http://www.zootekni.org.tr/upload/file/

Arnold, S.H., Brown, W.D., 1978. Histamine toxicity from fish products. In: Advances in Food Research (edited by C. O. Chishester, E. M. Mrak & G. F. Stewart), New York-Academic Press, 113-154.

Arnold, S.H., Prıce, R.J., Brown, W.D., 1980. Histamine formation by bacteria isolated from skipjack tuna katsuwonus pelamis, Bul. Japanese Soc. Sci. Fish, 46 (8): 991-995.

Askar, A.,Treptow, H., 1986. Biogene amine in lebensmitteln- vorkommen, bedeutung und bestimmung. Molecular Nutrition and food research, 32:4,420.

Attaie, R., Whalen, P.J., Shahani, K.M., Amer, M.A.,1987. Inhibition of growth of *Staphylococcus aureus* during production of acidophilus Yogurt. J. Food Protec, 50(3), 224-228.

Auerswald, L., Morren, C., Lopata, A.L., 2006. Histamine levels in seventeen species of fresh and processed South African seafood. Food Chem., 98:231–239.

Aygün, O., 2003. Biyojen aminler-süt ve süt ürünlerindeki varlığı ve önemi. Uludag Üniv. J. Fac. Vet. Med., 22, 1-2-3:91-95.

Aymerıch, T., Martıìn, B., Garrıga, M., Vıdal-Carou, M.C., Bover-Cıd, S., Hugas, M., 2006. Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. Journal of Applied Microbiology, 100(1): 40-49.

Baırd-Parker, T.C., 2000. The production of microbiologically safe and stable foods. In The Microbiological Safety and Quality of Food. Edited by Lund BM. Baird-Parker TC. Gould GW. Gaithersburg: Aspen Publishers. Inc., 3-18.

Bandoniene, D., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D., Murkovic, M., 2002. Antioxidative activity of sage (*Salvina officinalis*L.) savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borage officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. Eur. J. Lipid Sci. Technol, 104: 286-292.

Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karaoğlan, T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oil from origanum thymbra and satureja species with commercial inportance in Turkey. Food Control, 15:169-172.

Bensid, A., Gökdogan, S., Özogul, F., 2016. Inhıbıtıon ımpacts of natural clınoptılolıte on bıogenıc amınes productıon by common food-borne pathogens ın argınıne decarboxylase broth. Carpathıan Journal Of Food Scıence And Technology, 8(2):81-92

Bernardeau, M., Vernoux, J.P., Henrı-Dubernet, S., Guéguen, M., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms, The *Lactobacillus* genus. International Journal of Food Microbiology, 126 278–285.

Beutlıng, D., 1996. Biogene amine in der ernährung. arch. Lebensmittelhyg, 47: 97-102.

Bjeldanes, L.F., Schutz, D.E., Morris, M.M., 1978. On the aetiology of scombroid poisoning: cadaverine potentiation of histamine toxicity in the guinea-pig. Food and CosmeticsToxicology, 16:157–159.

Borgstrom, G., 1962. Fish in world nutrition, fish and food. Borgostrom. G. Ed. Academic Press, New York, 267- 360pp.

Boulton, R.B., Singleton,V.L., Bisson, L.F., Kunkee, R.E., 1996. Principles and practices of wine making. 1st edition. Chapman and Hall. 628 p. A.B.D.

Bover-Cıd, S., Holzapfel,W.H., 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol, 53, 33–41.

Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., 2001. Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine accumulation as a function of the raw material quality. Journal of Food Production, 64(3), 367-373.

Bover-Cid, S.,Holzapfel, W.H., 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 53, 33-41.

Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., 2001. Amino acid decarboxylase activity of bacteria ısolated from fermented pork sausages. International Journal of Food Microbiology, 66, 185-189.

Bover-Cid. S., Miguélez-Arrizado, M.J., Vidal-Carou, M.C., 2001. Biogenic amine accumulation in ripened sausages affected by the addition of sodium sulphite. Meat Sci., 59:391-396.

Brınk, B.J.C., Damınk, H.M.L.J., Joosten, J.H.J., Huıs In't Veld., 1990. Occurence and formation of biologically active amines in foods. Int. J. Food Microbiol, 11: 73-84.

Bruice, P.Y., 2003. Organic chemistry. Prentice Hall, New Jersey, A.B.D.

Buchanan, R.L., Whıtıng, R.C., 1996. Risk assessment and predictive microbiology. Journal of Food Protection, 59 31–36.

Bunkova, L., Bunkab, F., Klcovska, P., Mrkvıckac, V., Dolezalova, M., Kracmard, S., 2010. Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. Food Chemistry, 121, 203–206.

Burke, R.M., Monahan, F.J., 2003. The tenderization of shin beef using a citrus juice marinade. Meat Science, 63. 161-168.

Cadun, A., Kışla, D., Çaklı, Ş., 2008. Marination of deep water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf life. Food Chemistry, 109, 81-87.

Cantoni, C., Bersani, C., Damenis, L., Comi, G., 1994. Ammine biogene negli insaccati crudi stagionati. Industrie Alimentari, 23:1239–1243.

Carta, F.S., Soccol, C.R., Ramos, L.P., Fontana, J.D., 1999. Production of fumaric acid by fermentation of enzymatic hydrolysates derived from cassava bagasse. BioresourceTechnology, 68.

Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve ve sebze işleme teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği, Ankara, 6;29-30.

Chang, S.C., Kung, H.F., Chen, H.C., Lin, C.S., Tsai, Y.H., 2008. Determination of histamine and bacterial isolation in swordfish fillets (*Xiphias gladius*) implicated in a food borne poisoning. Food Control, 19. 16–21.

Chen, C.M., Weı, C.I., Koburger, J.A., Marshall, M.R., 1989. Comparison of four agar media for detection of histamine-producing bacteria in tuna. Journal of Food Protection, 52, 808-813.

Comes, J.E., Beelman, R.B., 2002. Addition of fumaric acid and sodium benzoate as an alternative method to achieve a 5-log reduction of Escherichia coli O157:H7 populations in apple cider. Journal of Food Protection, 65:476-483.

Coşkun, B., Şeker, E., İnal, F., 2000. Yemler ve teknolojisi. 3. baskı. S.Ü.Vet. Fak. Yay., Konya.

Coulter, A.D., Godden, P.W., Pretorius, I.S., 2004. Succinic acid. Wine Industry Journal, 19 (6). 16 - 25.

Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., 1999. Broyler gelişiminde laktobasillerin önemi.s.536-544. VİV. Poultry Yutav 99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı, Istanbul.

Çakmakçı, S., Çelik, İ., 1995. Gıda katkı maddeleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu:164 s.75, Erzurum.

Çelik, L., 2007. Kanatlı hayvanların beslenmesinde verim artışı sağlayıcı ve ürün kalitesini iyileştirici doğal-organik etkicil maddeler. Yem Magazin. 47: 51-55.

Çelikyurt, G., Arıcı, M., 2008. Gıda koruyucusu olarak mikrobiyal kaynaklı organik asitler ve önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs, Erzurum.

Çolak, H., Ugur, M., 2002. Farklı muhafaza sıcaklıgı ve süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin olusumu üzerine etkisi. Turk J. Vet anim. Sci. Tübitak, 26, 779-784.

Daeschel, M.A., 1993. Applications and ınteractions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverages. In: Hoover. D.B & Steenson. L.R. (eds.). Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. New York: Academic Press Inc., 63-91.

Daınty, R.H., Mackey, B.M., 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. J Appl Bacteriol, 73:103-114.

Dalgaard, P., Madson, H.L., Samieia, N., Emborg, J., 2006. Biogenic amine formation and microbial spoilage in chilled garfish (belone belone belone) - effect of modified atmosphere packaging and previous frozen storage. Journal of Applied Microbiology, 101: 80-95.

De Las Rivas, B., Marcobal, A., Carrascosa, A., Munoz, R., 2006. PCR detection of food bacteria producing the biogenic amines histamine, tyramine, putrescine and cadaverine. Journal of Food Protection, 69, 2509–2514.

Demirci, F., Guven, K.. Demirci, B., Dadandı, M.Y., Baser, K.H.C., 2008. Antibacterial activity of two Phlomis essential oils against food pathogens. Food Control, 19: 1159–1164.

Dibner, J.J., Buttin, P., 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. J. Appl. Poult. Res., 11: 453-463.

Doores, S., 2005. Organic acids. Antimicrobials İn Food, 91-142.

Doyle, E.M., 2007. Microbial food spoilage- losses and control strategies. Food Research Institute. University of Wisconsin – Madison, WI 53706.

Duman Aydın, B., 2008. Bazı tıbbi bitki ve baharatların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg.14 (1): 83-87

Edmunds, W.J., Eıtenmıller, R.R., 1975. Effects of storage time and temperature on histamine content and histidine decarboxylase activity of aquatic species. Journal of Food Science, 40, 516-519.

Edwards, R. A., Sandine, W.E., 1981. Public health significance of amines in cheese. J. Dairy Sci., 64: 2431-2438.

Eerola, S., Sagues, A.X.R., Lilleberg, L., Aalto, H.B., 1997. Biogenic amines in dry sausages during shelf-life storage. Zeitschriftfür Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A, 205.351-355.

Fadda, S., Vıgnolo, G., Olıver, G., 2001. Tyramine degradation and tyramine/ histamine production by lactic acid bacteria and kocuria strains. Biotechnology Letters, 23. 2015–2019.

Fadhlaoui-Zid, K., Curiel, J.A., Landeta, G., Fattouch, S., Reverón, I., De Las Rivas, B., Sadok, S., Munoz, R., 2012. Biogenic amine production by bacteria isolated from ice-preserved sardine and mackerel. Food Control, 25:89-95.

Feldhusen, F., 2000. The role of seafood in bacterial foodborne diseases. Microbes and Infection, 2:1651−1660.

Frank, H.A., Baranowskı, J.D., Chongsırıwatana, M., Brust. P.A., Premaratue, R.J., 1985. Idendification and decarboxylase activities of bacteria isolated from decomposed mahi mahi after incubation at 0 and 32 ºC. International Journal of Food Microbiology, 2, 331-340.

Frıedman, M., Henıka, P.R., Mandrell, R.E., 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Salmonella enterica.* Journal of Food Protection, 65, 1545–15.

Gálvez, A., Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R., 2010. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. Currant Opinion in Biotechnology, 21,142-148.

Garai, G., Duenas, M.T., Irastorza, A., Moreno-Arribas, M.V., 2007. Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider. Letters in Applied Microbiology, 45, 473–478.

Geopfert, J.M., Hıcks. R., 1969. Effect of volatile fatty acids on *Salmonella typhimurium*. J Bacteriol, 97, 956–958.

Geornaras, I., De Jesus, A.E., Van Zyl, E., Von Holy, A., 1995. Microbiological survey of a South African poultry processing plant. J. Basic Microbiol, 35:73–82.

Gonzalez, L., Sandoval, H., Sacristan, N., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E., 2007. Identification of lactic acid bacteria isolated 75 from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. Food Control, 18, 716-722.

Gökdogan, S., Özogul, Y., Küley, E., Özogul, F., Kacar, C. Ucar, Y., 2012. The influences of natural zeolite (cliptinolite) on ammonia and biogenic amine formation by food borne pathogen. J Food Sci, 77: 452-457.

Gökdoğan, S., 2011. Klinoptilolit (Doğal Zeolit)' in patojen bakterilerin biyojenik amin ve amonyum etkisinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek LisansTezi, Adana

Gökoğlu, N., Varlık, C., 1995. Sardalya konservelerinin histamin biyojen amini yönünden incelenmesi. The journal of Food 5: 273-279.

Graf, W., 1992. Untersuchungen zum vorkommen und zur bildungvon histamin in hartkaese. Dissertation med. Vet. München.

Gram, L., Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. Current Opinion in Biotechnology, 13:262–266.

Greer, G., Dilts B., 1992. Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogens and spoilage bacteria to organic acids. Food Research International, 25:355-364.

Halasz, A., Barath, A., Simon Sarkadi, L., Holzapfel, W., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci. Technol, 51: 42-49.

Harsa, Ş., 2001. L (+) laktik asidinin saflaştırılması projesi. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir.

Havelka, B., 1967. Role of the hafnia bacteria in the rise of histamine in tuna fish meat. Cesk. Hyg.,. 12: 343-352.

Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana- Nogues, M.T., Vidal-Carou, M.C., 1996. Ion-pair high performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. J Agric. Food Chem., 44: 2710-2715.

Hızarcı, Ö., 2001. Tulum peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve anti-listerial etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi.İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.

Hornero-Mendez, D., Garrido-Fernandez, A., 1997. Rapid high performance liquid chromatography analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. Journal of Food Protection, 60 (4): 414-419.

Houicher, A., Küley, E., Bendeddouche, B., Özogul, F., 2013. Histamine and tyramine production by bacteria isolated from spoiled sardine (*Sardina pilchardus*). Afr J Biotechnol, 12: 3288-3295.

Hun-Gu, S., Sun Young, L., Pahn-Shick, C., Sunggi, H., Sangryeol, R., Young-Jin, C., Dong-Hyun, K., 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. International Journal of Food Microbiology, 145.1 287-292.

Incı, I., Hasdemir, M., Bilgin, M., Aydın, A., 2000. Laktik asitin alamin-336 ile çeşitli seyreltici çözücüler kullanılarak ekstraksiyonunun incelenmesi. Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences, 24. 47-51.

Izquierdo-Pulido, M., Hernandez-Jover, T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M.C., 1996. Biogenic amines in European beers. J Agric Food Chem., 44: 3159-3163.

Joosten, H.M.L.J., 1988. The biogenic amine contents of dutch cheese and their toxicological significance. Neth.Milk Dairy J., 42: 25-42.

Kankı, M., Yoda, T., Tsukamoto, T., Shıbata, T., 2002. Klebsiella pneumoniae produces no histamine: raoultella planticola and raoultella ornithinolytica strains are histamine producers. Appl. Environm. Microbiol., 68 (7): 3462-3466.

Kılıç, S., 1990. Yoğurt kültürünü oluşturan ***L. bulgaricus*** ve ***St. thermophilus*** bakterilerinin antibakteriyal özellikleri üzerine bir araştırma. The Journal of Food, 15 (6), 333-338.

Kırk, E., Othmer, D.F., 1952. Encyclopedia of chemical technology. vol. 8. New York: Interscience Publishers 680-696.

Kim, M.K., Mah, J.H., Hwang, H.J., 2009. Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. Food Chem., 116: 87–95

Klausen, N.K., Lund, E., 1986. Formation Of biogenic amines in herring and mackreal. Zeitsch. Leb. Unter. Forsch., 182: 459-463.

Kučerová, K., Svobodová, H., Tůma, Š., Ondráčková, I., Plocková, M., 2009. Production of Biogenic Amines by Enterococci. Czech J Food Sci, 2, 50-55

Küley, E., Balıkcı. E., Özogul, İ., Cengiz, D., 2013. Interaction Between Lactic Acid Bacteria And Food-Borne Pathogens On Putrescine Production İn Ornithine-Enriched Broth. International Journal Of Food Science And Technology,48, 394–404

Küley, E., Balıkcı. E., Özogul. I., Gökdogan, S., Özogul, F., 2012. Stimulation of cadaverine production by foodborne pathogens in the presence of *Lactobacillus, Lactococcus* and *Streptococcus* spp. J Food Sci., 77: 650-658.

Küley, E., Özogul, F., 2011. Synergistic and antagonistic effect of lactic acid bacteria on tyramine production by food-borne pathogenic bacteria in tyrosine decarboxylase broth. Food Chemistry, 127 (2011) 1163–1168.

Küley, E., Özogul, F., Balıkcı, E., Durmus, M.., Ayas, D., 2013. The influences of fish infusion broth on the biogenic amines formation by lactic acid bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, 44, 2, 407-415.

Küley, F., 2016. Bazı Baharatların (Sumak, Kimyon, Karabiber Ve Kırmızı Biber) Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilerin Gelişimi Ve Biyojen Amin Üretimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek LisansTezi, Adana

Kumar, N., Abdulkader, J.B.M.., Rangaswami, P., Irulappan, I.., 1997. Introduction to spices, plantation crops, medicinal and aromatic plants. New Delhi, Oxford and IBH Publishing.

Kurt, Ş., Zorba, Ö., 2008. Et ve fermente et ürünlerinde biyojen aminler. Türkiye 10. Gıda Kongresi. 21-23 Mayıs. Erzurum.

Landete, J.M., Arena, M.E., Pardo, I., Manca De Nadra, M.C., Ferrer, S., 2008. Comparative survey of putrescine production from agmatine deamination in different bacteria. Food Microbiology, 25, 882–887.

Lehane, L., Olley, J., 2000. Histamine fish poisoning revisited. Int. J. Food Microbiol, 58:1-37.

Leroy, F., De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures fort he food fermantation industry. Trends in Food Science & Technology, 15. 67-78.

Lıston, J., 1980. Microbiology in fishery science In: Connell JJ (ed) Advances in Fish Science and Technology. Fishing News Book Ltd. Surrey. Farnham, 138–157.

Lopez-Sabater, E.I., Rodrıguez-Jerez, J.J., Hernhdez-Herrero, M., Mora-Ventura, M.T., 1996. Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in Scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. International Journal of Food Microbiology, 28. 411-418.

Lopez-Sabater, E.I., Rodrıguez-Jerez, J.L., Hernandez-Herrero, M., Mora-Ventura, M.T., 1994. Evulation of histamine decarboxylase activity of bacteria isolated from sardine (*Sardina pilchardus*) by an enzymic method. Letter App. Microbiol., 19: 70-75

Lovenberg, W., 1973. Some vaso- and psychroactive substances in food: amines stimulates depressants and hallucinogens. Nation. Academy Sci., Washington. DC.

Mah, J.H., Hwang, H.J., 2009. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosus* as a protective culture. Food Control, 20. 796–801.

Maijala, R., 1993. Histamine and tyramine production by *Lactobacillus* strain subjected to external ph decrease. Journal of Food Protection, 57(3): 259-262.

Masson, F., Lebert, A., Talon, R., Montel. M.C.. 1997. Effect of Physico-chemical Factors Influencing Tyramine Production by *Carnobacterium divergens*. Journal of App. Microbiol. 83: 36-42.

Masson, F., Talon, R., Montel, M.C., 1996. Histamine and tyramine production by bacteria from meat products, International Journal of Food Microbiology, 32, 199-207.

Mıddlebrooks, B.L., Toom, P.M., Donglas, W.L., Harrıson, R.E., Mcdowell, S., 1988. Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish Mackerel (*Scomberomorus maculatus*). Journal of Food Science, 53, 1024–1029.

Millichap, J.G., Yee, M.M., 2003. The diet factor in pediatric and adolescent migraine. Pediatric Neurology**.** 28.9–15, microflora on nutrition and metabolism. J. Appl. Poult. Res., 11:453-463.

Nakai, S.A., Siebert, K.J., 2003. Validation of bacterial growth ınhibition models based on molecular properties of organic acids. ınt. J. Food Microbiol., 86:249–255.

Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duızer, E., Aıdara-Kane, A., Sprong. H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threfall, J., 2010. Food-borne diseases – the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. Int J Food Microbiol, 139, 3–15.

Nkanga, E.S., Uraih, N., 1981. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in meat samples in benin city, nigeria and possible control by use of condiments. J Food Prot, 44:4-8.

Nunheimer, T.D., Fabion, F.W., 1940. Influence of organic acids, sugars, and sodium chloride upon strains of food poisoning *staphylococci*, Am. J. Public Health, 30 (9): 1040-9.

Nychas, G.J.E., Drosınos, E.H., Board, R.G., 1998. Chemical changes in stored meat. ın microbiology of meat and poultry. Edited by Board RG. Davies A. London. England: Blackie Academic & Professional, 288-326.

Ordonez, A.I., Ibanez, F.C., Torre, P., Barcina, Y., 1997. Formation of Biogenic amines in Idiazabol Ewe's-Milk Cheese: Effect of Ripening. Pasteurization and Starter. Journal of Food Protection, 60 (11): 1371-1375.

Ordonez, J.A., Hierro, E.M., Bruna, J.M., De La Hoz. L., 1999. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 39, 329–367.

Othmer, K., 1994. Encyclopedia of Chemical Technology, 27 volume set, 5th Edition.

Oweley, J.A., 1993. Buffered acid-treated food casing. US. Patent, 5,207,608.

Ouwehand, A.C., Vesterlund, S., 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. CRC Press, 11. 375-396.

Ova, G., 2001. Koruyucular, Gıda katkı maddeleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, 128.

Ozkaya, F.D., Ayhan, K., Vural, N., 2001. Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products. Meat Science., 58:163–166.

Ölmez, H.K., 2000. Biyojenik aminler. Dünya Gıda. 51-57.

Önder, E., 2006. Sulu organik çözeltilerin elektrokimyasal yöntemle arıtılması. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Eskişehir.

Özcan, Ö., 2004. Butirik asit ekstraksiyonunda çözücü seçimi. Yüksek lisans tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Özdestan, Ö., Üren, A., 2006. Biyojen amin analiz yöntemleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs.Bolu.

Özogul, F., Özogul, Y., 2005. Formation of biogenic amines by gram-negative rods isolated from fresh. spoiled. Vp-Packed And Map-Packed Herring (*Clupea harengus*). European Food Research Technology. 221:575–581.

Özogul, F., 2011. Effects of specific lactic acid bacteria species on biogenic amine production by foodborne pathogen. International Journal of Food Science and Technology, 46, 478–484.

Özogul, F., Hamed, I., Gökdogan, S., 2016. The impact of natural clinoptilolite on ammonia, cadaverine and other polyamine formation by food-borne pathogen in lysine decarboxylase broth. LWT - Food Science and Technology , 65, 703–710.

Özogul, F., Özogul, Y., 2007. The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial culture. European Food Research Technology, 225. 385–394.

Özogul, F., 2001. The effect packaging systems on quality and safety of herring. PhD dissertation. Lincoln, U.K: Univ. of Lincoln, 20-36.

Özogul, F., Kacar. C., Küley, E., 2015. The impact of carvacrol on ammonia and biogenic amine production by common foodborne pathogens. Journal of Food Science, 80: M2899-M2903.

Özogul, F., Küley, E., Özoğul, Y., 2004. Balık ve balık ürünlerinde oluşan biyojen aminler. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21 (3-4):375-381.

Özogul, F., Taylor, K.D.A., Quantıck, P., Özoğul, Y., 2002. Biogenic Amines Formation in atlantic Herring (*Clupea harengus*) Stored Under Modified Atmosphere Packaging Using a Rapid HPLC Method. International Journal of Food Science and Technology, 37.(5):515-528.

Pereıra, C.I., Barreto Crespo, M.T., San Romao, M.V., 2001. Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *L. homohiochii*. International Journal of Food Microbiology, 68. 211–216.

Pessione, E., Mazzoli, R., Giuffrida, M.G., Lamberti, C., Garcia-Moruno, E., Barello, C., Conti, A., Giunta, C., 2005. A proteomic approach to studying biogenic amine producing lactic acid bacteria.Proteomics, 5.687–698.

Petäjä, E., Eerola, S., Petäjä, P., 2000. Biogenic amines in cold-smoked fish fermented with lactic acid bacteria. Eur Food Res Technol, 210 :280–285.

Porres, J.M., Etcheverry, P., Miller, D.D., Lei, X.G., 2001. Phytase and citric acid supplementation in whole-wheat bread ımproves phytate-phosphorus release and ıron dialyzability. Journal of Food Sci., 66(4): 614-619.

Ramantanıs, S., 1984. Histamin tyramin and triptamin in Lebensmitteln. Arch. Lebensmittelhyg., 35: 75-80.

Ray, B., Daeschel, M.A., 1992. Food biopreservatives of microbial origin. CRC Press. Boca Raton. FL.

Reılly, P.J.A., 1998. Emerging food safety issues and the seafood sector. 26th Session of the Asia Fisheries Commission. 24–30th Sept. 1998. Beijiing. China.

Renata, G.K.L., Rıma, K., Walter, P.H., 1999. Formation of biogenic amines by proteolytic enterococci during cheese ripening. J. Sci. Food Agric.,79 (8): 1141-1144.

Rice, S., Eitenmiller, R.R., Koehler. P.E.. 1976. Biologcally active amine in food. A review. Journal of Milk and Food Technology, 39.353–358.

Rodrıguez-Jerez, J.J., Mora-Ventura, M.T., Lopez-Sabater, E.I.., Hernandez-Herrero, M., 1994. Histidine, lysine and ornithine decarboxylase bacteria in spanish salted semi-preserved anchovies. Journal Food Production, 57(5): 784-787. 791.

Rodriguez-Jerez, J.J., Lopez-Sabater, E.L., Roig-Sagues, A.X., Mora-Ventura, M.T., 1994. Histamine, cadaverine and putrescine forming bacteria from ripened spanish semipreserved anchovies. J Food Sci., 59 (5): 998-1001.

Saldamlı, İ., 1985. Gıda katkı maddeleri ve ingrediyenler. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Müh.Bölümü, Ankara, 14-26.

Sallam, K.I., Ishioroshi, M., Samejima, K., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage, NIH Public Acces., 37 (8)849-855.

Samelis, J., Sofos, J.N., 2003. Organic acids. In Roler S, Natural Antimicrobials For The Minimal Processing Of Foods, Cambridge, Woodhead Publishing , 98-132.

Santos, M.H.S., 1996. Biogenic Amines: their importance in foods, International Journal of Food Microbiology, 29, 213-231.

Savran, H.S., 1999. Nar Suyunda Organik Asit Dağılımı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Scheuer, R., Rödel, W., 1995. Bestimmung von biogenen aminen in fermentierten fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft, 75:73-75.

Schlundt, J., 2002. New directions in foodborne disease prevention. International Journal of Food Microbiology, 78, 3–17.

Seitter, M., Geng, B., Ertel, C., 2011. Binding to extracellular matrix proteins and formation of biogenic amines by food-associated coagulase- negative staphylococci. International Journal of Food Microbiology, 145, 483-7.

Serdaroğlu, M., Abdraimov, K., Onenç, A., 2007. The effects of marinating with citric acid solutions and grapefruit juice on cooking and eating quality of turkey breast. Journal of Muscle Foods, 18. 162-172.

Shalaby, A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int., 29 (7): 675-690.

Silla Santos, M.H., 1996. Biogenic amines: Their Importance in Foods. International Journal of Food Microbiology, 29: 213-231.

Smith, T.A., 1981. Amines in food. Food Chemistry, 6, 169–200.

Sorrells, K.M., Enigl, D.C., Hatfield, J.R., 1989. The effect of pH. acidulant. time and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. Journal Of Food Protection, 536-601.

Stratton, J.E., Hutkins, R.W., Taylor, S.L., 1991. Biogenic amines in cheese and other fermented foods : A Review. J Food Protect, 54 (6): 460-70

Su, S.C., Chou, S.S., Chang, P.C., Hwang, D.F., 2000. J Chromatogr B., 749:163–169

Suja K.P., Jayalekshmy, A., Arumughan, C., 2004. Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamum indicum*) in DPPH System. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52. 912– 915.

Suomalaınen, T.H., Mayra-Makınen, A.M., 1999. Propionic acid bacteria as protective cultures in fermented milks and breads. Lait, 79:165–174.

Suzzi, G., Gardini. F., 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: A Review. International Journal of Food Microbiology, 88 (1), 41-54.

Tajkarımı, M.M., Ibrahım, S.A., Clıver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21. 1199–1218

Taylor, S.L., 1986. Histamine food poisoning: toxicological and clinical aspects. Crit. Rev. Toxicol, 17:91-128.

Taylor, S.L., Guthertz, L.S., Leatherwood, M., Lıeber, E.R., 1979. Histamine production by Klebsiella pneumoniae and an incident of scombroid fish poisoning. App. Envir. Microbiol, 37 (2): 274-278.

Tekinşen, O.C., Atasever, M., 1994 . Süt ürünleri üretiminde starter kültür. 150. Selçuk Ü. Vet. Fak. Yayınları. Konya,18-80.

Telli, R., Gök, V., Çağlar, A., 2006. Aromatik uçucu yağ bileşenlerinin gıdalardaki antibakteriyel etkileri. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, Bolu 939

Ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H.M.L.J., Huis İn't Veld, J.H.J., 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. Int. J. Food Microbiol, 11: 73- 84.

Theron Maria, M., Lues Jan, F.R., 2007. Organic Acids and Meat Preservation: A Review. Food Reviews International, 23:2, 141-158.

Torre, J., Lorenzo, M.P., Martinez-Alcazar, M.P., Barbaras, C., 2001. Simple high performance liquid chomatography method for α-tocopherol content. Journal of Chromatography A, 919. 305-311.

Toy, N., 2010. Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktlarının patojenik bakterilerin gelişimine ve biyojenik amin üretimine etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 87.

Tsaı, Y.H., Lın, C.Y., Chıen, L.T., Lee, T.M., Weı, C.I., Hwang, D.F., 2006. Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. Food Chemistry, 98. 64–70.

Turner, W.R., Brandon, K.w., Brooks, T.M., Costanza, R., Da Fonseca, Gabw, Portelar., 2007. Global conservation of biodiversity and ecosystem services. BioScience, 57: 868–873.

Tzatzarakis, M., Tsatsakis, A.M., Liakou, A., Vakalounakis, D.J., 2000. Effect of common food preservatives on mycelial growth and spore germination of Fusarium oxysporum. J. Environ. Sci. Health, B35:527-537.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., 2003. Gıda Mikrobiyolojisi. Meta Basım Matbaacılık, İzmir.

Vatansever, L., 2004. Et ve et ürünlerinde biyojenik aminler. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 10 (2): 203-208.

Virto, R., Sanz, D., A´lvarez, I., Condo´n Raso, J., 2004. Inactivation kinetics of Yersinia enterocolitica by citric and lactic acid at different temperatures. International Journal of Food Microbiology, 103:251-257.

Von Beutling, D., 1993Studies on the formation of tyramine by microbes with food hygienic relevance arch. Lebensmittelhyg, 44, Pp. 83–87

Walker, S.J., Betts, G., 2000. Chilled foods microbiology part III microbiological and non-microbiological hazards, Eds. M. Stringer and C. Dennis. Woodhead Publishing Limited CRC pres,153-186

Warthesen, J.J., Scanlan, R.A., Bills, D.D., Libbey, L.M., 1975. Formation of heterocyclic N-nitrosamines from the reaction of nitrite and selected primary diamines and amino acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23. 898–902.

Yang, Z., 2000. Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties.Helsinki.

Yaralı. E., 2014. Gıda Katkı Maddeleri, Ders Notu.

Yatsunamı, K.T., Echıgo.,1993. Studies on halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria. III. Changes in the number of halotolerant histamine-forming bacteria and contents of non-volatile amines in sardine meat with addition of NaCl. Bul. Japanese Soc. Sci. Fish, 59(1): 123-127.

Yavuzer, N., 2016. Aspir (Carthamus Tinctorius) Ve Kudret Narı (Momordica Charantia L.) Ekstraktlarının Balık Etindeki Bozulma Etmeni Ve Patojen Bakteriler Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Adana

Yeğin, S., Üren, A., 2008. Gıdalarda biyojen amin oluşumunu etkileyen faktörler. Türkiye 10. Gıda Kongresi,21-23 Mayıs. Erzurum.

Yemenicioğlu, A., Özkan, M., 2004. Gıdaların başlıca dayandırılma yöntemleri. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. 2.Baskı Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, 222.

Yeniel, N., 2006. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşlarının melas, peynir altı suyu ve pancar suyunda ekzopolisakkarit (Eps) ve laktik asit üretimlerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi; Biyoloji; Gazi Üniversitesi; Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.

Yoneda, N., Kusano, S., Yasuı, M., Pujado, P., Wılcher, S., 2001. Appl. Catal. A. Gen., 221. 253–265.

Young, K.M., Foegedıng, P.M., 1993. Acetic, lactic and citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect of intracellular pH. J Appl Bacteriol, 74, 515–520.

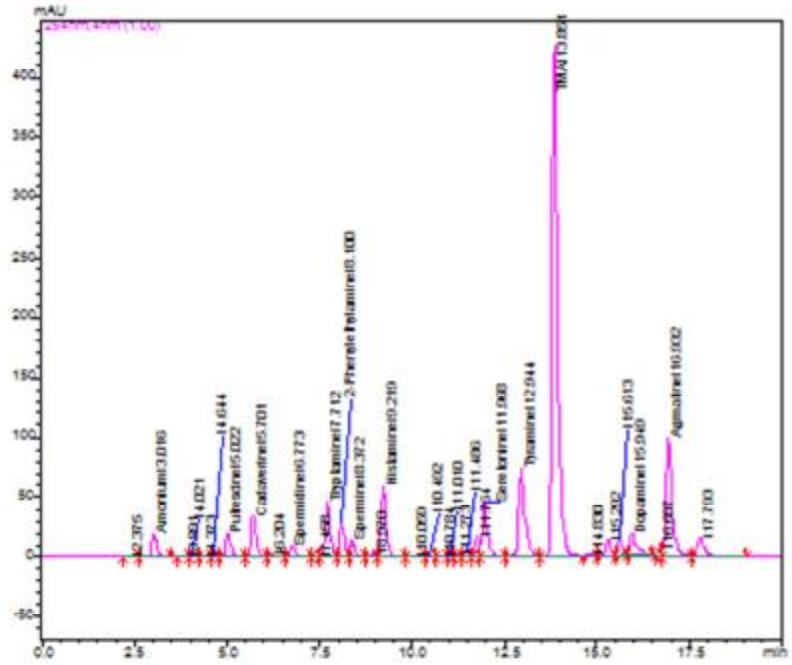
Zhang, N., Wang, H., Zhang, Z.X., Deng, Y.H., Zhang, H.S., 2008. Sensitive determination of biogenic amines by capillary electrophoresis with a new fluorogenic reagent 3-(4fluorobenzoyl)-2-quinolinecarboxaldehyde.Talanta 76.791–79, Ziraat Fakültesi Yayın No: 384. S. 220.

ÖZGEÇMİŞ

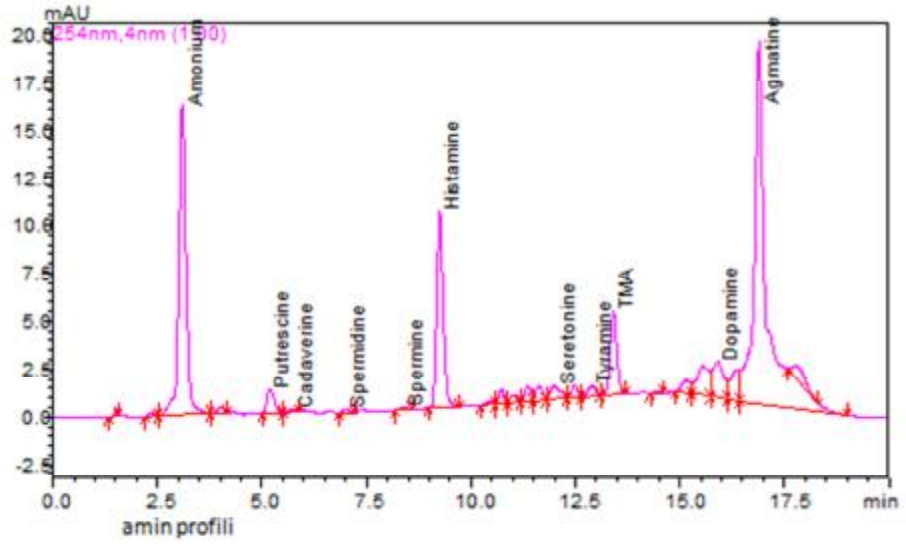
1983 yılında Şanlıurfa ili Birecik ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Birecik'te, ortaokul ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2001 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde lisans öğrenimine başladı ve 2008 yılında mezun oldu. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı ve 2011 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı.

EKLER

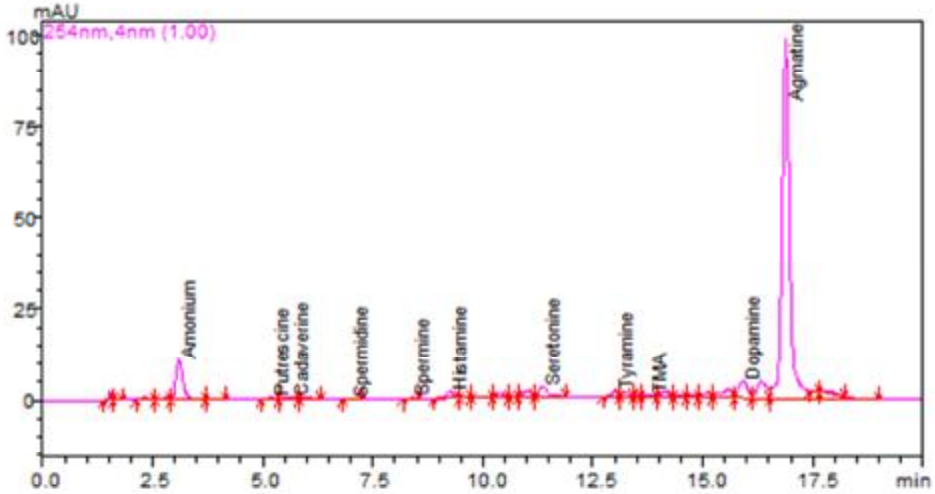
EK 1: Çalışmada kullanılan standart biyojenik aminlere özgü kromotogramlar



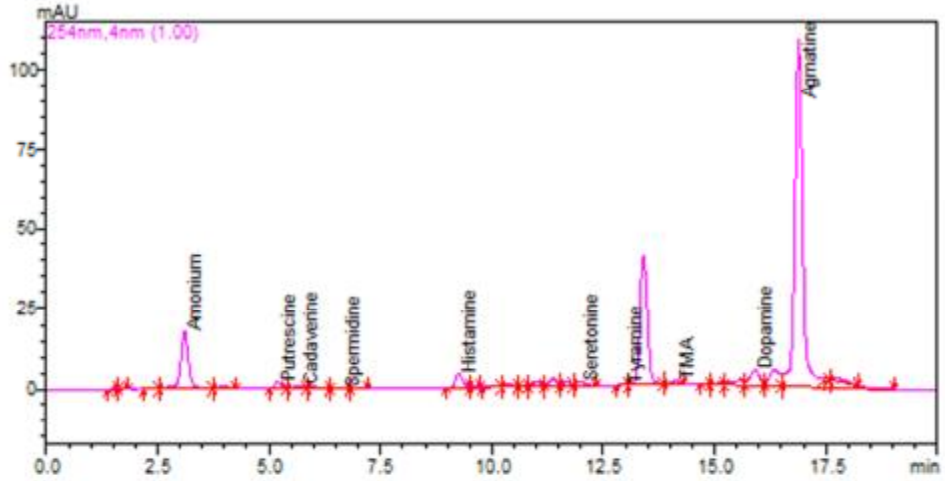
EK 2: *C. jejuni* tarafından histidin dekarboksilaz sıvısında üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



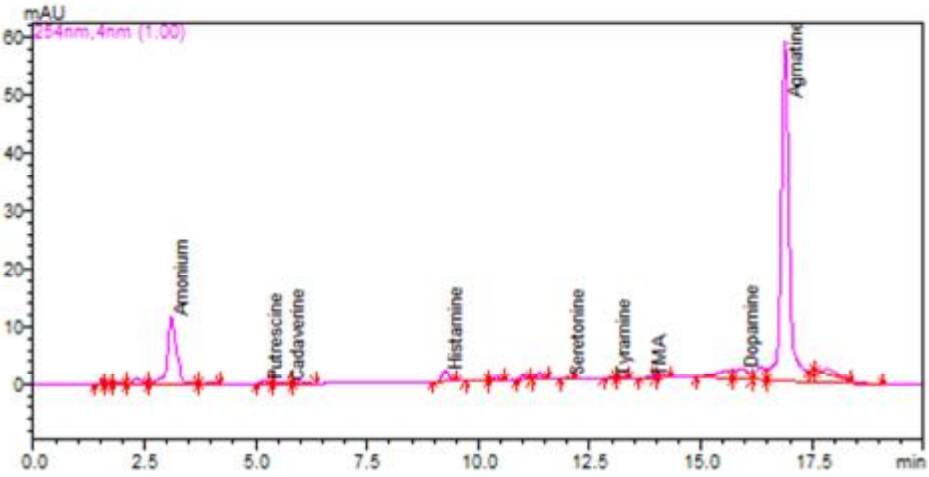
EK 3: Propiyonik asit içeren içeren histidin dekarboksilaz sıvısında *C. jejuni* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



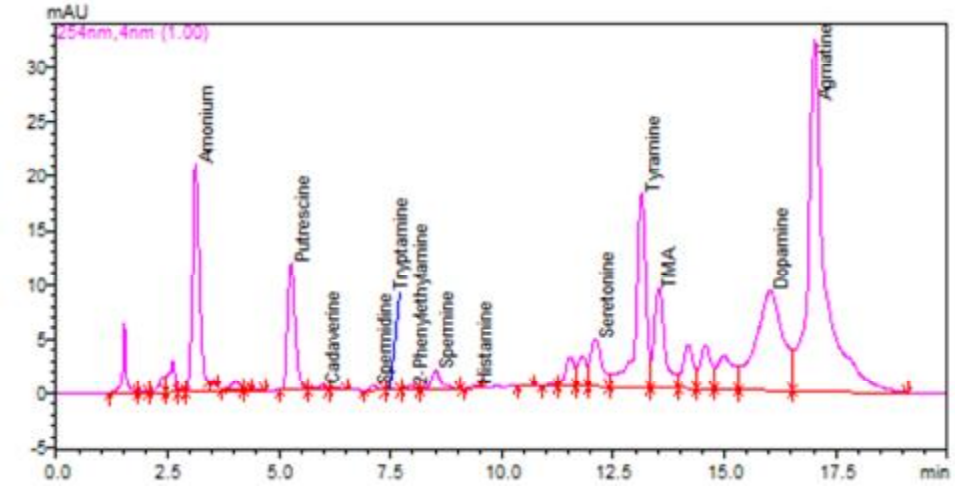
EK 4: Asetik asit içeren içerenhistidin dekarbosilaz sıvısında *C. jejuni* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



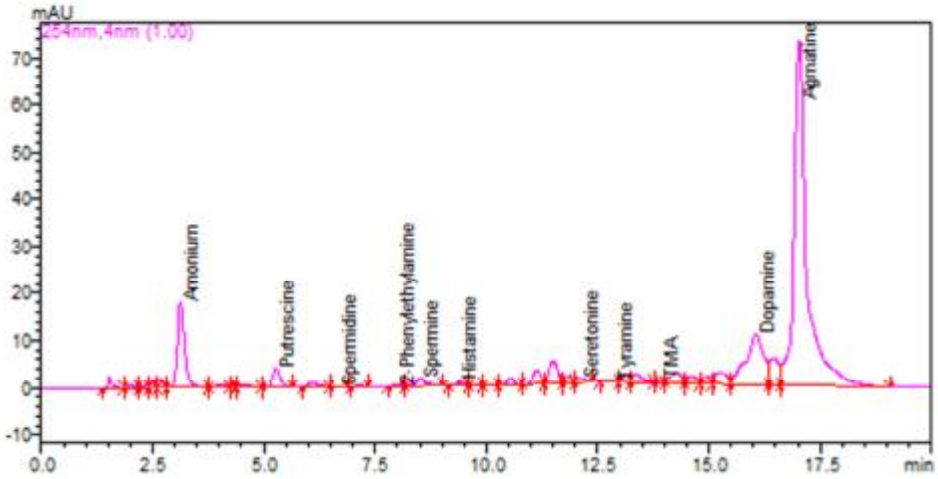
EK 5: Formik asit içeren içeren histidin dekarboksilaz sıvısında *C. jejuni* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



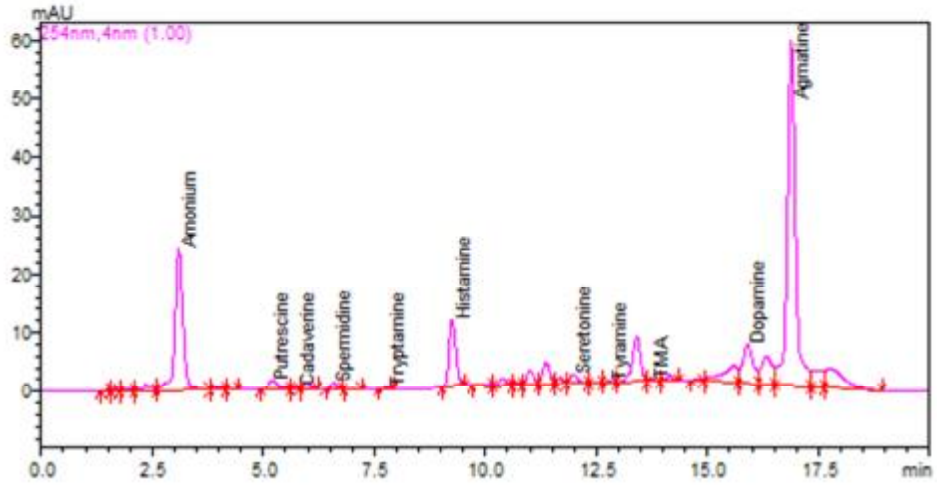
EK 6: *E. faecalis* tarafından tirosin dekarboksilaz sıvısında üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



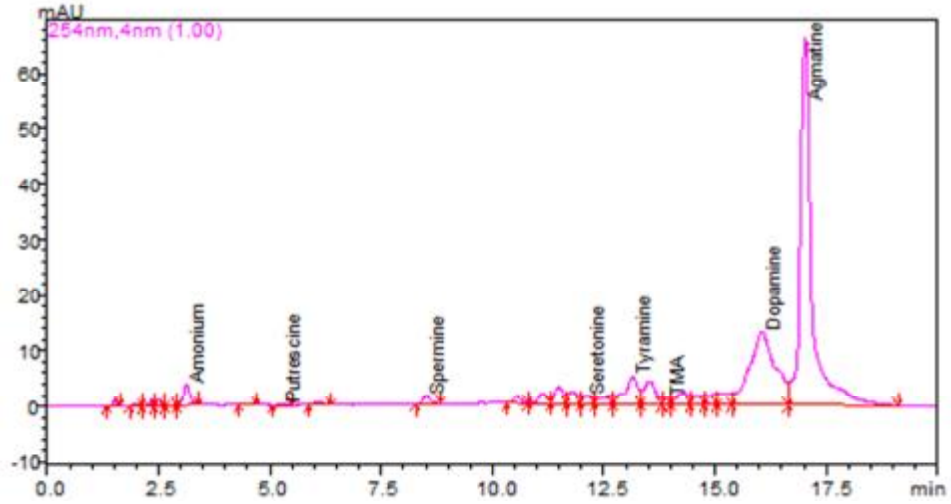
EK 7: Propiyonik içeren tirosin dekarbosilaz sıvısında *E. faecalis* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



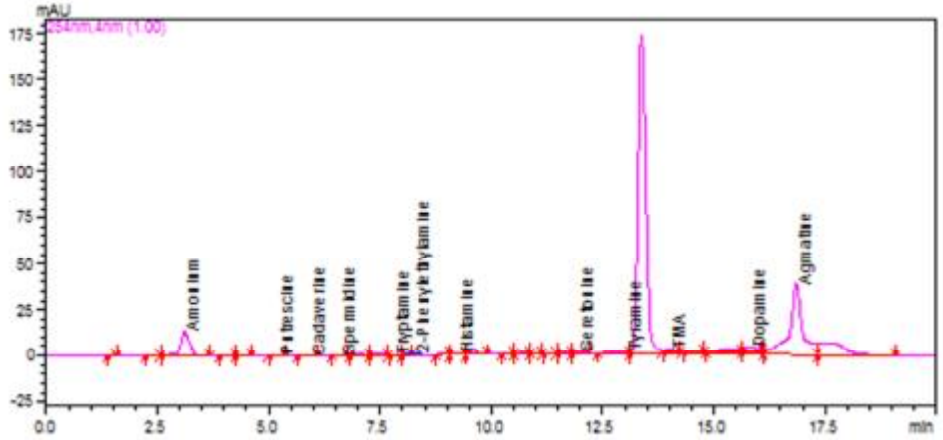
EK 8: Asetik asit içeren içeren tirosin dekarbosilaz sıvısında *E. faecalis* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



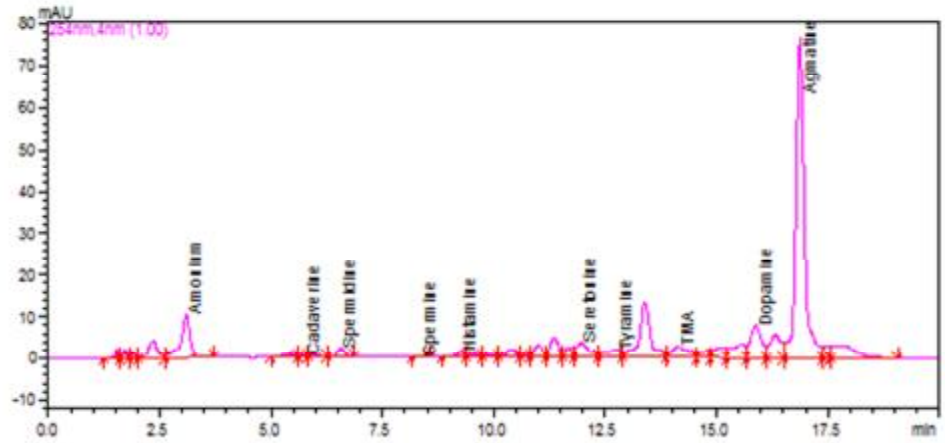
EK 9: Formik asit içeren tirosin dekarboksilaz sıvısında *E. faecalis* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



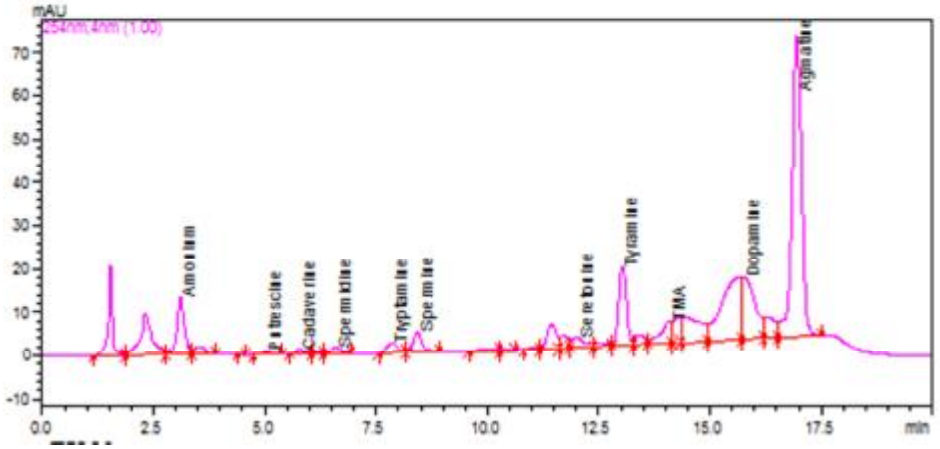
EK 10: *St. thermophilus* tarafından histidin dekarboksilaz sıvısında üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



EK 11: Formik asit içeren histidin dekarboksilaz sıvısında *St. thermophilus* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



EK 12: *Lb. plantarum* tarafından tirosin dekarboksilaz sıvısında üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf



EK 13: Formik asit içeren tirosin dekarboksilaz sıvısında *Lb. plantarum* tarafından üretilen biyojenik amin üretimi ile ilgili kromotograf

