

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BALIKLARDA MİKROBİYAL BOZULMAYA NEDEN OLAN
PSEUDOMONAS SPP.'NİN İZOLASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK ŞEKER

Anabilim Dalı : Biyoloji

Programı : Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji

MANİSA 2011

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BALIKLARDA MİKROBİYAL BOZULMAYA NEDEN OLAN
PSEUDOMONAS SPP.'NİN İZOLASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DİLEK ŞEKER

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 19.08.2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 14.09.2011

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK GÜNDOĞAN

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. A. Usame TAMER

Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ

MANİSA 2011

İÇİNDEKİLER:

1.GİRİŞ.....	1
1.1. Balık Etinin Kimyasal Yapısı.....	1
1.2. Balıklarda Bozulma.....	5
1.3. Balıkların Bozulma Mekanizmaları.....	6
1.3.1. Enzimatik Bozulma.....	6
1.3.2. Kimyasal Bozulma.....	11
1.3.3. Mikrobiyal Bozulma.....	12
1.4. <i>Pseudomonas</i>’ların Genel Özellikleri.....	16
1.5. Halk Sağlığı Açısından Önemli Bazı <i>Pseudomonas</i> Türleri.....	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	22
<i>Pseudomonas putida</i>	23
<i>Burkholderia (Pseudomonas) mallei</i>	24
<i>Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei</i>	24
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	25
2. MATERYAL ve METOD.....	26
2.1. Materyal.....	26
2.1.1. Materyal Örnekleri.....	26
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Besiyeri.....	28
2.1.3. Kullanılan Çözelti ve Kimyasallar.....	28
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	29
2.2. Metod.....	30
2.2.1. Balık Örneklerinden <i>Pseudomonas</i> spp. İzolasyonu.....	30
2.2.2. <i>Pseudomonas</i> spp. Sayımı ve Hesaplama.....	31
2.2.3. Cins Düzeyinde İdentifikasyon.....	32
Gram Boyama.....	32
Oksidaz Testi.....	33
2.2.4. Tür Düzeyinde İdentifikasyon.....	33
VITEK 2 Compact ile İdentifikasyon.....	33
3. BULGULAR.....	37
3.1. <i>Pseudomonas</i> spp. Sayım Sonuçları.....	39
4. TARTIŞMA.....	46
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİL LİSTESİ:

Şekil 1.1: ATP'nin katabolizması.....	7
Şekil 1.2: TMAO ve parçalanma ürünleri.....	8
Şekil 1.3 : Histidin amino asidinin histamine dekarboksilasyonu.....	10
Şekil 1.4: <i>Pseudomonas</i> spp.'in mikroskopik görüntüsü ve Cetrimide agarda koloni görüntüsü.....	16
Şekil 1.5: Ultra viyole ışık altında <i>Pseudomonas fluorescens</i> 'in Cetrimide agarda koloni görüntüsü.....	23
Şekil 1.6: Ultra viyole ışık altında <i>Pseudomonas putida</i> 'nın Cetrimide agarda koloni görüntüsü.....	24
Şekil 2.1: Türkiye'deki su ürünleri üretiminin oransal olarak dağılımı.....	26
Şekil 2.2: Balıklarda eksternal ve internal olarak bakteriyolojik muayene.....	30
Şekil 2.3: <i>Pseudomonas</i> spp. kolonilerinin cetrimide agar besiyerindeki görünüşleri.....	31
Şekil 2.4: Kolonilerin ultra viyole ışık altında görünümü.....	32
Şekil 2.5: Vitek 2 Compact cihazı.....	33
Şekil 2.6: Vitek 2 Compact identifikasyon cihazının kullanımı.....	34
Şekil 3.1: Alındığı kaynağa göre balık örneklerinin <i>Pseudomonas</i> spp. dağılımı.....	38
Şekil 3.2: Balıklarda mevsimsel olarak <i>Pseudomonas</i> spp. izolasyonu	39
Şekil 3.3: Balık örneklerindeki solungaç ve karkaslarından izole edilen <i>Pseudomonas</i> spp. sayım aralıkları.....	40

ÇİZELGE LİSTESİ:

Çizelge 1.1 : Farklı etlerin kimyasal bileşimleri.....	1
Çizelge 1.2 : Günlük esansiyel aminoasit gereksinimi ve balık etinin bunu karşılama oranı.	2
Çizelge 1.3 : Balıkların yağlılık durumlarına göre sınıflandırılması.....	4
Çizelge 1.4 : Buzda saklanan balıklarda bozulma aşamaları.....	9
Çizelge 1.5 : Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak bakteriyel florası.....	15
Çizelge 1.6 : <i>Pseudomonas</i> türlerinin rRNA'ya göre grupları.....	17
Çizelge 1.7 : Bazı <i>Pseudomonas</i> türlerinin biyokimyasal ayrımları	18
Çizelge 1.8 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın farklı canlı türlerinde yapmış olduğu hastalıklar	22
Çizelge 2.1 : Araştırmada incelenen tatlı ve tuzlu su balık örneklerinin çeşidi ve sayısı.....	27
Çizelge 2.2 : Laboratuvar cihazları.....	29
Çizelge 2.3 : GN ID kart üzerindeki biyokimyasal testler.....	35
Çizelge 2.4 : <i>P. fluorescens</i> ' in GN ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları.....	36
Çizelge 3.1 : İncelenen balık örneklerinde <i>Pseudomonas</i> spp. dağılımı.....	37
Çizelge 3.2 : İzole edilen <i>Pseudomonas</i> spp.'lerin incelenen balık örneklerine göre yüzdelik dağılımı.....	37
Çizelge 3.3 : İzole edilen <i>Pseudomonas</i> spp.'lerin balıklar organlarındaki dağılımı.....	38
Çizelge 3.4 : Balık örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> spp. sayım sonuçları.....	41

KISALTMALAR LİSTESİ:

ADH:	Arjinin dihidrolaz
ADP:	Adenozin difosfat
AMP:	Adenozin monofosfat
ATP:	Adenozin trifosfat
Cfu/kob:	Koloni oluşturan birim.
DHA:	Dekosapentaenoik asit
DMA:	Dimetilamin
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
Eh:	Redoks potansiyeli
EPA:	Eikosapentaenoik asit
FA:	Formaldehit
GN ID kart:	Gram negatif identifikasyon kartı
ICMSF:	Uluslararası Mikrobiyolojik Standartlar Komisyonu
IMP:	İnosin mono fosfat
LDC:	Lizin dekarboksilaz
LDL:	Düşük yoğunluklu lipoproteinler
LPS:	Lipopolisakkarit
NA:	Nutrient Agar
NPN:	Protein tabiatında olmayan azotlu bileşiklerin
ODC:	Ornitin dekarboksilaz
PHB:	Poli- β -hidroksibutirat
PUFA:	Polyunsaturated fatty acid (çoklu doymamış yağ asidi)
TMA:	Trimetilamin
TMAO:	Trimetilaminoksit
TVA:	Toplam uçucu asitler
TVB:	Toplam uçucu bazlar
UV:	Ultra viyole

TEŞEKKÜR:

Yüksek Lisans tez çalışmalarımın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi sırasında bana yol gösteren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Fulya OCAK GÜNDOĞAN'a, tez çalışmalarım sırasında bana her türlü imkanı sunan ve desteklerini esirgemeyen Manisa Celal Bayar Üniversitesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma, tezimle ilgili fotoğrafların çekiminde bana yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Mesut ŞAHİN'e teşekkürü bir borç bilirim. Aynı zamanda tez çalışmalarım süresince benden manevi desteğini esirgemeyen aileme de şükranlarımı sunarım.

Dilek ŞEKER

“Bu araştırma Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından FEF 2009-099 proje numarası ile desteklenmiştir.”

BALIKLARDA MİKROBİYAL BOZULMAYA NEDEN OLAN PSEUDOMONAS SPP.'NİN İZOLASYONU

ÖZET

Bu çalışmada materyal olarak Manisa ve İzmir illerinde faaliyet gösteren market-pazar gibi balık satış noktalarından tedarik edilen alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), çipura (*Sparus auratus*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), kefal (*Mugil cephalus*) ve mezgıt (*Merlangus euxinus*) olmak üzere, toplam 100 adet balık örneği analize alındı. Örneklerde *Pseudomonas* izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. *Pseudomonas* spp.'lerin tanımlanmasında Vitek 2 (Biomérieux) sisteminden yararlanıldı. İdentifikasyon sonucunda, *Pseudomonas* spp. sayımı gerçekleştirildi.

Balık örneklerinden (alabalık, çipura, levrek, kefal, mezgıt) *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları; alabalık solungaçlarında $<10^5$ - 3.2×10^7 kob/g ve alabalık karkaslarında $<10^5$ - 2.8×10^7 kob/g arasında; çipura solungaçlarında $<10^5$ - 2.3×10^7 kob/g ve çipura karkaslarında $<10^5$ - 2.7×10^7 kob/g arasında; levrek solungaçlarında $<10^5$ - 2.8×10^7 kob/g ve levrek karkaslarında $<10^5$ - 1.6×10^7 kob/g arasında; kefal solungaçlarında $<10^5$ - 1.0×10^7 kob/g ve kefal karkaslarında $<10^5$ - 1.1×10^7 kob/g arasında; mezgıt solungaçlarında 3.0×10^5 - 1.5×10^6 kob/g ve mezgıt karkaslarında 7.2×10^5 - 9.0×10^5 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Balıklardan identifiye edilen *Pseudomonas* türleri ise; *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putida*'dır.

Sonuç olarak; analize alınan balık örneklerinden *Pseudomonas* spp.'nin izole edilmesi, soğuk zincirin bozulması, balık ve balık ürünlerinin işlenmesinden satışına kadar muhafazası ile depolama ve satış noktalarında hijiyenin sağlanamamasından kaynaklanmaktadır. *Pseudomonas*'ların balıkların daha hızlı bozulmasında etkin olduğu ve halk sağlığı açısından potansiyel patojen olarak önemli rol oynadığı saptanmıştır.

ISOLATION OF THE *PSEUDOMONAS* SPP. TO CAUSE OF MICROBIAL SPOILAGE OF FISHES

ABSTRACT

In this study, fish samples such as trout (*Oncorhynchus mykiss*), gilt head bream (*Sparus auratus*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*), mullet (*Mugil cephalus*) and whiting (*Merlangus euxinus*) supplied from fish sales centers around the country of Izmir and Manisa were used as an experiment material. In total, 100 fish samples analysed. *Pseudomonas* isolation and identification applied on samples. Vitek 2 system were used to identification of *Pseudomonas* spp. At the end of identification, counting of *Pseudomonas* spp. carried out.

Results of *Pseudomonas* spp. counting on fish samples (trout, gilt head bream, sea bass, mullet and whiting) determined between values of $<10^5$ - 3.2×10^7 cfu/g on gills and $<10^5$ - 2.8×10^7 cfu/g on carcass of trout; $<10^5$ - 2.3×10^7 cfu/g on gills and $<10^5$ - 2.7×10^7 cfu/g on carcass of gilt head bream; $<10^5$ - 2.8×10^7 cfu/g on gills and $<10^5$ - 1.6×10^7 cfu/g on carcass of sea bass; $<10^5$ - 1.0×10^7 cfu/g on gills and $<10^5$ - 1.1×10^7 cfu/g on carcass of mullet; 3.0×10^5 - 1.5×10^6 cfu/g on gills and 7.2×10^5 - 9.0×10^5 cfu/g on carcass of whiting. *Pseudomonas* spp. identified from fishes were *Pseudomonas fluorescence* and *Pseudomonas putida*.

Isolation of *Pseudomonas* spp. from fishes samples is a result of breaking of cold chain, not to keeping hygiene or preserving of fish and fish products from bad conditions from processing to sales. *Pseudomonas* spp. which has been identified on spoilage of fishes to be effective and play an important role as a potential pathogen in terms of public health.

1. GİRİŞ:

Günümüzde ve gelecekte yeterli, dengeli ve sağlıklı beslenme insanlığın tartışmasız en önemli problemlerinden biridir (Çelikkale, 1982). Yeterli ve dengeli bir beslenme düzeninde ise, et ve et ürünlerinin çok önemli bir yerinin bulunduğu bilinmektedir. Et ve et ürünlerinin yüksek oranda protein içermesi, içermiş olduğu protein ve yağın biyolojik açıdan yüksek değer taşıması insan beslenmesi açısından önem arz etmektedir (Ergönül ve Kundakçı, 2006).

Dünya nüfusunun hızla artarak 6 milyarı aşması karşısında, bir insanın günlük olarak alması gereken 50 gr hayvansal proteinin çiftlik hayvanlarının etinden sağlanması olarak dışı görülmektedir (İnal, 1992). Bu nedenle de protein açığının büyük bir bölümünün başta balıklar olmak üzere su ürünlerinden karşılanması kaçınılmaz olmuştur (İnal, 1992; Anonim, 2004). Böylelikle su ürünleri, günümüzde tüketilen proteinli yiyeceklerin önemli bir grubunu oluşturur (Varlık ve Heperkan, 1990). Çizelge 1.1’de farklı etlerin kimyasal bileşimleri gösterilmiştir.

Çizelge 1.1 : Farklı etlerin kimyasal bileşimleri (Arslan, 1992; Göğüş, 1988)

Etin Cinsi	Su %	Protein %	Yağ %	Mineral %	Kcal/100 gr
Balık (tüm)	77.2	19.0	2.5	1.3	98
Tavuk (göğüs)	75.0	22.8	0.9	1.2	109
Tavuk (but)	74.7	20.06	3.1	1.1	120
Sığır (yağsız)	71.2	21.1	6.2	1.1	181
Sığır (yağlı)	61.0	19.1	18.5	1.0	287
Koyun (tüm)	62.8	18.5	17.5	1.0	278

1.1. Balık Etinin Kimyasal Yapısı:

Balık etinin ana bileşenlerini su, protein ve yağ oluşturur. Bu bileşenler etin %98’ini oluşturmakta ve etin besin değerini, fonksiyonel özelliklerini, kalitesini, depolama stabilitesini ve ürünlere işlenebilirliklerini büyük ölçüde belirlemektedir (Gökoğlu, 2002).

Balık etinin kimyasal bileşimi çevre sıcaklığına, türüne, yaşına, olgunluk durumuna ve mevsimsel değişikliklere göre büyük değişiklik göstermektedir (Huss, 1998; Gökoğlu, 2002; İzci, 2004; Akçay ve Egemen, 2006).

Balık etinin en önemli bileşenlerinden biri sudur ve oransal olarak diğer bileşenlerden daha fazla bulunmaktadır. Su miktarı balığın kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Kas dokudaki su miktarı pek çok faktörden etkilenmektedir. Özellikle beslenme ve cinsel olgunluk

durumu kasın su içeriği üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir (Sikorski et al., 1990b; Gökoğlu, 2002).

Balık etinde yağ miktarı arttıkça su miktarı azalma eğilimi göstermektedir. Canlının yaşı da su miktarında etkilidir. Gençlerde yaşlılara göre su miktarı daha fazladır. Yaş faktörünün yanı sıra boy faktörü de su miktarında etkili olup, büyük boy balıklar daha düşük miktarda su içermektedir (Varlık ve diğerleri, 2004).

Protein, kimyasal açıdan azot içeren yüksek moleküllü bir organik bileşik olarak tanımlanırken, biyolojik açıdan da yaşam faaliyetlerinin yürütüldüğü bir substrat olarak tanımlanmaktadır (Gökoğlu, 2002). Proteinler hayvan ve bitki protoplazmasının temel bileşenleri olup, aynı zamanda hayatın devamı için gerekli başlıca besleyici elementlerdir.

Balık eti % 18-22 oranında protein içermektedir (Haard, 1995). Balık proteinleri; bütün esansiyel aminoasitleri içeren ve bunları bünyesinde en uygun oranda bulunduran biyolojik değeri yüksek proteinlerdir (Özden, 1995). Balıklarda bulunan esansiyel aminoasitler; lizin, triptofan, fenilalanin, löysin, izölöysin, treonin, metiyonin, valin'dir (Ası, 1996; Varlık ve diğerleri, 2004). Çizelge 1.2'de günlük esansiyel aminoasit gereksinimi ve balık etinin bunu karşılama oranı gösterilmiştir.

Çizelge 1.2 : Günlük esansiyel aminoasit gereksinimi ve balık etinin bunu karşılama oranı (Varlık ve diğerleri, 2004)

Aminoasitler	Günlük gereksinim (mg)	200 gr balık filetosundaki miktar (mg)	Gereksinimi karşılama oranı (%)
Valin	1,6	2,0	125
Treonin	1,0	1,6	160
Löysin	2,2	2,8	125
İzolöysin	1,4	2,0	140
Lizin	1,6	3,2	200
Metiyonin	2,2	1,2	55
Fenilalanin	2,2	1,4	65
Triptofan	0,5	0,4	80

Balık kas dokusunda bulunan proteinler ise 3 gruba ayrılmaktadır: a) Myofibriler proteinler (aktin, miyozin, tropomiyozin ve aktomiyozin) toplam proteinlerin %70-80'ini oluştururlar (memeli hayvanlarda bu oran % 40'tır) (Huss, 1998). b) Sarkoplazmik proteinler (myoalbumin, globulin ve enzimler) toplam proteinlerin % 15-25'ini oluştururlar (Haard, 1995;

Huss, 1998). c) Konnektif doku (stroma) proteinleri (kollagenler ve elastin) toplam proteinlerin % 1-10'unu oluşturlar (Huss, 1998; Çaklı, 2008).

Besin maddelerinin kalitesi içerdiği proteinli maddelerin sindirim sistemindeki fermentlerin etkisiyle çabuk çözülebilir özelliğe sahip olmasına bağlıdır. Balık eti proteinlerinin önemli bir kısmı albumin ve globulinden oluştuğu için diğer hayvansal et proteinlerinden daha çabuk sindirilebilir niteliktedir (İnal, 1988).

Balık eti proteinden başka azot içerikli diğer maddeleri de içermektedir (Gökoğlu, 2002; Çaklı, 2008). Azot içeren maddeler, suda çözünebilen, düşük molekül ağırlığına sahip, protein yapısında olmayan, nitrojen içeren bileşikler olarak tanımlanmaktadırlar (Huss, 1998). Bu maddeler hem lezzetten hem de bozulmadan sorumludurlar. Su ürünlerinde protein olmayan azotlu madde miktarı öncelikle türe, tazelik durumuna ve yaşadığı ortama göre değişiklik göstermektedir. Deniz balıklarının kas dokularındaki protein olmayan azotlu maddelerin % 85'ini serbest aminoasitler, aminler, aminoksitler, guanidinler, nükleotidler ve nükleotid yıkım ürünleri, quarterner amonyum tuzları oluşturur (Haard, 1995; Gökoğlu, 2002; Varlık ve diğerleri, 2004; Çaklı, 2008).

Su ürünlerinin temel bileşenlerinden birisi de yağlardır. Balıklarda yağ miktarı proteinde olduğu gibi sabit olmayıp, çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Balığın türü, yaşı, büyüklüğü, yaşadığı ortam, suyun sıcaklığı ve kirlilik durumu, beslenme koşulları, mevsim gibi faktörler yağ içeriği üzerinde önemli etkiye sahiptirler. Tüm dokularda bulunmalarına rağmen, daha çok yağlı balıkların deri altındaki yağlı tabakalarında, yağsız balıkların ise, karaciğerinde ve kas dokusunda bulunurlar (Achman, 1995; Dönmez ve Tatar, 2001; Konar ve Köprücü, 2002; Çaklı, 2008).

Balıklarda lipitler; fosfolipitler, steroller, trigliseroller, mum esterleri, gliseril esterleri, glikolipitler, sülfolipitler olarak bulunurlar ve temel hücre fonksiyonlarına katılırlar (Gökoğlu, 2002; Çaklı, 2008).

Balıklar içerdiği yağ oranları açısından yağsız, hafif yağlı, orta yağlı ve yağlı balıklar olarak sınıflandırılmaktadırlar (Çaklı, 2008; Oehlenschläger and Rehbein, 2009). Çizelge 1.3'de balıkların yağlılık durumlarına göre sınıflandırılması gösterilmiştir.

Çizelge 1.3 : Balıkların yağlılık durumlarına göre sınıflandırılması (Oehlenschläger and Rehbein, 2009)

	Çoklu doymamış yağ asitleri kompozisyonu (%)	Balık türü
Yağsız balıklar	<1	Mezgit, turna
Hafif yağlı balıklar	1-5	Kefal, alabalık
Orta yağlı balıklar	5-10	Sardalya, ton balığı, somon balığı
Yağlı balıklar	>10	Uskumru, ringa

Balık yağları birden fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerini [Polyunsaturated fatty acid (PUFA)] içermesi bakımından önemlidir. Balık yağı % 20 oranında doymuş yağ asitlerini, % 80 oranında da doymamış yağ asitlerini içerir. Balıkların içerdiği doymamış yağ asitleri daha çok 12–26 karbon atomu içeren uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleridir. PUFA'lardan da eikosapentaenoik asit (EPA) ve dekosapentaenoik asit (DHA) balıklarda oldukça fazla miktarda bulunur.

Balıkların yoğun olarak içerdiği PUFA'lar karbon zincirinin metil grubundan itibaren çift bağın bulunduğu karbon atomunun yerine göre sınıflandırılır. İlk çift bağ üçüncü karbon atomunda ise omega(ω)-3, ω -3 veya n-3; altıncı karbon atomunda ise omega(ω)-6, ω -6 veya n-6; yağ asitleri adını alır. Balıklar, ω -3 grubu yağ asitlerinden EPA ve DHA'nın neredeyse tek kaynağıdır. Bu yağ asitleri deniz balıklarında, tatlı su balıklarından daha fazla bulunmaktadır (Kaya ve diğerleri, 2004; Varlık ve diğerleri, 2004).

Balık yağında bulunan omega-3 yağ asitlerinin kalp damar hastalıklarında önemli bir risk faktörü olan LDL (düşük yoğunluklu lipoproteinler) ve kolesterolün kandaki seviyesini düşürerek hastalanma riskini azalttığı belirtilmektedir (Baysal, 1995)

Balıkların vitamin kompleksi türden türe farklılık gösterebildiği gibi, türler içinde de farklılık gösterebilmektedir. Balık türleri içinde vitamin miktarı bazı faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir: a) Büyüklük, yaş, olgunluk, üreme durumu gibi biyolojik parametreler, b) Av mevsiminde sıcaklık ve yem durumu, c) Av alanına bağlı yem durumu, d) Avdan analize kadar olan dönemde balığa uygulanan işlemler (Varlık ve diğerleri, 2004).

Balıklar önemli bir A, D, E vitamin kaynağıdır. Özellikle balık, karaciğer yağı olan A ve D vitamini bakımından zengindir. Suda eriyen vitaminlerden B₆ ve B₁₂, balık etlerinde önemli miktarda bulunur. B₃ (niasin) yağlı balıklarda bulunurken, B₂ (riboflavin) balık derisinde özellikle yassı balıkların gözlü taraflarında sırt kısımlarındaki deride önemli ölçüde bulunur (Varlık ve diğerleri, 2004).

Balıklar ve su ürünleri diğer yaşayan organizmalarda olduğu gibi 90 tane doğal element içerirler. Vücut bileşimlerindeki en büyük oranı, karbon, hidrojen, nitrojen, oksijen ve sülfür içermektedir. Ek olarak 6 tane önemli makro elementi yapılarında barındırmaktadırlar. Bunlar, kalsiyum, magnezyum, fosfor, sodyum, potasyum ve klor olarak sıralanmaktadır (Lall, 1995).

Balıklar mineral maddeleri besinlerden ve yaşadıkları sudan doğal olarak alırlar ve mineral maddeleri iskelet dokusunda, kas dokusunda ve diğer organlarında depolarlar (Watanabe et al., 1988; Küçükgülmez, 2005).

Balıklarda mineral maddelerin konsantrasyonunu pek çok durum etkilemektedir. Mevsimsel değişiklikler, tür, boy, yaş, cinsiyet, beslenme, çevresel koşullar ve işleme yöntemleri en önemlileridir (Gökoğlu, 2002).

Sonuç olarak; balık etinin protein, vitamin ve mineral bakımından zengin, sindirimi kolay bir besin kaynağı olmasının yanı sıra; yapısal özellikleri bakımından yumuşak ve sulu olması, bağ dokusunun çok az olması (%2), pH'sının 6.8-7.2 arasında olması, doymamış yağ asitlerince zengin olması, iç organları çıkartılmadan piyasaya sunulması nedeniyle mikroorganizmaların üremesi ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmakta, bunun sonucu olarak da yeterli hijyenik ve teknolojik koşullarda muhafaza edilmediği takdirde bozulmalara yol açmakta ve bu durumda insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Tolgay ve Kaymaz, 2001).

1.2. Balıklarda Bozulma:

Bozulma; gıdanın yapısında bulunan protein, karbohidrat ve yağlarla, çeşitli organik asitler, alkoller, aldehitler, selüloz ve pektin gibi bileşiklerin yıkılması sonucu gıdada istenmeyen bir görünüş, tat ve kokunun ortaya çıkması olarak tanımlanabilir (Özkaya ve Cömert, 2008).

Balıklarda bozulma ise; balıklar avlandıktan kısa bir süre sonra otolitik-enzimatik, oksidatif, mikrobiyolojik etkilerle birtakım değişikliklere uğrarlar, bu değişimler sonucu oluşan bileşikler insan sindirim sistemindeki gibi düzenli bir parçalanmayı takiben oluşmaz ve oluşan kimyasal bileşikler insan sağlığına toksikasyon şeklinde olumsuz etkide bulunduğundan; bu kimyasal değişimler balık etinde bozulma olarak bilinir (Türker, 1997; İnal, 1992).

Balıklarda avlanma sonrası derinin yüzülmesi şeklinde bir işlem yapılmaz. Balık derisi ıslak ve sümüksü bir yapıda olduğundan bakterilerin çok kısa zamanda üremeleri ve buradan derinlere nüfuz etmeleri için iyi bir ortam oluşturur. Ülkemizde avlanma sonrası balıkların iç organları çıkartılmaz. Böylelikle iç organ içerikleri çoğunlukla balık etine bulaşır. Bu nedenle karın boşluğu ve balık üzerinde bırakılan solungaçlar mikroorganizmaların üremesine ve balığın diğer bölümlerinin kontamine olmasına yol açar (İnal, 1992).

Balıklarda ölüm sonrası değişim 3 aşama da görülür. Bunlar rigor mortis, otoliz ve kokuşmadır. Bu olaylar birbirini takip eder, ancak birbirlerinden kesin çizgilerle ayrılmaz. Balığın bir bölgesinde rigor mortis tamamlanmadan bir başka bölgede otoliz başlayabilir. Balıkların tüketimi ve işlenmesi ancak rigor mortis, otoliz dönemleriyle kokuşma başlamadan önce

mümkündür. Kokuşmanın ilerlediği safhalarda etlerin tüketimi ve işlenmesi sakıncalıdır (Amlacher, 1961).

Balıkta ölümden sonra görülen ilk değişim rigor-mortistir. Ölümden sonra balık etinde oluşan sertleşmeye rigor mortis denir. Bu olay ölümden sonra kas dokuda çok komplike kimyasal değişimlerin etkisi ile meydana gelir (Göğüş, 1988).

Rigor mortisin süresi balığın kimyasal yapısına ve ölüm sonrası balığın karşılaştığı işlemlere bağlı olarak değişir. Balık etlerinin bağ dokusu zayıf olduğundan rigor mortis süresi oldukça kısadır. Yavru ve genç balıklarda su oranı yüksek olması nedeniyle rigor mortis daha kısadır. Yağ oranı yüksek, kırmızı etli balıklarda rigor mortis daha uzun, beyaz etli su oranı yüksek olan ve tatlı su balıklarında rigor mortis daha kısadır. Balığın yaşadığı sırada hastalıklı olması, iyi beslenememesi, çevre koşullarının iyi olmaması, göç ve üreme sonrası yakalanması gibi faktörler rigor mortis süresini olumsuz yönde etkiler (Amlacher, 1961).

Balığın bozulma sürecinde görünüşünde birtakım değişiklikler meydana gelir. Bunlar:

- Balığın karakteristik parlak rengi solar, sarımsı, kahverengimsi kirli bir renk oluşur.
- Balığın derisinde özellikle solungaç ve yüzgeçlerdeki kayganlık artar.
- Balığın gözü çöker ve küçülür. Göz bebeği donuklaşır ve kornea opaklaşır.
- Solungaçlar önce açık pembe, sonra da grimsi sarı renge dönüşür.
- Kas dokusu yumuşar ve parmakla bastırıldığında çöker.
- Balığın iskeleti kas dokusundan kolayca sıyrılır ve hemoglobin oksidasyonu sonucu özellikle kuyruk kısmına doğru kırmızımsı kahverengi renk oluşur (Ünlütürk ve diğerleri, 1999; Doğançay, 2006).

1.3. Balıkların Bozulma Mekanizmaları:

1.3.1. Enzimatik Bozulma:

Balıkların bozulmasında en büyük etken mikrobiyal kontaminasyon sonucu oluşan aktiviteler olmasına rağmen; otolitik reaksiyonlar da bozulmada önemli rol oynar (Küçüköner ve Küçüköner, 1990).

Balığın bozulmaya en duyarlı kısmı solungaç bölgesi olup, ilk olarak burada kötü kokunun ortaya çıkması ile duyuşsal bozulma görülmektedir. Bunun yanında balığın bağırsakları da önemli bir mikroorganizma kaynağıdır. Balık yakalandıktan hemen sonra bağırsakları çıkarılmazsa, mikroorganizmalar buradan ete kolayca geçebilmektedir (Gökten, 1990).

Bu işlemde bağırsaklardan salgılanan proteolitik enzimlerin etkili olduğuna inanılır. Bu enzimler balık bağırsağında doğal olarak bulunur ve bağırsakta bulunan belli mikroorganizmalar tarafından meydana getirilir (Sverstsvik et al., 2002).

Bozulmaya neden olan bu mikroorganizmalar önce kimyasal yapı bakımından basit olan maddeleri kullanır, daha sonra çeşitli kötü kokulara yol açan uçucu bileşikler oluştururlar. Bu bileşikler ise; trimetilamin, amonyak, histamin, hidrojen sülfür, indol ve diğer bazı bileşiklerdir.

Balıklarda bozulmaya neden olan en önemli mikroorganizmalar ise; *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Cytophaga* ve *Flavobacterium* gibi cinslere ait gram negatif çomaklardır.

Bu mikroorganizmaların bozulmaya neden olmaları belirli bileşikleri kullanmaları ile ilişkilidir. Bunlara ilişkin yapılan çalışmalar bu mikroorganizmaların jelatini ve yumurta albuminini kullanabildiğini, diğer bir deyişle proteolitik olduklarını göstermiştir (Göktan, 1990).

Balıklarda bozulmaya neden olan bu mikroorganizmalar, post-mortem dönemde balığın kas dokusundaki enzimatik reaksiyonlar sonucunda, balığı kalite kaybına uğratar.

Post-mortem dönemde balıkta; ATP'nin tükenmesi ile aktin ve myosin proteinleri arasında oluşan köprüler kırılmaz ve aktomyosin oluşur. ATP noksanlığında bütün aktiviteler durur ve sonuçta rigor-mortis şekillenir. Rigor mortis durumunda ise balık kası elastikiyetini kaybeder, sert-katı durumuna geçer. Post-rigor döneminde endojen enzimlerin (balık dokusu enzimleri) faaliyeti sonucu dokuda gevşeme başlar, balığın lezzet, renk ve tekstüründe değişiklikler, yumuşamalar meydana gelir. Bu gibi kalite yönünden meydana gelen değişiklikler, gıda kalitesini etkilememesine rağmen; ürünlerin görüntüsünü bozarak tüketimi azalttığından arzu edilmemektedir (Soyer, 1999; Hisar ve diğerleri, 2004).

Balıklarda avlama sonrası birçok türünde, ATP'nin parçalanması ile ete hoş olmayan kokuyu veren inosin mono fosfat (IMP) oluşur. Ancak IMP'nin daha ileri derecede parçalanması ile lezzette de istenmeyen değişimler oluşur (Şekil 1.1). Araştırmacılar lezzette meydana gelen bozulmanın sadece IMP'nin parçalanmasına bağlı olmadığını, balıkların depolanması ve işlenmesi esnasında lipitlerin hidroliz ve oksidasyonunun da lezzetin değişmesine, kimyasal ve duysal açıdan balıklarda kalitenin bozulmasına neden olduğunu bildirmişlerdir (Foegeding et al., 1996).

ATP → ADP → AMP → Adenozin → Inosin → Hipoksantin → Ksantin → Ürik asit

ATP → ADP → AMP → IMP → Inosin → Hipoksantin → Ksantin → Ürik asit

Şekil 1.1: ATP'nin katabolizması (Foegeding et al., 1996)

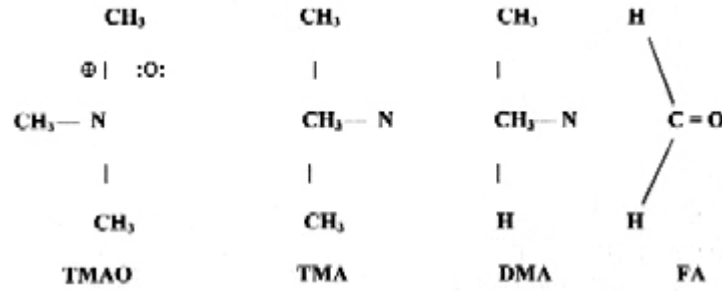
Balık kalitesini; tür, avlama bölgesi, avlama teknikleri, teknede uygulanan işlemler (örneğin, balıkların soğutulmuş deniz suyu veya kırılmış buz içinde bekletilmesi), işleme teknikleri (ekipman temizliği, personel hijyeni, uygulanan süre ve sıcaklık parametreleri) gibi faktörler etkilemektedir.

Bunun haricinde balık kalitesinin belirlenmesi amacıyla kullanılan maddeler de vardır, bunlar; trimetilamin, dimetilamin, formaldehittir (Serdaroğlu ve Deniz, 2001).

Trimetilaminoksit (TMAO); balıklarda osmoregülasyondan sorumlu quarterner amonyum bileşiğidir. Deniz balıklarında osmoregülasyon sistemi gerçekleşeceğinden, tatlı su balıklarında bulunmayan bir bileşiktir. TMAO, balık gövdesinde tampon görevi yapmaktadır, suda çözülebilir ve protein olmayan azot fraksiyonuna aittir (Shahidi and Durnford, 1998). TMAO, gerçek zooplankton türlerinde biyosentez yoluyla oluşmaktadır. Plankton yiyen balıklar TMAO'yu bu yolla almaktadır (Serdaroğlu ve Deniz, 2001). Ringa, morina, mezigit ve berlam balıkları gibi gadoid türler ile köpek balığı ve mersin balığı gibi kıkırdaklı balıklarda yüksek miktarda bulunmaktadır (Shahidi and Dumford, 1998).

Post-mortem dönemde balık kasında TMAO, mikroorganizmaların enzim aktiviteleri ile trimetilamin (TMA)'e indirgenir. TMAO'nun indirgenmesinde rol alan bakteriyel enzim; triaminoksidazdır. Bu enzim TMAO'ı aktifleştirerek bakteriyel dehidrogenazın TMA oluşturmalarını sağlamaktadır. TMA ise dimetilamin (DMA) ve formaldehit (FA)'e dönüşür (Şekil 1.2) (Regenstein et al., 1982).

Balıkta DMA ve FA oluşumu ileri düzeyde bir bozulmanın göstergesidir. DMA, dondurularak depolanan balıklarda tazelik ve bozulma indeksi olarak kullanılabilir. Dondurularak depolanan balık kasında FA oluşumu proteinlerde çapraz bağların oluşumuna sebep olarak balıkta sert ve süngerimsi bir yapı oluşturur (Regenstein and Regenstein, 1991). Çizelge 1.4'de buzda saklanan balıklarda bozulma aşamaları gösterilmiştir.



Şekil 1.2: TMAO ve parçalanma ürünleri (Regenstein et al, 1982)

Çoğu balık türünde bozulma indikatörü TMA'dır. TMAO kokusuz bir bileşik olmasına rağmen, TMA çok düşük koku eşiğine sahiptir ve bayat balık, balıkhane kokusundadır. TMA hoşla gitmeyen organoleptik belirtilerin nedenlerinden birini oluşturur. TMA oluşumu mevsim, balığın yakalandığı bölge, balık türü, kas türü (beyaz veya siyah et) ve işleme türüne göre değişimler gösterir. TMA miktarının tayini ile balıkların tazeliği hakkında fikir yürütülebilir (Varlık, 1994; Serdaroğlu ve Deniz, 2001).

Çizelge 1.4: Buzda saklanan balıklarda bozulma aşamaları (ICMSF, 1980) [TMA: Trimetilamin, TMAO: Trimetilamin oksit, TVB: Toplam uçucu bazlar (amonyak, dimetilamin ve trimetilamin), TVA: Toplam uçucu asitler (asetik, propiyonik vb.)]

Bozulma aşaması	Dokudaki değişimler	Organoleptik değişimler	Bakteri sayısı/cm ²	Kimyasal değişimler
1.Aşama 0-5 gün	Ölüm sertliği ATP→İnosin TMA da hafif yükselme	Deri, solungaçlar ve gözler parlak; sıkı doku, taze koku	10 ² -10 ³	TMA <1-1.5 mg/100g
2.Aşama 5-10 gün	Farkedilebilir bakteriyel gelişme, İnosin→Hipoksantin TMAO→TMA, NH ₃ artışı	Gözler donuklaşır, Deri ve solungaçlar solar, hafif balığımsı koku ve dokuda yumuşama	10 ³ -10 ⁶	TMA <5mg/100g TVB <15 mg/100g
3.Aşama 10-14 gün	Hızlı bakteriyel gelişme ve dokulara yayılma Hipoksantin→Ksantin, Ürik asit,vb. TMA da hızlı artış,TVB ve TVA da artış	Gözler çöker, Solungaçlar renksiz ve kayganlaşır, Deri rengi açılır, Ekşi ve balığımsı koku, Dokuda yumuşama	10 ⁶ -10 ⁸	TMA:10mg/100g TVB:20-30mg/100g TVA:15-20mg/100g
4.Aşama >14 gün	Bakteriyel gelişme durgun faza ulaşır, TVB ve TVA da hızlı artış, TMA daki artış devam eder veya durur, Proteoliz başlar, H ₂ S ve diğer ürünler oluşur.	Gözler opak ve çökük, Solungaçlar renksiz ve kaygan, Çok yumuşak doku, Pütrit koku	>10 ⁸	TMA>10mg/100g TVB>30mg/100g TVA>60mg/100g Saptanabilir düzeyde H ₂ S ve indol oluşumu

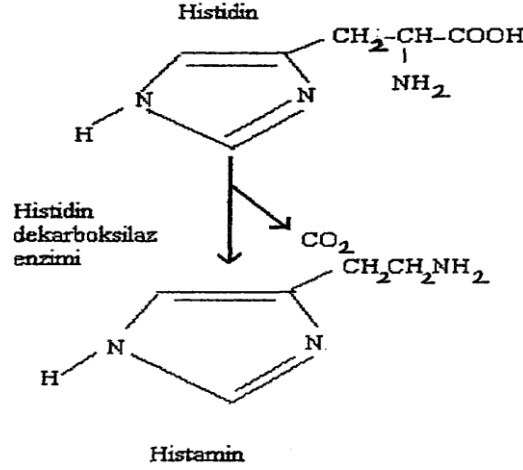
Balıklarda diğer bir bozulma indikatörü ise; biyogenik aminlerdir. Biyogenik aminler mikroorganizmaların; bitki, hayvan ve insanların normal metabolitik aktiviteleri sonucu oluşabilirler. Biyogenik aminler aminoasitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyonu sonucunda oluşan, düşük molekül ağırlıklı, biyolojik aktiviteye sahip, alifatik, aromatik veya heterosiklik yapıda organik bazlardır (Brink et al., 1990; Varlık, 1994; Ölmez, 2000).

Balığın bozulması veya ayrışması süresince, bakteriyel üretim, aminoasit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalmakta ve biyojenik amin üretilmektedir (Özoğul ve diğerleri, 2004).

Biyojenik aminlerden; histamin, tiramin, agmatin, putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gıdaların tazelik veya bozulma derecesinin bir indikatörüdür (Halasz et al., 1994).

Balık kaslarında protein ve alt sübstanlarının parçalanması veya kimyasal dönüşümü sonucu oluşan maddelerden en önemlisi histamindir. Histamin molekülü ise heterosiklik yapıdadır (Brink et al., 1990; Varlık, 1994; Ölmez, 2000).

Histamin kimyasal olarak beta-imidazoletilamindir. Biri etil grubunun ucunda diğeri imidazol halkası içinde olmak üzere iki amin grubu içerir ve bu özelliğiyle aynı zamanda bir diamindir (Şekil 1.3) Histamin, mikrobiyal olarak üretilen histidin dekarboksilaz enzimi ile histidin amino asidinden üretilir (Jay, 1992).



Şekil 1.3 : Histidin amino asidinin histamine dekarboksilasyonu (Köse, 1995; Köse, 1993)

Histamin yüksek yapılı organizmalarda mast hücreleri ve bunların kandaki serbest analogları olan bazofiller tarafından üretilir ve yangı mediyatörü olarak görev yapar. Aynı zamanda santral sinir sistemi ve bazı perifer sinir hücreleri histamin sentez eder ve uçlarında depolarlar. Bunların nörotransmitter görevi yaptığı sanılmaktadır (Kayaalp, 1993).

Birçok çalışma histamin üretebilen mikroorganizmaların mezofilik olduğunu bildirmektedir. Balıklarda en önemli histamin üretebilen bakteri türü *Morganella morganii* (*Proteus morganii*)'dir. *M. morganii* en iyi nötral pH'da ürer, fakat üreyebildiği pH sınırları 4,7-8,1 arasındır. Bu organizma NaCl'e dayanıklı değildir. % 5'in üzerinde NaCl ihtiva eden ortamlarda optimal koşullarda üreyebilir. *M. morganii* kaynaklı histamin üretimi yalnızca çok az tuz ihtiva eden balık ürünlerinde problemlere sebep olur (Ölmez, 2000).

M. morganii'nin yanında, *Klebsiella pneumoniae*'nin bazı suşları, *Hafnia alvei*'nin birkaç suşu profilik histamin üreticisidir ve balık ürünlerinin mikrobiyolojisi açısından önemlidir. Histidin dekarboksilaz aktivitesi yaygın olarak *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus faecalis*'te görülür. *Plesiomonas shigelloides*'in de balıklarda histamin üreten bir bakteri olduğu bulunmuştur. Tuzlanmış hamsiden izole edilen *M. morganii*, *Bacillus* spp.'nin iki suşu ve *St. xylosus*'un bir suşunun çok yüksek histamin aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp. ve *Pseudomonas* spp. özellikle fermente balık ürünlerinde histamin oluşumuna neden olmaktadır (Huss, 1994; Ölmez, 2000).

Histamin; yüksek miktarlarda alındığında zehirlenme meydana gelmektedir (Köse, 1993). Balıklarda mikrobiyal bozulma sonucu histamin miktarı 4000 mg/kg düzeyine kadar çıkabilmektedir (Belitz et al, 2001).

Kadaverin ve putresin de; nitritle birleşerek heterosiklik karsinojenik nitrozaminler, nitrozaprolidin ve nitrozopiperidini oluşturabilmektedir (Turantaş ve Öksüz, 1998).

Balıklarda görülen diğer bir bozulma olayı da enzimatik esmerleşme olayıdır. Balık derisiyle ilişkili olan lipoksigenazın, balık derisinde ve kasındaki karotenoid pigmentlerini avlama sonrası beyazlaştırdığı görülmüştür. Karotenoid pigmentlerinin oksidasyonu sonucu ayrıca soğukta ve buzda depolamada balık eti ya da derisinin kırmızı veya pembe renginin açıldığı gözlenmiştir (Ashie et al., 1996).

1.3.2: Kimyasal Bozulma:

Balıkların kimyasal bozulmasında lipid oksidasyonu (oksidatif ransidite) ve enzimatik olmayan esmerleşme olayları rol oynamaktadır.

Lipid oksidasyonu ya da oksidatif ransidite; yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitlerini içeren balık ve su ürünlerinin besinsel değerinin azalmasına, kalitesinin bozulmasına ve raf ömrünün kısılmasına neden olan en önemli faktörlerden birisidir (Polat ve Tokur, 2000).

Balığın kas dokusunda bulunan çoklu doymamış yağ asitleri; enzimatik veya enzimatik olmayan yollarla oksitlenmektedir. Bunun sonucunda meydana gelen peroksiradikaller ve hidroperoksiradikallerin uçucu yıkım ürünleri, balık yağlarının acılaşmasına neden olmaktadır (Özyurt ve diğerleri, 2007).

Doymamış yağ asitleri oda sıcaklığında oksijen ile oksidasyona uğramaktadır. Oksijen ile oksidasyonda doymamış tek karbonlu zincire oksijenin katılması ile hidroperoksit ara ürünü üzerinden geçer. Yüksek doymamış karbon zincirindeki oksidasyonunda ise çift bağlar ikiden fazla metilen grubu bağlayacak şekilde ayrılmakta ve iki metilen grubuna ayrıldığından daha kolay okside olmaktadır.

Acımış yağların karakteristik lezzet ve kokularının hidroperoksitlerden, bozunma ürünlerinden ve oluşan diğer maddelerden ileri geldiği saptanmıştır. Doymamış yağ ve yağ

asitlerinin oksidasyonu sırasında çok yavaş bir değişme olsa dahi saptanabilecek ilk değişiklik redoks potansiyelinde olmakta ve sonra peroksit değerinde yükselme görülmektedir. İkinci basamakta yani oksidasyon olayının daha da ilerlemesi ile peroksitler bozunarak, aldehit ve ketonlara dönüşmektedir. Yağlarda acılaşma yani oksidatif ransidite denilen değişim budur.

Oksidatif değişiklikte doymamış yağ asitlerinin çift bağlarının bulunduğu yerlerde önce çabuk geçici olan moloksit denilen ve çok hızlı gelişen maddeler, sonra da bunu izleyen peroksit ve daha sonra da yağ zincirinin bu noktasından koparak iki ucunda aldehit bulunan bileşikler meydana gelir. Böylece yağ molekülü çift bağ yerinden koparak, bir yağ molekülü iki aldehite ayrılır (Bakıcı, 1981; Özden ve Gökoğlu, 1997).

Enzimatik olmayan esmerleşme olayı ya da maillard reaksiyonunda ise; yüksek polimer olan proteinler çevresel koşullardan etkilenir ve ilk önce aminoasitleri bir arada tutan peptit bağları; asitler, alkaliler veya enzimlerle hidrolize olur. Hidrolizin hafif durumlarında büyük polipeptidlerin heterojen karışımlarının oluşmasıyla, yalnızca birkaç bağ yıkılır. Isı, proteinleri tutan ikinci bağları bozar. Denatürasyon denen değişim gözlenebilir. Aynı zamanda değişik protein zincirleri diğer tip reaksiyonlara da girebilir. Böylece sistinin disülfid bağı (-S-S-); sülfhidril bağına (-SH) dönüşebilir. Eğer proteinlerin serbest amino grupları varsa; oksidasyon koşulları uygunsa şekerlerle veya lipidlerin oksidasyon ürünlerinin bazıları ile reaksiyona girebilirler. Komplike bir seri reaksiyon sonucu kahverengi renk oluşur ve tatta değişimlere neden olur. Yabancı kokular ve tatlar renk değişimleri ile birlikte meydana gelir (Varlık ve diğerleri, 1993).

1.3.3: Mikrobiyal Bozulma:

Mikroorganizmaların sebep olduğu, gıdaların tüketilebilme niteliklerinin yitilmesi, bileşim ve karakter özelliklerinin değişimi ile meydana gelen kayıplara mikrobiyal bozulma denir.

Genel olarak yeni yakalanan sağlıklı bir balığın eti sterildir. Mikroorganizmalar ise normal olarak dış koruyucu tabakada, solungaçlarda ve balığın bağırsağında bulunur. Yapılan araştırmalar taze balıklarda genellikle *Alcaligenes* spp., *Achromobacter* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Clostridium* spp., *Escherichia* spp., *Flavobacterium* spp., *Gaffkya* spp., *Micrococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Photobacterium* spp., *Kurthia* spp., *Serratia* spp., cinsine ait bakteriler ile bazı mayaların bulunduğunu ortaya koymuştur (Gökten, 1990).

Balığın ölümünden hemen sonra, biyolojik reaksiyonlar meydana gelmeye başlar. Bu reaksiyonları, depolama anının ilk aşamasındaki değişimler belirler (Karaçam ve diğerleri, 1989, Çaklı ve Kılınç, 2005). Bu kalite değişimleri; balığın türünden ziyade yaşadığı suyun mikrobiyal içeriğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Gibson, 1995; Huss, 1998; Çaklı ve Kışla, 2003; Çolakoğlu ve diğerleri, 2006; Çaklı, 2007). Balıkların mikrobiyal florasını; balığın cinsi, yakalandığı ortamın kirlilik derecesi, sıcaklığı, balığın yakalanma şekli ve balık yakalandıktan

sonra gerçekleştirilen işleme yöntemleri belirlemektedir (Çaklı ve Kışla, 2003; Vural ve diğerleri, 2006; Çaklı, 2008).

Daha yakalama anında kastaki amonyum iyonlarının toplamı yükseliş göstermekte, mevcut glikoz indirgenmektedir. Ölümden sonra anaerobik glikojen indirgenmeye devam eder ve oluşacak laktik asit kasta kalarak, pH değerini düşürmeye devam eder. Toplam kreatin ve ATP miktarının azalması ile ölüm katılığı başlar (Karaçam ve diğerleri, 1989; Çaklı ve Kılınç, 2005).

Ölüm katılığı sonrası dönemde balık etinin yumuşaması ilerledikçe, özellikle proteolitik enzimlerin etkileri de artar ve yeni azotlu bileşikler meydana gelir. Bu küçük moleküllü bileşikler, mikroorganizmaların üremesi için uygun besin kaynağını oluşturur. Böylece balık bünyesinde bulunan veya sonradan kontaminasyon yoluyla alınmış olan, *Fusobacterium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Proteus* ve *Acteromonas* gibi bakterilerin bazı türleri balık etlerinde hidrojen sülfür, indol, amonyak, skatol, merkaptanlar ve çeşitli amin bileşiklerini oluşturarak kokuşmaya neden olurlar (Shewan, 1977).

Balıkların derisinde, solungaçlarında, bağırsak içeriğinde ve çevrede bulunan mikroorganizmalar primer bulaşmalara neden olurken; işleme, taşıma ve pazarlama aşamalarında ise sekonder bulaşmalara neden olmaktadır, böylece bu bulaşmalar balıklarda bozulmalara ve gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olmaktadır (Vural ve Erkan, 2006).

Balıkların bozulmasında psikrofilik ve mezofilik mikroorganizmalar, çoğunlukla da proteolitik özellikte olanları önemli rol oynar (İnal, 1992).

Psikrofil mikroorganizmalar bakteriyel bozulmanın başlangıç döneminde görülür ve bozulmanın asıl nedenini oluştururlar. Mezofil mikroorganizmalar ise tutulan balıklara, taşıma, işleme ve pazarlama döneminde kontaminasyon yoluyla geçerler ve kokuşmaya kadar giden değişimlere neden olurlar. Balıklara bulaşan mezofil mikroorganizmalar diğer proteinli gıda maddelerinde rastlanılanların aynısıdır. Optimum 37°C'de üreyen ve çoğunlukla saprofit özellikte olan bu mikroorganizmaların en önemlilerini enterobakteriler, enterokoklar, streptokoklar, mikrokoklar, aerob basiller ve klostridialar oluşturur (İnal, 1992).

Ilık ve kirlilik parametresi daha yüksek olan sularda mikrobiyal flora miktarı olarak daha yüksek ve daha çok çeşitlilik gösterirken, soğuk ve daha temiz sularda bu oran sınırlı sayıda kalmaktadır (Sikorski et al, 1990a; Çaklı ve Kışla, 2003; Vural ve Erkan, 2006; Çaklı, 2008).

Su sıcaklığı 12°C'nin altında olan sulardan yakalanan balıkların deri mikroflorası çoğunlukla psikrofil (soğuğu seven) ve psikrotrof (soğuğa toleranslı) mikroorganizmalardan oluşurken, ılık sulardan yakalanan balıkların mikroflorasını mezofilik mikroorganizmalar oluşturmaktadır (Gibson, 1995; Huss, 1998; Gökoğlu, 2002). Psikrotroflar 0°C'de gelişebilen fakat 25°C'de optimum gelişme gösteren bakterilerdir. Psikrofiller maksimum 20°C'de gelişme gösteren ve optimum 15°C'de gelişen bakterilerdir (Sikorski et al., 1990a; Sikorski et al., 1990b; Gibson, 1995; Huss, 1998).

Soğuk sularda bulunan balıkların derilerinde Gram-negatif bakteriler yüksek oranda bulunurken, ılık sularda bulunan balıklarda ise gram-pozitif bakteriler doğal mikrobiyal florada yüksek miktarda bulunmaktadır (Sikorski et al., 1990a; Sikorski et al., 1990b; Huss, 1998; Vural ve Erkan, 2006; Çaklı, 2008). Mikrobiyal florada Gram-negatif bakteriler baskın bir şekilde bulunmaktadır (Huss, 1998). Florayı oluşturan Gram-negatif bakteriler başlıca; *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* ve *Vibrio* cinsinden olan bakterilerdir (Gibson, 1995; Çaklı ve Kışla, 2003; Çaklı, 2008). Florayı oluşturan başlıca gram-pozitif bakteriler ise, *Micrococcus*, *Coryneform* ve *Bacillus* cinsleri hakim durumdadır (Sikorski et al., 1990a; Sikorski et al., 1990b; Çaklı ve Kışla, 2003).

Deniz sularında ise genellikle gelişmeleri için sodyuma ihtiyaç duyan halofilik *Vibrio*, *Photobacterium* ve *Shewanella putrefaciens* gibi gram-negatif bakteriler baskın olarak bulunurken, tatlı sularda *Moraxella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Corynebacterium* cinsi bakteriler baskın durumdadır. Ayrıca potansiyel bir patojen olan *Clostridium botulinum* ile *Salmonella*, *Listeria* ve *Shigella* cinsi bakteriler havuzlarda yetiştirilen balıklarda bulunabilir (Anonymous, 1984; Katırcıoğlu, 2001).

Balıkların sindirim sistemi, hem tatlı su balıklarında hem de deniz balıklarında ortak bir yapı göstererek başlıca; *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Moraxella*, *Clostridium* ve *Escherichia* cinslerine ait türleri bulundurmaktadır (Sikorski et al., 1990a; Sikorski et al., 1990b; Diler ve Diler, 1998; Çaklı, 2008).

Balıkların deri mikroflorasında *Rhodotorula*, *Torulopsis* ve *Candida* gibi mayalar yer alırken küfler su ürünlerinde nadiren bulunmaktadır (Sikorski et al., 1990a; Sikorski et al., 1990b; Gökoğlu, 2002). Çizelge 1.5'te tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak bakteriyel florası gösterilmiştir.

Çizelge 1.5: Tatlı su ve deniz balıklarının deri, solungaç ve bağırsak bakteriyel florası (Katırcıoğlu, 2001)

Tatlı su balıklarının deri mikroflorası	Deniz balıklarının deri mikroflorası	Deniz balıklarının solungaç mikroflorası	Tatlı su balıklarının bağırsak mikroflorası
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Alcaligenes</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.
<i>Alcaligenes</i> spp.	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i>
<i>Flexibacter</i> spp.	<i>Cytophaga</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Achromobacter</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.
<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Pseudomonas marina</i>		<i>Serratia</i> spp.
	<i>Vibrio</i> spp.		<i>Aeromonas</i> spp.
	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Flexibacter</i> spp.
	<i>Bacillus firmus</i>		<i>Pseudomonas</i> spp.
	<i>Caulobacter</i> spp.		
	<i>Coryneform</i> spp.		
	<i>Hyphomicrobium vulgare</i>		
	<i>Lucibacterium harveyi</i>		
	<i>Photobacterium angustum</i>		
	<i>Prosthecomicrobium</i> spp.		

Tatlı su balıklarının üzerini örten mukus tabakasında *Streptococcus*, *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium* cinsi bakteriler tespit edilirken, bağırsak içeriğinde ise *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* ve *Escherichia* cinsi bakteriler saptanmıştır (Katırcıoğlu, 2001).

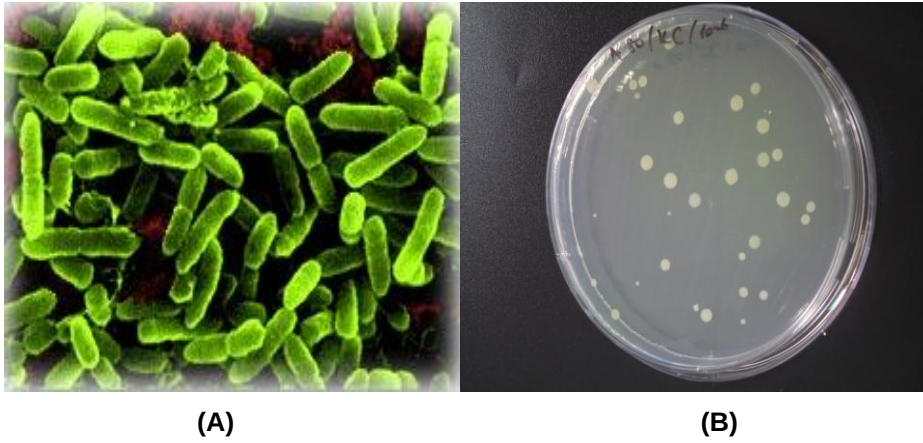
Depolanan balıklarda ise; iç bakteriyel populasyon oldukça heterojendir. Psikrotrofik bakteriler, özellikle *Pseudomonas*, *Moraxella*/*Acinetobacter* cinsleri floraya hakimdir. Depolama ile 1-2 hafta içinde mikroflorada değişiklikler meydana gelir. Soğukta muhafazada psikrotrofik *Pseudomonas* ve *Shewanella* dominant hale geçer. Daha yüksek sıcaklıklarda (25°C gibi) bozulmaya neden olan mezofilik *Vibrionaceae* ve özellikle kirli sulardan yakalanmışsa *Enterobacteriaceae* dominant hale geçer. Aerobik olarak depolanan balıklarda bozulma ile ilgili gelişme tipik olarak Gram-negatif psikrotrofik çomaklardan ibarettir. Bu nedenle aerobik olarak buzda depolamada flora hemen hemen yalnızca *Pseudomonas* ve *S. putrefaciens*' ten oluşur.

Anaerob şartlarda ise bozulmaya, CO₂'e dayanıklı Gram-pozitif bakteriler neden olmaktadır (Gram, 1992).

Ayrıca balıklarda mikrobiyolojik gelişmeye etki eden birçok dış ve iç faktörler vardır. Bunlardan; dış faktörler; balıkların su ortamında çok çeşitli sıcaklıklarda yaşamaları, balıklar avlanmadan önce ve avlandıktan sonra işlenmesi esnasında çevrede oluşan kontaminasyon ve mikroorganizmaların gelişmesini sağlayan sıcaklıktır. İç faktörler ise; yüksek su aktivitesine (a_w) sahip olması, post mortem pH'sının çok yüksek olması (genellikle pH>6), çok fazla miktarda trimetilaminoksit (TMAO) ve protein tabiatında olmayan azotlu bileşiklerin (NPN) mevcudiyeti, oksidasyon/redüksiyon potansiyeli (Eh) ve mikrobiyal interaksiyon gibi etmenlerdir (Gram and Huss, 1996; Ünlütürk ve Turantaş, 1999; Koutsoumanis and Nychas, 2000).

1.4. *Pseudomonas*' ların Genel Özellikleri:

Pseudomonas'lar; bakteriler aleminin, Proteobacteria şubesinin, Gammaproteobacteria sınıfının, Pseudomonadales takımının, Pseudomonadacea familyası içinde sınıflandırılan bir bakteri cinsidir. Şekil 1.4'de *Pseudomonas* spp.'in mikroskopik ve koloni görüntüsü gösterilmiştir. *Pseudomonas* cinsi içinde *P.aeruginosa*, *P.alcaligenes*, *P.fluorescens*, *P.fragi*, *P.mendocina*, *P.oleovorans*, *P.pseudoalcaligenes*, *P. putida*, *P.stutzeri* ve *P.syringae* gibi türleri bulunmaktadır (Aydın ve diğerleri, 2006).



Şekil 1.4: *Pseudomonas* spp.'in mikroskopik görüntüsü (A) ve Cetrinide agarda koloni görüntüsü (B)

Kluyver ve Niel (1936), *Pseudomonadaceae* familyasının üç takım içinde, 25'ten fazla cins bulundurduğunu ileri sürmüştür. Bu fazla sayı, filogenetik kriterlerin incelenmesiyle zamanla azaltılmış ve "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'in" sekizinci baskısında, cins sayısı 4'e indirilmiştir. *Pseudomonaceae* familyası içerisindeki bu 4 cins; *Pseudomonas*,

Xanthomonas, *Frateri* ve *Zooglea*'dır. Familyanın karakteristik cinsi ise *Pseudomonas*'tır (Sneath, 1986).

Pseudomonas'ların türleri oldukça fazla olduğu için görünümüne, pigment oluşturup oluşturupmalarına ve metabolizmalarına göre sınıflandırmaları yapılmıştır (Özan, 1996).

Pseudomonadales 16S rRNA dizilerine göre tanımlanmıştır (George, 2005). RNA/DNA hibridizasyon deneylerine göre, bu iki nükleik asidin gösterdiği uyumlara bakarak, bu bakteriler I, II, III, IV, V rRNA gruplarına ayrılmışlardır (Çizelge 1.6). Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa* rRNA grup I'e dahil olmuştur (Özan, 1996).

Çizelge 1.6: *Pseudomonas* türlerinin rRNA'ya göre grupları

1.Grup: Floresan grup	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>Pseudomonas putida</i>
1.Grup: Non-floresan grup	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
	<i>Pseudomonas mendocina</i>
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
2. Grup:	<i>Burkholderia mallei</i>
	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>Burkholderia picketti</i>
3. Grup:	<i>Camamonas acidovonas</i>
	<i>Camamonas testosteroni</i>
4.Grup:	<i>Pseudomonas diminuta</i>
	<i>Pseudomonas vesicularis</i>
5. Grup:	<i>Xantomonas maltophilia</i>

Pseudomonas cinsi içerisinde; 0.5-1.0 µm veya 1.5-5 µm boyutlarında, düz veya hafif kıvrık çomak şeklinde bakteriler bulunur. DNA' nın G+C oranı % 58-71'dir. Bazı türlerde (*P. ovalis*) hücreler ovaldir, bazı bitki patojeni olan türler ise 4 µm boyutlarında olağanüstü hücrelere sahiptirler (Holt et al., 1994).

Pseudomonas türlerinde genellikle oksidaz pozitifdir (*P. maltophilia* hariç). Türlerin tamamı katalaz pozitif, Gram-negatif, polar flagellasıyla hareket edebilen çomak şekilli bakterilerdir. Glukoz ve bazı karbohidratları oksidasyon yolu ile parçalayıp asit oluştururlar. Laktoz ve sukroza etki etmezler. Zorunlu aerobtururlar, sadece oksijenli ortamlarda üreyebilirler. Ancak, ortamda nitrat varsa son elektron alıcısı olarak oksijenin yerine nitratları da kullanabildikleri için anaerob koşullarda da üreyebilirler. Lizin ve ornitini dekarboksile etmezler.

Üreyi amonyak haline ya da amonyağı üreye çevirebilirler ve bunları azot kaynağı olarak kullanabilirler. Birçoğu asidik ortamlarda gelişemezler. Kendi gelişmeleri için gerekli olan gelişme faktörlerini ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler. Isı ve radyasyonla kolaylıkla inhibe olabilmektedirler. Kurumaya dirençlilikleri zayıftır. İndol ve H₂S oluşturmazlar. Metil kırmızısı ve Voges proskauer testleri negatiftir (Çizelge 1.7) (Cowan et al., 1974; Tortora et al., 1992; Holt et al., 1994; Ayhan, 2000; Tünger ve diğerleri, 2000; Şen ve Halkman, 2006).

Çizelge 1.7: Bazı *Pseudomonas* türlerinin biyokimyasal ayrımları [d:değişken] (Bekar, 2003).

Tür	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. stutzeri</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>B. cepacia</i>	<i>P. diminuta</i>	<i>P. pseudomallei</i>	<i>B. mallei</i>
Oksidaz	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Hareket	+	+	+	+	+	+	+	+	-
5°C	-	+	d	+	-	-	-	-	-
42°C	+	-	-	d	+	d	d	+	+
Jelatinaz	+	+	-	-	d	d	-	+	+
Üreaz	+	+	+	+	-	+	-	+	+
Glukoz	+	+	+	+	-	+	-	+	+
Laktoz	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Maltoz	-	-	+	+	-	+	-	+	+
ADH	+	+	+	-	+	-	-	+	+
LDC	-	-	-	-	-	+	-	-	-
ODC	-	-	-	-	-	d	-	-	-
UV ışığında floresan	+	+	+	+	+	+	+	+	+

P. fluorescens, *P. chlororaphis* ve *P. putida* gibi bazı türlerinde pilus gözlenirken, bazı türlerinde pilusa rastlanılmamıştır (Holt et al., 1994).

Pseudomonas'ların çoğu doğada, toprak ve sularda yoğun olarak bulunur. Birçoğu doğada saprofit olarak yaşayan ve çeşitli organik maddeleri, çevre kirlenmesine yol açan bazı toksik maddeleri parçalayan, birçoğu bitki patojeni olan, bazıları insan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturabilen çok sayıda bakteri içerir. Bitki patojeni olan türler selüloz, pektinaz ve ksilinaz aktiviteleri göstermektedirler (Ünlütürk ve diğerleri, 1999). Bitki patojenlerinin en önemlileri *P.solanacearum*, *P.syringae*, *P.marginalis* ve *Burkholderia cepacia*, hayvan patojenlerinin en önemlileri *P.aeruginosa* ile birlikte, *P.pseudomallei* ve *P.mallei*, insan patojeni olarak en önemli tür ise *P.aeruginosa*'dır. Patojen hale geçebilen *Pseudomonas* türleri, normal florada denge içinde kaldıkları sürece zararsızdırlar. Vücut savunmasının azalması, kemoterapi vb. gibi

hallerde fırsatçı patojen olarak rol alan, iyileşmesi oldukça güç infeksiyonlara neden olan *Pseudomonas*'lar bu özellikleriyle de insan sağlığı açısından ayrı bir önem arz etmektedirler (Keskin, 2007).

Psikrofil, mezofil ve psikrotrof türleri vardır. Psikrofil mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas*'ların ayrı bir önemi vardır, bunun sebebi de diğer bakteri türlerine oranla büyük bir çoğalma özelliği göstermeleridir. *Pseudomonas*'ların geniş bir yayılım göstermelerinin nedeni, çok basit gelişim ihtiyaçlarına gereksinim duymalarındandır. Minimal besin varlığında bile 4°C ile 43°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilirler. Cinsin birçok türünün gelişme gösterdiği optimum sıcaklık derecesi ise 30°C'dir. Türlerin tamamı nötr veya alkali pH (7,0-8,5) aralığında daha iyi gelişmektedir (İnal, 1990).

Pseudomonas cinsinin 4°C'deki psikrofil türleri genellikle soğukta muhafaza edilen et ve süt gibi gıdaların bozulmasında önemli rol oynarlar. Bu türler su, toprak, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, kanalizasyon, memelilerin bağırsağı ve çeşitli bitkiler gibi birçok doğal kaynaktan izole edilebilirler (Doudorof, 1984).

Pseudomonas'lar genellikle yeşilimsi, mavimsi, menekşe, leylak, sarı veya diğer renklerde besiyerlerine yayılan floresan pigment oluşturan bakterilerdir ve bu pigmentasyon türlerin ayırımında kullanılan önemli bir özelliktir. Bazı gıdalar üzerinde *P. fluorescens* yeşilimsi, *P. nigrificans* siyah pigment oluşturur. *Pseudomonas*'ın en iyi bilinen çözünebilir pigmentleri piyoverdin ve piyosiyandır. Bu bakterilerin ürettiği pigmentler antibiyotik ve bakteriyosin özellik taşımaktadır. Piyoverdin, düşük demir içerikli besiyerlerinde bol miktarda elde edilebilirler. Piyoverdinin asıl bileşeni, kompozisyonu türe göre değişen siklik peptide bağlı quinoline kromoforudur (Vachee et al., 1997; Bekar, 2003; Keskin ve Ekmekçi, 2003). Hassen et al. (1998) tarafından yapılan çalışmada, *Pseudomonas* cinsine ait türlerin, çinko varlığında piyoverdin pigmentini daha fazla sentezlediklerini ve çinkonun pigment üretimini arttırdığını göstermişlerdir. Piyosiyanın ise; mavi renge sahiptir ve floresan özellikteki pigmentler gibi besiyerine kolayca diffüze olurlar. Diğer fenazin pigmentleri daha az eriyebilir özellikte oldukları için bazı kolonilerin etrafında kristalize olurlar (Üzümcü, 2009).

Bu pigmentler besiyerlerine yayılırlar; fakat bazen yayılma göstermeyen kırmızı veya sarı renkte pigment oluşturabilirler. Ayrıca pigment oluşturmayan birçok *Pseudomonas* türü de mevcuttur (Bekar, 2003).

Pseudomonas türlerinin en önemli özelliği ise çok farklı yapıdaki organik bileşikleri kullanabilecek metabolik mekanizmaya sahip olmalarıdır. Mikroorganizmanın bazı türleri proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptir (Ünlütürk ve diğerleri, 1999). Hoshino et al. (1997) tarafından yapılan çalışmada ise sıcaklık, pH ve kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak bazı *Pseudomonas* suşlarının proteaz ürettiğini ileri sürmüşlerdir. Lipazlar ve proteazlar en önemli endüstriyel enzim gruplarını oluşturmaktadır. Bu enzimler gıda sanayi, deterjan, kimya endüstrisi, biyolojik ve tıbbi bilimler gibi çok geniş kullanım alanına sahip enzimlerdir. Son

zamanlarda fungal ve bakteriyel enzim eldesi biyoteknolojide büyük ilgi görmektedir. Lipaz üreten organizmalar arasında *Candida*, *Geotrichum*, *Rhizopus* ve *Thermomyces* cinsleri büyük önem görürken, bakteri grupları arasında ise *Pseudomonas* cinsi bakterilerin önem taşıdığı bildirilmiştir (Arpigny and Jaeger, 1999).

Bazı *Pseudomonas*'lar ise pektinolitik aktiviteye sahiptir. Bundan dolayı sebzelerde kök yumuşamasına neden olmaktadır (Keskin, 2007).

Pseudomonas bakterileri, poli- β -hidroksibutirat (PHB) granüllerine sahiptir. PHB granüllerini geliştikleri ortamlarda besin eksikliği olduğunda kullanarak, yaşamlarının devamlılığını sağladıkları saptanmıştır (Thomashow and Weller, 1995). Çeşitli karbon kaynakları içeren azotun yetersiz olduğu ortamlarda endosellüler granüllerde biriken PHB granülleri, *Pseudomonas* cinsine ait üyelerini birbirinden ayırt etmede kullanılmaktadır (Holt et al., 1994).

Pseudomonas'ların floresan üyeleri glukonat, alkan, alkenler gibi karbon kaynaklarında geliştirildiklerinde, C₆-C₁₂ zincir ortasındaki monomerlerden oluşan polihidroksialkanatları oluşturabilmektedir. *Pseudomonas* bakterileri lipoprotein yapıları içerir, bu yapılar tanımlanmalarında kullanılmıştır (Holt et al., 1994). Lipopolisakkaritin iç kısmı hidrokarbon zinciriyle akışkanlık veren özel bir lipid (LPS)'den oluşur. Lipopolisakkarit, hücreye spesifik bir antijenik kimlik kazandırır. Böylelikle bakterilerin dış membranı antibiyotikler gibi zararlı şeylere karşı bir bariyer özelliği kazanır (Holt et al., 1994; Thomashow and Weller, 1995).

Pseudomonas'lar birçok antimikrobiyal ajana karşı dirençlidir, buna rağmen *Pseudomonas* infeksiyonlarına karşı kullanılan antibiyotikler de mevcuttur. En önemli gruplar aminoglikozidler (gentamisin ve tobramisin gibi), yarısentetik penisilinler (karbenisilin, tikarsilin ve piperasilin gibi), üçüncü kuşak sefalosporinler (seftazidim ve sefoperazon gibi), quinolonlar (siprofloksasin) ve karbepenemlerdir (meropenem ve imipenem) (Hancock and Speert, 2000).

Pseudomonas'lar genel olarak iyonize ışıklara en duyarlı Gram-negatif çomak bakterilerdir. Örneğin 16,30 kGy'lik bir doz, *Pseudomonas*'ların inaktivasyonu için yeterli olabilmektedir.

Asetik asit ve tuzlarının % 0,01-0,5 konsantrasyonları *Pseudomonas* türlerine karşı etkilidir. Sorbik asit ve sorbatlar da *P.putrefaciens* ve *P.fluorescens*'e etkilidir. Gıdalara 200 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda nitrit ilave edilmesi, *Pseudomonas* üzerine inhibitör etki gösterir. Gram-negatif mikroorganizmalar, CO₂'e gram pozitiflerden daha duyarlı olup, özellikle en önemli bozulma etkenlerinden biri olan *Pseudomonas* spp. CO₂'e çok duyarlıdır (Erol, 2007).

Delden ve Iglewski (1998) yaptıkları çalışmada *Pseudomonas* türlerinin virülans faktörlerini ortaya koymuşlardır. *Pseudomonas*'ların virülans faktörleri: a) Fimbrialar: Bakterilerin solunum sistemi epiteline yapışmasını sağlarlar. b) Polisakkarit Kapsül: Antifagositer özellik gösterir. Ayrıca *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonları için risk faktörü olan kistik fibrozis ve kronik akciğer hastalıklarında bakterinin kolonizasyonunu kolaylaştırır. c) Endotoksin: Diğer Gram-negatif bakterilerde olduğu gibi lipopolisakkarit yapıdaki endotoksin en önemli hücre

duvarı antijenidir. Lipid A bölümü, sepsis için en önemli mediatördür. d) Eksotoksin A: *Pseudomonas aeruginosa*'da bulunur. Bir ADP-riboziltransferaz enzimidir. Etki mekanizması difteri toksini ile aynıdır. Hücrede protein sentezini bloke eder. e) Eksoenzim S: *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 1/3'ünde bulunur. Buda bir ADP-riboziltransferaz'dır, ekzotoksin A'dan farkı ısıya dayanıklı olmasıdır. f) Elastaz: Kan damarlarındaki elastik tabakayı tahrip eder. Dissemine *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarında görülen ve hemorajik lezyonlar olan ektima gangrenosumdan sorumludur. g) Lökosidin: Nötrofil ve lenfositleri inhibe eder. h) Fosfalipaz C: Lipid ve lesitini parçalayarak, doku hasarına neden olur (Tünger ve diğerleri, 2000).

1.5. Halk Sağlığı Açısından Önemli Bazı *Pseudomonas* Türleri:

***Pseudomonas aeruginosa*:**

Pseudomonas aeruginosa; Sporsuz, kapsülsüz, basil şeklinde, genellikle bir ucunda bir veya daha fazla sayıda flagellaya sahip çok hareketli, Gram-negatif, 1,5-3 µm uzunluğunda ve 0,5 µm genişliğinde, çift veya kısa zincirler halinde görülen bakterilerdir. Piyosiyenin ve piyoverdin pigmentlerini üretirler. Katı besiyerlerindeki Tip1 kolonileri yuvarlak, yumuşak, yassı, ortası kabarık ve beyazımsı renktedir. Ayrıca; kabarık, küçük ve koliform kolonilerine benzeyen R kolonileri vardır. Bazı kolonileri de mukoid görünümlüdür. Kültürlerde aromatik meyve, tatlımsı veya trimetilamin kokusuna benzer koku duyulur. Genellikle 30-37°C'de ürerler. 41°C'de üreme durumu ise *P.fluorescens*'den ayrılmasını sağlar (www.mikrobiyoloji.org).

P.aeruginosa, doğada yaygın olarak bulunabilen bir bakteri olduğu için, organik maddeler içinde, sulara uzun süre canlı kalabilmektedir. İnsan ve memeli hayvanların bağırsağında flora elemanı olarak bulunmaktadır. Yüksek ısı ve kuruluğa dirençsizdirler. Hastane ortamları organik madde (kan, irin, deri döküntüleri, vs.) yönünden zengin olduğu için ve direnç gösteren kökenlerin bu ortamlarda daha fazla görülmesi nedeniyle sık rastlanılan bir patojen olarak görülür (www.mikrobiyoloji.org).

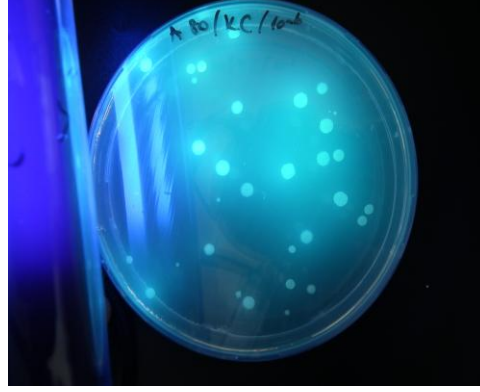
İnsanlar *P.aeruginosa*'yı çeşitli kaynaklardan (örn; yüzme havuzları, durgun sular, ıslak çayırılar vs.) alabilmektedirler. Stafilokoklardan sonra insanlarda en çok görülen enfeksiyonlar *P.aeruginosa*'nın sebebiyet verdiği enfeksiyonlardır. Çizelge 1.8'de *Pseudomonas aeruginosa*'nın farklı canlı türlerinde yapmış olduğu hastalıklar gösterilmiştir. Antibiyotiklere ve dezenfektan maddelere karşı yüksek rezistansı nedeniyle hijyen ve sağlık açısından önemli problemler oluşturmaktadırlar (İnal,1990).

Çizelge 1.8: *Pseudomonas aeruginosa*'nın farklı canlı türlerinde yapmış olduğu hastalıklar (Bekar 2003).

Tür	Oluşturduğu Enfeksiyonlar
İnsan	Bakteriyemi, endokarditis, kemik ve eklem enfeksiyonları, göz ve kulak enfeksiyonları, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, solunum sistemi ve üriner sistem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kistik fibrozis
Sığır	Generalize hastalık, üreme organlarında enfeksiyonlar, solunum sistemi hastalıkları. enteritis, sinovitis, lenfangitis, artrit, akciğer ve karaciğer apseleri
Koyun, keçi	Mastitis, pneumoni, akciğer apseleri
At	Üreme organlarında enfeksiyonlar, sterilite, abort ve taylarda ölüm, akciğer apseleri
Domuz	Enteritis, solunum sistemi enfeksiyonları, otitis
Köpek, kedi	Generalize hastalıklar, üreme organlarında enfeksiyonlar, pneumoni, otitis externa, endokarditis, konjunktivitis, uretroadenosistis
Mink	Pneumoni, sepsisemi
Çinçilla	Generalize enfeksiyonla beraber konjunktivitis, otitis, pneumoni, enteritis, Üreme organlarında enfeksiyonlar
Laboratuvar hayvanları	Generalize enfeksiyonlar, pneumoni, enteritis

***Pseudomonas fluorescens*:**

Pseudomonas fluorescens; Non-patojenik, saprofit olup, Gram-negatif bir bakteridir. Bu tür sulara, toprakta, lağım sularında ve bitki yüzeyinde bulunabilir. Obligat aerobiktir ancak bazı suşları hücrel solunumda elektron akseptörü olarak oksijen yerine nitrat kullanabilirler. Kolonileri yuvarlak, nemli ve parlak yüzeylidir. Sarımsı yeşil pigment üretir, sadece piyoverdin oluştururlar. Ultraviyole ışığı altında kuvvetli floresan veren üreme gösterirler (Bilgehan, 1999). Şekil 1.5'te Ultraviyole ışık altında *Pseudomonas fluorescens*'in Cetrimide agarda koloni görüntüsü gösterilmiştir. *Pseudomonas fluorescens*; 16S rRNA analizine göre *P.fluorescens* grubu içinde yer almaktadır (www.qwiki.com).



Şekil 1.5: Ultra viyole ışık altında *Pseudomonas fluorescens*'in Cetrimide agarda koloni görüntüsü

Bu bakteri hücreleri 41°C'de üreyemez, fakat +4°C'de üreyebilir, optimum büyüme sıcaklıkları ise 25-30°C'dir (Palleroni, 1984; Wasi et al, 2008). Bu bakteri psikrofilik olup, uzun süre buzdolabında canlı olarak kalabilir (Monteil and Monteil, 1997). Genellikle yumurta, et, balık ve süt ürünleri gibi besinlerin bozulmasına sebep olmaktadır (Palleroni, 1984; Wasi et al, 2008).

Pseudomonas fluorescens; insanlarda çok sınırlı sayıda salgın hastalığa sebep olmakla birlikte, kanser veya immün sistem hastalarının idrar, dışkı, apse ve kanlarından izole edilebilmektedirler (Monteil and Monteil, 1997).

***Pseudomonas putida*:**

Pseudomonas putida; Non-fermentatif, floresan veren, aerobik, birden fazla flagellaya sahip, spor oluşturmayan, Gram-negatif bir basildir (Öztoprak ve diğerleri, 2008). *Pseudomonas putida*; 16S rRNA analizine göre *P.putida* grubu içinde yer almaktadır (www.qwiki.com). Optimum gelişim ısıları 25-30°C'dir. Piyosiyanin üretemezler, jelatini kullanamazlar ve 42°C'de gelişemezler (Palleroni, 1984). Şekil 1.6'da Ultra viyole ışık altında *Pseudomonas putida*'nın Cetrimide agarda koloni görüntüsü gösterilmiştir. Psikrofilik olup, uzun süre buzdolabında canlı olarak saklanabilirler (Gottlieb, 1993). Genellikle toprak, su ve bitkilerden izole edilebilirler (Monteil and Monteil, 1997).



Şekil 1.6: Ultra viyole ışık altında *Pseudomonas putida*'nın Cetrimide agarda koloni görüntüsü

İnsan vücudunda normal florada yer almazlar ve bilinen bir virulans faktörü yoktur. İnsanda idrar yolu enfeksiyonu, pnömoni, septisemi, yara yeri enfeksiyonu, peritonit ve menenjit gibi klinik tablolara neden olduğu bildirilmiştir (Öztoprak ve diğerleri, 2008).

Burkholderia (Pseudomonas) mallei:

Yeni oluşturulan *Burkholderia* genusu içine alınmış ve ismi *Burkholderia mallei* olarak değiştirilmiştir. Bunun sebebi; bakteriyolojik özelliklerinin bu sınıfa çok yakın olmasının yanı sıra, *P.pseudomallei* ile antijenik ilişkisi, faj duyarlılığı, nükleik asit kompozisyonu bakımından yakın olmasıdır (www.mikrobiyoloji.org).

Burkholderia (Pseudomonas) mallei; Düz veya kıvrık, Gram-negatif, klinik materyalde bazen lökositlerin içinde, 0,5x1,5- 4 µm boyutlarında, pleomorfik ve küçük basillerdir. Aerobtur, 41°C'de ürer, fakat 4°C'de üreyemez. Hareketsiz, hücre dışı ve içi pigmentleri olmayan bir mikroorganizmadır (Bekar, 2003).

Tek tırnaklı hayvanlarda ruam adı verilen hastalığa neden olur. İnsanlarda meslek hastalığı olarak görülebilir (Bekar, 2003).

Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei:

Burkholderia pseudomallei olarak yeniden isimlendirilmiştir. Gram-negatif, aerob ve fakültatif anaerob, hareketli, yeşil-kahverengi pigmentli, 1,5 µm uzunluğunda, bir veya iki ucunda 2-3 flagellalı, bipolar basillerdir. 41°C'de üreme özelliği gösterip, 4°C'de üreyemez. Kuruluğa dirençli fakat ısı ve dezenfektanlara duyarlıdır (www.mikrobiyoloji.org).

Kemirici hayvanlarda görülen Mellioidoz adı verilen hastalığın etkenidir. İnsanlara kemirici hayvan ısırığı, hayvanların dışkılarıyla bulaşmış gıdaların tüketilmesi ve kemiriciyle temas etmiş sineklerin ısırığıyla bulaşır (www.mikrobiyoloji.org).

Pseudomonas maltophilia:

Hareketli, Gram-negatif, besiyerlerinde kolay üreyebilen, sarı renkli koloniler yapan, zorunlu aerob ve 41°C'de üreyemeyen bakterilerdir. Doğada insan ve hayvan dışkıları, su ve sütte bulunduğu için yaptığı enfeksiyonlar çok çeşitlidir (www.mikrobiyoloji.org).

Bu araştırma; Manisa ve İzmir illerinin çeşitli semtlerindeki market ve pazarlarda tüketime sunulan alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), çipura (*Sparus auratus*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), kefal (*Mugil cephalus*) ve mezgıt (*Merlangus euxinus*) gibi balık örneklerinde bozulmaya sebep olan *Pseudomonas* türlerinin varlığının saptanması amacıyla yapılmıştır.

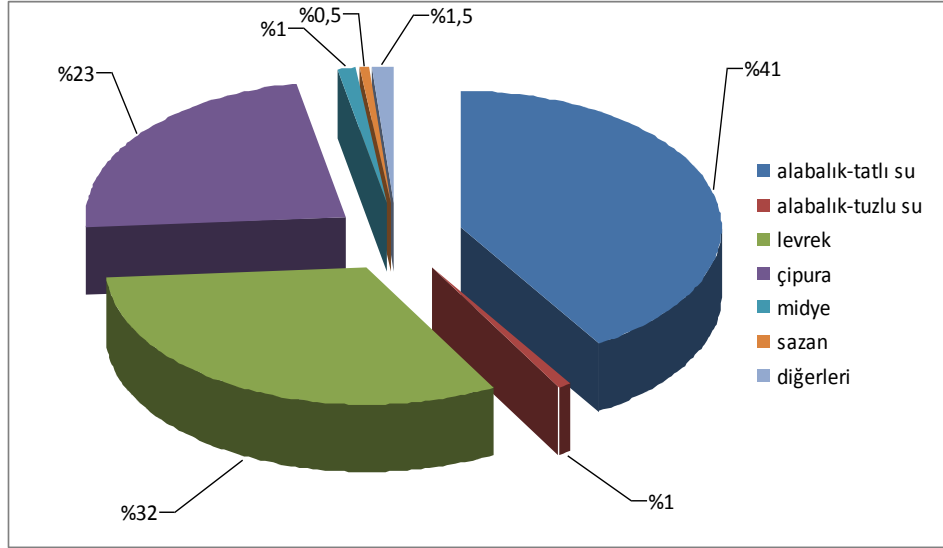
2.MATERYAL ve METOD:

2.1. Materyal

2.1.1. Materyal örnekleri

Bu çalışmada, Temmuz 2010- Mart 2011 tarihleri arasında Manisa ve İzmir'in çeşitli semtlerindeki market ve pazarlardan temin edilen 100 adet balık örneği materyal olarak incelenmiştir. Materyal olarak incelenen balık örneklerinin 41 tanesi alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), 24 tanesi çipura (*Sparus auratus*), 23 tanesi levrek (*Dicentrarchus labrax*), 10 tanesi kefal (*Mugil cephalus*) ve 2 tanesi ise mezgit (*Merlangius euxinus*)'tir (Çizelge 2.1). Örneklerin dışarıdan kontaminasyonunu önlemek amacıyla, her bir balık soğuk zincir altında taşınarak ve aynı gün içerisinde işleme alınmıştır.

Yapılan çalışmada alabalık, çipura, levrek, kefal ve mezgit türlerinin kullanılmasındaki amaç; yaklaşık olarak Türkiye'deki su ürünleri üretiminin oransal olarak dağılımını bu türlerin belirlemesidir (Şekil 2.1). Türkiye'deki su ürünleri üretiminin oransal dağılımı; alabalık (iç su) % 41, alabalık (deniz) % 1, çipura % 23, levrek %32, midye %1, sazan % 0,5 ve diğerleri % 1,5'tur.



Şekil 2.1: Türkiye'deki su ürünleri üretiminin oransal olarak dağılımı.

Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, eski adı *Salmo gairdneri*) Salmonidae familyasına ait türdür. Berrak, temiz, serin ve oksijen yönünden zengin sularda bulunurlar. Genellikle su döngüsü devamlı olan nehirler, ırmaklar ve çaylarda yaşarlar. Balıklar; plakton, dip hayvanları

ve küçük balıklar ile beslenirler. Ülkemizin neredeyse her yerinde alabalık üreten küçük ve büyük çiftlikler mevcuttur.

Çipura (*Sparus auratas*) Sparidae familyasına ait türdür. Ege, Akdeniz, Marmara ve Karadeniz’de bulunurlar. 150 m derinlikteki suların kumlu ve çamurlu zeminleriyle, deniz çayırlarında yaşarlar. Balıklar; karides, çeşitli kabuklu deniz hayvanları, yengeç, deniz kurdu, sardalya ile beslenirler. Son yıllarda bu balıklar çiftliklerde de üretilmeye başlanmıştır.

Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Moronidae familyasına ait türdür. Akdeniz, Ege, Marmara ve Karadeniz’de bulunurlar. Derin yerlerde yaşarlar. Balıklar; kefal, sardalya, gelincik, dilbalığı, karides, yengeç ile beslenirler. Ülkemizde balık çiftliklerinde kültür üretimi yapılmaktadır.

Kefal (*Mugil cephalus*) Mugilidae familyasına ait türdür. Bazı türleri Akdeniz, Ege, Karadeniz, Marmara’da bulunurken, bazıları sadece Akdenizde bulunur. Kirlili ve bulanık sularda yaşarlar. Balıklar; deniz kurtları, küçük balık yavruları, yosun, plankton ile beslenirler.

Mezgit (*Merlangius merlangus*) Gadidae familyasına ait türdür. Karadeniz ve Marmara’da bulunurlar. Sahile yakın, derinliği 30 ile 120 m sularda çamurlu ortam üzerinde sürüler halinde yaşarlar. Balıklar; kabuklular, yumuşakçalar, deniz kestanesi, solucanlar ve balık yumurtaları ile beslenirler (www.balikderyasi.com).

Çizelge 2.1: Araştırmada incelenen tatlı ve tuzlu su balık örneklerinin çeşidi ve sayısı

Tuzlu su balığı	Çipura	24
	Levrek	23
	Kefal	10
	Mezgit	2
Tatlı su balığı	Alabalık	41
Genel Toplam		100

Örneklerin *Pseudomonas* spp. analizleri (vitek 2 kullanımı) İzmir Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Laboratuvar’ında, ekim ve *Pseudomonas* spp. sayım işlemleri ise Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvar’ında gerçekleştirilmiştir.

2.1.2. Çalışmada kullanılan besiyeri

Cetrimide Agar (*Pseudomonas Selective*) (Merck)

Cetrimide agar hazır besiyerinden 45,3 g/l tartılarak, üzerine Glycerol'den (Gerbu) 10 ml/l ilave edilip, oluşan çözeltinin üzerine de 1000 ml/l distile su eklendi. Hazırladığımız besiyeri otoklava konmadan önce, magnetik karıştırıcıda ısıtılıp, eritildi. Daha sonra otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi, besiyeri 45-50°C'de soğuyunca, steril petri kutularına döküldü. Hazırladığımız besiyeri bulanık ve açık kahverengi olup, 25°C'da pH'sı 7,0±0,2'dir.

Pseudomonas spp. bu besiyerinde 35°C'de aerobik koşullarda 48 saat inkübasyondan sonra sarı-yeşil pigmentli koloni oluşturup ve uzun dalga boylu (366nm) UV lambası (Merck) ile floresan ışımaya vermektedir. Her bir petri kabında ki koloniler sayılıp, 15-300 arasında koloni ihtiva eden kaplar değerlendirmeye alınmıştır.

Nutrient Agar (NA) (Merck)

Nutrient agar hazır besiyerinden 20,0 g/l tartılarak, üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Hazırladığımız besiyeri önce magnetik karıştırıcıda ısıtılıp, eritildi. Daha sonra otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edildi, 45-50°C'de soğuyunca, steril petri kutularına döküldü. Hazırladığımız besiyeri berrak ve sarımsı kahve renkte olup, 25°C'da pH'sı 7,0±0,2'dir.

Seçilen şüpheli *Pseudomonas* spp. kolonilerinin her biri, doğrulama amacıyla nutrient agar plaklarına çizgi ekim yöntemi ile ekilip, 25°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübe edilen plakların her birinden izole olmuş bir koloni, biyokimyasal doğrulama için seçilmiştir.

2.1.3. Kullanılan çözelti ve kimyasallar

Alkali Pepton Water (Merck)

Alkali pepton water'dan 20,0 g/l tartılarak, üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Hazırladığımız çözelti magnetik karıştırıcıda ısıtılıp, eritildi ve otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Hazırladığımız çözelti, berrak ve sarımsı kahverengidir, 25°C'de pH'sı 8,5±0,2'dir. Alkali pepton water, balık örneklerinin organlarını sıvılaştırmak, çözelti haline getirilmek amacıyla kullanılmıştır.

Pepton Salin (Gerbu)

NaCl (Sodium Chloride)'den 9,5 g/l tartılarak, üzerine 1000 ml distile su ilave edildi. Bu çözelti daha sonra, amaca uygun kaplara (tüp, erlen, vb.) dağıtıldıktan sonra, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon sonrası 25°C'de pH'sı 7,0±0,2'dir. Kullanıma hazır haldeki çözelti berrak ve renksizdir. Pepton salin, seyreltme plaka yönteminde kullanılan tüplerin içerisinde kullanılmıştır.

Gram Boyama Seti (Merck)

Gram boyama seti içerisinde kristal violet boyası, lugol (potasyum iyodür veya iyot içeren sulu çözelti), alkol (% 95'lik etanol ya da dekolorizatör çözeltisi) ve safranin boyası (veya sulu fuksin) hazır olarak bulunmaktadır. Bu çözeltiler gram boyama işleminde kullanılmıştır.

2.1.4. Çalışmada kullanılan cihazlar:

Bu çalışmada kullanılan bütün genel laboratuvar cihazları aşağıda çizelgede (Çizelge 2.2) listelenmiştir.

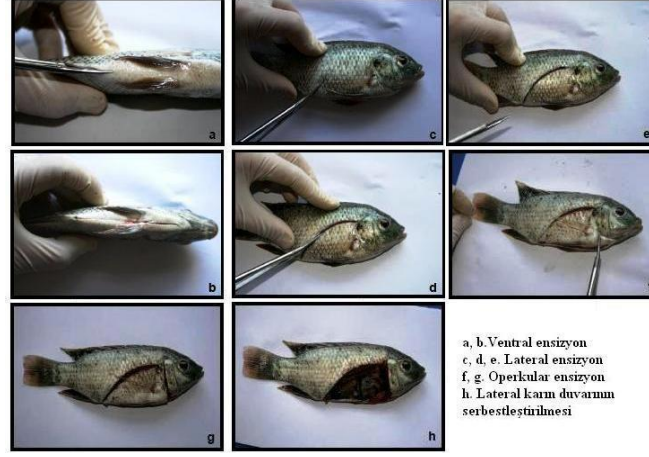
Çizelge 2.2: Laboratuvar cihazları

Otoklav	Nüve (OT 4060)
Etüv	Heraeus
Pasteur fırını	Nüve (FN 400)
Vitek 2	Biomerieux (2006)
UV lambası (4 W/366 nm)	Merck (1.13203.0001)
Vorteks	Nüve (NM 110)
Hassas terazi	Sartorius (GC 16032-OCE)
Magnetik karıştırıcı	ARE Velp Scientifica
pH metre	Hanna instruments/ H1 221 Calibration Check Micropirocessor

2.2. Metod:

2.2.1. Balık örneklerinden *Pseudomonas* spp. izolasyonu:

Her bir numune aseptik şartlar altında eksternal ve internal olarak bakteriyolojik muayeneye tabi tutulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Balıklarda eksternal ve internal olarak bakteriyolojik muayene (Yardımcı, 2007)

Bakteriyolojik örneklemelerde kullanılan bu balıkların karkas ve solungaçlarından; steril makas ve pens ile belli bir büyükte kesitler alınmıştır. Alınan bu örneklerin her biri hassas terazide tartılarak, gram olarak ağırlıkları hesap edilmiştir.

Tartılan bu örnekler kalın, steril torbalara konulmuştur. Bu torbaların içerisine örneklerin gram cinsinden dokuz katı kadar oranda, önceden hazırladığımız alkali peptonlu sudan, steril pipet yardımıyla konulmuştur. Alkali peptonlu su konulduktan sonra torbanın ağzı kapatılıp, uygun bir biçimde örnekler ezilmiştir ve homojenize edilmiştir.

Homojenize edilen bu örnekler ile 1/10' luk dilüsyondan başlayarak seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir balık örneği için toplam 5 tüp kullanılmıştır. 1.tüpteki çözelti ana stoğa göre 10 kez seyreltilmiş hale gelmiştir. Ana stok 10^{-1} olarak kabul edilirse, 1.tübün seyreltme faktörü 10^{-2} olarak ifade edilmiştir. Buna göre 2.tübün seyreltme faktörü 10^{-3} , 3.tübün seyreltme faktörü 10^{-4} , 4.tübün seyreltme faktörü 10^{-5} ve 5.tübün seyreltme faktörü 10^{-6} 'dır (Yagoub, 2009).

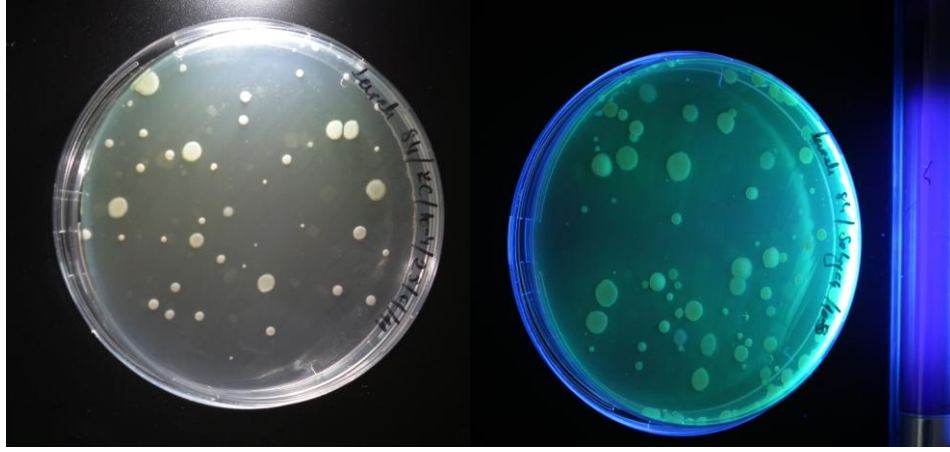
Seyreltme plaka yöntemini uygulamamızda ki amaç; ana stokta yoğun olan mikroorganizma sayısını seyreltmek ve mikroorganizma sayısını azaltarak, mikroorganizma sayımını kolayca gerçekleştirebilmektir.

Hazırladığımız bu farklı seyreltme faktörlerine sahip tüplerden 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 'lık seyreltme faktörüne sahip tüplerdeki seyreltmelerden steril pipet yardımıyla 0.1 ml çekilip,

önceden hazırladığımız cetrimide agarlı petri kaplarına steril svab yardımıyla (yayma plaka yöntemi kullanılarak) ekimler yapılmıştır. Yayma yönteminde, sıvı gıda maddesinden doğrudan ya da uygun seyreltmesinden 0,1 ml aktarılıp, cam çubuk ya da steril svab ile yayılır.

Yayma işleminden sonra petrinin kapağı kapatılarak, yüzeyin kuruması için birkaç dakika bekletilir ve sonra petri kapları, kapaklar alta gelecek şekilde inkübatöre kaldırılır.

Cetrimide agara ekilen bütün numuneler 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreyen koloniler 366 nm dalga boyundaki ultra viyole ışık altında incelenerek, pigment üreten koloniler tespit edilmiştir. Şekil 2.3'de *Pseudomonas* spp. kolonilerinin cetrimide agar besiyerindeki görünüşleri; Şekil 2.4'de ise kolonilerin ultra viyole ışık altında incelenmesi gösterilmiştir.



(A)

(B)

Şekil 2.3: *Pseudomonas* spp. kolonilerinin cetrimide agar besiyerindeki görünüşleri

A: Normal ışıktaki görünüm

B: Ultra viyole ışıktaki görünüm

2.2.2. *Pseudomonas* spp. sayımı ve hesaplama:

Ultra viyole ışık altında tespit edilen sarımsı-yeşil renkli koloniler sayılmıştır. Ardışık iki seyreltiden yapılan ekim sonuçlarının ağırlıklı aritmetik ortalaması alınarak, örnekteki sayı hesaplanmaktadır. Daha önce 30-300 arasında koloni içeren seyreltilerdeki ekimler dikkate alınırken, artık 15-300 arasındaki koloni sayımları dikkate alınmaktadır. Bu hesaplamada kullanılan formül; $N = C / [V (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d]$ şeklindedir.

Bu hesaplamada kullanılan formülde ki;

N = Gıda örneğinin 1 gr ya da 1 ml'sinde mikroorganizma sayısı

C = Sayımı yapılan tüm petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

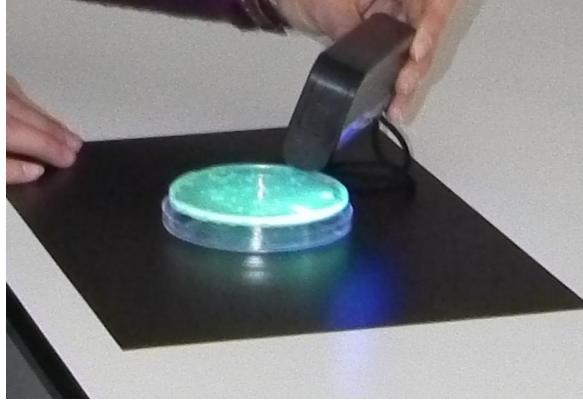
V = Sayımı yapılan petri kutularına aktarılan hacim (ml)

n_1 = İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

n_2 = İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi

d = Sayımın yapıldığı ardışık iki seyreltiden daha konsantre olanın seyreltme oranı

(Analiz, TS ISO 13720: Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* spp. sayımı metoduna göre yapıldı).



Şekil 2.4: Kolonilerin ultra viyole ışık altında incelenmesi

UV lambası altında floresan ışımaya veren şüpheli morfolojiye sahip kolonileri doğrulama için koloniler nutrient agarda saflaştırılmıştır. *Pseudomonas* spp.'nin hem cins hem de tür düzeyinde identifikasyonu için bu saflaştırılan koloniler kullanılmıştır.

2.2.3. Cins düzeyinde identifikasyon:

Gram Boyama:

İzole edilen kültürden bir öze dolusu alınan örnek lam üzerine yayılmış, kurutulduktan sonra fiksasyon yapılmıştır. Preparat üzerine kristal violet boyası damlatılıp, 1 dk bekletilmiştir. 1 dk sonra su ile yıkanmıştır. Kuruması beklenmeden lugol iyot çözeltisi, örneği kaplayacak şekilde damlatılıp 1 dk bekletilmiştir. Preparat, suyla yıkanmıştır. Örneğe alkol (ya da dekolorizatör çözeltisi) damlatılıp, 20 saniye bekletilmiş, mor renk gidinceye kadar yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnek safranin boyası ile 20 sn bekletilmiş, saf suyla yıkanıp kurutulmuştur. Daha sonra immersiyon yağı damlatılarak hazırlanan preparat x100'lük objektifte incelenmiştir (Demirbağ ve Demir, 2005). Mikroskopta Gram-negatif (pembe-kırmızı renkli), basil, kokobasil şeklinde görülen koloniler *Pseudomonas* spp. ön tanısı ile ileri tanımlama çalışmalarına gidilmiştir.

Oksidaz Testi:

Oksidaz testi için, hazır test stripleri (Bactident oxidase, Merck) kullanılmıştır. Striplerin reaktif bölgesi N,N-Dimethyl-1,4-phenylenediammonium chloride (0,1 µmol) ve α-naphthol (1,0 µmol) içermektedir. Test için, yoğun bakteri süspansiyonu öze ile strip test bölgesine aktarılmış ve 20-60 saniye içinde mavi-menekşe renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4. Tür düzeyinde identifikasyon:

Cins düzeyinde identifikasyon sonucunda, gram boyamada pembe-kırmızı renkli, basil, kokobasil şeklinde görülen ve pozitif oksidaz reaksiyonu gösteren koloniler *Pseudomonas* spp. kolonileri olarak değerlendirilmiş ve tür düzeyinde identifikasyon uygulanmıştır.

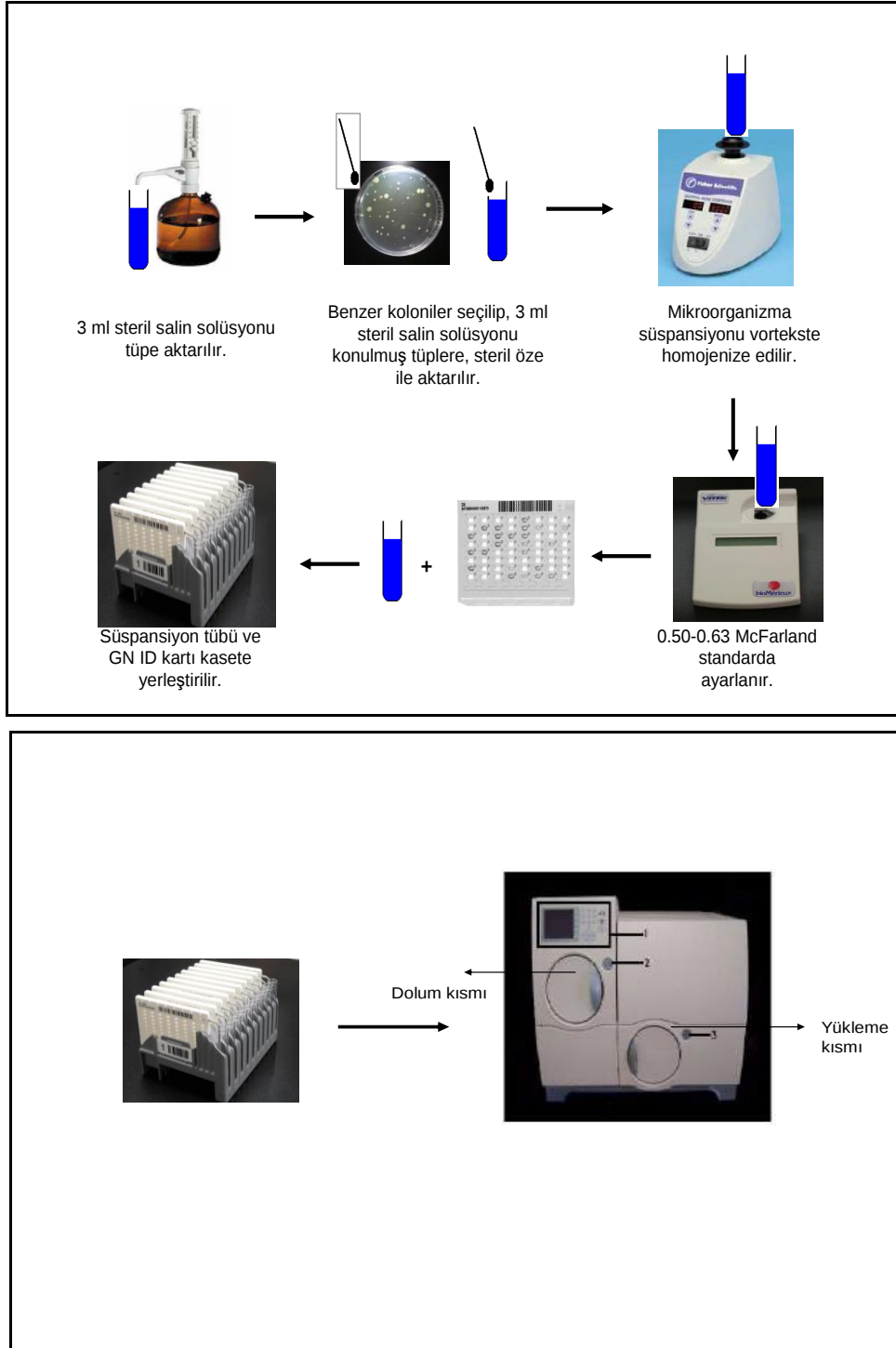
Tür düzeyinde identifikasyon aşamasında ise, bu koloniler VITEK 2 Compact tam otomatik biyokimyasal identifikasyon cihazının kolorimetrik GN ID kartı (Gram-negatif identifikasyon kartı) kullanılarak tür düzeyinde tanımlanmıştır. Çizelge 2.3'de GN ID kart üzerindeki biyokimyasal testler; Çizelge 2.4'de ise *P. fluorescens*' in bu testlerle verdiği pozitif ve negatif reaksiyonlar örnek olarak verilmiştir (Biomerieux, 2006).

VITEK 2 Compact ile identifikasyon:

İnkübasyondan sonra saflaştırılan kolonilerden 3-5 tanesi seçilerek, içerisine 3 ml steril salin (%0,45-%0,50 NaCl' ün sudaki çözeltisi; pH 4,5-7,0) solüsyonu konulmuş tüplere, steril öze ile alınmıştır. Bu tüpler küçük bir vorteks yardımıyla homojenize edildikten sonra VITEK 2 DENSICHEK™ cihazı ile mikroorganizma süspansiyonunun yoğunluğu 0,50-0,63 McFarlanda ayarlanmış ve GN ID kart ile birlikte cihazın kasetlerine yüklenmiştir. Tüplerdeki mikroorganizma süspansiyonunun üzerinde ve biyokimyasal testlerin olduğu GN ID karta yüklenmesi için VITEK 2 Compact cihazının (Şekil 2.5) dolum kısmına yerleştirilmiştir. Dolum işleminin tamamlanmasının ardından GN ID kartları identifikasyon için cihazın okuyucu bölümüne yerleştirilmiş ve 6-8 saat sonra sonuçlar alınmıştır (Biomerieux, 2006; Akan, 2009).



Şekil 2.5: Vitek 2 Compact Cihazı (Biomerieux, 2006)



Şekil 2.6: Vitek 2 Compact İdentifikasyon Cihazının Kullanımı

Çizelge 2.3: GN ID kart üzerindeki biyokimyasal testler (Biomerieux, 2006)

Kuyucuk	Test	Kısaltma	Miktar
2	Ala-Phe-Pro-Arylamidase	APPA	0.0384 mg
3	Adonitol	ADO	0.1875 mg
4	L-Pyrrolydonyl-Arylamidase	PyrA	0.018mg
5	L-Arabitol	IARL	0.3 mg
7	D-Cellobiose	dCEL	0.3 mg
9	Beta-Galactosidase	BGAL	0.036 mg
10	H ₂ S Production	H ₂ S	0.0024 mg
11	Beta-N Acetylglucosaminidase	BNAG	0.0408 mg
12	Glutamyl Arylamidase pNA	AGLTp	0.0324 mg
13	D-Glucose	dGLU	0.3 mg
14	Gamma-Glutamyl-Transferase	GGT	0.0228 mg
15	Fermentation / Glucose	OFF	0.45 mg
17	Beta-Glucosidase	BGLU	0.036 mg
18	D-Maltose	dMAL	0.3 mg
19	D-Mannitol	dMAN	0.1875 mg
20	D-Mannose	dMNE	0.3 mg
21	Beta-Xylosidase	BXYL	0.0324 mg
22	Beta-Alanine Arylamidase pNA	BAlap	0.0174 mg
23	L-Proline Arylamidase	ProA	0.0234 mg
26	Lipase	LIP	0.0192 mg
27	Palatinose	PLE	0.3 mg
29	Tyrosine Arylamidase	TyrA	0.0276 mg
31	Urease	URE	0.15 mg
32	D-Sorbitol	dSOR	0.1875 mg
33	Saccharose / Sucrose	SAC	0.3 mg
34	D-Tagatose	dTAG	0.3 mg
35	D-Trehalose	dTRE	0.3 mg
36	Citrate (Sodium)	CIT	0.054 mg
37	Malonate	MNT	0.15 mg
39	5-Keto-D-Gluconate	5KG	0.3 mg
40	L-Lactate Alkalinisation	ILATk	0.15 mg
41	Alpha-Glucosidase	AGLU	0.036 mg
42	Succinate Alkalinisation	SUCT	0.15 mg
43	Beta-N-Acetylgalactosaminidase	NAGA	0.0306 mg
44	Alpha-Galactosidase	AGAL	0.036 mg
45	Phosphatase	PHOS	0.0504 mg
46	Glycine Arylamidase	GlyA	0.012 mg
47	Ornithine Decarboxylase	ODC	0.3 mg
48	Lysine Decarboxylase	LDC	0.15 mg
52	Decarboxylase Base	ODEC	N/A
53	L-Histidine Assimilation	IHISa	0.087 mg
56	Courmarate	CMT	0.126 mg
57	Beta-Glucoronidase	BGUR	0.0378 mg
58	O/129 Resistance (comp.vibrio.)	O129R	0.0105 mg
59	Glu-Gly-Arg-Arylamidase	GGAA	0.0576 mg
61	L-Malate Assimilation	IMLTa	0.042 mg
62	Ellman	ELLM	0.03 mg
64	L-Lactate Assimilation	ILATa	0.186 mg

Çizelge 2.4: *P. fluorescens*' in GN ID kart üzerindeki diziliş sırasına göre biyokimyasal detayları (Biomérieux, 2006) [Nr: GN ID kart üzerindeki kuyucuk sıra numarası. Test: GN ID kart üzerindeki kuyucuklarda bulunan biyokimyasal test reaktifleri. Rxn: *P. fluorescens*'in biyokimyasal reaksiyonlara verdiği yanıt]

Nr	Test	Rxn
2	APPA	-
3	ADO	-
4	PyrA	+
5	İARL	-
7	dCEL	-
9	BGAL	-
10	H ₂ S	-
11	BNAG	-
12	AGLTp	-
13	dGLU	+
14	GGT	-
15	OFF	-
17	BGLU	-
18	dMAL	-
19	dMAN	-
20	dMNE	+
21	BXYL	-
22	BAlap	-
23	ProA	+
26	LIP	-
27	PLE	-
29	TyrA	+
31	URE	-
32	dSOR	-

Nr	Test	Rxn
33	SAC	-
34	dTAG	-
35	dTRE	-
36	CIT	-
37	MNT	-
39	5KG	-
40	ILATk	-
41	AGLU	-
42	SUCT	-
43	NAGA	-
44	AGAL	-
45	PHOS	-
46	GlyA	-
47	ODC	-
48	LDC	-
53	IHISa	-
56	CMT	-
57	BGUR	-
58	0129R	-
59	GGAA	-
61	IMLTa	-
62	ELLM	-
64	ILATa	-

3. BULGULAR:

Bu çalışma ile market ve pazarlarda satışa sunulan balıkların *Pseudomonas* spp. yönünden kontaminasyonu ve varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla Manisa ve İzmir il merkezlerindeki çeşitli market ve pazarlardan farklı zamanlarda temin edilen 41 adet alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), 24 adet çipura (*Sparus auratus*), 23 adet levrek (*Dicentrarchus labrax*), 10 adet kefal (*Mugil cephalus*) ve 2 adet mezgıt (*Merlangus euxinus*)'in analizi yapılmıştır. Çizelge 3.1'de incelenen balık örneklerinde *Pseudomonas* spp. dağılımı gösterilmiştir.

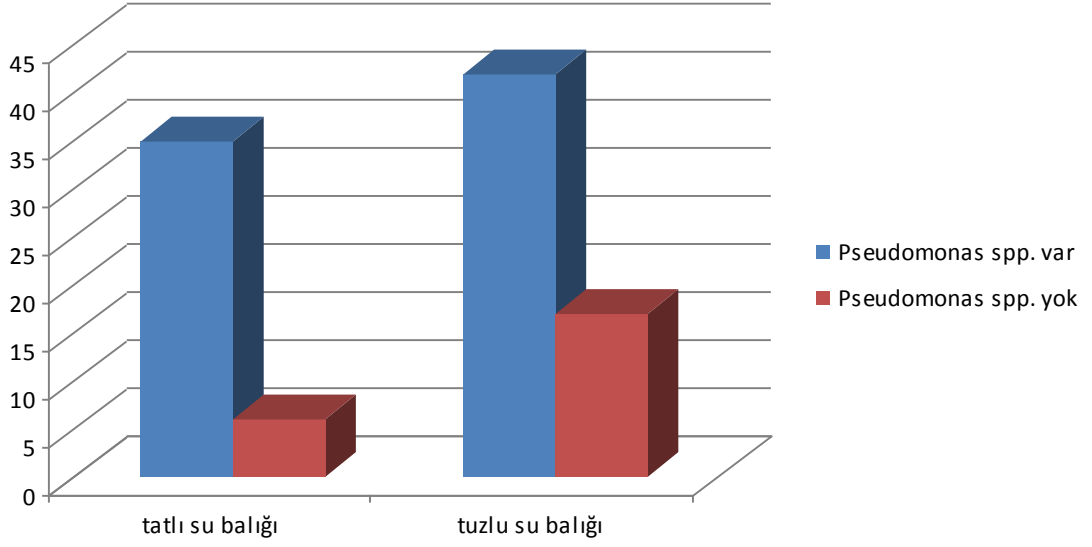
Çizelge 3.1: İncelenen balık örneklerinde *Pseudomonas* spp. dağılımı

Analiz Edilen Örnek	Her Balık Örneğinden Alınan Toplam Örnek Sayısı	<i>Pseudomonas</i> spp. Açısından Pozitif Örnek Sayısı
Alabalık	41	35
Çipura	24	19
Levrek	23	16
Kefal	10	5
Mezgıt	2	2

Bu çalışmada toplam 100 adet balık örneğinin; 41'i tatlı su balığı (alabalık), 59'u tuzlu su balığı (çipura, levrek, kefal, mezgıt) 'dır. Çizelge 3.2'de izole edilen *Pseudomonas* spp.'lerin incelenen balık örneklerine göre yüzdelik dağılımı; Şekil 3.1'de ise alındığı kaynağa göre balık örneklerinin *Pseudomonas* spp. dağılımı gösterilmiştir.

Çizelge 3.2: İzole edilen *Pseudomonas* spp.'lerin incelenen balık örneklerine göre yüzdelik dağılımı

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı	<i>Pseudomonas</i> spp. Açısından Pozitif Örnek Sayısı	Yüzde (%)
Tatlı su balığı	41	35	%85.36
Tuzlu su balığı	59	42	%71.18
Toplam	100	77	%77



Şekil 3.1: Alındığı kaynağa göre balık örneklerinin *Pseudomonas* spp. dağılımı

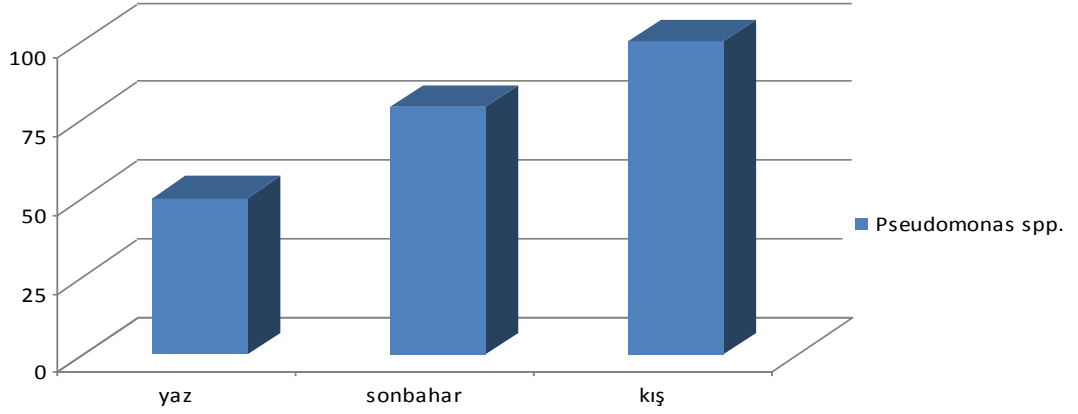
Bu çalışmada toplam 100 adet balığın (alabalık, çipura, levrek, kefal, mezgit) % 77'sinden *Pseudomonas* spp. izole edilmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas* türleri; *Pseudomonas fluorescences* ve *Pseudomonas putida*'dır.

Bu balık örneklerinin her birinin karkas ve solungaçlarından izole edilen *Pseudomonas* spp. oranları da tespit edilmiştir. Çizelge 3.3'de izole edilen *Pseudomonas* spp.'lerin balıklar organlarındaki dağılımı gösterilmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas* spp.'nin dağılım yüzdesi solungaç % 69 ve karkas % 67'dir.

Çizelge 3.3: İzole edilen *Pseudomonas* spp.'lerin balıklar organlarındaki dağılımı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	Solungaç	Yüzde (%)	Karkas	Yüzde (%)
Alabalık	41	31	75.61	30	73.17
Çipura	24	17	70.83	16	66.67
Levrek	23	14	60.87	14	60.87
Kefal	10	5	50.00	5	50.00
Mezgit	2	2	100.00	2	100.00

Balıklardan izole edilen *Pseudomonas* spp.'nin mevsimsel dağılımına da bakılmıştır. Şekil 3.2'de balıklarda mevsimsel olarak *Pseudomonas* spp. izolasyonu gösterilmiştir. İzole edilen *Pseudomonas* spp. yaz döneminde incelenen 34 balık numunesinin (alabalık, çipura, levrek, kefal, mezgıt) % 50'sinde, sonbaharda incelenen 33 balık numunesinin (alabalık, çipura, levrek) % 79'unda, kış döneminde ise incelenen 33 balık numunesinin (alabalık, çipura, levrek) % 98'sinde görülmüştür.



Şekil 3.2: Balıklarda mevsimsel olarak *Pseudomonas* spp. izolasyonu

3.1. *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları:

Her bir balık numunesinin ayrı ayrı karkas ve solungaçlarından izole edilen *Pseudomonas* spp. sayımı yapılmıştır. Şekil 3.3'de balık örneklerindeki solungaç ve karkaslarından izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım aralıkları; Çizelge 3.4'de balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları gösterilmiştir. Buna göre sayım sonuçlarının oranı; balıkların karkaslarında $<10^5$ - 2.7×10^7 kob/gr ve solungaçlarında $<10^5$ - 3.2×10^7 kob/gr arasında bulunmuştur.



Şekil 3.3: Balık örneklerindeki solungaç ve karkaslarından izole edilen *Pseudomonas* spp. sayımaralıkları (0,00E+00=0; 5,00E+06=5.0x10⁶; 1,00E+07=1.0x10⁷; 1,50E+07=1.5x10⁷; 2,00E+07=2.0x10⁷; 2,50E+07=2.5x10⁷; 3,00E+07=3.0x10⁷; 3,50E+07=3.5x10⁷)

Eğer inkübasyon sonucu petride koloni oluşmamışsa; yapılan ekimlerde 1 petri kutusunda 1 koloni oluşmuş gibi düşünülerek, sonuç $N = 1 / [0.1(1 + 0,1 \times 0) \times 0,0001] = 10^5$ kob/g olarak verilecek idi. Ancak burada sonuç bu değerden daha azdır. Dolayısıyla sonuç "<10⁵ kob/g" olarak verilmiştir. Bu gösterim, "analiz yapılan yöntemin duyarlılığı 1 gramda 10⁵'ten daha az olan mikroorganizmaları belirlemeye yetmemektedir. Burada da 1 gram gıdada 10⁵'ten daha az sayıda koloni oluşturan mikroorganizma vardır" anlamına gelmektedir.

Bir katı gıdadan yayma yöntemiyle yapılan sayımda örneğin; 10⁻⁴ seyreltiden 5 ve 8, 10⁻⁵ seyreltiden 0 ve 0 sonuç alınmış ise, 5 ve 8 değerleri 15'den az olduğu için değerlendirme yapılmamalıdır. Ancak sayımın yapılabileceği başka bir değer de yoktur. Bu nedenle sonuç $N = (5+8) / [0.1(2 + 0,1 \times 0) \times 0,0001] = 6.5 \times 10^5$ kob/g olarak değerlendirilir ve şüpheli sonuç olarak belirtilir (Halkman ve Aydın, 2000; www.mikrobiyoloji.org).

Çizelge 3.4: Balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları

Balık örnekleri	Solungaç	Karkas
Alabalık-1	$<10^5$	$<10^5$
Alabalık-2	$<10^5$	7.7×10^6
Alabalık-3	$<10^5$	$<10^5$
Levrek-4	$<10^5$	$<10^5$
Levrek-5	2.7×10^5 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Levrek-6	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-7	2.0×10^5 (şüpheli koloni)	1.0×10^5 (şüpheli koloni)
Çipura-8	1.0×10^5 (şüpheli koloni)	1.0×10^6 (şüpheli koloni)
Çipura-9	8.0×10^5 (şüpheli koloni)	2.0×10^5 (şüpheli koloni)
Mezgit-10	1.5×10^6	9.0×10^5 (şüpheli koloni)
Mezgit-11	3.0×10^5 (şüpheli koloni)	7.2×10^5 (şüpheli koloni)
Levrek-12	$<10^5$	1.0×10^5 (şüpheli koloni)
Alabalık-13	$<10^5$	$<10^5$
Alabalık-14	2.0×10^5 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Kefal-15	$<10^5$	$<10^5$
Kefal-16	$<10^5$	$<10^5$
Levrek-17	$<10^5$	$<10^5$
Kefal-18	$<10^5$	$<10^5$
Kefal-19	$<10^5$	$<10^5$
Kefal-20	7.0×10^5 (şüpheli koloni)	9.0×10^6
Kefal-21	1.7×10^6	9.7×10^6
Kefal-22	3.4×10^6	6.3×10^6
Kefal-23	$<10^5$	$<10^5$
Kefal-24	5.3×10^6	1.1×10^7

Çizelge 3.4 (devam): Balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları

Balık örnekleri	Solungaç	Karkas
Kefal-25	1.0×10^6	5.7×10^6
Levrek-26	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-27	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-28	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-29	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-30	1.0×10^5 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Çipura-31	9.0×10^4 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Çipura-32	$<10^5$	4.0×10^5 (şüpheli koloni)
Çipura-33	3.0×10^5 (şüpheli koloni)	4.0×10^5 (şüpheli koloni)
Çipura-34	5.4×10^6	7.1×10^6
Çipura-35	2.8×10^6	4.6×10^6
Çipura-36	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-37	1.8×10^5 (şüpheli koloni)	5.6×10^6
Çipura-38	8.1×10^5 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Alabalık-39	5.0×10^5 (şüpheli koloni)	$<10^5$
Alabalık-40	2.0×10^5 (şüpheli koloni)	1.0×10^5 (şüpheli koloni)
Alabalık-41	5.4×10^5 (şüpheli koloni)	9.0×10^4 (şüpheli koloni)
Levrek-42	$<10^5$	$<10^5$
Levrek-43	$<10^5$	2.0×10^5 (şüpheli koloni)
Levrek-44	$<10^5$	3.3×10^6
Alabalık-45	$<10^5$	$<10^5$
Alabalık-46	$<10^5$	$<10^5$
Alabalık-47	$<10^5$	$<10^5$
Çipura-48	3.3×10^6	4.2×10^6

Çizelge 3.4 (devam): Balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları

Balık örnekleri	Solungaç	Karkas
Çipura-49	6.3×10^5 (şüpheli koloni)	4.9×10^6
Çipura-50	4.0×10^5 (şüpheli koloni)	6.3×10^5 (şüpheli koloni)
Alabalık-51	1.3×10^7	3.0×10^5 (şüpheli koloni)
Levrek-52	1.0×10^5 (şüpheli koloni)	1.0×10^5 (şüpheli koloni)
Levrek-53	4.0×10^5 (şüpheli koloni)	2.7×10^5 (şüpheli koloni)
Alabalık-54	5.0×10^6	9.1×10^6
Levrek-55	6.5×10^6	4.0×10^6
Levrek-56	7.1×10^6	4.9×10^6
Levrek-57	1.4×10^7	3.9×10^6
Levrek-58	3.9×10^6	5.3×10^6
Alabalık-59	2.5×10^7	1.3×10^7
Alabalık-60	3.2×10^7	1.0×10^7
Levrek-61	1.0×10^6 (şüpheli koloni)	1.1×10^7
Levrek-62	6.0×10^5 (şüpheli koloni)	3.6×10^6
Alabalık-63	1.2×10^7	1.5×10^7
Alabalık-64	4.3×10^6	4.6×10^6
Levrek-65	7.4×10^6	1.1×10^7
Levrek-66	3.0×10^6	6.9×10^6
Alabalık-67	7.2×10^6	2.8×10^7
Alabalık-68	1.5×10^6	4.8×10^6
Alabalık-69	1.3×10^7	1.1×10^7
Alabalık-70	3.4×10^6	1.6×10^7
Alabalık-71	1.0×10^7	9.6×10^6
Alabalık-72	3.1×10^6	2.7×10^7

Çizelge 3.4 (devam): Balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları

Balık örnekleri	Solungaç	Karkas
Alabalık-73	3.9×10^6	1.6×10^7
Alabalık-74	4.8×10^6	2.3×10^7
Alabalık-75	1.0×10^5 (şüpheli koloni)	1.3×10^7
Alabalık-76	1.1×10^6 (şüpheli koloni)	2.1×10^6
Çipura-77	6.3×10^5 (şüpheli koloni)	2.7×10^6
Alabalık-78	1.5×10^7	1.7×10^7
Alabalık-79	3.6×10^6	2.1×10^7
Alabalık-80	2.8×10^7	2.7×10^7
Alabalık-81	1.6×10^7	3.0×10^6
Alabalık-82	1.9×10^7	2.4×10^7
Levrek-83	3.8×10^6	2.7×10^7
Levrek-84	2.2×10^7	1.6×10^7
Levrek-85	1.1×10^7	1.3×10^7
Çipura-86	1.3×10^6 (şüpheli koloni)	1.2×10^6 (şüpheli koloni)
Çipura-87	8.1×10^5 (şüpheli koloni)	1.2×10^6 (şüpheli koloni)
Levrek-88	2.8×10^7	4.4×10^6
Çipura-89	4.9×10^6	3.8×10^6
Çipura-90	3.5×10^6	6.5×10^6
Alabalık-91	7.2×10^6	2.5×10^7
Alabalık-92	1.8×10^7	1.9×10^7
Alabalık-93	1.6×10^7	2.2×10^7
Alabalık-94	4.5×10^6	1.0×10^7
Alabalık-95	2.1×10^7	4.3×10^6
Alabalık-96	1.2×10^7	1.3×10^7

Çizelge 3.4 (devam): Balık örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayım sonuçları

Balık örnekleri	Solungaç	Karkas
Alabalık-97	3.8×10^6	2.5×10^7
Alabalık-98	3.5×10^6	3.6×10^6
Alabalık-99	3.0×10^6	4.2×10^6
Çipura-100	2.3×10^7	2.7×10^7

4. TARTIŞMA:

Pseudomonas türleri, gıdalarla olan ilişkileri son yıllarda çalışılmaya başlanmış ve yeterli sayıda çalışma yapılmamış önemli türlerdendir. Bu türler; klinik mikrobiyoloji alanında uzun yıllar çalışılan türler olmalarına rağmen, gıda mikrobiyolojisi alanında oldukça geri planda kalmıştır.

Pseudomonas cinsi üyeleri arasında psikrofilik türler bulunmaktadır. Bu psikrofilik türler; düşük sıcaklıklarda saklanan gıdalarda dahi bozulmaya neden olmaktadır. Bu nedenle bu bakteri, gıda güvenliği açısından önemli türleri içermektedir. Ayrıca bu bakteri; proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptir, bundan dolayı da özellikle et, süt, tavuk ve balık gibi yüksek protein ve yağ içeriği olan gıdalarda bozulmaya neden olmaktadır.

Et ve et ürünlerinin bozulması, hissedilebilen çeşitli kokuları alınmasıyla karakterizedir. Bazen sarımsak ve soğan gibi de tanımlanabilen bu kokular, sülfür bileşikler, methanethiol ve dimethyl disülfide oluşumundan kaynaklanmaktadır. Bu gibi sülfür bileşikler genellikle, et yüzeyinden glukozun tüketiminden sonra ve amino asit metabolizmasının başlamasıyla ortaya çıkmaktadır. *Pseudomonas*'lar, aerobik koşullar altında et üzerinde bu bileşiklerin üretiminden sorumlu olan asıl mikroorganizma grubudur. Çünkü oluşturdıkları bakteriosinlerle diğer bakterilerin üremesini kısmen engellemekte, hatta bunları yok etmektedirler. Bu nedenle psikrofiller arasında *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* soğutulmuş etlerde genellikle dominanttır (İnal, 1992; Whitfield, 1998; Erol, 2007).

Bu çalışmada materyal olarak Manisa ve İzmir illerinde faaliyet gösteren market-pazar gibi balık satış noktalarından tedarik edilen alabalık (*Oncorhynchus mykiss*), çipura (*Sparus auratus*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), kefal (*Mugil cephalus*) ve mezgıt (*Merlangus euxinus*) gibi balık örnekleri kullanılmıştır. Toplam 100 adet balık örneği analize alınmıştır. Bütün örnekler *Pseudomonas* spp. yönünden incelenmiş ve tüm balık örneklerinin % 77'sinden *Pseudomonas* spp. izole edilmiştir.

Bu çalışmada analize alınan her bir balık numunesinin ayrı ayrı solungaç ve karkastan izole edilen *Pseudomonas* spp. sayımı yapılmıştır. Buna göre sayım sonuçlarının oranı; alabalık solungaçlarında $<10^5$ - 3.2×10^7 kob/g ve alabalık karkaslarında $<10^5$ - 2.8×10^7 kob/g, arasında; çipura solungaçlarında $<10^5$ - 2.3×10^7 kob/g ve çipura karkaslarında $<10^5$ - 2.7×10^7 kob/g arasında; levrek solungaçlarında $<10^5$ - 2.8×10^7 kob/g ve levrek karkaslarında $<10^5$ - 1.6×10^7 kob/g, arasında; kefal solungaçlarında $<10^5$ - 1.0×10^7 kob/g ve kefal karkaslarında $<10^5$ - 1.1×10^7 kob/g arasında; mezgıt solungaçlarında 3.0×10^5 - 1.5×10^6 kob/g ve mezgıt karkaslarında 7.2×10^5 - 9.0×10^5 kob/g düzeyinde saptanmıştır.

Dainty et al. (1983) tarafından yapılan çalışmada, et ve et ürünlerinde *Pseudomonas*'ların 10^6 - 10^8 kob/g düzeyinde bulunduğu zaman bozulma nedeni olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan araştırmalara göre; mikroorganizmalar canlı ve yeni avlanan balığın bağırsaklarında ve dış yüzeylerinde (deri ve solungaçlar) bulunmaktadır. Oranları deride 10^2 - 10^7 kob/cm², solungaçlarda 10^3 - 10^9 kob/g ve bağırsaklarda 10^3 - 10^9 kob/g arasında değişmekte ve bu değerler  evre şartlarına göre farklılık göstermektedir. Temiz ve soğuk sulardan avlanan balıklarda çok düşük değerler bulunurken, kirlenmiş ve tropikal sularda avlanan balıklarda daha yüksek değerler bulunmaktadır. Bu bakterilerin sayılarının artması balığın bozulmasına sebep olur (Varlık ve diğerleri, 1993; Huss et al, 1998).

Terzi (2006) tarafından Ankara ilindeki bazı gökkuşağı alabalık çiftliklerindeki balıkların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amaçlı yapılan çalışmada; A, B ve C  iftliklerinden temin edilen alabalık deri örneklerinde *Pseudomonas* spp. sayısını sırasıyla 1.0×10^4 kob/cm², 2.1×10^5 kob/cm², 3.7×10^2 kob/cm² düzeyinde tespit etmiştir.

Balboa et al. (2007) tarafından Kuzey Avrupa'da yapılan çalışmada, Atlantik morinası'ndan (*Gadus morhua*) *Pseudomonas anguilliseptica*'yı izole etmişlerdir. İzole edilen bakteri suşlarının biyokimyasal, serolojik ve genetik özelliklerine bakmışlar ve bu bakteri suşlarının sayımını yapmışlar ve bakteri sayım sonuçları 7.6×10^4 - 5×10^7 kob/g arasında saptamışlardır.

 arbaş vd. (2008) tarafından, Erzurum ilindeki bazı gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)  iftliklerindeki balıkları mikrobiyolojik olarak incelemek amaçlı yapılan çalışmada, alabalıkların deri numunelerinde *Pseudomonas* sayısı; A işletmesinde $<10^2$ - 10^3 kob/cm², B ve C işletmelerinde 10^2 - 10^4 kob/cm², D ve E işletmelerinde 10^2 - 10^3 kob/cm², F işletmesinde ise Nisan ve Haziran aylarında sayı $<10^2$ kob/cm², Mayıs ayında 9.0×10^2 kob/cm² düzeyinde belirlemişlerdir.

Yagoub (2009) tarafından, Hartum eyaletinde bulunan marketlerde satışa sunulan taze balıkların mikrobiyolojik kalitesini belirmeye yönelik yapılan çalışmada, balıkların % 62'sinden *Pseudomonas* spp. ve % 55.3' nden *Enterobacteriaceae* izole etmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas* spp.'nin mevsimsel dağılımına da bakılmıştır, izole edilen *Pseudomonas* spp. yaz döneminde incelenen 21 balık numunesinin % 42'sinde, sonbaharda incelenen 40 balık numunesinin % 80'inde, kiş döneminde ise incelenen 32 balık numunesinin % 64' nde görülmüştür. Balık  rneklerinin her birinin solungaç, bağırsak ve derisinden izole edilen *Pseudomonas* spp. oranları da tespit edilmiştir. Buna göre; solungaç örneklerinden 63 (%55.8)'den, bağırsak örneklerinin 31 (%27.4)'den, deri örneklerinin 19 (%16.8)'dan *Pseudomonas* spp. izole edilmiştir. Analize alınan her bir balık örneğinin solungaç, bağırsak ve derisinden izole edilen *Pseudomonas* spp. sayımı yapılmıştır. Buna göre; solungaç örneklerinde 5×10^7 - 2×10^9 kob/g, bağırsak örneklerinde 7×10^5 - 3×10^7 kob/g ve deri örneklerinde 4×10^5 - 3×10^7 kob/cm² düzeyinde saptamıştır.

Bu çalışmada elde edilen veriler, balık ve balık ürünlerinde ki mikrobiyal bozulmanın sınır değerindedir ($>10^6-10^7$ kob/g) (Gram and Huss, 1996). Elde edilen veriler, Huss et al. (1998)'nin sonuçlarına göre düşük, Dainty et al. (1983), Yagoub (2009) ve Balboa et al. (2007)'nin sonuçlarıyla uyumlu, Çarbaş vd. (2008) ve Terzi (2006)'nin sonuçlarından ise yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar ışığında; balıklardan izole edilen mikroorganizma sayısının değişken olmasının sebebi, balığın avlandığı çevre şartlarına, balık ve balık ürünlerinin yakalanmasından satış noktalarına getirilmesine ve satış noktalarında ki muhafazasına bağlanabilir.

Bu çalışmada; ayrıca pazardan satın alınan balık örnekleri ile marketten satın alınan balık örnekleri de karşılaştırılmış; sonuç olarak *Pseudomonas* yönünden pazardan satın alınan balık örneklerinin analiz sonuçları ile marketten satın alınan balık örneklerinin analiz sonuçları arasında önemli bir farklılık görülmüştür.

Berthe ve ark. (1995) tarafından Fransa'da yapılan çalışmada, levrek (*Dicentrarchus labrax*), çipura (*Sparus auratus*), kalkan (*Scophthalmus maximus*) gibi birçok balık türünden *Pseudomonas anguilliseptica*'yı izole etmişlerdir.

Diler ve Kubilay (1996) tarafından yapılan çalışmada, Denizli yöresindeki bir alabalık işletmesinde bulunan kültür alabalıklarda sarı-yeşil pigment üreten bir *Pseudomonas* türünü izole etmişlerdir.

Tryfinopoulou et al. (2002) tarafından yapılan çalışmada, depolanmış olan Akdeniz balığı çipuradan (*Sparus aurata*) *Pseudomonas lundensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* ve *Pseudomonas putida*'yı izole etmişlerdir.

Rodrigues et al. (2003) tarafından yapılan çalışmada, tuzlanmış ve kurutulup tuzlanmış morina balığından elde edilen ürünlerin tür düzeyinde mikroflorasını tespit etmişlerdir. Tür düzeyinde identifikasyon için, Gram-pozitif ve Gram-negatif tanımlama kartları kullanılan, Vitek 2 tam otomatik tanımlama sistemini kullanmışlardır. İzole edilen Gram-pozitif bakteriler *Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. simulans* ve *S. saprophyticus*; izole edilen Gram-negatif bakteriler ise; *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio alginolyticus*, *Pasteurella haemolytica*, *Enterobacter agglomerans*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens*, *Morganella morganii*, *Actinobacillus urea*, *Acinetobacter lwoffii* *junii* ve non-fermentatif basiller'dir.

Balboa et al. (2007) tarafından Kuzey Avrupa'da yapılan çalışmada, Atlantik morinası'ndan (*Gadus morhua*) *Pseudomonas anguilliseptica*'yı izole etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre balıklardan izole edilen *Pseudomonas* türleri; *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putida*'dır. Bu türlerden *P. fluorescens* ve *P. putida*, Rodrigues et al. (2003) ve Tryfinopoulou et al. (2002)'nin çalışmasında saptanırken, sadece *P. fluorescens* Diler vd. (1996)'nin çalışmasında izole edilmiştir. Balboa et al. (2007) ve Berthe et al. (1995)'nin çalışmasında *P. anguilliseptica* izole edilirken, Tryfinopoulou et al. (2002)'nin çalışmasında ayrıca *Pseudomonas lundensis* ve *Pseudomonas fragi* izole edilmiştir.

Uluslararası Mikrobiyolojik Standartlar Komisyonuna (ICMSF) göre; taze ve dondurulmuş balıklar için önerilen mikroorganizma sayısında maximum sınır 10^7 kob/g olarak belirtilmiştir.

Yapılan araştırmalarda, 0°C 'lik depolamada balık kasındaki bakteri sayısının, 1-2 günlük gecikme döneminden sonra arttığını ve 9-10 gün sonra 10^7 - 10^8 kob/g değeri ile en yüksek düzeye ulaştığını ortaya koymuştur. Başlangıçta derideki bakteri sayısı kasa göre fazladır ancak sonuçta değerler paralellik gösterir. Morina ve mezgıt balığının buz içinde 14-15 günde bozulduğu belirlenmiştir. Bu bozulma periyodunda *Pseudomonas* cinsi bakteriler hızla artarak hakim duruma gelmiştir. 10-12 günlük depolanışta balıkta floranın %60-90'ını *Pseudomonas* cinsi bakteriler oluşturur, geriye kalanlar arasında ise *Achromobacter* ve *Flavobacterium* cinsi bakteriler oluşturur (Labuza, 1982).

Banwart (1989) tarafından yapılan çalışmada, dondurulmuş etlerde psikrofil mikroorganizmaların önemli potansiyel bozucu olduklarını belirtmiştir.

Dondurulmuş etlerde bozulma belirtilerinin görülmesinin sebebi; aktif çoğalabilen psikrofil aerob bakterilerdir. Bu sayı 10^7 - 10^8 kob/g düzeyindedir. Et yüzeyindeki canlı bakterilerin sayısı cm^2 'de 10^{10} miktara eriştiğinde, yüzeyde çok belirgin bir sümüksel tabaka oluşmaktadır. Soğukta depolanan etlerin yüzeyinde psikrofil aerob bakterilerinin sayısı cm^2 'de 10^7 - 10^8 veya 1 gramında 10^7 - 10^8 miktara çıkması, büyük ölçüde bu bakterilerin depolama başlangıcındaki sayılarının yüksek olmasına ve depo sıcaklığına bağlıdır (Yıldırım, 1992).

Gram (1993), *Pseudomonas* türlerini soğukta depolanan gıdalarda bozulma nedeni olan önemli organizmalar olarak tanımlamıştır.

Taze etlerde sıklıkla rastlanan mikrobiyolojik bozulmalar aerobik ve anaerobik koşullarda meydana gelen bozulmalar olarak iki grupta toplanmaktadır. Ancak etlerde aerobik ve anaerobik faaliyetler birlikte olduğu için her iki bozulma şekli genellikle bir arada gelişir. Başlıca tipik aerobik bozulmalar; et renginin değişmesi, küf gelişmesi ve yüzeyde yapışkanlık olarak üçe ayrılmıştır. Yapılan çalışmalarda bu tür aerob bozulmalara *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Alteromonas*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus* ve *Micrococcus* türleri neden olmaktadır. Soğukta saklanan taze etlerde daha çok *Pseudomonas-Alcaligenes* grubu bakteriler gelişmektedir. Daha yüksek sıcaklıklarda bekletilen etlerde ise *Micrococcus* ve diğer mezofilik bakteriler, *Pseudomonas-Alcaligenes* grubu bakterilerle rekabet edebilirler (Ünlütürk ve diğerleri, 1999).

Gennari et al. (1999) tarafından yapılan çalışmada, Adriyatik denizinden yakalanan sardalyaların (*Sardina pilchardus*) derilerini ve solungaçlarını sekiz gün soğukta depolamışlar ve bu sürede balıkta mikrobiyal bozulma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Dört günlük soğukta bekletmenin sonunda mikroflorada çoğunlukla Gram-negatif bakteriler (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Pschrobacter*, *Acinetobacter*, *Shewanella*) ve çok az bir oranda

Enterobacteriaceae ve Gram-pozitif bakteriler tanımlamışlardır. Sekiz günlük depolamanın ardından ise *Pseudomonas fragi* %8-30,8 ve floresan veren *Pseudomonas*'ların ise %15,6-18,4'e ulaştığı görülmüştür. Proteolitik aktiviteleri en yüksek olan türler ise *Pseudomonas fluorescens* ve *S.putrefaciens* olarak bulunmuştur. Lipolitik aktivitesi en yüksek olan türler ise *Psychrobacter immobilis*, *Pseudomonas fluorescens* ve *S.putrefaciens* olarak bulunmuştur. Elde edilen 1500 izolatın 288 tanesi bozulmayla ilgili aktiviteleri göstermiştir. Bozulmadaki etkinliğine göre birinci *S.putrefaciens* ve ikinci ise *Pseudomonas fluorescens* yer almıştır. En az bozulmaya neden olan türler ise *Pseudomonas fragi*, *Enterobacteriaceae* ve sakkarolitik olmayan *Pseudomonas*'lar olarak bulunmuştur.

Tryfinopoulou et al. (2002) tarafından yapılan çalışmada, depolanmış olan Akdeniz balığı çipuranın (*Sparus aurata*) bozulmasında *Pseudomonas* spp.'ın rolünü araştırmışlar ve 106 adet *Pseudomonas* spp. izole etmişlerdir. İzole edilen *Pseudomonas* türleri; *Pseudomonas lundensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* ve *Pseudomonas putida*'dır.

Olafsdottir et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, depolama sıcaklığının mezgıt (*Melanogrammus aeglefinus*) balığının filetosunda ki mikrobiyal bozulmaya etkisini incelemişlerdir. Yapılan araştırma sonucu mezgıt balıklarının filetolarından *Pseudomonas*, *Photobacterium phosphoreum* ve *Shewanella putrefaciens* izole etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre; balıklardan izole edilen *Pseudomonas* türlerinin, depolama süresinden ve depolama sıcaklığından oldukça etkilendiğini göstermiştir. Elde edilen veriler; Gram (1993) ve Banwart (1989)'ın sonuçlarına uyum göstermektedir.

Bu çalışma; balıklarda *Pseudomonas* türlerinin saptanmasında; üretim, parçalama, paketleme, nakliye, depolama ve satış aşamalarında gerekli hijyenik tedbirlerin yeterli düzeyde sağlanamadığını, özellikle kontrolsüz üretim ve satış yapan küçük işletmelerde halk sağlığı açısından riskin daha da fazla olduğu kanaatini doğurmaktadır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER:

Psikrofil, mezofil ve psikrotrof türleri olan *Pseudomonas*'lar aynı zamanda proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptir. Psikrofil türleri; depolanan gıdalarda bozulmaya yol açarken, proteolitik ve lipolitik gibi enzimatik aktivitelerinden dolayı da yüksek protein ve yağ içeren gıdalarda da bozulmaya neden olmaktadır.

İnsanların daha sağlıklı bir yaşam sürdürmesi için; öncelikle kaliteli gıda konusunda bilinçlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada; sağlıklı bir yaşam için önemli yeri olan market ve pazarlarda satışa sunulan balıkların *Pseudomonas* spp. yönünden kontaminasyonu ve varlığı araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda analize alınan tüm balık örneklerinden hemen hepsinde *Pseudomonas* spp. tespit edilmiştir. Balıklardan izole edilen *Pseudomonas* türleri; *Pseudomonas fluorescens* ve *Pseudomonas putida*'dır. Ayrıca; balıklardan izole edilen *Pseudomonas* türlerinin, depolama süresinden ve depolama sıcaklığından oldukça etkilendiğini saptanmıştır.

Bu çalışma sonucu; bizlere aslında balık ve balık ürünlerinin çok çabuk bozulabilen gıdalar olduğunu, balık gibi temel gıda maddelerinin de insan sağlığını tehdit edebileceğini ve gelecekte halk sağlığı açısından potansiyel risk faktörü olabileceğini göstermiştir.

Sonuç olarak; balık etinin protein, vitamin ve mineral bakımından zengin bir besin kaynağı olmasının yanı sıra; avlanmasından muhafazasına, işlenmesine, satışına kadar gerekli ve yeterli hijyenik ve teknolojik önlemler alınmadığı takdirde, mikroorganizmaların üremesi ve gelişmesi için uygun bir ortam oluşturmakta, bunun sonucunda bozulmalara yol açarak, insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR:

Achman, R.G., Composition and nutritive value of fish and shellfish lipids, fish and fishery products, edited by A. Ruiter. CAB international Wallingford Oxon, OX10 8DE UK, 117-157, 1995.

Akan, İ. M., Et ve bazı et ürünleri ile soğuk hava depolarında *Pseudomonas* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Vet) Anabilim Dalı, Konya, 2009.

Akçay, S., Egemen, Ö., İzmir körfezinde avlanan bazı balık türlerinin kimyasal değişimleri üzerine bir araştırma, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (1-2): 117-120, 2006.

Amlacher, E., Rigor mortis in fish. Borgstrom G, Fish as food, volume:1, United Kingdom edition, Academic Press, New York, London, page 385–406, 1961.

Anonim, II.Tarım şurası, V. komisyon, gıda güvenliği, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, sayfa 2-10, 2004.

Anonymous, Microorganisms in foods, Microbial ecology of food commodities, Blackie academic and professional an imprint of Thomson Science, 2-6 Boundary Row, London, U.K. p.160, 1984.

Arpigny, J.L., Jaeger, K.E., Bacterial lipolytic enzymes, classification and properties, Biochem J. 343: 177-83, 1999.

Arslan, A., Keban Baraj Gölü Aynalı Sazanlarının (*Cyprinus carpio* L.) et verimi, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bil. Derg., 6,(1,2), 1-12,1992.

Ası,T.,Tablolarla biyokimya, cilt 1, Tayf Ofset, İstanbul, sayfa 129–238, 1996.

Ashie, I.N.A., Smith, J.P., Simpson B.K., Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Crit. Rev. Food Sci., 36 (182): 87-121,1996.

Aydın, N., İzgür, M., Diker, K. S., Yardımcı, H., Esendal, Ö., Paracıkoğlu, J., Akan, M., Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), İlke Emek Yayınları / Ankara, 2006.

Ayhan, K., Gıdalarda bulunan mikroorganizmalar gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sim Matbaacılık Ltd. Ankara, 37-81, 2000.

Balıklar, websitesi www.balikderyasi.com, erişim tarihi 2011.

Bakıcı, İ., İstavritlerde soğuk muhafaza süresince meydana gelen sensorial değişiklikler ve peroksit ve TBA bulgularının değerlendirilmesi üzerine çalışmalar, Uzmanlık Tezi, Basılmamış, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Yetistireciliği ve Sağlık Bilimleri Uzmanlık Yüksek Okulu, Besin Kontrolü ve Teknolojisi Bilim Dalı, 11-18, 1981.

Balboa, S., Ferguson, H.W., Romalde, J.L., Phenotypic, serological and genetic characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* strains isolated from cod, *Gadus morhua* L., in northern Europe, Journal of Fish Diseases 30: 657–664, 2007.

Banwart, G. J., Basic Food Microbiology, Second Edition, An Avi Book, New York, p: 773, 1989.

Baron, E., Lance, J., R., Peterson, Finegold, S.M. : Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Ed. by J. F. Shanahan. Ninth edition. Mosby-Year Book, Inc., 875, 1994.

Baysal, A., Diyet yağları ve sağlığımız: son görüşler, Palm yağının ülkemizdeki değerlendirilmesi semineri, İstanbul, 1995.

Bekar, M., Gram negatif mikroorganizmalar genel karakterleri ve tanı yöntemleri, Etlik Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yayınları, Ankara, 2003.

Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 5., vollständig überarbeitete auflage, Springer Verlag, 605-626., 2001.

Berthe, F.C.J., Michel, C., Bernardet, C.F., Identification of *Pseudomonas anguilliseptica* isolated from several fish species in France, Diseases of aquatic organisms, 21: 151-155, 1995.

Bilgehan, H., Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi, Baris yayınları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 622, 1999.

Biomerieux, Vitek 2 technology. Online Software User Manual, 510773-3EN1, Marcy l'Etoile, France, 05/2006.

Brink, B., Damink, C., Joosten, H.M.L.J, Huis, J.H.J, Occurence and formation of biologically active amines in foods. *Int. Journ. of Food Microbiology*, 11: 73-84, 1990.

Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G.E., Niven, C.F., Ravin, A.W., Stanier, R.Y., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., (co-eds.), 8th ed., The Williams and Wilkins Company. Baltimore, London, Part 7: 217-43, 1974.

Çaklı, Ş., Su ürünleri işleme teknolojisi, Ege Üniversitesi Yayınları, Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 77, p: 709, 2008.

Çaklı, S., Kılınç, B., Standart Ekonomik ve Teknik Der., Y/44, N/528, ISSN 1300-8366, 82, 2005.

Çaklı, Ş., Kışla, D., Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 20 (1-2): 239-245, 2003.

Çarbaş, A., Yanık, T., Kaya, M., Erzurum ilindeki bazı ticari gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinin yetiştiricilik suyu, yem ve balıklarının mikrobiyolojik yönden incelenmesi, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. ISSN : 1300-9036, 39 (1): 55-60, 2008.

Çelikkale, M. S., İç su ürünleri avcılığı ve yetiştiriciliği, Su ürünleri üretimini artırma ve kredilerini yönlendirme sempozyumu, 7-8 Ekim, T.C. Ziraat Bankası Su Ürünleri Kredileri Müdürlüğü Ankara, Yayın No:4: 212-229, 1982.

Çolakoğlu, F.A., Ova, G., Köseoğlu, B., Taze ve işlenmiş gümüş balığının (*Atherina boyeri* Risso, 1810) mikrobiyolojik kalitesi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (1/3): 393-395, 2006.

Dainty, R.H., Shaw, B.G., Roberts, T.A., Microbial and chemical changes in chill-stored red meats. In. *Food Microbiology: Advances and Prospects*, ed. Roberts, T.A. and Skinner, F.A., London and New York: Academic Pres., 151-178, 1983.

Delden, C.V., Iglewski, B.H., Cell-to-Cell Signaling and *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Emerging Infectious Diseases*, October-December, Vol. 4, No. 4, P. 551-60, 1998.

Demirbağ, Z., Demir, İ., Genel mikrobiyoloji laboratuvar kitabı, ikinci Baskı, Trabzon: Esen Ofset Matbaacılık, 2. Baskı, 2005.

Diler, Ö., Diler, A., Eğirdir gölü sudak balıklarında (*Stizostedion Lucioperca* L.1758) mide-barsak mikroflorasının kalitatif ve kantitatif değişimleri, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 22: 325–328, 1998.

Diler, Ö., Kubilay, A., Gökkuşığı alabalıklarında yüksek mortaliteye neden olan hemorajik sepsisemi etkeni *Pseudomonas* sp. üzerinde bir çalışma (Poster). II. International Symposium on Aquatic Products September 21-23, İstanbul-Türkiye, 1996.

Doğançay, Y., Ankara'da tüketime sunulan bazı balıklarda *Vibrio* ve *Aeromonas* cinsi mikroorganizmaların izolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006.

Doudorof, M., Gram-Negative aerobic rods and cocci, Genus 1: *Pseudomonadaceae*", In Krieg, N. R., Holt, J. G. (eds), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, William&Wilkins, Baltimore, London 1: 114-219, 1984.

Dönmez, M., Tatar, O., Fleto ve bütün olarak dondurulmuş gökkuşığı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss* W.) muhafazası süresince yağ asitleri bileşimlerindeki değişmelerin araştırılması, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18 (1-2): 125-134, 2001.

Ergönül, B., Kundakçı, A., Kanatlı eti dönerlerinin üretimi, depolanması ve tavuk dönerlerinin dondurarak depolama sırasındaki kalite değişimleri, Gıda, 31 (1): 29-34, 2006.

Erol, İ., Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara, 2007.

Foegeding, E.A., Lanier, T.C., Hultin, H.O., Characteristics of edible muscle tissues, Food Chemistry, Fennema, O.R., (Ed); Mercel Dekker Inc., New York, 879-942, 1996.

Gennari, M., Tomaselli, S., Cotrona, V., The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea and stored in ice .Food Microbiol.16:15-28, 1999.

George, M. G., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2:323-378, Springer USA, 2005.

Gibson, D.M., Hygiene and safety of seafood, formerly of MAFF, Torry Research Station, Aberdeen, UK, edited by A. Ruiter. CAB international Wallingford Oxon, OX10 8DE UK p. 243-260, 1995.

Gottlieb, T., Hazards of bacterial contamination of blood products. *Anaesth Intensive Care*, 21: 20-23, 1993.

Göğüş, A. K., Su ürünleri işleme teknolojisi K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu ders teksirleri, Seri No:19, Trabzon, p: 234, 1988.

Göğüş, K., Kolsarıcı, N., Su Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayın No:1243. Ders Kitabı:358,s.36, 1992.

Gökoğlu, N., Su ürünleri işleme teknolojisi, Su vakfı yayınları, İstanbul, p:157, 2002.

Göktan, D., Gıdaların mikrobiyal ekolojisi, et mikrobiyolojisi, E. Ü. Mühendislik Fak. Yayınları, Bornova-İzmir, 21(1):293, 1990.

Gram, L., Evaluation of the bacteriological quality of seafood. *Int. J Food Microbiol.*, 16: 25-39, 1992.

Gram, L., Inhibitory effect of against of *Salmonella* pathogenic and spoilage bacteria of *Pseudomonas* strains isolated from spoiled and fresh fish, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(7): 2197-2203, 1993.

Gram, L., Huss, H.H., Microbial spoilage of fish and fish products. *Int. J Food Microbiol.* 33: 121-137, 1996.

Haard, N.F., Composition and nutritive value of fish proteins and other nitrogen compounds, Fish and fishery products edited by A. Ruiter, CAB international Wallingford Oxon, OX10 8DE, UK, 77-117, 1995.

Halasz, A., A. Barath, L. S. Sarkadi, W. Holzapfel, Biogenic amines and their production by mikroorganism in food. *Trend. Food Sci. and Technol.*, 5: 42-49, 1994.

Halkman, K., Ayhan, K., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 06. Bölüm, 2000.

Hancock, R.E.W., Speert, D.P., Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and impact on treatment. Drug Resist Update. 3: 247-255, 2000.

Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. Bioresource Technology. 65: 73-82, 1998.

Hisar, Ş., A., Hisar, O., Yanık, T., Balıklarda mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmalar, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 35 (3-4): 261-265, 2004.

Holt, G.J., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams, S. T., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. ninth ed. The Williams and Wilkins Pub., M. D., USA, 93-168, 1994.

Hoshino, T., Ishizaki, K., Sakamoto, T., Kumeta, H., Yumoto, I., Matsuyami, H., Ohgiya, S., Isolation of a *Pseudomonas* species from fish Intestine that produces a protease active at low temperature. Letters in Applied Microbiology.25: 70-72, 1997.

Huss, H.H, Assurance of seafood quality, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, page 19-21, 1994.

Huss, H.H., Quality and Quality changes in fresh fish, FAO, Technological laboratory ministry of agriculture and fisheries, Denmark, 348: 19-27, 1998.

ICMSF(International Commission on Microbiological Spesifications for Foods) Microbial Ecology of Foods Vol 2, Food Commodities, Academic Pres, New York, 1980.

İnal, T., Besin Hijyeni, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Ders Notları, İstanbul, 1988.

İnal T. Süt ve süt ürünleri hijyen ve teknolojisi. Final Ofset, İstanbul 1990.

İnal, İ., Besin hijyeni hayvansal gıdaların sağlık kontrolü, 2. baskı, Final ofset, İstanbul, p: 345–507, 1992.

İzci, L., Sıcak dumanlama ve tuzlama işlemlerinin kadife balığı (*Tinca tinca* L., 1758)'nın besinsel özelliklerine etkilerinin belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Isparta, 127s, 2004.

Jay, J.M., Modern Food Microbiology. Fourth Edition, Chapman&Hall, New York, London, p.222, 1992.

Karaçam, H., Düzgünes, E., Özer, N. P., Trabzon piyasasında satılan mezgit (*Gadus Poutassou*) balıklarının mikrobiyolojik kaliteleri üzerine bir araştırma, Et ve Balık Endüstrisi Dergisi:9, 58:4-10, 1989.

Katırcıoğlu, H., Gökkuşığı alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2001.

Kaya, Y., Duyar, H.A., Erdem, M.E., Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, Cilt 21, Sayı (3-4): 365-370, 2004.

Kayaalp, S.O., Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, cilt: 3, Feryal Matbaacılık, Ankara, s:2900-2940, 1993.

Keskin, D., Ekmekçi, S., *Pseudomonas* türlerinin gıdalardan izolasyon ve tanımlanmasında kullanılan besiyerleri. Mikrobiyoloji Dergisi. 1(8): 29-33, 2003.

Keskin D. *Pseudomonas* Türlerinin Gıdalardaki Önemi. Çukurova Ü. Tıp Fak. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. Sayı 3 Cilt16: Sayfa 185, 2007.

Konar, V., Köprücü, K., Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) etindeki yağ asidi miktarlarının araştırılması, Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 14(1): 73-78, 2002.

Köse, S., Investigation into toxins and pathogens implicated in fish meal production, Doctor of Philosophy of the Loughbrough University of Technology, England, 1993.

Köse, S., Su ürünlerinden kaynaklanan histamin zehirlenmesi ve önemi, Doğu Anadolu Bölgesi 1. (1993) ve 2. (1995) Su Ürünleri Sempozyumu, Erzurum, 503-514, 1995.

Koutsoumanis, K., Nychas G.J.E., Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *Int. J Food Microbiol.*, 60: 171-181, 2000.

Küçükgülmez, A., Akyatan (Karataş/Adana) Lagünü'nden avlanan pastörize edilmiş mavi yengeç (*Callinectes sapidus*, Rathbun, 1896) etinin ağır metal ve mineral madde içerikleri, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 80s, 2005.

Küçüköner, E., Küçüköner, Z., Balık mikroflorası ve balıklarda meydana gelen mikrobiyal değişimler, *Gıda*, 15 (6): 339-341, 1990.

Labuza, T. P., Shelf-life dating of foods. Food and Nutrition Press, Inc. Westport, USA, 1982.

Lall, S. P., Macro and trace elements in fish and shellfish, Edited by A. Ruiter, CAB international Wallingford Oxon, OX10 8DE, UK p. 187-213, 1995.

Merck Gıda Mikrobiyolojisi 2010, www.mikrobiyoloji.org. erişim tarihi: 2011

Monteil, H., Monteil, C. H., 1997. Aerobic gram negative bacilli : newer nosocomial pathogens. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 8: 217-231, 1997.

Oehlenschläger, J., Rehbein, H., Basic facts and figures, fishery products, quality, safety and authenticity, Wiley-Blackwell Publishing Ltd. United kingdom, 1-17, 2009.

Olafsdottir, G., Lauzon, H. L., Martinsdottir, E., Kristbergsson, K., Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction, *International Journal of Food Microbiology* 111: 112–125; 2006.

Ölmez, H.K., Biyojenik aminler. *Gıda (Dünya Yayınları)*, 6: 51-57, 2000.

Özan, M., Ankara garnizonundaki askeri birliklerin içme sularında membran filtrasyon tekniği ile *Pseudomonas aeruginosa* 'nın izolasyonu ve identifikasyonu üzerine araştırmalar. A.Ü. Sağlık Bil. Ens. Bilim Uzmanlığı (Yüksek Lisans) Tezi, Ankara, 1996.

Özden, Ö., Sardalya balığının soğukta depolanması sırasında yağında oluşan bozulmaların belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 1995.

Özden, Ö., Gökoğlu, N., Sardalya balığının, [*Sardina pilchardus* (W. 1792)] soğukta depolanması sırasında yağında oluşan değişimlerin incelenmesi. Gıda, 22 (4):309–313, 1997.

Özkaya, D.F., Cömert M., Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 65 (3): 149-158, 2008.

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

Öztoprak, N., Çelebi, G., Bayar, A., Beğendik, Cömert, F., Travma sonrasında *Pseudomonas putida*'nın etken olduğu tibial osteomyelit. Eklem Hastalıkları ve Cerrahisi - Joint Dis Rel Surg. 19(1): 41-44, 2008.

Özyurt, G., Tokur, B., Özoğul, Y., Korkmaz, K., Polat, A., İnce dudaklı Kefal (*Liza ramada*)'in yağ asidi kompozisyonu ve buzdolabında muhafazası (4°C) sırasında lipid oksidasyonu 1 (4):160-167, 2007.

Palleroni, N. J., *Pseudomonas* Migula 1894. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Krieg, N. R., Holt, J. G., Eds.), Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, USA, Vol.1, 140-223, 1984.

Polat, A. ve Tokur B., Balıklarda prooksidan ve antioksidanların lipid oksidasyonuna etkileri. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 17: 299-310, 2000.

Qwiki, web sitesi www.qwiki.com, erişim tarihi 2011.

Regenstein, J.M., Regenstein, C.E., Introduction to fish technology. An Osprey Book Published by Van Nostrand Reinhold. New York, p: 79, 1991.

Regenstein, J.M., Schlosser, M.A., Samson, A., Fey, M., Chemical changes of Trimethylamine Oxide during fresh and frozen storage of fish, Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products; (Ed); Martin, R.E., Flick, G.J, Ward, D.R., AVI Publishing Com., Westport, Connecticut, p.137-145, 1982.

Rodrigues, M.J., Ho, P., Lopez-Caballero, M.E., Vaz-Pires.,P., Nunes, M.L., Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials, Food Microbiology 20:471–481, 2003.

Serdaroğlu, M., Deniz, E.E., Balıklarda ve bazı su ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) oluşumunu etkileyen koşullar, E.Ü Su Ürünleri Dergisi, cilt 18, sayı (3-4): 575-581, 2001.

Shahidi, F., Durnford, E., Flavor of fish meat, In F. Shahidi [ed.], Flavor of meat, meat products and seafoods, Blackie Academic & Professional, London,131-152, 1998.

Shewan, J. M., The bacteriology of fresh fish and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In handling processing and marketing of tropical fish, London, Tropical Products Inst. p: 51-66, 1977.

Sikorski, Z.E., Kolakowska A., Burt, J.R., Postharvest biochemical and microbial changes, seafood resources, nutritional composition and preservation. Ed. Sikorski Z.E.,CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. 55-72, 1990a.

Sikorski, Z.E., Kolakowska, A., Pan, B. S., The nutritive composition of the major groups of marine food organisms, Seafood resources, nutritional composition and preservation. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. 29-52, 1990b.

Sneath, A. P., Mair, N. S., Sharpe, M. S., Holt, J.G., Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, Volume 2, Williams and Wilkins, 428 East Proston Street, Baltimore, D. M., 21202, 1986.

Soyer, A., Balıkta avlanma sonrası meydana gelen biyokimyasal değişimler, Gıda 1: 33-39, 1999.

Sverstsvik, M., Jeksrud, W.K., Rosnes, M.J.T., A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. Int. J Food Sci. Tech., 37: 107-127, 2002.

Şen, A., Halkman, A.K., Çiğ sütte *Pseudomonas aeruginosa* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar. Mikrobiyoloji Dergisi. 4(02): 2-13, 2006.

Terzi, G., Ankara ilindeki bazı gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*) çiftliklerine ait su, yem ve balıkların mikrobiyolojik yönden incelenmesi, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32(1):37-46, 2006.

Thomashow, L. S., Weller, D. M., Current concepts in the use of introduced bacteria for biological control: Mechanisms and anti fungal metabolites. in: Stacey G, Keen N, Editors. Plant Microbe Interactions, Vol. 1. New York: Chapman And Hall. 187-235, 1995.

Tolgay, Z., Kaymaz, Ş., Su ürünleri teksiri, Besin hijyeni ve teknolojisi Anabilim Dalı, A. Ü. Vet. Fak., Ankara, 2-8, 2001.

Tortora, J.G., Funke, R.B. ve Case L.C., Microbiology, The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., California, 169: 277, 523, 192.

Turantaş, F., Öksüz, A., Balık ve balık ürünlerinde biyojenik aminler ve amin üretiminde rol oynayan bakteriler. Gıda Teknolojisi Derg., 3 (5): 58-65, 1998.

Tryfinopoulou, P., Tsakalidou, E., Nychasi, G.J.E., Characterization of *Pseudomonas* spp. associated with spoilage of Gilt-Head Sea Bream stored under various conditions, Applied and environmental microbiology, Jan. 2002, p. 65–72, 2002.

Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M., Mikrobiyoloji. Asya Tıp Yayıncılık, İzmir, 2000.

Türker, S., Hayvansal gıdalarda kalite kontrolü, Tamer Matbaacılık, Ankara, s 103–111, 1997.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., Acar, J., Karapınar, M., Temiz, A., Aktuğ, Ş., Tunçel, G., Gıda muhafaza ilkeleri, gıdalarda mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri, Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir, 262-265, 1999.

Üzümcü, Z., *Pseudomonas* sp. suşlarında cold shock protein izolasyonu ve sds-page analizi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2009.

Vachee, A., Mossel, D.A.A, Leclerc, H., Antimicrobial activity among *Pseudomonas* and related strains of mineral water origin. J Appl Microbiol. 83: 652-658, 1997.

Varlık, C., Heperkan, D., Hamsinin buzda muhafazası, İ.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 4(1):53-58, 1990.

Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H., Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği İstanbul, Yayın No.17., s:6,9,30,32, 1993.

Varlık, C., Soğukta depolanan sardalyalarda histamin düzeyinin belirlenmesi. Gıda, 19 (2): 119–124, 1994.

Varlık, C., Erkan, N., Baygar, T., Su ürünleri besin bileşimi, Editör: Varlık, C., Su ürünleri işleme teknolojisi, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul, sayfa 4–38, 2004.

Vural, A., Erkan, M.E., Diyarbakır kenti'ndeki Dicle Nehri balıklarında mikrobiyolojik kalite parametreleri. Dicle Tıp Dergisi, 33 (3):153-156, 2006.

Wasi, S., Jeelani, G., Ahmad, M., Biochemical characterization of a multiple heavy metal, pesticides and phenol resistant *Pseudomonas fluorescens* strain, *Chemosphere*, 71:1348-1355, 2008.

Watanabe, T., Satoh, S., Takeuchi, T., Availability of minerals in fish meal to fish, *Asian Fisheries Science* 1: 175-195, 1988.

Whitfield, F.B., Microbiology of food taints. *International Journal of Food Science and Technology* 33: 31–51, 1998.

Yagoub, S., Isolation of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas spp.* from raw fish sold in fish market in Khartoum state, *Journal of Bacteriology Research* Available ISSN 2006- 9871, *Academic Journals*, Vol. 1(7): 085-088, 2009.

Yardımcı, B., Nil Tilapylarında (*Oreochromis niloticus*) deneysel *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonundaki (Bakteriyel Hemorajik Septisemi) patolojik bulgular, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2007.

Yıldırım, Y., Et Endüstrisi. 3.Baskı, Yıldırım Basımevi, Ankara, Sayfa: 209-11/Sayfa:227-29, 1992.

ÖZGEÇMİŞ:

Ad- Soyad: Dilek ŞEKER

Doğum Yeri : Balıkesir

Doğum Tarihi : 11 Aralık 1984

İLETİŞİM:

Adres : Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Muradiye kampüsü/ MANİSA

E-posta : dilekseker9@gmail.com

EĞİTİM DURUMU:

Yüksek Lisans : Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı (2008-2011).

Lisans : Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2004-2008).

KARİYER:

Araş.Gör.: Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı (2010-devam etmekte)

BİLDİRİLER:

1) Dilek Şeker, Fulya Ocak Gündoğan. Isolation of the *Pseudomonas* spp. to cause of microbial spoilage of fishes. **International Food Congress/NAFİ, İzmir-Çeşme/TÜRKİYE, 26-29 Mayıs 2011.**

PROJELER:

1) Fulya Ocak Gündoğan, **Dilek Şeker,** “Balıklarda Mikrobiyal Bozulmaya Neden Olan *Pseudomonas* spp.’nin İzolasyonu” FEF 2009-099, Celal Bayar Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu, Lisansüstü Tez Projesi.