

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**



**ELAZIĞ'DA TÜKETİME SUNULAN TULUM
PEYNİRLERİNDE HİSTAMİN DÜZEYLERİ İLE
BAZI KİMYASAL KALİTE PARAMETRELERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gölnur ERDEM

2016

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bahri PATİR



Danışman

Yüksek Lisan Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Bahri PATİR



Prof. Dr. Filiz KÖK



Doç. Dr. O. İrfan İLHAK



TEŞEKKÜR

Bu bilimsel çalışmanın planlanması, yürütülmesi, ortaya konulmasında her türlü ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Bahri PATİR başta olmak üzere Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU'na, şükranlarımı sunarım.

Ayrıca, çalışmalarımın tüm aşamalarında katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocalarım Doç. Dr. O. İrfan İLHAK, Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE ve Doç. Dr. H. Şahan GÜRAN'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu çalışma sürecinde yaşadığım tüm zorluklarda, maddi ve manevi olarak hep yanımda olan saygıdeğer aileme özellikle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ	vii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Genel Bilgiler	5
3.1.1. Tulum Peyniri Çeşitleri	9
3.1.1.1. İzmir Tulum Peyniri	9
3.1.1.2. Şavak Tulum Peyniri	10
3.1.1.3. Konya Bez Tulum Peyniri	12
3.1.1.4. Çimi Tulum Peyniri	13
3.1.1.5. Divle Tulum Peyniri	13
3.1.1.6. Kargı Tulum Peyniri	14
3.2. Biyojen Aminler ve Gıdalarda Varlığı ve Önemi	14
3.2.1. Bazı Gıdalarda Biyojen Aminler	23
3.2.2. Biyojen Amin Çeşitleri	36
3.2.2.1. Histamin	36
3.2.2.2. Tiramin	37
3.2.2.3. Putresin ve Kadaverin	37
3.2.2.4. Feniletilamin	38
3.3. Biyojen Aminlerin Toksikolojik Etkileri	38
3.3.1. Histamin Toksikolojik Etkileri	40
3.3.2. Biyojen Aminlerin Toksik Limitleri	43
3.4. Peynirlerde Olgunlaşma ve Biyojen Aminler	44

3.5. Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N), Fosfotungustik Asitte Çözünen Azot (PTA-N) ve Proteoliz	45
3.6. Histamin Analiz Yöntemleri	45
3.6.1. Fluorometrik Yöntem	47
3.6.2. Enzimatik Yöntem	47
3.6.3. Kromatografik Yöntem	47
3.6.4. ELISA İle Histamin Analizi	49
3.7. Çalışmanın Amacı	51
4. GEREÇ VE YÖNTEM	52
4.1. Gereç	52
4.2. Kimyasal Analizler	52
4.2.1. Rutubet	52
4.2.2. Yağ ve Kuru Maddede Yağ	53
4.2.3. Tuz ve Kuru Maddede Tuz	54
4.2.4. Kül Tayini	54
4.2.5. Asitlik Tayini	55
4.2.6. pH Tayini	56
4.2.7. Su Aktivitesi (aw) Tayini	56
4.2.8. Toplam Azot ve Protein Tayini	56
4.2.9. Suda Çözünen Azot Oranı Tayini ve Olgunlaşma Derecesi	57
4.2.10. % 12'lik Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N) Oranı	58
4.2.11. % 5 Fosfotungustik Asitte Çözünen Azot (PTA-N) Oranı	59
4.3. Histaminin Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ile Belirlenmesi	59
4.3.1. Peynir Numunesinin Hazırlanması	60
4.3.2. Acylation için Numune Hazırlanması	60

4.3.3 ELISA İçin Numune Hazırlanması	60
4.4. İstatistiksel Analizler	61
5. BULGULAR	62
6. TARTIŞMA	65
7. KAYNAKLAR	76
8. ÖZGEÇMİŞ	89



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Çeşitli Gıdalarda Bulunan Biyojen Aminler ve Bu Gıdalardan İzole Edilen Bakteriler	9
Tablo 2. Bazı Mikroorganizmaların Dekarboksile Ettiği Aminoasitler ve Oluşturdukları Biyojen Aminler	18
Tablo 3. Gıdalarda Biyojen Amin Üretiminde Rol Alan Bakteriler	20
Tablo 4. Bazı Et ve Et Ürünlerinin Biyojen Amin İçerikleri	28
Tablo 5. Farklı Peynirlerdeki Biyojen Aminler	34
Tablo 6. Çeşitli Gıdalarda Bulunan Biyojen Aminler ve ve Bu Gıdalardan İzole Edilen Bakteriler	35
Tablo 7. Peynirle Bağlı Histamin Zehirlenmesi Vakaları ve Zehirlenmelerde Belirlenen Histamin Miktarları	43
Tablo 8. Tulum Peyniri Örneklerinin Bazı Kimyasal Analiz Sonuçları	62
Tablo 9. Peynir Örneklerinin Azot Fraksiyonlarının Analiz Sonuçları	63
Tablo 10. Peynir Örneklerinin Histamin ve Olgunlaşma Arasındaki Korelasyon Sonuçları	64

1. ÖZET

Bu araştırmada, Elazığ ilinde satışa sunulan kuru tulum peynirlerinin kimyasal kalite parametreleri ile bazı azot fraksiyonları, bunlardan yararlanarak elde edilen olgunlaşma düzeyleri ve histamin miktarları incelenmiştir. Araştırmanın materyalini, market ve semt pazarlarında tüketime sunulan tulum peynirlerinden 10'ar gün aralıklarla alınan 40 adet tulum peyniri örneği teşkil etmiştir. Her biri en az 200 gram olmak üzere, aseptik şartlarda steril cam kavanozlar içine alınan örnekler laboratuvara getirilerek analizleri yapılmıştır. Yapılan kimyasal analizlerde ortalama pH değeri $5,10 \pm 0,40$; asitlik (% laktik asit cinsinden) $1,80 \pm 0,38$; kuru madde % $54,94 \pm 5,13$; yağ % $27,35 \pm 6,85$; kuru maddede yağ % $49,09 \pm 10,53$; kül % $3,37 \pm 0,91$; a_w $0,93 \pm 0,03$; tuz % $3,29 \pm 0,60$ olarak bulunmuştur. İncelenen azot fraksiyonları ise ortalama olarak protein % $20,76 \pm 1,93$; toplam azot % $3,25 \pm 0,29$; suda çözünen azot % $0,79 \pm 0,16$; Trikloroasetik asitte çözünen azot (TCA-N) % $0,49 \pm 0,09$; Fosfotungustik asitte çözünen azot (PTA-N) % $0,17 \pm 0,06$ değerinde saptanmış ve olgunlaşma indeksi % $24,58 \pm 5,48$ olarak hesaplanmıştır.

Örneklerin histamin analizleri ELISA ile yapılmıştır. 40 örnekteki histamin miktarları en düşük 6,78 mg/100g , en yüksek 251,00 mg/100g, ortalama olarak 70,65 mg/100g düzeyinde tespit edilmiştir. Örneklerin olgunlaşma indeksleri ile histamin miktarları arasında önemli düzeyde pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır.

Histamin düzeyleri açısından bakıldığında Türk Gıda Kodeksinde peynirlerde histamin miktarı için bir limit bulunmadığı ancak incelediğimiz örneklerin insan sağlığını etkileyebilecek düzeyde histamin içerdiği görülmüştür. Tulum peynirlerinde olgunlaşma indeksi arttıkça histaminin arttığı gözlenirse de histaminin kontrol altına alınması açısından olgunlaşma süresinin kısaltılması çiğ süttten yapılan peynirlerde yasal olarak mümkün olmamaktadır. Bu yüzden, kullanılacak süttün mikrobiyel kontrolünün sağlanması ve olgunlaşma süresince muhafaza şartlarının uygun olması ile güvenilir bir tulum peyniri tüketimi sağlanabilecektir.

Anahtar kelimeler: Histamin, Kimyasal Kalite, Tulum Peyniri, Olgunlaşma İndeksi, TCA, PTA

2. ABSTRACT

Investigations on histamine levels and some chemical quality parameters in tulum cheeses sold in Elazığ

In this study, some properties of dried tulum cheese consumed in Elazığ province was investigated. These are chemical quality parameters and some nitrogen fractions. From those parameters the ripening level of cheese and the histamine content was calculated. In the study, samples were taken from markets and bazaars at different locations in Elazığ. The sample number were 40 and were taken at 10 days intervals. The amount of each sample was 200 g and were replaced in sterile glass container and transferred to laboratory aseptically. The samples were analyzed and results found as follows. The chemical parameter results were found as, pH $5,10 \pm 0,40$; acidity (as l.a) $1,80 \pm 0,38$ %; dry matter $54,94 \pm 5,13$ %; oil $27,35 \pm 6,85$ %; oil in dry basis $49,09 \pm 10,53$ %; ash $3,37 \pm 0,91$ %; aw $0,93 \pm 0,03$; salt $3,29 \pm 0,60$ %. nitrogen fractions were found respectively as, average protein $20,76 \pm 1,93$ %; total nitrogen $3,25 \pm 0,29$ %; water soluble nitrogen $0,79 \pm 0,16$ %; TCA-N $0,49 \pm 0,09$ %; PTA-N $0,17 \pm 0,06$ % and ripening index $24,58 \pm 5,48$ %.

The histamine analyzes of cheese samples were carried out by ELISA. The minimum histamine amount was found 6,78 mg/100g, maximum histamine amount was found 251,00 mg/100g and the average amount of histamine was found 70,65 mg/100g. The results show that there is an important positive correlation between the ripening index and histamine content.

At the aspect of histamine contents in this study; there is not a limit for histamine levels at Turkish Food Codex for cheeses, however, it was seen that some samples inspected in this study could contain high amount of histamin that could be harmful to human health. In the dried tulum cheeses, the histamine levels increased as the ripening index rised, however, shortening the ripening time of tulum cheeses isn't possible due to legal regulation on cheese made from raw milk. Therefore, it can be ensured consuming safe tulum cheeses with the controlling the microbiological condition of raw milk and proper storage condition during the ripening time.

Keywords: Histamine, Chemical Quality, Tulum Cheese, Ripening Index, TCA, PTA

3. GİRİŞ

3. 1. Genel Bilgiler

Süt ve süt ürünleri, esansiyel besin öğelerini içeren ve beslenmede önemli bir yer tutan temel gıdalardır. Oleik asit, konjuge linoleik asit, omega-3 yağ asitleri, kısa ve orta zincirli yağ asitleri, vitamin, protein, mineral madde ve biyoaktif bileşen içerikleri nedeniyle insan sağlığına olumlu etkileri vardır (1,2). Sütün bileşiminde bulunan protein, yağ, mineral maddeler ve vitaminleri konsantre biçimde bünyesinde bulunduran peynir, beslenme değerinin üstün olmasından ve sevilerek tüketilmesinden dolayı her toplumda beslenmede büyük bir yer tutmaktadır (3). Özellikle olgunlaşma döneminde sütün bileşimine giren büyük moleküllerin biyokimyasal olarak değişime uğramasıyla sindirimi kolaylaşır ve bu şekilde biyoyararlılığı da artar (4). Sütün çeşitli ülkelerde değerlendirilme şekline bakıldığında, peynir üretimi ilk sırada yer almaktadır (5).

Peynirin tanımı yapılırken şu ifade kullanılmaktadır: Yağlı süt, krema, kısmen veya tamamen yağı alınmış süt, yayıkaltı veya bunların birkaçının veya tümünün karışımının, peynir mayası enzimi (rennin) veya zararsız organik asitlerle pıhtılaştırıldıktan sonra peynir suyunun ayrılması, pıhtının şekillendirilmesi ve tuzlanmasıyla elde edilen, taze veya olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen bir süt mamulüdür (6).

Dünyada peynir üretiminin yılda, yaklaşık 17 milyon ton olduğu ve bu miktarın % 4 düzeyinde arttığı tahmin edilmektedir. Günümüzde peynir üretimi, uluslararası ticarete hacmi giderek artan, çok sağlam bir pazara sahiptir. Peynir sanayi dünyanın her yerinde çok gelişmiş bir teknolojiye

sahip olmakla birlikte çeşitliliği de artmaktadır Sanayi üretiminin yanında çiftlik ve mandıra üretimi de varlığını sürdürmektedir (7, 8).

Türkiye’de yöresel olarak yaklaşık 50 çeşit peynir yapıldığı tahmin edilmektedir. Geleneksel olarak evde üretilen bu peynirlerden bazıları fabrikasyon şartlarında da üretilirken, birçok mahalli peynir çeşidimiz halen fabrikasyonla üretilmemektedir. Bu yüzden istenen kalite ve standart elde edilememektedir (7).

Türkiye İstatistik Kurumu 2016 yılı verilerine göre Türkiye’de inek sütünden 54 bin 14 ton, koyun, keçi, manda sütü gibi karışık sütlerden 36 bin 847 ton peynir üretilmiştir (9). Üretilen peynir çeşitlerinin çoğunun fazla bir ekonomik değeri olmamakla birlikte bunların üretimi hatta tüketimi de çok sınırlı miktardadır. Üretilen bu peynirlerin % 85’den fazlasını Türkiye’de ekonomik değeri fazla olan ve hemen her yerde tanınan peynir çeşitleri olarak sırasıyla beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri oluşturmaktadır. Yöresel peynirlerin üretimi ve satışa sunumu il veya bölge bazında değişmektedir. Bunun dışında kalan yerlerde ise yöresel peynirler pek tanınmamaktadır. Bu yöresel peynirlerin üretimlerinde de standart bir teknik yoktur (8). Türkiye’de beyaz peynir ve kaşar peynirinden sonra en çok üretilen peynir çeşidi, diğer peynirlerle kıyaslandığında ekonomik olarak daha yüksek değere sahip olan tulum peyniridir (10).

Tulum peynirleri, üretiminde henüz tam anlamıyla standart bir teknik uygulanmamasına rağmen günümüzde her kesim tüketicinin beğenisini kazanması nedeniyle yöresel peynirler içinde en çok miktarda üretilen ve yüksek fiyatlarda satılan peynirler arasında yer almıştır (11, 12).

Tulum peyniri; telemenin (ham peynirin) ufalanıp, tuzlandıktan sonra keçi derisinden yapılan tulumlara basılması ve belli süre olgunlaşması sonucu elde edilen peynir olarak tanımlanmaktadır (13). Duyusal ve kimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan bir diğer tanımda ise beyaz ve krem renkte olan, kuru madde ve yağ oranı yüksek, kolay dağılmayan (plastik özellikte), ağızda eriyerek kendine has tereyağı aroması hissettiren, yarı sert, homojen tekstürde ve belirgin asidik tada sahip olan bir peynir çeşidi olarak belirtilmektedir (14). Türk Standardları Enstitüsüne (2006) göre ise tulum peyniri; inek sütü, koyun sütü, manda sütü, keçi sütü veya karışımlarının pastörize edilmesi veya pastörize sütün tekniğine uygun olarak işlenmesi, gerektiğinde katkı maddelerinin ilâve edilmesi ve olgunlaştırılması sonucu elde edilen mamuldür (15).

Türkiye’de tulum peyniri kuru ve salamuralı olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Kuru tulum peyniri; İç, Doğu, Güney ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri’nde en çok, salamuralı tulum ise Ege Bölgesi’nde kıyıya yakın yerleşim merkezlerinde daha çok üretilmektedir (16). Eski zamanlarda beyaz peynir tedarik etmenin zor olduğu ve kaşar peynirinin üretilmediği bölgelerde, yağ üretiminden artan yağsız sütün değerlendirilmesi amacıyla tulum peyniri yapılmaktaydı. Bu peynirin her çeşit sütün üretiminin mümkün olması ve artık büyük şehirlerde de talep görmesiyle birlikte ülkemizde Trakya bölgesi hariç hemen her yerde yüksek oranda tulum peyniri üretilmeye başlanmıştır (17).

Piyasada tüketime sunulan tulum peynirlerinin büyük bir kısmı her ne kadar plastik bidonlar içerisinde muhafaza edilmiş olsa da, aslında tulum peyniri ismini malzemesi olarak eski zamanlarda daha çok kullanılan tulumdan almıştır. Muhafaza malzemesi olarak tulum kullanılmasının sebebi ise, eskiden teneke ya

da diğerk ambalaj malzemelerinin bulunmaması olmuştur. Farklı ambalajlarda muhafaza edilen tulum peynirlerinin kıyaslandığı araştırmalarda plastik bidonlarda saklanan peynirlerin keçi derisinden yapılmış tulumdaki peynirlere göre tat, görünüm, koku ve yapı özellikleri bakımından daha üstün olduğu ifade edilmiştir (18).

Tulum peynirinde kullanılan sütün bileşimine ve çeşidine bağlı olarak randıman değişmekle birlikte, yağlı süt kullanıldığı zaman 13-14.5 olan randıman, yağsız süt kullanıldığında ise yüzde 9 civarındadır (17). Günümüz şartlarında standart kalitede tulum peyniri üretmek her zaman mümkün değildir. Sebeplerini ise şu şekilde sıralayabiliriz:

a)Yapım standartlarının ilden ile hatta işletmeden işletmeye önemli farklılıklar göstermesi ve bu duruma bağlı olarak, farklı tat ve lezzette, farklı renkte, özellikle elastik yapısı bozulmuş, “lor peyniri” kıvamında olan ve dağılan tulum peyniri üretilmesi,

b)Tulum peyniri üretiminde farklı mayaların kullanılması ve bu mayaların miktar, yük ve kuvvet açısından birbirinden farklı özellikte olması,

c)Pastörizasyon ve homojenizasyon işlemlerine uğramış, standart özellikte veya temiz süt kullanılmaması,

d)Peynir olgunlaştırma şartlarının üretim aşamasında farklılık göstermesi,

e)Bazen büyük ambalajlarda piyasaya arz edilen tulum peynirinin perakende satış yerlerinde uygun olmayan koşullarda ve uzun süre kalması (19).

Tablo 1. Tulum peynirlerinin kimyasal özellikleri (15)

Özellik	Değer							
	Birinci Sınıf				İkinci Sınıf			
	Tam yağlı	Yarı yağlı	Yarı yağlı	Az yağlı	Tam yağlı	Yarı yağlı	Yarı yağlı	Az yağlı
Tuz (NaCl), kuru maddede, % (m/m), en çok	6	6	6	6	10	10	10	10
Yağ, kuru maddede, % (m/m), en az	45	30	20	<20	45	30	20	<20
Titre edilebilir asitlik (Laktik asit cinsinden), % (m/m), en çok	3	3	3	3	3	3	3	3
Rutubet, % (m/m), en çok	40	40	40	40	40	40	40	40
Bakır (Cu), mg/kg, en çok	1	1	1	1	1	1	1	1
Kalay (Sn), mg/kg, en çok	250	250	250	250	250	250	250	250
Civa (Hg), mg/kg, en çok	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Kurşun (Pb), mg/kg, en çok	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

3.1.1. Tulum Peyniri Çeşitleri

3.1.1.1. İzmir Tulum Peyniri

Diğer bir adıyla “Salamura Tulum Peyniri” olarak bilinen İzmir Tulum peynirinin üretiminde bazı bölgelerde manda sütü kullanılmasıyla beraber çoğunlukla inek, koyun, keçi sütü kullanılmaktadır. Genellikle pastörize sütün mayalama sıcaklığına kadar ısıtılması ve hemen ardından sütün mayalanmasıyla elde edilmektedir. Fakat bazı mandıralar sütün sıcaklığı 50-60 °C’yi buluncaya kadar sütü ısıtıp, mayalama sıcaklığına soğuttuktan sonra da mayalamaktadırlar. Ustanın bilgisine göre değişmekle birlikte havanın sıcaklığının da mayalanma

süresine etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu sıcaklık ve süre ise genellikle 27-37°C ve 45-60 dakika arasında değişmektedir. Mayalanma işlemi sonrasında “kıрма” adı verilen pıhtılar oluşmaktadır. Oluşan pıhtılar ise ucunda ağaç çubuklar bulunan sopalarla parçalanarak nohut büyüklüğünde ufaltılmaktadırlar. Bu aşamadan sonra pıhtının dibe çökmesini sağlamak için yaklaşık 15 dakika beklenmektedir. Fakat bazı işletmeler pıhtıyı ısıtmak için üzerine 40-50 °C’de sıcak su dökerek de bu işlemi gerçekleştirmektedirler. Kazanın altındaki pıhtıyı toplamak için pıhtı dibinden cendere bezi geçirilmektedir. Daha sonra toplanan pıhtıya ya askı ya da baskı kuralı uygulanarak peynir suyunun daha kısa sürede ayrılması sağlanmaktadır. Günümüzde genellikle tercih edilen yöntem; cendere bezi üzerine ağırlık konularak uygulanan baskı yöntemidir. Peynir kitlesi, tenekenin genişliğine göre kesilmiş olan kalıplar kullanılarak büyük parçalar şeklinde kesilip arkası önü çevrilerek gözeneklenmesi beklenmektedir. Kalıp peynir üzerine tuz serpilme ve bu şekilde sırasıyla tenekeye dizilmektedir. Daha sonra peynir üzerine salamura dökülerek tenekelerin ağızları sıkıca kapatılmaktadır. Sonrasında ise tenekeler soğuk hava depolarında 4-6°C’de yaklaşık 90-180 gün bekletilmekte ve bu şekilde peynirlerin olgunlaşmaları sağlanmaktadır (20). İzmir tulum peyniri, tenekede olgunlaştırılması ve salamura kullanılarak bu işlemin yapılması açısından diğer peynir çeşitlerinden farklıdır.

3.1.1.2. Şavak Tulum Peyniri

Özellikle Erzincan, Erzurum, Tunceli, Bingöl ve Elazığ yöresinde üretilmekte olan tulum peyniridir (21,22). Şavak tulum peyniri üretiminde çoğunlukla koyun sütü kullanılmasına rağmen bazen de inek ve keçi sütü ile yapılan karışım sütler de kullanılabilir. Şavak tulum peyniri üzerinde

yapılan çalışmalar incelendiğinde bu peynir üretiminde kullanılan sütün pastörize edilmiş olduğu söylense de, yöresel olarak yapımında sütün pastörize edilmediği ve yaklaşık 28-32  C sıcaklıklarda mayalama işleminin gerçekleştiği bilinmektedir. Mayalanma süresi ise diğer peynir çeşitlerinde de olduğu gibi mayanın kuvveti ve miktarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu süre ise yaklaşık 1 ile 4 saat arasındadır (20).

Tulum peyniri yapımının standart bir pıhtı oluşturma usul olmamakta ve pıhtı gelişi güzel parçalanmaktadır. Bazı kesimlerde de oluşan pıhtıya 45  C'ye çıkacak şekilde 15-20 dakika ısıl işlem uygulanmaktadır. Daha sonra küçük ebatlardaki bez torbalara doldurularak 14-16 saat bekletilmekte ve bu şekilde kendi halinde süzülmesi sağlanmaktadır. Beklenerek peynir suyunun uzaklaşması ile elde edilen ham peynir el ya da tahta sopalarla karıştırılarak iyice küçültülmektedir. Bazı yörelerde ise bu işlemden hemen sonra peynir suyunun daha fazla ayrılmasını sağlamak için peynir torbasının üzerine ağırlık konmaktadır. 1 ile 3 gün arasında bekletilen peynir tekneye boşaltılmakta ve ezilerek üstüne % 2-5 oranında tuz dökülmektedir. Bu şekilde karıştırılan ham peynir ya hemen deri tulumlara ya da bez torbalara doldurulmaktadır. Torbaların ağzı sıkıca kapatılıp 5-6 gün daha üzerlerinde ağırlıkla bekletilmektedir. Bu aşamadan sonra peynirler tekrardan teknelere dökülmekte ve ezilmektedir. şayet gerekli ise yüzde 1 oranında daha tuz ilave edilebilmektedir. Teknelerde olan peynirlere n olgunlaştırma işlemi uygulanmaktadır. Bu amaçla 18-24 saat olgunlaşmaya bırakılan peynirler 2-3 saatte bir karıştırılmaktadır. Keçi derisine çeşitli işlemler uygulanarak elde edilmiş olan tulumlar tüysüz ve temiz yüzeyi iç kısımda kalacak şekilde önceden hazırlanmaktadır. Peynir, hiç hava kalmayacak

şekilde tulumlara sıkıca doldurulmaktadır. Fakat günümüzde kolay temin edilebilmesi, daha ucuz ve daha dayanıklı yapıda olması sebepleriyle tulum peyniri, bu deri tulumlar yerine altları birkaç yerinden delinen plastik bidonlarda ambalajlanmaktadır. Bu şekilde elde edilen peynirler, sıcaklığı 3-6 °C ve nemi % 70-85 olan muhafaza odalarında ya da doğal mağaralarda yaklaşık 90 ile 120 gün olgunlaşması sağlanmaktadır (23, 24).

Erzincan Ticaret ve Sanayi Odası tarafından 2000 yılında coğrafi işaret olarak koruma altına alınan Erzincan Tulum Peyniri, Türk Patent Enstitüsü tarafından Erzincan'ın 90 ile 100 çeşit bitki zenginliğine sahip yüksek rakımlı yaylalarında (Çayırılı, Tercan, Kemah, Oluk, Munzur ve Çimen) beslenen Karaman koyunundan yılın beşinci ve dokuzuncu ayları arasında alınan süttten özel işleme üretilen peynir” olarak tanımlanmıştır (21). Şavak tulum peynirlerinin ürün ve işlem parametrelerinin araştırıldığı bir çalışmada, 36°C sıcaklık ve 45 dakikanın bu tür peynir üretimi için en ideal mayalama sıcaklığı ve süresi olduğunu savunmuşlardır (25).

3.1.1.3. Konya Bez Tulum Peyniri

Adını Konya'nın Ereğli ilçesinden alan bu peynir, Konya dışında İç Anadolu'nun bazı yerlerinde de üretilmektedir. Peynirin yapımında hem inek hem koyun sütü kullanılabilir. Sağılan sütler ince gözenekli cendere bezinden geçirilerek süzildükten sonra 5 saat mayalanmak üzere bekletilir. Mayalanma süresinin sonunda, pıhtı kontrol edilir. Ele yapışmayan kıvamdaysa eğer bezden dikilen torbaya alınarak üzerine ağırlık konur ve fazla suyunun uzaklaşması sağlanır. Aksi durumda peynirin içinde kalan fazla su peynirin tadının bozulmasına neden olmaktadır. Kalıp halinde baskıdan çıkan katı halde bulunan

teleme ufalanarak, tuz ilave edilir ve karıştırılır. Tuzlanan ve ufalanan teleme, eriyip şekil alması için, sıcak sudan geçirilerek bezden dikilmiş tulumlara dökülür. Sıcak olarak bez tulumlara dökülen peynirlerin soğuması beklenir. Soğuduktan sonra olgunlaşması için serin bir odaya alınır ve yaklaşık olarak 1-2 aylık olgunlaşmadan sonra peynir tüketime sunulur (7).

3.1.1.4. Çimi Tulum Peyniri

Antalya yöresinde üretilen tulum peyniri çeşididir. Çimi peynirinin yapımında az yağlı ve ısıl işlem uygulanmayan koyun sütü kullanılır. Salamura beyaz peyniri, önce kıyma makinesinden geçirilerek ufalanması sağlanır. Sonra temiz bir tülbent yardımıyla suyu süzülür ve baskı makinesinde isteğe bağlı olarak yaklaşık 3 kg peynire 1 kg tuz katılarak karıştırılır. Daha sonra bidon, çuval ya da deriye basılır ve ağız kısmı aşağı gelecek şekilde bırakılarak suyunun süzülmesi sağlanır. Suyu süzüldükten sonra soğuk muhafaza odalarına kaldırılır. Çimi peynirinin, bekletme süresi arttıkça lezzetinin daha iyi olması özelliği nedeniyle en az 5-6 ay, en fazla 12 ay olgunlaşmaya bırakılır (7).

3.1.1.5. Divle Tulum Peyniri

Toros Dağları'nın İç Anadolu'ya bakan yamaçlarında bulunan Divle (Üçharman) Köyü ve bu yöre çevresinde üretilen, sevilerek tüketilen mahalli bir peynir çeşidi olan Divle tulum peyniri, büyük çoğunlukla aile tipi küçük işletmelerde ve küçük mandıralarda eski usul yöntemlerle üretilmektedir. Peynir yapımında çoğunlukla koyun sütü kullanılmakla birlikte kısmen diğer sütler de karıştırılarak kullanılabilir. Divle tulum peyniri, üretim aşamasında peynir telemesinde yıkama işlemi yapılması yönüyle diğer tulum peynirlerinden farklı bir özellik göstermektedir. Peynirin olgunlaştırılması amacıyla genellikle bu çevrede

bulunan ve içerisinde kendine özgü bir küf florası olan mağaralara (obruk) konması da diğer bir farklı özelliğidir. Yaklaşık 1 ay sonra obruğa konulan bu tulumların üzerlerinde sırasıyla önce mavi, sonra beyaz ve en son kırmızı renkte küf mantarları oluşmaktadır. Peynirin tam olgunlaştığını anlamak için tulumun dış yüzeyinin üreyen küfün rengini alması baz alınır. Bu peynir çeşidinin olgunlaşma süresi yaklaşık 5-6 ay sürmektedir (26).

3.1.1.6. Kargı Tulum Peyniri

Kargı Tulum peyniri, yaz mevsiminde Çorum'un Kargı ilçesinin yaylalarında koyun, keçi, inek ya da manda sütü veya bu sütlerin belirli miktarlarda karışımlarıyla üretilen ve sonbaharda piyasaya sunulan bir peynir türüdür. Yıl bazında üretim miktarı yaklaşık 25 ton olmakla birlikte, Çorum çevresinde özellikle Kastamonu, Samsun ve Ankara'da tüketilmektedir. Peynir, koyun derisinden yapılmış tulumlara, yağı ayrılmamış süttan 500 gram, 1 ve 1,5 kilogram olmak üzere basılılarak pazarlanmaktadır. Kargı Tulum peyniri bölgede geleneksel yöntemler ile ev ve aile tipi işletmelerde küçük kapasitelerde üretilerek yöresel gıdalara güzel bir örnek oluşturur (27).

3. 2. Biyojen Aminler ve Gıdalarda Varlığı ve Önemi

İnsan ve hayvan sağlığını tehlikeye atabilecek olan biyojen aminler, gıdalarla vücuda alınabildiği gibi vücudumuzda da doğal olarak sentezlenebilmektedirler. Biyojen aminler, yoğun protein içeriğine sahip ve fermentasyona uğramış gıdaların bozulması ile oluşabileceği gibi, meyve ve sebzelerde de doğal olarak bulunabilmektedirler. Gıdalarda bulunan biyojen amin gıda güvenliği bakımından büyük bir öneme sahiptir (28).

Nitrozaminler, biyojen aminlerin çok önemli bir bölümünü temsil eder ve kanserojenik özellik gösterirler. Bu sebeple daha fazla araştırılmaya tabi olmuşlarken uçucu olmayan aminler grubunda yer alan biyojen aminler ise canlıların yaşamsal fonksiyonlarının devam etmesini sağlamaktadırlar (29). Biyojen aminler protein sentezlerinde, RNA ve DNA sentezinin bütün aşamalarında rol alarak hücrelerin çoğalmasında önemli bir görev üstlenirler. İnsan ve hayvanlar için çoğu kritik yaşamsal reaksiyonun gerçekleştirilmesinde biyojenik aminlere büyük gereksinim duyulmasına karşın, bu aminleri içeren besinlerin yüksek miktarlarda tüketilmesi nedeniyle vücutta toksikolojik belirtiler görülebilmektedir. İnsan yaşamında derin etkiler oluşturarak yaşamı tehdit edici baş ağrısı, bulantı, deri döküntüsü, terleme, bağırsak, kalp problemleri gibi hastalıklara sebep olurlar. Protein yönünden zengin fermente gıda maddelerinin işlenmesi, olgunlaşması ve muhafazası sırasında gelişen bir dizi biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimler sonucunda bu gıdalarda amin yapısında bazı kimyasal maddeler meydana gelebilmektedir. Bunlardan bazıları organizmada önemli görevlerde rol sahibi olmakla birlikte, fazla miktarda vücuda alındığında gıda kökenli kimyasal zehirlenmelere sebebiyet verebilmektedir (30).

Gıdalardaki biyojen amin varlığı gıda güvenliği ve gıda bozulmaları ile doğrudan bağlantılıdır. Bu aminler, ya dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların ideal şartlarda yaptıkları enzim aktivitesi ile ya da hammaddenin gerçekleştirdiği dekarboksilaz aktivitesi sonucunda üretilmektedirler. Gıdalarda bozulma esnasında dekarboksilaz aktivitesinin artmasından dolayı biyojen aminlerin varlığı, gıdalarda bozulmanın göstergesi olması açısından da büyük önem

taşımaktadır (31). Bu nedenle gıda endüstrisinde biyojen aminler indikatör olarak hizmet vermektedirler.

Günlük tüketimde ideal limitte alınan biyojen aminler monoamin oksidaz (MAO) ve diamin oksidaz (DAO) enzimleri ile okside olarak ya asetillenir ve *Enterobacter aerogenes* , *Escherichia coli* gibi bakteriler tarafından zararsız hale getirilirler ya da hiçbir değişime uğramadan atılırlar. Bakterilerin çoğu amino asitleri dekarboksile eder ve aminlere çevirirler (32). Farklı özellikteki besinlerin içerdikleri biyojen amin düzeyleri oluşturabilecekleri toksik etkilerden dolayı detaylı bir şekilde üzerinde çalışılmaktadır.

Gıda ve içeceklerdeki biyojen aminler ya kontrolsüz faaliyet sonucu ya da üründeki enzimler tarafından endojen olarak oluşurlar (33, 34). Balık ve ürünleri, süt ürünleri, et ve ürünleri, fermantasyona uğramış sebzeler, soya ürünleri ve şarap, bira gibi alkollü içecekler normalde tolere edilebilecek seviyede biyojen amin içermelerine rağmen (29, 35) biyojen aminin bir tüketimde, 40 mg' dan fazla vücuda alınması, toksikolojik açıdan potansiyel tehlike olarak adlandırılmaktadır (36). Bu nedenle biyojen amin indeksinin (BAI) resmi bir kalite kriteri olarak kullanılması ve biyojen aminlerin toksik limitlerinin ürün etiketleri üzerinde belirtilmesi önerilmektedir (37).

Biyojen aminler organik bazlar olup biyolojik aktivite gösteren düşük molekül ağırlıklı alifatik, aromatik veya heterosiklik yapıdadırlar. Normal metabolik süreçler sonucu hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bu bileşikler ortaya çıkar (38). Biyojen amin adını almalarındaki sebep ise canlı organizmaların aktivasyonu sonucu oluşmalarındandır (35).

Amino asitler, yapılarında hem amino grubu hem de karboksilik asit grubu bulundurulur. Gıdaların ve fizyolojik sıvıların önemli bileşikleri olan amino asitlerde amino grubu (-NH₂), karboksil grubu (-COOH), hidrojen atomu (H) ve yan zincir (R) grubu, α -C atomu olarak da adlandırılan C atomuna bağlıdır ve α -amino asitler olarak adlandırılır. Bir aminoasit yapısından alfa karboksilik grubun uzaklaşması ile biyojen amin oluşumu başlar. Başka bir deyişle biyojen aminler, aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile gıdada oluşan bileşiklerdir. Bunların adlandırılmasında köken aldığı amino asidin adından genellikle yararlanılmaktadır (33, 39).

Biyojenik aminlerin oluşabilmesi için bazı şartların sağlanması gereklidir. Bunlardan biri serbest amino asitlerin ortamda bulunması, bir diğeri amino asitleri dekarboksile eden mikroorganizmaların mevcut bulunması ve son olarak mikroorganizmaların gelişebilmesi ve dekarboksilaz enzimi oluşabilmesi için uygun şartların bulunması gereklidir (35).

Gıdalarda proteolitik enzim aktivitesi gerçekleştirebilen bazı suşlar çoğunlukla biyojen amin oluşumunu arttırmaktadırlar. Çünkü dekarboksilaz enzimleri sadece ortamda serbest halde amino asitler varken faaliyet gösterebilmektedir. Dekarboksilaz enzimlerinin aktivitesi ortamın kompozisyonuna ve mikroorganizmanın büyüme yetkinliğine bağlı olmakla birlikte, başka bazı etmenler de amin oluşumunu etkilemektedir. Yapılan bir araştırmada bu enzimlerin aktivite gösterebilmeleri için pH'nın 2,5 ile 6,5 arasında olması gerektiği belirtilerek pH'ın amin oluşumunu etkilediği savunulmuştur (40). Bunun haricinde glukoz gibi fermente olabilen karbonhidratların varlığı bakterilerde gelişmeyi sağlamakla birlikte dekarboksilaz

aktivasyonunun artmasına sebep olmaktadır. Ayrıca ortamın redoks potansiyelinin de biyojen amin üretimini etkilediği düşünülmektedir. Redoks potansiyeli düşük olan şartlarda histamin dekarboksilaz enziminin aktivitesi artarak histamin birikimi çoğalırken, oksijen varlığında ise enzim aktivite gösterememektedir (36).

Tablo 2. Bazı mikroorganizmalar, dekarboksile ettiği aminoasitler ve oluşturdukları biyojenik aminler (40)

Mikroorganizma	Dekarboksile ettiği amino asit	Oluşturduğu biyojenik amin
<i>L. buchneri</i>	Histidin	Histamin
<i>L. brevis</i>	Tirozin	Tiramin
<i>S. faecalis</i>	Tirozin	Tiramin
<i>S. durans</i>	Tirozin	Tiramin
<i>Hafnia alvei</i>	Ornitin, lizin	Putresin, kadaverin
<i>E. coli</i>	Ornitin, lizin	Putresin, kadaverin
Tuza toleranslı <i>laktobasil</i>	Histidin, ornitin, lizin	Histamin,putresin,kadaverin

Biyojenik aminler, ürünlerin işlenmesi veya muhafazası sırasında serbest aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile üretilebilirler. Peynirlerde; *Bacillus*, *Morganella morganii*, *Clostridium*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Lactobacillus* özellikle de *Lactobacillus buchneri* ve *Lactobacillus delbrueckii* türleri ile; balık, et ve diğer ürünlerde ise *Enterobacteriaceae* ve *Enterococcus* tarafından üretilirler (36,41).

Genellikle peynirlerdeki histamin zehirlenmelerine sebep olan esas bakterinin *Lactobacillus buchneri* olduğu ve bunun yanında *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. tactivus*, *Enterococcus faecium* gibi bakterilerin de peynirlerde histamin oluşumuna etki ettiği belirtilmiştir. Bir araştırmada Swiss peynirlerinden histamin üreten bakteriler olarak *Streptococcus faecium*, *S. mitis*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. caei*, *L. acidophilus*, *L. arabinose*, *Propionibacterium* izole edilmiştir (42). Süt rnlerinde yapılan diğer bazı araştırmalar da göstermiştir ki, bir ya da iki amino asitten dekarboksilasyon yapabilen bir çok bakteri spesifik bir ortamda var olabilmektedir. Örneğin *L. buchneri* histidini dekarboksile etme yeteneğine sahipken, çoğu enterokoklar ise tirozini dekarboksile edebilen enzimlere sahiptir. Koliform grubu bakterilerin ise putresin ve kadaverin oluşturabildikleri yapılan araştırmalarda belirtilmiştir (43).

Biyojen aminler, gıdalarla birlikte yüksek miktarda alındığında toksikolojik özellik gösterebileceği için, istenmeyen dekarboksilaz mikroorganizmalarının ya da dekarboksilaz enzimlerini aktifleştirecek proses koşullarının önlenmesi teknolojinin üstünde durması gereken önemli bir konudur (44).

Gıdalarda amin oluşumunun gerçekleşmesinde, biyojen amin üretebilen mikroorganizmaların dekarboksilasyon yeteneklerini etkileyen pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonu, starter kültürlerin varlığı gibi bazı faktörlerin uygun şartlarda olması gereklidir (45). Bazı gıdalarda biyojen amin üretiminde rol alan bakteriler ve amin oluşturdukları sıcaklık değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Gıdalarda biyojen amin üretiminde rol alan bakteriler (35)

Mikroorganizma	Özelliği	Sıcaklık (°C)	Kaynağı
<i>Hafnia sp.</i>	Gram (-) çubuk, Fakültatif anaerob <i>Hafnia alvei</i>	15-30	Balık, et ve ürünleri
<i>Klebsiella sp.</i>	Gram (-) çubuk, Fakültatif anaerob <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	Balık ve ürünleri, meyve, sebze
<i>Escherichia coli</i>	Gram (-) çubuk, Fakültatif anaerob	15-30	Balık ve ürünleri
<i>Clostridium sp.</i>	Gram (+) çubuk, Anaerob <i>Clostridium perfringens</i>	15-50	Balık ve ürünleri
<i>Lactobacillus sp</i>	Gram (+) çubuk, Fakültatif anaerob <i>Lactobacillus Buchneri</i> , <i>Lactobacillus brevis</i>	30	Peynir, yoğurt, kefir, bira
<i>Enterobacter spp.</i>	Gram (-) çubuk, Fakültatif anaerob <i>Enterobacter aerogenes</i>	30	Balık, et, ve ürünleri, peynir, sebze
<i>Proteus sp.</i>	Gram (-) çubuk, Fakültatif anaerob <i>Proteus morganii</i>	0-15-30	Sığır, hindi, süt, balı k ve ürünleri
<i>Pseudomonas sp</i>	Gram (-) çubuk, Aerob <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>	0-15-30	Sebzeler, balık ve ürünleri
<i>Vibrio sp.</i>	Gram (-) çubuk, Aerob	15	Balık ve ürünleri

Sıcaklık faktörü, bakterilerden biyojen amin oluşumunu önemli oranda etkileyen etkenlerden biridir. Amin üretimi için ideal sıcaklık düzeyi bakteri çeşitlerine göre değişmektedir. Örnek olarak 20 °C’de 24 saatlik inkübasyon ile *Enterobacter cloacae*, 2 mg/ml putresin üretirken, sıcaklık 10 °C’de biyojen amin oluşumunu sağlayamamaktadır. *Klebsiella pneumoniae* sıcaklık faktörüne çok duyarlı olmamasına rağmen 10 °C’de iken 20 °C’ye göre daha az miktarda kadaverin üretebilmektedir (36). Balık ve peynir sanayisinde sıcaklık faktörünün biyojen aminlerin üretiminde çok önemli bir etkisinin olduğu bilinmektedir (46). Biyojenik amin miktarlarının, muhafaza süresi ve muhafaza sıcaklığı ile olumlu yönde bir gelişim içinde olduğu bildirilmektedir (47). Ababouch ve arkadaşlarının (48) *proteus* türlerinin histamin üretme kapasitelerini araştırdıkları çalışmalarında, sıcaklık ve pH ile histamin arasında şöyle bir durum tespit etmişlerdir. Bu türlerin pH 5,0’te pH 7,0’ye göre ve 25 °C’de, 4 °C’ye ya da 35 °C’ye göre daha aktif olduğu sonucuna varmışlardır.

pH biyojenik amin oluşumunu etkileyen faktörlerden bir diğeridir. Biyojen amin üretiminin, asidik ortamlarda bakteri için koruyucu bir özellik olduğu ve bu ortamlarda aminoasit dekarboksilaz aktivitesinin daha güçlü olduğu bildirilmektedir. pH’nın 4,0 ile 5,5 arasında olduğu ortamların amin oluşumunda en uygun olduğu bildirilmektedir (45,47). pH değeri arttıkça bakteriyel mikroflora da o oranda kompleks hale gelmektedir. Şaraplardaki mikroorganizmalar için ideal bir faktör olan pH, şaraplarda 3,0 - 4,0 arasında değişmektedir. Bu pH aralığında ve daha yüksek değerlerde biyojen amin oluşumu her zaman daha fazla olmaktadır. Bu durum bakteriyel çeşitliliğin fazla ve toplam büyümenin kolay olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sebeple kırmızı şaraplara kıyasla

daha asidik özellikte olan beyaz şaraplarda biyojen amin miktarı daha azdır (49).

Yapılan çalışmalarda, asidik ortamlarda (pH 5,0), amino asit eklenerek güçlendirilmiş MRS broth'da *Lactobacillus bulgaricus*'un öncekinden daha çok histamin, tiramin ve triptamin oluşturduğu tespit edilmiştir (50). Glikoz gibi fermantasyona uğrayabilen karbonhidratlar ortamda bulunurken bakterilerin gelişmesi ve dolayısıyla amino asit dekarboksilaz aktivitesi artar. Çünkü, şeker parçalanırken açığa çıkan laktik asit yoğunluğundan dolayı, pH düşüşü gerçekleşmektedir. Glukoz yoğunluğunun % 0,5-2 arasında olduğu durumlar ideal konsantrasyon olarak değerlendirilirken (51), %3'ü aştığı zamanlarda enzim oluşumu engellenir (47). *Enterococcus faecalis*'in pH 5,0-8,0 arasında L-tirozin ve glikoz eklenmiş brotlarda yüksek miktarlarda tiramin üretildiği bildirilmektedir (52). Hızlı bir tirozin dekarboksilasyonu için optimum pH'ın 7.0 olduğu bulunmuştur. Bakteri gelişimi açısından tiramin oluşumuna glukozun büyük etkisinin olduğu, fakat tirozinin dekarboksilasyonu üzerinde etkisinin olmadığı ifade edilmektedir (50).

Sucuk üretiminde kullanılan Glucano-delta-lactone (GDL), suda glukonik aside ayrılırken hızlı bir şekilde pH düşüşü de gerçekleşir. Maijala ve arkadaşları (53) yaptıkları bir çalışmada, kıyma örnekleri üzerine GDL ilave ederek gerçekleştirdikleri pH azalmasının biyojen aminlerin oluşumuna etkisini araştırmışlardır. GDL ilave edildikten sonra kontrol grubuna kıyasla, pH'nın hızla düşmesiyle birlikte toplam bakteri sayısında, koliform ve fekal streptokok sayılarında ve histamin putresin seviyelerinde önemli bir azalma görülmüştür. Ancak, laktik asit bakterileri seviyelerinde bir etkilenme olmamıştır.

Biyojenik amin oluşumuna etki eden bir diğer faktör de ortamın tuz konsantrasyonudur. % 5'ten fazla tuz konsantrasyonu olan ortamlarda histamin üretiminin azaldığı söylenmektedir (52). Ababouch ve arkadaşları (48) yine *Proteus* türleri ile yaptıkları çalışmalarında, % 8 konsantrasyonunda NaCl ilavesinin histidin dekarboksilaz aktivitesini düşürdüğü ifade edilmektedir. Güçlü bir histamin üretim aktivitesine sahip olduğu bilinen *Staphylococcus capitis*' in % 10 NaCl konsantrasyonundaki deneysel ortamlarda yaklaşık 400 mg/mL histamin oluşturabildiği belirtilmektedir (54).

Carnobacterium divergens' in tiramin üretim aktivitesinin araştırıldığı bir başka çalışmada da % 10 NaCl'ün tiramin oluşumunu engellediği, Potasyum nitrat varlığının ise tiramin üretimini etkilemediği gözlemlenmiştir. Teodorovic ve arkadaşları (45) yaptıkları bir çalışmada, % 3,5 tuz veya % 0,02 oranında sodyum nitrit ilave edilmiş, kontrol grubunda ise ilave yapılmamış besiyerlerinde oluşan histamin miktarlarını karşılaştırmış ve sonuçları birbirine oldukça yakın bulmuşlardır. Tuzlama ile histidin dekarboksilaz aktivitesi inhibe olurken halotolerant bakteriler için tuzlamanın pek bir önem taşımadığı bilinmektedir. Halotolerant bakterilerin % 12 NaCl konsantrasyonuna sahip sardalye etinde amin oluşumu tespit edilmiştir (35). Uskumru etinde de histamin üretimi, tuz yoğunluğu ne olursa olsun, tuzlama ile inhibe edilmiş ve hemen hemen hiç üreme görülmemiştir (47).

3.2.1. Bazı Gıdalarda Biyojen Aminler

Balıklarda tazelik durumunun değişimi ile ilgili olarak etkinlik ve proteinlerin parçalanması sonucu biyojen aminler ve biyotoksinler oluşmaktadır (55). Yüksek miktardaki proteolitik enzimlerin aktivitesi ile bu parçalanma çok

daha kolay olmaktadır (56). Balık ve balık ürünlerinde faaliyet sonucu oluşan bu biyojen aminler arasında histamin önemli bir yer tutmaktadır (57).

Histamin zehirlenmelerinde en fazla sözü edilen gıda balıktır. Bu duruma sebep olarak avlamadan sonra balığın uygun olmayan düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi gösterilebilir ki bu, bakteriyel yolla biyojen amin üretimini kontrol altında tutan önemli bir faktördür. Histamin oluşumuna neden olan bakteriler balığın solungaçlarında ve bağırsaklarında bulunurlar. Balığın yüksek sıcaklıklarda muhafazası sırasında kas dokusuna bakterilerin geçişi ile histamin oluşumu sağlanır (28). Araştırmacılar, balığın piyasaya sunulduğu pazar ve çevrelerinde, balık taşınırken kullanılan kutularda ya da balığın ıslak tutulduğu sularda, histamin üreten bakteriler üzerine yaptıkları araştırmalarda en çok tespit edilen bakterinin *Proteus* türleri olduğunu bildirmişlerdir (58).

Balıklarda muhafaza sıcaklığının histamin oluşumu üzerine etkisi pek çok çalışmada araştırılmıştır. Taze ve oda sıcaklığında 24 saat bekletilen uskumrular üzerinde yapılan bir araştırmada (35), taze balıklarda daha az miktarlarda histamin tespit edilirken; bekletilen uskumrulara histamin miktarları 24 saat sonra 28,4 ppm, 48 saat sonra ise 1540 ppm olarak ölçülmüştür. Oda sıcaklığında ve buzda bekletilen sardalye balıklarında yapılan bir başka çalışmada ise (59), oda sıcaklığında muhafaza edilen sardalyelerde 24 saat sonunda histamin düzeyi 2350 ppm'e yükselirken, buzdaki sardalyelerde histamin miktarı aynı düzeye ancak 8 gün sonra ulaşabilmiştir. Tuzlanmış balıklarda hammaddenin kalitesiz ve işlemenin yetersiz oluşu ile uygun olmayan muhafaza koşulları nedeniyle histamin zehirlenmesine neden olabilecek yüksek düzeylerde histamin oluştuğu bildirilmektedir (60).

1990-1993 yılları bir arasında İtalya’da yapılan bir incelemede temin edilen örneklerden en çok hamsi ürünlerinin yüksek histamin içerdiği görülmüştür (61). Balık türleri arasındaki histamin düzeylerinin oldukça farklılık göstermesinin yanında, aynı tür olmasına rağmen iç organlarının çıkarılmış olup olmamasına bağlı olarak da histamin düzeyleri farklılık gösterir (62). Yapılan bir çalışmada iç organları çıkarılmış uskumrular ile çıkarılmamış olanlar aynı çevre koşullarında bekletilmiş ve 150 saatlik süre sonunda histamin düzeyleri ölçülmüştür. İç organları çıkarılmış olanlarda bu miktar 492 ppm olarak ölçülürken, çıkarılmamışlarda 2030 ppm histamin saptanmıştır (63).

Yine yapılan bir başka çalışmada, Elazığ yöresinde istavrit, hamsi ve uskumru balığındaki histamin düzeyleri, aynalı sazan, bıyıklı balık ve gökkuşağı alabalığından daha yüksek düzeylerde bulunmuştur (64).

Balıklarda oluşan histaminin varlığı balığın pişirilmesi veya kızartılması ile engellenemez. Ya da balıkta histamin bir kez oluşmuşsa konserve yapımındaki inaktivasyon işlemi ile de histamin aktivitesi engellenemez ancak histamin üretiminin devam etmesi durdurabilir. Dumanlama işlemi yapılan balıklarda dumanlamadan önce muhafaza koşullarının uygunsuzluğunda histamin meydana gelir. Dumanlama esnasında histidini dekarboksile eden mikroorganizmaların büyük çoğunluğu inaktive olduğundan dumanlanmış balıklarda histamin miktarı daha düşük düzeydedir (28).

Taze konserve tuna balıkları üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada biyojenik aminler incelenmiş ve ürünlerin sterilizasyonu ile sadece spermin ve spermidin aminlerinin miktarlarının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (65).

Taze et ve et ürünlerinin biyojen amin olarak yaygın şekilde spermin ve spermidin içerdği ve bu miktarların önemli düzeylerde olduğu belirtilmekle birlikte buna karşılık et bozulmalarından sorumlu olarak tiramin, kadaverin, putresin ve histamin gibi biyojenik aminlere de sıklıkla rastlandığı söylenmektedir. Bazı pişirilmiş et ürünlerinde de önemli miktarda biyojen amin olduğu saptanmıştır ve bu duruma sebep olarak hijyenik kalitesi düşük et kullanımı gösterilmiştir (66, 67).

Piştirilmiş ya da piştirilmemiş kasaplık hayvan etlerinde biyojenik aminlerin bulunuşu ve çeşitliliği üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada (67), 1°C’de muhafaza edilen vakum paketlenmiş sığır etlerinde biyojenik amin oluşumu 120 gün süreyle incelenmiştir. Muhafazanın 20. gününden itibaren biyojen amin miktarlarının önemli seviyelere ulaştığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada pişmiş ürün olarak kıyma ve hamburgerlerin de biyojenik amin içerdikleri, tiramin, putresin, kadaverin ve histaminin dominant özellikte olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu biyojenik aminlerin toksikolojik olarak tehlike oluşturabilecek limitin çok altında olduğu da belirtilmiştir. Normal buzdolabı sıcaklığında uzun süre muhafaza edildikten sonra vakum ambalajlı sığır etlerinde bulunan tiramin, putresin ve kadaverin gibi biyojen aminlerin saptanabilir düzeylerde olması önemli bir tespit olarak değerlendirilmiştir. Vakum ambalajlanmış etlerde tiramin oluşumuna *Carnobacterium divergens*, putresin ve kadaverin oluşumuna ise *Enterobacteriaceae* üyeleri veya *Pseudomonas* doku kültürlerinin sebep olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu biyojenik aminlerin fermentasyon süresi boyunca parçalanarak uzaklaştırılmadığı durumlarda son üründe de bulunabilme ihtimalinin olabileceğine dikkat çekilmektedir (66). Ayrıca

soğukta bekletilen ve tiramin içerdiği tespit edilen vakum ambalajlanmış etlerden *Lactobacillus* türleri de izole edilmiştir (67).

Gıda ürünlerinde doğal flora biyojen amin üretiminde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle et ürünlerinde de taze ürünün kalitesi en çok önem verilen etkenlerden biridir. Fermentasyon aşamasında gruplar çeşitli bileşikler oluşturmaktadır. Biyojen amin içeriklerindeki bu farklılık mikrofloradaki çeşitlilikten kaynaklanmaktadır (29). Hijyen bakımından kaliteli hammadde kullanılması ve buna ilaveten en uygun starter kültürlerin seçilmesi, biyojen aminlerin oluşumunun engellenmesi açısından etkilidir. Fermente et ürünlerinde, son ürün kalitesini geliştirmek ve ürünün stabilizasyonunu sağlamak amacıyla genellikle starter kültür ilavesi yapılmaktadır. Et ürünlerinde laktik asit bakterilerinin biyojen amin oluşumundan sorumlu olduğunun bilinmesinin yanında, sosis fermentasyonu esnasında biyojen amin üretimi, starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanımıyla engellenebilmektedir (68).

Yarı kuru sosislere laktik asit ilave edilerek kısa bir sürede fermentasyona uğramaları sağlanırken, kuru sosisler için böyle bir duruma gerek olmadan daha uzun sürede doğal mikroflora ile fermente edilebilirler. Sosislere histamin düzeyi olgunlaşma süresince, özellikle de olgunlaşmanın ilk günlerinde önemli oranda artış göstermektedir. Ayrıca bu oran fermente sosislere olgunlaşma işleminin süresine ve fermentasyon koşullarına göre de değişkenlik gösterdiğinden fermentasyon koşullarının uygun hale getirilmesi ile histamin düzeyleri de sınırlandırılabilir (69).

Biyojen amin üretimini engellemek için dikkat edilmesi gereken başka bir parametre ise amino negatif starterlerin ilave edilmesi ile doğal fermentasyon oluşumunun kontrol altına alınmasıdır. Amino negatif starter kültür kullanımı ile hem proteolitik hem de dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların gelişimi önlenerek biyojen aminlerin üretimi engellenebilir. Yapılan çalışmalarda fermentasyon işlemine uğramış et ürünlerinde *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus sakei*' nin starter kültür olarak kullanılabileceği savunulmuştur (70).

Tablo 4. Bazı Et ve Et Ürünlerinin Biyojen Amin İçerikleri (ppm) (69)

Gıda Maddesi	Putresin	Histamin	Kadaverin	Spermin	Tiramin
Sığır Eti	2.3	2.3	8.4	25.8	23.5
Tavuk Eti	5.9	0.8	8.6	58.2	22.8
Salam	186	104	151	19.6	226
Jambon	229	124	47.3	326	254
Fransız Sucuğu	115	10.6	24	59.3	192

Şarap, boza ve bira gibi fermente içeceklerde de biyojen aminlere rastlanmaktadır. Şaraplardaki biyojen aminlerin kaynağı şıra, alkol fermentasyonu sırasındaki mayalar ve malolaktik fermentasyonu sağlayan bakterilerdir. *Klebsiella* ve *Proteus* gibi enterik bakteriler de bulaşma yoluyla şaraplarda biyojen amin oluşumuna sebep olabilmektedir. Hijyenik şartlarda üretilen şaraplarda ise biyojen amin ya çok düşük seyrederek ya da hiç bulunmaz (71).

Bazı beyaz şaraplarda alkol fermentasyonundan sonra meydana gelen malolaktik fermentasyon şaraplarda gereklidir. Dekarboksilasyon ile malik asidin uzaklaştırılması ve ikincil metabolizma ile duyu kalitenin geliştirilmesi bunun

asıl sebebidir. Ancak şaraplarda meydana gelen malolaktik fermantasyon ile şarapların biyojen amin düzeylerindeki artış arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Şarapta birkaç amino asit dekarboksile edilebilmekte ve bunun sonucunda histamin, tiramin, putresin, kadaverin ve feniletilamin oluşmaktadır (31). Şaraplarda sıklıkla tespit edilen biyojen amin histamindir. Bu durum şarap üretiminin hijyenik açıdan optimum şartlarda yapılmadığının bir göstergesi olarak belirtilmiştir. Çeşitli şaraplarda yapılan ilk çalışmalarda, Avrupa, Amerika ve Güney Afrika bölgelerinde kırmızı şaraplarda beyaz şaraplardan daha fazla oranda biyojen amin bulunmuştur (72).

Biralardaki biyojen amin çeşitleri ve bu aminlerin düzeyleri, hammaddeye, bira yapım tekniğine ve bulaşmalara bağlı olarak değişmektedir. Arpada tespit edilenler tiramin, putresin, spermin, spermidin ve agmatindir (73). Arpa çeşidinin biyojen amin içeriği üzerinde oldukça önemli etkileri bulunmaktadır (74). Arpanın bakteri yükü ve kullanılan maya ile biradaki histamin miktarları arasında korelasyon bulunmaktadır. Özellikle mayşeleme sırasında histamin konsantrasyonunda artış meydana gelebilmektedir. Mayşenin kaynatılması sırasında bazı aminler oluşabildiği gibi bazılarının miktarında da önemlibir düşüş gözlenebilmektedir. Mayşeleme sırasında oluşan biyojen aminler tiramin ve agmatin iken, mayşedeki spermin ve spermidin miktarları düşmektedir (75).

Kefir örneklerinde biyojen aminler üzerine yapılan çalışmalarda toplam biyojen amin miktarlarının 2,8-35,2 mg/l arasında olduğu tespit edilmiş ve bu değerin kabul edilebilir toplam biyojen amin limitinin çok altında olduğu ifade edilmiştir (76).

Bozaların biyojen amin içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada (77), boza örneklerinin biyojen amin içeriklerinde geniş bir varyasyon gözlenmiştir. 21 boza örneğinin 18'inin en az bir biyojen amin içerdiği tespit edilmiştir. Biyojen amin konsantrasyonlarının en yüksekten düşüğe doğru tiramin, kadaverin, triptamin, putresin, β -feniletilamin ve histamin şeklinde sıralandığı belirlenmiştir. Yine yapılan bir çalışmada toplam biyojen amin içeriğinin 1,67 ile 101,14 mg/kg arasında değiştiği, başka bir çalışmada ise (78), bozaların toplam biyojen amin içeriğinin 25 ile 69 mg/kg arasında olduğu söylenmiştir.

Şalgam sularının biyojen amin içeriğinin tespit edilmesi amacıyla yapılan araştırmada iki farklı fermentasyon sıcaklığı kullanılarak üretilen (79), 25°C ve 35°C' de fermente edilen şalgam sularının sırasıyla, triptamin miktarı 65,22 ile 66,03 μ g/ml, feniletilamin miktarı 23,25 ile 9,17 μ g/ml, putresin miktarları 52,78 ile 59,19 μ g/ml olarak bulunmuştur. Bu araştırmada her iki yöntem ile üretilen şalgam sularında histamin ve tiramin tespit edilememiştir. Toplam biyojen amin miktarının ise 25°C de üretilen şalgam sularında 35°C de üretilenlere göre daha yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde lahana turşusu olarak tüketilen, avrupa ülkelerinde ise "sauerkraut" adı verilen Alman tipi susuz lahana turşusunun hazırlanmasında farklı olarak salamuralı fermentasyon uygulanmamakta, kuru tuz kullanılarak hücre özsuğu dışarı çıkarılmaktadır (80). Bu ürünün üretim aşamasında doğal fermentasyon gerçekleşmekte ve dışarıdan starter kültür eklenmemektedir. Fermentasyon sırasında önce aerob, sonra fakültatif anaeroblar daha sonra ise laktik asit bakterilerinin aktiviteleri rol oynamaktadır. Ürünün mikroflorasındaki varyasyonlar sebebiyle farklı biyojen amin içeriklerinin olması

beklenebilmektedir (81). Sauerkrautta bulunan başlıca biyojen aminler; histamin, tiramin, putresin ve kadaverin iken, β -feniletılamin çok düşük düzeylerde bulunmaktadır (35). Yapılan bir araştırmada (82), incelenen sauerkraut örneklerinde ortalama tiramin, putresin ve kadaverin düzeylerinin sırasıyla 174, 146 ve 50 mg/kg olduğu, histamin miktarının ise 7,8 mg/kg olarak tespit edildiği söylenmiştir. Triptamin, spermidin ve spermin düzeylerinin ise önemsenmeyecek kadar az olduğu belirtilmiştir .

Sauerkraut ve lahana turşularının kıyaslandığı bir çalışmada (83), salamura kullanılarak hazırlanmış lahana turşularının biyojen amin (putresin, kadaverin, triptamin, spermin, sermidin, histamin, tiramin) miktarlarının Alman tipi susuz lahana turşularına oranla daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiş olup, bu durumun lahana turşularının satışa sunulmadan önce yeni hazırlanan salamura ile muameleleri sonucu oluşan bir seyrelmeden kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

Sitrik asit katılarak, farklı tuz konsantrasyonlarında üretilen ve fermentasyona bırakılan lahana turşularında ise fermentasyonun 5, 12 ve 19. günlerindeki biyojen amin miktarları araştırılmıştır. Lahanada sadece 71,5 mg/kg putresin tespit edilmesine rağmen, % 6, 8, 10 tuz içeren salamuralarda, sitrik asit katılan örneklerde toplam biyojen amin içeriği (putresin, kadaverin, triptamin, spermin, spermidin, histamin, tiramin ve agmatin) sırasıyla 14,03, 16,68, 19,60 mg/kg, sitrik asit katılmayanlarda ise 39,97, 29,50, 43,92 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu şekilde sitrik asit katkısının, biyojen amin içeriklerinin azalmasına neden olduğu gözlemlenmiştir. Gözlenen başka bir oluşum ise laktik asit bakterilerinin sayısındaki artış ile biyojen amin arasında ilişkinin varlığıdır.

Laktik asit bakterilerindeki yükselmeye bağı olarak biyojen aminlerin de arttığı belirlenmiştir (84).

Aminler bitkilerin yapısında doğal olarak bulunmaktadırlar. Bu nedenle meyve ve sebzelerde biyojen aminler geniş bir dağılım göstermektedir. Meyve ve sebzelerin biyojen amin içerikleri olgunluk derecelerine göre değişmektedir (85). Bu ürünlerde bulunan serbest biyojen aminler gıdaların tipik ve karakteristik olgunluk tadının şekillenmesinde rol oynamakla birlikte ayrıca serbest biyojen aminlerin belirli aroma maddelerinin öncü maddeleri olduğu da bilinmektedir. Diğer taraftan biyojen aminlerin sebzelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunması ürünün uzun süre muhafazası sonucunda meydana gelen bozulmayla ilişkilidir (86).

Sebzeler üzerinde yapılan bir çalışmada (34), sebzelerde baskın mikroorganizma grubunun yanında düşük oranda küf ve mayaların bulunduğu ifade edilmiştir. Meyveler sebzelere oranla daha düşük pH değerine sahip olduklarından asit-tolere edebilen fungi ve laktik asit bakterileri gibi mikroorganizmaların gelişimi sınırlandırılabilir. Diğer taraftan taze ve bütün halinde olan sebze ve meyveler kabukları tarafından saldırılardan korunurlarken kesilmiş ve doğranmış ürünler bozunmalara karşı daha dayanıksız olmaktadır. Taze meyve ve sebzeler nispeten daha güvenli olmalarına rağmen, gıda kaynaklı bazı hastalıklar da meydana gelebilmektedir.

Portakal, ahududu, limon, greyfurt ve üzüm gibi meyvelerden yapılan meyve suları ve bunların nektarları farklı oranlarda çeşitli biyojenik aminler içerebilmektedirler. Bu biyojen aminlerden en fazla putresin tespit edilmektedir. Ayrıca kakao tanelerinde ve dolayısıyla kakaodan elde edilen çikolata ve çikolata

ürünlerinde; bazı mantar türlerinde de yüksek oranda β -feniletilamin bulunabilmektedir. Karabiber ve soya sosunda ise pirolidin tespit edilmiştir (47). Çin lahanası ve bazı marul türlerinde de 14-20 $\mu\text{g/g}$ arasında değişen konsantrasyonlarda amin tespit edilmiş olup, spermidinin bu sebzelerdeki başlıca biyojen amin olduğu ifade edilmiştir (35).

Sofralık yeşil ve siyah zeytin örnekleri üzerinde yapılan bir araştırmada (87), zeytinlerde en yüksek orana sahip biyojen aminlerin sırasıyla; triptamin, tiramin ve feniletilamin olduğu, belirlenen bu değerler içerisinde en düşük konsantrasyona sahip biyojen aminin histamin olduğu ve rastlanma sıklığı en düşük biyojen aminin ise spermin olarak ortaya çıktığı görülmüştür. Aynı çalışmada, zeytin örneklerinde belirlenen feniletilamin, putresin, histamin, tiramin ve toplam biyojen amin düzeylerinin toksik limitlerin altında olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgu zeytin örneklerindeki biyojen amin oluşumunun fermentasyon süresince salamuradaki laktik asit bakterilerinin gelişiminden ve amino asit yapılarındaki farklılıklardan meydana gelebileceğidir. Ayrıca araştırmacılar zeytin örneklerinin biyojen amin içeriklerinin çok düşük seviyelerde bulunmasının nedeninin bozulma değil, daha çok biyojen aminlerin zeytin meyvesinde doğal olarak bulunmasından kaynaklandığı görüşünü savunmuşlardır.

Peynir, balıktan sonra histamin zehirlenmesine neden olan ikinci gıdadır (40). Peynirde bakterilerin fermentasyon aktiviteleri sonucu aminoasitlerden tiramin, histamin, serotonin, noradrenalin ve triptamin gibi aminler yüksek düzeylerde oluşabilmektedir. Farklı peynirlerde bulunabilecek olan bazı biyojenik amin örnekleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Farklı peynirlerdeki biyojen aminler (40, 88)

PEYNİR	BİYOJENİK AMİNLER
Beyaz peynir	Kadaverin, putresin, tiramin
Tulum peyniri	Feniletilamin, putresin
Camembert	Kadaverin, putresin, tiramin
Cheddar	Kadaverin, 2-feniletilamin
Gouda	Kadaverin, putresin, triptamin, tiramin
Gruyere	Putresin
Mozzarella	Kadaverin
Roquefort	Kadaverin, putresin, tiramin
İsviçre	Kadaverin, putresin, tiramin

Bazı *L.buchneri* bakterilerinin İsviçre peynirlerinin yapısında çok düşük miktarda bulunması halinde dahi, bu peynirlerin olgunlaşma döneminde önemli miktarlarda histamin üretebildiği tespit edilmiştir. İsviçre peyniri tüketimiyle ortaya çıkan bazı histamin zehirlenmesi olaylarından sorumlu tutulan bakteri *L.buchneri* olmuştur. Bu bakteri çeşidinin peynirde histamin oluşturmalarını etkileyen bazı faktörlerin; olgunlaşma sıcaklığı, pH ve tuz konsantrasyonu olduğu belirtilmektedir. Özellikle muhafaza sıcaklığının ve pH'nın yüksek olması histamin oluşumuna sebep olmaktadır. Tuz-nem miktarının yüksek olması ile peynirlerin çoğunda histamin oluşumunun önemli düzeyde engellenebileceği de belirtilmektedir (40).

Tablo 6. Çeşitli gıdalarda bulunan biyojen aminler ve bu gıdalardan izole edilen bakteriler (35).

GIDA	İZOLE EDİLEN BAKTERİ	BİYOJEN AMİN
Balık	• <i>Mornogella morgoni</i> • <i>Klebsiella pneumonia</i> • <i>Hoilfnia alvei</i> • <i>Proteus mirabilis</i> • <i>Clostridium perfringens</i> • <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Vibrio alginolytiens</i> • <i>Bacillus spp.</i> • <i>Staphylococcus xylosus</i>	Histamin Tiramin Kadaverin Putresin Agmatin Spermin Spermidin
Peynir	• <i>Lactobacillus buchneri</i> • <i>Lactobacillus 30a</i> • <i>L. bulgaricus</i> • <i>L. plantarum</i> • <i>L. casei</i> • <i>L. acidophilus</i> • <i>Streptococcus faecium</i> • <i>S. mitis</i> • <i>Bacillus macerans</i> • <i>Propioni bacteria</i>	
Et ve Et Ürünleri	• <i>Pediococcus</i> • <i>Enterobacteriaceae</i> • <i>Lactobacillus</i> • <i>Pseudomonas</i> • <i>Streptococcus</i> • <i>Micrococcus</i>	Histamin Kadaverin Putresin Tiramin β-feniletılamin Triptamin
Fermente Sebzeler	• <i>Lactobacillus plantarum</i> • <i>Pediococci sp.</i> • <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Histamin Kadaverin Putresin Tiramin Triptamin
Fermente Soya Ürünleri	• <i>Rhizopus oligosporus</i> • <i>Trichosporon beiglli</i> • <i>Lactobacillus plantarum</i>	Histamin Kadaverin Tiramin Triptamin

3.2.2. Biyojen Amin Çeşitleri

Gıdalarda bulunması açısından büyük bir öneme sahip biyojenik aminlere örnek olarak histamin, tiramin, triptamin, putresin, kadaverin, spermin, spermidin, β -feniletilamin, agmatin gösterilebilir.

3.2.2.1.Histamin: Histamin alerjik reaksiyonlara sebep olması önemli bir protein olarak bilinmektedir (89). Gıda kaynaklı olayların indikatörü ve gıda zehirlenmelerinden sorumlu bir biyojen amindir. Bu biyojenik amin oluşurken histidin dekarboksilaz enzimine sahip mikroorganizmalar gıdalardaki serbest histidini histamine çevirir. Çeşitli gıda maddelerindeki histamin içerikleri, gıdanın türüne bağlı olmakla birlikte mevcut serbest histidin miktarı ile histidin dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların varlığı ve bu mikroorganizmaların aktivitesine de bağlıdır (30).

Histamin, vücutta biyolojik olarak güçlü ve aktif olan bir kimyasaldır. Doğada yaygın olarak tüm omurgalıların dokularında bulunmasına rağmen omurgalılarda dağılımı ve konsantrasyonu çok değişkenlik gösterir (35). Histamin miktarı özellikle balık ve balık ürünlerinde kalite belirleyici bir faktördür. Çünkü taze bir balıktaki histamin düzeyi çok azdır ve bu nedenle balıkta histamin varlığı bozulma indeksi olarak görülür (28). Toksisitesine rağmen histamin vücuda yabancı olan bir madde değildir. Zira histaminin çoğu vücutta özel hücrelerde depolanır. Büyük histamin deposu olarak çoğu dokularda bulunan mast hücreleri örnek verilebilir. Diğer bir histamin deposunun ise kan basofili olduğu bilinir. Mast hücreleri ve basofiller histamin sentezi yaparlar (42).

3.2.2.2. Tiramin: Tirozin'in biyojen amin türevidir ve özellikle fermente olmuş gıdalar dahil çoğu gıdanın yapısında doğal olarak bulunmaktadır. Tiramin, süt proteinlerinin bakteriyel parçalanması ile peynir oluşumu sırasında tirozinin dekarboksilasyonu sonucu meydana gelmektedir. Tiraminin tehlikeli olabilmesi için çok yüksek miktarlarda vücuda alınması gereklidir. Peynirlerdeki tiramin miktarları, farklı tip peynirlerde olduğu gibi aynı tip peynirlerde de farklı düzeylerde seyredebilmektedir. Bu nedenle peynirde tiramin içeriğinin belirlenmesi farmakolojik açıdan ve gıda güvenilirliği yönünden gereklidir (90). Biyojen aminlerin genelinde olduğu gibi peynirdeki tiramin de; olgunlaşma derecesine, aroma maddelerinin oluşum düzeyine ve peynirin mikroflorasına bağlı olarak değişiklik gösterir. Bunun yanında peynir kalıp büyüklüğü de tiramin oluşum düzeyini etkileyebilmektedir. Histaminin aksine tiramin vücutta önemli bir metabolit değildir ve histamine oranla vücutta daha düşük konsantrasyonlarda bulunur (91).

Tiraminin kan basıncını artırdığı bilinir. Fermente edilmiş ya da uzun süre olgunlaştırılmış gıdalarda daha çok bulunmaktadır. Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri alan insanlarda peynir, salamura et ve balık, şarap, bira, turşu ve maya ekstraktlarının tüketilmesiyle birlikte ciddi tiramin zehirlenmesi vakaları ve hatta ölümlerin görüldüğü bildirilmektedir (50, 92, 93). Ayrıca *Enterococcus faecalis subsp. liquefaciens*'in gıdalarda zehirlenmelere sebep olabilecek miktarlarda tiramin ürettiği de bilinmektedir (52).

3.2.2.3. Putresin ve Kadaverin: Bu biyojenik aminlerin nükleik asitlerin regülasyonu ve protein sentezlerinde görevli oldukları ve bazen de membranların stabilizasyonunda önemli rolleri olduğu belirtilmektedir (53). Meyve, peynir ve

yeşil olmayan sebzeler putresinin temel kaynaklarıdır (94). Bu biyojen aminler diğer aminlerin toksisitesini artırmaktadırlar. Özellikle histaminin gıda zehirlenmesindeki rolü bu iki aminin varlığında büyümektedir (60). Bu aminler peynirlerde toksikolojik etkiye sebep olacak kadar önemli miktarda bulunmazlar (40).

3.2.2.4. Feniletilamin: Farmakolojik olarak tiramin benzeri görev yapan bu biyojen amin hem diamin oksidaz hem de histamin metil transferazı inhibe etmektedir (40,95). Tirozin dekarboksilaz enzimi aynı zamanda fenilalanin üzerinde de zayıf dekarboksilaz aktivitesinin olduğunu gösterir (95).

3. 3. Biyojen Aminlerin Toksikolojik Etkileri

Özellikle olgunlaşmış peynir, fermente ürünler ve ton balığında mevcut olan biyojen aminler toksikolojik etkiye sahip olmaları ve bu şekilde tehlike oluşturabilecek gıda zehirlenmelerine yol açmaları nedeniyle önemlidir (95, 96).

Histamin, tiramin, putresin gibi biyojen aminlerin canlılarda yaşamsal fonksiyonlar için gerekli olmasının yanında, biyojen aminlerin gıdalarda bir bozulma kriteri olarak değerlendirilmesinden dolayı bu aminlerin yüksek seviyelerde tüketimi canlılarda tehlike oluşturmaktadır. Bu etkilerin başında baş ağrısı, kalp çarpıntısı, kusma, ishal, stres, yorgunluk, düşük veya yüksek tansiyon, gıda zehirlenmesi olduğu söylenebilir. Tiramin, histamin, triptamin gibi biyojen aminlerin kan basıncını yükselttikleri bilinmektedir. Bununla beraber bunlar doğal olarak vücutta monoamin oksidaz enzimleri ile etkisiz hale getirilmektedir. Ancak bu enzimi inhibe etme özelliği olan antidepresant ilaçları kullanan hastalarda peynir tüketimi, vücutta tiramin birikiminden dolayı zehirlenmelere yol açabilmektedir (91).

Şarapta histamin zehirlenmesiyle ortaya çıkan akut ve kronik belirtiler farklılık göstermektedir. Biyojenik aminler özellikle de histamin ve tiramin alkollü içkiler yolu ile vücuda alındıktan sonra baş ağrısı ve deride kızarmalara sebep olmaktadır (97). Aminler alkol ile birlikte veya bazı ilaçlarla birlikte tüketildiğinde sağlık açısından daha yüksek oranda olumsuz etki göstermektedir. Birçok araştırmacı 8 mg/L düzeyindeki histaminin baş ağrısını sebep olduğunu ortaya koyarken bazı araştırmacılar ise şaraplardaki histamin düzeyinin limitini 10 mg/l olarak vermektedir (98). Bunun yanında, hassasiyeti olan bazı kişilerde peynir tüketiminden sonra migren ataklarının yaşandığı ve böyle kişilerin yüksek ihtimalle genetik olarak monoaminooksidaz enziminden yoksun olduğu; dolayısıyla, bu tipteki hastaların çoğunda 100 mg tiramin alımının dahi şiddetli baş ağrısı meydana getirdiği belirtilmektedir. Ayrıca tiraminin, monoaminooksidaz (MAO) tedavisi gören hastalarda hipertansif krizlere de sebebiyet vereceği ifade edilmektedir (97).

Biyojen amin bakımından zengin gıdaların tüketilmesiyle meydana gelen olumsuz belirtiler, aminlerin kan dolaşımına katılmasıyla başlar (35). Bu şekilde biyojen amin ihtiva eden gıdaların tüketimi birçok farmakolojik etkilere sebep olmaktadır.

Bazı biyojen aminlerin farmakolojik etkileri ise şöyledir:

Tiramin: Böbreküstü bezinden norepinefrin salgılatıp kan basıncını yükselterek hipertansiyon, baş ağrısı, ateş, kusma ve terlemeye sebep olmaktadır (99). Ayrıca kalp atışını ve soluk alıp verme hızını artırır. Aşırı gözyaşı ve tükürük salgısına neden olur. Kan şekeri düzeyini yükseltir. Migreni tetikler (60).

Putresin: Diğer aminlerin toksisitesini artırma özelliğinin yanında hipotansiyona neden olurlar (60).

Kadaverin: Çene kilitlenmesine sebep olmakla birlikte diğer biyojen aminlerin toksisitesini artırma özelliği vardır (60).

Triptamin: Kan basıncını yükselmesine sebep olur (60).

Feniletilamin: Vazoaktif özelliğe sahiptir. Histamin zehirlenmesi ve migrene neden olmaktadır (100).

Spermin ve Spermidin: Diğer aminlerin toksisitesinde artış meydana getirirler (100).

3.3.1. Histamin Toksikolojik Etkileri

Histaminin olumsuz etkileri bazı tür balık familyalarının tüketimiyle özdeşleşmiştir. Özellikle Scombridae (ton, uskumru, sardalye, tuna, bonito, palamut, İspanyol uskumrusu) ve Scomberesocidae (Zurna Balığı) familyalarına ait balıkların tüketimiyle toksik etkiler ortaya çıkmaktadır (30). Bu balıklar kas dokularında yüksek miktarda serbest histidin amino asidi içermektedirler. Histamin zehirlenmeleri çoğunlukla bu balıkların tüketimine bağlı olarak ortaya çıktığından dolayı, histamin zehirlenmelerine önceleri 'scombroid' ya da 'scombrototoxic' balık zehirlenmesi denilmiştir. Bununla birlikte scombroid dışındaki bu balıklar ile peynir vs. diğer bazı gıdaların da bu tip zehirlenmelere sebep olması nedeniyle zehirlenmeler 'histamin zehirlenmesi' şeklinde genelleştirilmiştir (40, 60).

Histamin zehirlenmesi inkübasyon süresi çok kısa olan bir intoksikasyondur. Zehirlenme belirtilerinin tüketimi takip eden birkaç dakika içinde görüldüğü belirtilmektedir (30). Bu süre yemeğin alınmasından sonra birkaç dakika ile bir kaç saat arasındadır. Hastalığın belirtileri bir kaç saat içerisinde yavaşlar fakat bazen bu belirtiler bir kaç güne kadar devam edebilir (42). Deride kırmızı

lekeler, terleme, kızarma, ağızda yanma ve kabarma hissi genel olarak belirtileridir. Mide bulantısı, kusma, diare, baş ağrısı, dilin ve yüzün şişmesi ise pek sık rastlanmayan diğer belirtilerdir (35).

Histaminin vaskular sistem üzerindeki olumsuz etkisinin bir sonucu olarak hipotansiyon oluşur. Ayrıca histaminin kapıllar geçirgenliğini artırması sonucunda ödem, ürtiker ve kan vizkozitesinde artış meydana gelir. Merkezi sinir sisteminde sinir ileticisi olmasının yanında histamin duyu ve motor sinirlerinin etkili bir uyarıcısıdır. Zehirlenme belirtileri kesin olmamakla birlikte belirtilerin çoğu gıda kaynaklı ya da gıda orijinli olmayan diğer hastalıklardan kaynaklanmış olabilir. Gıda alerjilerinde ve histamin zehirlenmelerinde aynı belirtilerin görülmesinden dolayı histamin zehirlenmesi teşhiste sık sık gıda alerjisiyle karıştırılır ve antihistaminler her iki hastalığın tedavisinde de aynı olumlu sonucu gösterir (42).

Gıda zehirlenmelerinden sorumlu bir madde olmasının yanında histamin diğer bir yönden de yıkım olayları indikatörüdür (101). Gıdalarda bulunan az miktardaki histamin, tüketici için sağlık tehlikesi oluşturmazken önemli düzeyde histamin oluşturma kapasitesine sahip *Proteus Morganii* gibi belirli türler histamin içeriğinin sağlığa zarar verecek limiti aşmasına sebep olabilirler (69). Balıktaki histamin miktarının 50 mg/100g'dan fazla düzeyde olması durumunda histamin zehirlenmesiyle karşılaşılacağı bildirilmektedir (60).

Buna rağmen, histamin ağızdan tek başına verildiğinde toksik özellik taşımaz ve histamin zehirlenmesinden sorumlu tutulmaz. Çünkü normal şartlarda histamin bağırsaklarda monoaminoksidaz (MAO), diamin oksidaz (DAO) ve N-metiltransferaz (HMT) enzimleri tarafından detoksifikasyona uğratılmaktadır.

Bağırsak ortamında özellikle putresin ve kadaverin gibi putreaktif aminlerin bulunması histamini detoksifiye eden enzimleri engelleyerek histaminin vücuttaki toksik özelliğini yükseltmektedir. Diğer bazı biyojenik aminlerin de kısmen de olsa histaminin toksik özelliğini artırdığı bildirilmektedir (66).

Histamin zehirlenme vakaları dünyada belli tip balıkların çok tüketildiği ülkelerde sıkça duyulmuştur. 1800'lü yıllarda balık tüketimiyle, histamin zehirlenmesinin belirtilerine benzer bir hastalık meydana gelmiştir. O tarihlerde vakanın histamin zehirlenmesi olduğu henüz anlaşılamamıştır. Histamin zehirlenmesini ilk olarak ortaya çıkaran ise Japon bilim adamlarıdır. Japonyada 1950'lerde histamin zehirlenmesi gıda kaynaklı hastalığın esas nedeni olarak teşhis edilmiştir ve 1950'lerden bu zamana histamin zehirlenmesi olayları kayıt altına alınmıştır. Diğer ülkelerde ise bu teşhis 1970'lere kadar başlamamıştır. 1970'ten sonra zehirlenme olaylarını en çok kaydeden ülkeler; Japonya , ABD ve İngiltere olmuştur. Kanada, Yeni Zelanda, Fransa, Almanya, Norveç, İsveç, Çekoslavya, Hollanda, Avustralya, Sri-Lanka, Endonezya, Güney Afrika ve Mısır dahil çeşitli ülkelerde histamin zehirlenmesi olaylarıyla daha az karşılaşmıştır (42).

Japonyada 1951'den 1954 e kadar olan 14 histamin zehirlenmesi olayı hakkında epidemiyolojik bilgi yayınlanarak bu 14 olaydan 11'inin kurutulmuş balıktan kaynaklandığı, kalan 3 olayın ise konserve balık yenmesiyle ortaya çıktığı belirtilmiştir (102).

Fransa'da histamin zehirlenmesi olayları 1940'lardan sonra kaydedilmiş ve en çok ton balığının tüketilmesiyle ortaya çıkmıştır. 1956'da Fransa'da 500 kişinin etkilendiği büyük bir zehirlenme olayı vuku bulmuştur. Yine Fransa'da 1980 den 1983 e kadar 10 vaka olmuş ve bu olayların 5'inden ton balığının 5' inden

ise sardalya, ringa, gravyer peynirinin sorumlu olduğu belirtilmiştir (42).

ABD’de 1978-87 yılları arasında deniz ürünleri intoksikasyonu nedeniyle 750’den fazla kişinin scombroid balık zehirlenmesi yaşadığı ifade edilmektedir. Yine 1973 yılında ABD’de konserve ton balığı tüketiminden kaynaklandığı belirlenen 254 histamin zehirlenmesi vakasında histamin konsantrasyonunun 700-2800 ppm arasında değiştiği bildirilmiştir (58,62).

3.3.2. Biyojen Aminlerin Toksik Limitleri

Histaminin gıdalarda yüksek miktarlarda bulunması ve histamin zehirlenmesine sebebiyet vermesinden dolayı bazı ülkeler resmi düzenlemeler ile belirli gıdalar ve özellikle balık ve balık ürünleri için maksimum kabul edilebilir histamin içeriğini belirleyerek limit oluşturmuşlardır (103).

Tablo 7. Peynire bağlı histamin zehirlenmesi vakaları ve zehirlenmelerde belirlenen histamin miktarları (40)

Yıllar	Yer	Peynir	Vaka Sayısı	Histamin(mg/100g)
1967	Hollanda	Gauda	1	85
1976	Washington	İsviçre	38	>100
1976	Kaliforniya	İsviçre	1	>100
1980	Kanada	Cheddar	1	40
1980	New Hampshire	İsviçre	6	>100
1980-83	Fransa	Gruyere	4	30

Hafif seyreden belirtilerde histamin düzeyinin 1,5 mmol/kg dozda olması ile zehirlenme belirtileri görünür. Bununla birlikte gıdalarda toksik olarak minimum histamin içeriğinin belirlenmesi mümkün olmamaktadır. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (U.S., F.D.A.) limitleri belirterek ton balığında histamin için 4,5 mmol/kg seviyesinin tehlikeli olduğunu belirtmiştir. Süt ürünleri için ise böyle bir limit yoktur (95).

İlaç almayan 12 sağlıklı kişide yapılan bir araştırmada deneklere ağız yoluyla farklı dozlarda tiramin verilmiş ve 3 mmol doz seviyesine kadar sistolik kan basıncında oluşan yükselmenin önemli olmadığı ifade edilmiştir. Yapılan bir çalışmada toksikolojik olarak bir tehlike oluşturabilmesi için yüksek düzeyde tiramin alınması gerektiği ortaya konmuştur. Yine aynı araştırmada herhangi bir ilaç kullanmayan hastalarda en düşük dozda (0,03 mmol) feniletilaminin baş ağrısına sebep olduğu da belirtilmiştir (95).

3. 4. Peynirlerde Olgunlaşma ve Biyojen Aminler

Peynirlerde olgunlaşma; glikoliz, lipoliz ve proteoliz gibi biyokimyasal olayları içermektedir. Glikoliz, peynir üretiminin başladığı birkaç gün ya da bir hafta içinde büyük çoğunlukla tamamlanırken, peynir olgunlaşmaya devam ettiği sürece lipoliz ve proteoliz de devam etmektedir (104). Peynirin olgunlaşması sırasındaki proteoliz olayı ile aminoasitler meydana gelmektedir. Bu aminoasitlerin belirli bir düzeyde olması ile ayrıca ortamda bulunan mikroorganizmaların türü ve sayısı ile toksik düzeyde biyojen amin oluşumu gerçekleşebilmektedir (96). Bu sebeple peynirlerde olgunlaşmanın ve dolayısıyla proteolizin devam ettiği durumlarda biyojen amin miktarının en üst seviyede olduğu ifade edilmektedir. Peynirlerde histamin oluşumunun özellikle proteoliz sırasında gerçekleştiği bildirilmektedir (105).

Proteoliz aşamasında peynirin, rengi, lezzeti ve yapısında belirgin şekilde değişiklikler olmaktadır. Tam olarak bu aşamada biyojen aminler oluşmaktadır (40). Peynirlerin olgunlaşması sırasında biyojen aminler oluşurken sütü pıhtılaştıran enzimler, starter kültürler, süt proteazları ve kontamine mikrofloranın etkisi olmaktadır (106). Peynirde biyojen aminlerin varlığı büyük

ölçüde kullanılan çiğ sütün kalitesi ile ilgilidir. Eğer pastörize edilmemiş süt kullanılmışsa ürünün laktobasillerle kontaminasyonunu engellemek güçleşir ve bu bakteriler olgunlaşmanın ilk devrelerinde kolayca çoğalarak biyojen amin oluşumuna sebep olabilirler (50).

3. 5. Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N), Fosfotungustik Asitte Çözünen Azot (PTA-N) ve Proteoliz

Proteoliz, tüm peynirlerin kalite ve olgunluk durumunu belirlemede çok önemli bir yere sahip olan kompleks ve dinamik yapıda bir biyokimyasal prosestir. Peynir kitlesinin özünü oluşturan kazeinin olgunlaşma boyunca geçirdiği biyokimyasal reaksiyonların tümünü kapsar. Peynirdeki azotlu madde fraksiyonlarının belirlenmesinin haricinde bazı spesifik metodlara da başvurarak proteoliz saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla da peynirde protein parçalanmasına yönelik çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri, çözücülerle veya çöktürücülerle muamele ettirerek peynirdeki azotlu maddeleri çeşitli fraksiyonlara ayırmak ya da bazı fonksiyonel grupların serbest kalmasını sağlamaktır. Diğeri ise, peynirdeki azotlu maddelerin (peptidleri) çeşitli kromatografik veya elektroforetik yöntemlerle ayrılmasını sağlamaktır (107). Olgunlaşmanın derecesi hakkında suda (SÇA), % 12'lik trikloroasetikasitte (TCA) ve % 5'lik fosfotungustik asitte (FTA) çözünen peptit ve aminoasitler gibi ikincil proteoliz ürünlerinin düzeylerinin belirlenmesi de önemli bilgiler vermektedir (108).

3. 6. Histamin Analiz Yöntemleri

Gıdalarda biyojen amin analizleri, gıdanın tüketilmesinin yanında öncelikli olarak potansiyel sağlık tehlikesi taşıyan maddelerin tayin edilmesi

açısından bir gerekliliktir (109). Ancak biyojen amin analizlerinde gıda maddelerinin kompleks matrikse sahip olmaları ve interferans (girişim) yapan çok sayıda maddenin ortamda bulunmasının yanında pek çok biyojen aminin de aynı sıvı ekstraktta bulunması karşılaşılan problemlerden bazılarıdır (35). Tüm zorluklara rağmen gıdalarda biyojen amin analizleri için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin hepsi temel olarak iki prensipten oluşmaktadır (110):

1. Amin ekstraksiyonu ve saflaştırma
2. Aminlerin analitik bir yöntemle tespiti

Ekstraksiyon aşaması, kritik bir basamaktır ve söz konusu aminlerin gıda matriksinden izole edilmesi için gereklidir (111). Gıdalarda aminlerin ekstraksiyonu için perklorik asit (HClO_4), trikloro asit (TCA), hidroklorik asit (HCl) gibi asitler ve metanol gibi organik çözücüler en çok kullanılan kimyasallardır (110). Girişim yapan maddeler nedeniyle, ilave ekstraksiyon aşamaları gerekebilmektedir (35).

Ekstraksiyonun hemen ardından saflaştırma işlemi gerçekleştirilir. Bu işlemin derecesi, tespit için uygulanacak analitik tekniğe bağlı olarak değişkenlik gösterir. Saflaştırma işlemi kolon kromatografisi ya da organik çözümlerle sıvı-sıvı ekstraksiyonu şeklinde yapılabilmektedir (110).

En eski histamin tayin yöntemi biyolojik tayin olarak bilinmektedir. Fakat teknoloji geliştikçe bu yöntem yerini daha kolay ve daha doğru sonuçlar veren kimyasal yöntemlere bırakmıştır. Histamin tayini için en yayginkullanılan yöntemler fluorometrik, enzimatik, ve kromatografik yöntemlerdir (42).

3.6.1. Fluorometrik Yöntem: Bu yöntem gıda ekstratının bir anyon değiştirme, histaminin ortofitaldehit ile derivatizasyonu ve sonuçtaki bileşiğin floresensinin ölçülmesi işleminden ibarettir. Histaminin fluorometrik tayini konusunda pek çok uygulama yapılmıştır. Taylor ve arkadaşları (1978), balık ürünleri, et ürünleri ve peynir gibi bir çok gıdaya uygulanabilecek bir fluorometrik yöntem geliştirerek histaminin fluorometrik tayini üzerine çalışmışlardır.

3.6.2. Enzimatik Yöntem: Kan ve diğer biyolojik örneklerde histamin analizi için geliştirilen bu yöntemde, histamin N-metiltransferaz (NMT) ve radyoaktif S-adenosil metionin enzimleri kullanılırken gıdalarda histamin analizlerinde yaygın bir şekilde kullanılmamıştır (42).

3.6.3. Kromatografik Yöntemler: Kromatografi, bir karışım içindeki bileşenlerin biri sabit (stationary), diğeri hareketli (mobil) iki faz arasındaki dağılım dengelerinin farklı oluşu esasına dayanan bir ayırma yöntemidir. Kromatografinin başlıca amacı, bir örnekteki bileşenler arasında ayrılmanın gerçekleştirilmesidir (112). Gıdalarda biyojenik aminler belirlenirken çoğunlukla ince tabaka (TLC), yüksek basınç tabaka (Over-pressure LC), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) , gaz kromatografisi (GC) ve ELISA gibi kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında, GC ve HPLC yöntemleri en hızlı ve hassas sonuçlar elde edildiği için genellikle daha çok tercih edilmektedir (113).

Birçok biyojen amin, UV ya da fluoresans absorpsiyon göstermediği için, çeşitli reaktiflerle türevlendirme yapılması gerekmektedir (114). Ayrıca, bu işlem ile analizlerde hassasiyet de artmaktadır.

Gıdalarda biyojenik aminlerin tespit edilmesi genel olarak ekstraksiyon, türevlendirme (derivatizasyon) ve tespit aşamalarından oluşur (35).

Türevlendirme işlemi pre-kolon (kolona uygulama öncesi) veya post-kolon (kolona uygulama sonrası) floresans ya da UV alanda tutulan amin türevlerinin oluşturulması şeklinde yapılabilmektedir (115). Amin analizlerinde farklı türevlendirme reaktifleri kullanılmakla birlikte, yeterli derecede hassasiyeti ve türevlerinin stabilitesi nedeniyle en çok kullanılan türevlendirme reaktifi olarak dansil klorür (5-Dimetilamino-naphthalen-1- sulfonylchloride), kullanılmaktadır (53).

Alifatik ve aromatik aminlerin belirlenmesi ile ilgili bazı önemli çalışmalar literatürde yer almıştır. Van Boekel ve Arentsen-Stasse (116) , peynirdeki aromatik biyojenik aminlerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada Gouda peynirini TCA ile ekstrakte ettikten sonra yağın kristalize olması için santrifüj işlemi uygulamış ve bu şekilde kremleşmiş tabakayı uzaklaştırmışlardır. Kalan sıvı faz filtre edildikten sonra HPLC ile analizi yapılmıştır.

Kataoka ve arkadaşları ise (117), nitritlerle nitrozlanarak mutajenik ve kanserojenik aktiviteye sahip nitrozaminleri oluşturan gıdalardaki sekonder aminlerin belirlenmesi için GC-FPD yöntemini kullanmışlardır. Ancak çok küçük molekül ağırlığına sahip aminlerin sudaki çözünürlüklerinin fazla olması ve uçuculuklarının yüksekliğinden dolayı problemler olduğunu belirtmiştir.

Ordenez ve arkadaşları (118), peynirdeki biyojenik aminleri asetonitril ve perklorik asit kullanarak ekstrakte edip, dansil klorür ile türevlendirmişlerdir. Türevleri etil asetat fazına aktardıktan sonra vakumlayıp, asetonitrilde seyreltip HPLC ile analiz etmişlerdir.

Skog ve arkadaşları ise (119), gıdalar üzerine yaptıkları çalışmada, yanlış ısıtma işlemleri sonucunda bir çok yiyeceğin kanserojen ve mutajen heterosiklik amin oluşturduğunu belirlemişlerdir. Bu tür biyojen aminleri gıda örneklerinden katı-faz ekstraksiyonu ile izole ederek yapılarını GC-MS ile aydınlatmışlardır. Bu çalışmada polar olmayan kanserojen heterosiklik aminlerin, gıda örneklerinde 0,03-0,2 mg/g seviyede bulunabileceği belirtilmiştir.

Standara (120), tarafından peynirler üzerine bir çalışma yapılmış ve peynir örnekleri trikloroasetikasit ile homojenize ve ekstrakte edilerek, 3 °C'e sıcaklığa soğutulup yağlı faz uzaklaştırılmıştır. Bu çalışmada filtre edilen sıvı kısmının 200 µl'si kolona uygulanarak iyon değiştirme kromatografisi methoduyla hızlı, hassas ve geçerli sonuçların elde edilebileceği, peynirdeki biyojenik aminlerin (histamin, kadaverin, triptamin, agmatin, spermidin, spermin) tespit edilebileceği gösterilmiştir.

Kalac ve arkadaşları tarafından (121), dondurulmuş gıda ürünlerinde yapılan başka bir çalışmada, biyojenik aminler micellar elektro kinetik kapiller kromatografisi tekniğiyle benzolklorür ile türevlendirilerek N-benzamidler olarak, dondurulmuş bezelye, ketçap, dondurulmuş püre ve domates salçalarında 7 biyojenik amin (histamin, tiramin, triptamin, putresin, kadaverin, spermidin, spermin) tespiti yapılmıştır.

3.6.4. ELISA İle Histamin Analizi

Yapılan çalışmalarda ELISA nın gıdalarda histamin analizi için uygun bir yöntem olduğu tespit edilmiştir. HPLC kadar yaygın olmamakla birlikte gıdalarda biyojen amin analizleri için kullanılmaktadır.

Gıdalarda ELISA ile kantitatif (nicel) histamin analizleri için N-acylhistamine içeren bir asilasyon reaktifi kullanılarak türevlendirme aşaması gerçekleşir. ELISA'da asillenmemiş histamin ve bağlı histamin, antikor bağlayıcı yerler için rekabet ederler. Yıkama işlemi sonrası, peroksidaz (enzim eşleniği) ile etiketlenmiş ikincil antikorlar eklenir. Bu antikorlar antikor-histamin komplekslerine bağlanırlar. Hiçbir enzim eşleniği ile bağlanamamış olan antikorlar yıkama basamağından sonra yok olur. Enzim substratı ve kromojen, kuyucuklara eklenir ve inkübasyona bırakılır. Enzim eşleniği ile bağlı olan ve kromojen içeren kuyucuklar mavi bir renge dönüşür. Stop solüsyonunun eklenmesi ile maviden sarıya bir renk değişimi oluşur. 450 nm'de fotometrik bir ölçüm yapılır ve örnekte absorpsiyon derecesi, histamin konsantrasyonu ile ters orantılı olarak belirlenir.

Aygün ve arkadaşları (122), yaptıkları bir çalışmada peynirlerde histamin için, doğrudan enzim bağlantılı rekabetçi ELISA ile ters fazlı sıvı kromatografisi olan HPLC yöntemini karşılaştırmışlardır. 50 adet ticari peynir örneğinde yapılan çalışmada ELISA için peynirler önce fosfat tamponlu tuzlu su ile (PBS) homojenize edilmiş, santrifüj edilerek süzölmüş ve süpernatant PBS ile seyreltilmiştir. HPLC için ise biyojenik aminler (histamin, tiramin, putresin ve kadaverin), 9-fluorenylmethyl chloroformate ile türevlendirilmiş ve ters faz kromatografisi ve floresans saptama ile takip edilmiştir. Tespit limiti ve ortalama geri kazanım (10-1000 mg / kg) sırasıyla, 2 mg / kg , ELISA için % 93 ve 1 mg / kg, HPLC için % 99 olarak bulunmuştur. Peynirde histamin analizinde her iki yöntemin de iyi bir uyuma gösterdiği görölmüş ve bu çalışma ELISA testinin peynirlerde histamin tespiti için uygun olduğunu göstermiştir.

Marcobal ve arkadaşları (123)'nın yaptığı başka bir çalışmada ise farklı olgunlaştırma prosedürlerinin uygulandığı 61 adet ticari İspanyol kırmızı şarap örneğinde biyojen amin tespitinde HPLC ve ELISA yöntemleri karşılaştırılmıştır. Biyojen amin (histamin, metilamin, etilamin, tiramin, feniletilamin, putresin ve kadaverin) analizleri o-fitaldialdehit ile kolon öncesinde türevlendirilerek floresans saptama ile HPLC tarafından gerçekleştirilmiştir. Histamin ve putresin yaygın olmak üzere mevcut miktarları % 75 ve % 71 olarak bulunmuştur. Ayrıca bulunan biyojen aminlerin kabul edilebilir limitin altında olduğu ve fizyolojik olarak herhangi bir toksikolojik etkiye neden olmadığı da bildirilmiştir. Bu test ve sonuçlar rekabetçi immüno metodlu ELISA ile karşılaştırılmış ve şarapta histamin analizinde sonuçların birbirine uyumlu olduğu belirtilmiştir.

3.7 . Çalışmanın Amacı

Ülkemizde beyaz ve kaşar peynirinden sonra en çok bilinen ve tercih edilen tulum peynirinin her ne kadar standart bir üretim tekniği olmasa da özellikle Elazığ, Erzincan, Tunceli ve Bingöl yöresinde üretimi ve tüketimi yönüyle önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada farklı yörelerde üretilen ve Elazığ'da tüketime sunulan kuru tulum peynirlerinde bazı kimyasal kalite parametrelerinin incelenmesiyle birlikte, bu peynirlerin olgunlaşma düzeyleri ile histamin miktarlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4. 1. Gereç

Araştırmada, Elazığ ilindeki market ve semt pazarları olmak üzere farklı satış noktalarında tüketime sunulan ve 10'ar gün aralıklarla alınan 40 adet tulum peyniri materyal olarak kullanıldı. Farklı zamanlarda toplanan 200'er gram tulum peyniri numunesi, aseptik şartlarda steril cam kavanozlar içine alınarak, aseptik şartlarda laboratuvara getirildi ve analizleri yapıncaya kadar 4 ± 1 °C'de saklandı. Örneklerin mümkün olduğunca değişik markaları temsil etmesine ve farklı market ve bakkallardan alınmasına özen gösterildi.

4. 2. Kimyasal Analizler

4.2.1. Rutubet

Örneklerdeki rutubet miktarlarının saptanmasında TSE nin önerdiği metot uygulanmıştır (124). Numuneler rutubeti uçurulmuş porselen krozelere 4-5 g tartılmış ve 105 ± 2 °C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Belirlenen rutubet miktarı 100'den çıkarılarak kuru madde miktarı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Rutubet} = \frac{G_1 - G_2}{G_1 - G} \times 100$$

G:Kapsül darası

G₁:Kapsül+örnek

G₂:Kurutulduktan sonraki kapsül+örnek

4.2.2. Yağ ve Kuru Maddede Yağ

Örneklerin içermiş oldukları % yağ miktarı American Dry Milk Institue'nin önerdiği Gerber metodu uygulanarak belirlendi (125). Peynir bütirometrelerinin kadehçiklerine 3'er g kıyılmış peynir numunesi tartıldı. Bütirometrelere yerleştirildikten sonra, bütirometrelerin üst ağızlarından yoğunluğu 1,525 g/cm³ olan 10'ar ml sülfirik asit ilave edildi. Bütirometreler, içindeki peynir numunelerinin tamamen erimesi ve yağın açığa çıkması amacıyla içi distile su dolu bir beherin içinde, 60-70°C'deki su banyosunda yaklaşık 20 dk bekletildi. Daha sonra bütirometrelerin skala kısımlarından, yağın berrak bir şekilde okunabilmesi amacı ile 1'er ml amil alkol eklendi ve bütirometre üzerindeki 35 çizgisine kadar tekrar aynı yoğunluktaki sülfirik asitten ilave edildi. Bu işlemlerden sonra bütirometrelerin tıparları kapatıldı ve alt üst edilerek Gerber santrifüjünde 10 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Santrifüj sonrası bütirometrelerin skalasından yağ miktarları % gram olarak okundu. Yüzde kuru maddede yağ miktarları ise, kuru madde ve yağ oranları değerleri üzerinden hesaplandı.

% Yağ

$$\text{Kuru Maddede Yağ (\%)} = \frac{\text{Yağ}}{\text{Kuru Madde}} \times 100$$

% Kuru Madde

Sülfirik asit (d= 1,525)

Amil alkol (d=0,815)

4.2.3. Tuz ve Kuru Maddede Tuz

Numunelerin tuz miktarları, Türk Standardları Enstitüsü'nün önerdiği Mohr metoduyla belirlendi (124). Numuneler, 500'er ml'lik balonların içine 5'er g tartıldı ve her birine 250 ml distile su ilave edilerek tuzun çözeltiye geçmesi amacı ile 60-70 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletildi. Daha sonra her biri 500 ml'ye tamamlanıp, solusyonlar süzgeç kâğıtları ile başka erlenlere süzüldü. Süzüntülerden 50 ml alındı ve üzerlerine indikatör olarak % 5'lik K₂CrO₄ (potasyum kromat) çözeltisinden 1'er ml ilave edildi. Daha sonra 0,1 N AgNO₃ (gümüş nitrat) solusyonu ile tuğla kırmızısı renk meydana gelinceye kadar titre edildi. Titrasyon sonrası harcanan miktar kaydedilerek, % tuz oranları metottaki formüle göre hesaplandı. Kuru maddede tuz miktarları ise kuru madde ve tuz oranları değerleri üzerinden hesaplandı.

$$\text{Harcanan AgNO}_3 \text{ (ml)} \times 0,00585 \times 100 \times 500$$

$$\% \text{ Tuz} = \frac{\text{Harcanan AgNO}_3 \text{ (ml)} \times 0,00585 \times 100 \times 500}{\text{Alınan numune miktarı (g)} \times 50}$$

$$\text{Alınan numune miktarı (g)} \times 50$$

$$1 \text{ ml } 0,1 \text{ N AgNO}_3 = 0,00585 \text{ g NaCl}$$

4.2.4. Kül Tayini

Numunelerin kül miktarları Association of Official Analytical Chemist'in önermiş olduğu metoda göre belirlendi (126). Metoda göre rutubeti uçurulmuş numuneler porselen kül potalarına 1g tartıldı ve kül fırınında sıcaklığı tedricen

arttırılarak 550°C’de 2 saat yakıldı. Yüzde kül oranları metottaki formülden yararlanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Kül} = \frac{G3 - G1}{G2 - G1} \times 100$$

G1= Kül potasının darası

G2= Kül potasının darası + örnek

G3= Yakıldıktan sonraki geriye kalan numunenin ağırlığı + dara

4.2.5. Asitlik Tayini

Numunelerin asidite değerleri % laktik asit cinsinden Türk Standardları Enstitüsü’nün önermiş olduğu metot dikkate alınarak saptandı (124). Numunelerden 10’ar g erlenlere tartıldı. Üzerlerine 40 °C’deki distile sudan yavaş yavaş ilave edildi. Cam bagetle ezilerek solüsyon haline getirildi. Kuvvetlice çalkalandıktan sonra solüsyonlar 100 ml ye tamamlandı ve süzüldü. Süzüntülerden 25’er ml alındı. Üzerlerine 2-3 damla fenolfitalein indikatörü damlatıldıktan sonra 0,1 N sodyum hidroksitle titre edildi. Titrasyonda harcanan miktar formüle edilerek asitlik değeri hesaplandı.

$$\text{Asitlik Değeri} = \frac{A \times 0,009}{B} \times 100$$

(% Laktik asit cinsinden)

A= Titrasyonda sarfedilen 0,1 N NaOH miktarı (ml)

B= Titrasyonda kullanılan peynir miktarı (2,5 g)

4.2.6. pH Tayini

pH tayini American Public Health Association'a (127) göre yapıldı. Bu amaçla 25 ± 1 °C'de, su fazında ölçüm yapan, bir pH metre (EDT, GP 353) kullanıldı. 10 g örnek üzerine 100 ml distile su ilave edilerek stomacher poşetlerinde önce numuneler iyice karıştırılarak homojen hale getirildi. Hazırlanan numunelere pH metrenin elektrodu daldırılarak, skaladan pH değerleri okundu.

4.2.7. Su Aktivitesi (a_w) Tayini

Örneklerdeki a_w değerleri su aktivitesi tayin cihazı ile (TESTO-400) ölçüldü (128).

4.2.8. Toplam Azot ve Protein Tayini

Protein oranlarını bulmak için yaş yakmaya tabi tutulan örnekler yakma ünitesine yerleştirilmek üzere Kjeldahl tüplerine 1'er g olarak tartıldı. Üzerlerine 1'er adet katalizör tableti bırakılarak 30 ml H_2SO_4 ilave edildi. Örnekler 2 saat yakıldıktan sonra Mikro Kjeldahl yöntemi ile bulunan % azot miktarı 6,38 faktörü ile çarpılarak % protein miktarları hesaplandı (129).

$$(V_1 - V_0) \times N \times 0,014 \times 100$$

$$\% \text{ Azot} = \frac{\text{Örnek miktarı (g)}}{\text{Örnek miktarı (g)}}$$

Örnek miktarı (g)

V₁=Harcanan HCl miktarı (ml)

V₀=Kör deneme için harcanan miktar (ml)

N=HCl'in normalitesi

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times 6,38 \text{ (süt ve ürünleri için)}$$

4.2.9. Suda Çözünen Azot (SÇA) Oranı Tayini ve Olgunlaşma

Derecesi

Kuchroo ve Fox'un (130), belirttikleri yöntemle göre suda çözünen azotlu bileşiklerin uzaklaştırılması sağlandı. Bu sebeple 10 g peynir örneğine 40 ml su ilave edilerek karıştırılıp stomacher'de 2 dakika homojenize edildi. Karışım 1 saat 40 °C'deki su banyosunda tutuldu ve daha sonrasında 4300 rpm devirde ve +4 °C'de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, üst kısımdaki yağ tabakası bir spatül ile uzaklaştırıldıktan sonra, sıvı kısım Whatman No.42 beyaz bant filtre kağıdından süzüldü. Filtrattan 10 ml alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile (IDF, 1993) SÇA içeriği saptandı. Kalan süzüntü diğer analizlerde kullanıldı.

$$[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N]$$

$$\% \text{ Suda çözünen azot (w/w)} = \frac{\text{m}}{\text{m}}$$

m

V1: Örnek için harcanan HCl miktarı (ml)

V0: Kör denemede harcanan HCl miktarı (ml)

N: HCl'in standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

SÇA değerinin toplam azota oranı olarak ifade edilebilen olgunlaşma derecesi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı (131).

Olgunlaşma Derecesi = % SÇA x 100 / % Toplam Azot

4.2.10. % 12'lik Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N) Oranı

SÇA'da hazırlanan ekstraktan 25 ml alınarak eşit hacimde % 24'lük TCA çözeltisinden son TCA konsantrasyonu % 12 olacak şekilde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika beklettikten sonra, karışım Whatman No. 42 beyaz bant filtre kağıdından süzüldü ve filtrattan 10 mL alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile (IDF, 1993) TCA'da çözünür kısmın azot içeriği saptandı (132).

$$[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N]$$

% 12 TCA'da çözünen azot (w/w)=_____

m

V1: Örnek için harcanan HCl miktarı (ml)

V0: Kör denemede harcanan HCl miktarı (ml)

N: HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

4.2.11. % 5 Fosfotungstik Asitte Çözünen Azot (PTA-N) Oranı

Jarrett ve ark. (133), belirttikleri yöntemle göre, suda çözünen azotta hazırlanan ekstraktan 5 ml alındı ve üzerine 3,5ml 3,95 M H₂SO₄ çözeltisi ile 1,5 ml % 33,3'lük PTA çözeltisinden ilave edildi. Karışım +4°C'de 1 gece bekletildikten sonra Whatman No. 42 filtre kağıdından süzüldü. Elde edilen süzütünün azot içeriği mikro-Kjeldal metodu ile (IDF, 1993) saptandı. Formüle edilerek % 5 PTA'da çözünen azot oranı bulundu.

$$\% 5 \text{ PTA'da çözünen azot (w/w)} = \frac{[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N]}{m}$$

V1: Örnek için harcanan HCl miktarı (ml)

V0: Kör denemede harcanan HCl miktarı (ml)

N: HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

4. 3. Histaminin Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

ile Belirlenmesi

Numunelerdeki histamin miktarları, Almanya orijinli Histamin Kiti (Rida Screen Histamin Art No: R1604) aracılığıyla ELISA okuyucu (Biotek ELX 800) ile 450 nm'de tayin edildi.

4.3.1. Peynir Numunesinin Hazırlanması

10 g peynir örneği alınarak homojenize edildi. Bu örnekten 1 g plastik bir santrifüj tüpüne alınarak üzerine 9 ml distile su ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tüpler santrifüje yerleştirildi ve 2500 g devirde 5 dakika oda sıcaklığında (20-25°C) santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki yağ tabakasını almadan süpernatanttan 1 ml alınıp ayrı bir plastik tüpe geçildi. Üzerine 9 ml distile su eklenerek karıştırıldı. Bu sulandırmadan 200 µl alınıp başka bir tüpe geçildi ve üzerine bu kez 9,8 ml su eklenerek karıştırıldı. Bu sulandırmadan da 100 µl alınarak acylation kuyucuklarına doldurularak enzim immüno testi için kullanıldı.

4.3.2. Acylation için Numune Hazırlanması

Kit ile birlikte verilen 6 tane 0, 0,5, 1,5, 5, 15 ve 50 ppb konsantrasyonlarındaki histamin standartlarından 3 ve 10 ppb konsantrasyonundaki 2 adet kontrol tüplerinden ve hazırlanan numunelerden acylation kuyucuklarına 100'er µl dolduruldu. Sonra üzerlerine kitin içerisinde kullanıma hazır olan acylation reagent'ından 25µl eklendi. Daha sonra üzerlerine yine kitle birlikte verilen acylation buffer'ından 200 µl ilave edildi. Hafifçe sallanarak karıştırıldı ve 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bu solüsyondan 25 µl ELISA için kullanıldı.

4.3.3 ELISA için Numune Hazırlanması

Acylation için hazırlanan tüm numunelerden aynı sıra ve pozisyonda ELISA plate'ine 25 µl numune konuldu. Üzerlerine 100 µl anti-histamin antikor solüsyonundan ilave edildi. Hafifçe sallanarak 40 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Bu işlemler gerçekleştirilirken işlemlerin birbiri ardınca yapılmasına özen

gösterildi. Bu şekilde kuyucukların kurumamasına dikkat edildi. İnkübasyondan sonra plate ters çevrilerek emici bir kağıt üzerine 3 kez sert bir şekilde vurularak içindeki tüm solüsyonların dökülmesi sağlandı. Sonra kuyucuklar 250 µl washing buffer ile doldurularak tekrar boşaltıldı ve bu yıkama işlemi 3 kez tekrar edildi. Kuyucuklar boşaltıldıktan sonra 100 µl konjugate solüsyonundan ilave edildi ve 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi tekrar edildi ve boşaltılan kuyucuklara 100 µl substrat/ chromogen solüsyonundan ilave edilerek plate bu kez karanlık bir yerde 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu bırakıldı ve hafifçe sallayarak karıştırıldı. Karıştırma işlemini takiben ELISA cihazında 450 nm’de okundu.

4.4. İstatistiksel Analizler

Örneklerdeki bazı parametler arasında bir ilişkinin olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan hesaplamalarda SPSS 15.0 programından (for Windows Evaluation Version) yararlanıldı. Bu amaçla 40 adet peynir örneğinin herbirindeki olgunlaşma değerleri ile histamin düzeyleri arasında pozitif ya da negatif bir korelasyonun varlığını tespit etmek için Pearson Correlation testi yapıldı.

5. BULGULAR

Elazığ'da farklı satış noktalarından alınan 40 adet tulum peynirindeki bazı kimyasal analiz sonuçları tablo 8'de gösterilmektedir. Tablodan da anlaşıldığı üzere örneklerdeki pH miktarlarının 4,04 ile 5,69 arasında değiştiği ve ortalamanın $5,10 \pm 0,40$ olduğu, asitlik değerinin ise (% laktik asit cinsinden) en az % 0,94, en çok % 2,62 ve ortalamanın $1,80 \pm 0,38$ olduğu gözlemlendi. Örneklerdeki kuru madde oranları en çok % 60,82 ve en az % 33,05 olarak, ortalama kuru madde miktarı ise $54,94 \pm 5,13$ olarak hesaplandı. Yağ oranı en az % 5,00, en çok, % 36,00 ortalama $27,35 \pm 6,85$, kül miktarı en çok %5,03, en az % 0,39, ortalama $3,37 \pm 0,91$ olarak, su aktivitesi ise en çok 0,98, en az 0,80, ortalama $0,93 \pm 0,03$ olarak hesaplandı. Örneklerdeki tuz oranının ise % 2,1 ile % 4,68 arasında değiştiği ve ortalama $3,293 \pm 0,60$ değerini aldığı görüldü.

Tablo 8. Tulum peyniri örneklerinin bazı kimyasal analiz sonuçları

Analizler	En çok	En az	Ort. $\pm$ Std. sapma
pH	5,69	4,04	$5,10 \pm 0,40$
Asitlik (% laktik asit)	2,62	0,94	$1,80 \pm 0,38$
Kuru madde (%)	60,82	33,05	$54,94 \pm 5,13$
Tuz (%)	4,68	2,10	$3,29 \pm 0,60$
Kül (%)	5,03	0,39	$3,37 \pm 0,91$
Yağ (%)	5,00	36,00	$27,35 \pm 6,85$
Kuru Maddede Yağ (%)	59,19	15,13	$49,09 \pm 10,53$
a_w	0,982	0,80	$0,93 \pm 0,03$

Örneklerdeki azot fraksiyonları ise Tablo 9’da gösterilmektedir. Buna göre piyasada satışa sunulan farklı özellikteki 40 tulum peyniri örneğinin toplam azot oranı yapılan analizlerle en çok % 4,00, en az %2,71 ortalama % $3,25 \pm 0,29$ olarak bulundu. Toplam azot miktarları formüle edilerek örneklerin protein oranları hesaplandı. Buna göre sonuçların % 17,28-25,52 arasında değiştiği ve ortalamanın ise % $20,76 \pm 1,93$ olarak bulunduğu görüldü.

Tablo 9. Peynir örneklerinin azot fraksiyonları analiz sonuçları

Azot Analizleri	En çok	En az	Ort. $\pm$ Std.sapma
Protein (%)	25,52	17,28	$20,76 \pm 1,934$
Toplam Azot (%)	4,00	2,71	$3,25 \pm 0,299$
Suda Çözünen Azot (%)	1,17	0,51	$0,795 \pm 0,162$
%12’lik TCA’da	0,69	0,32	$0,4982 \pm 0,092$
Çözünen Azot (%)			
%5’lik PTA’da	0,27	0,069	$0,1743 \pm 0,065$
Çözünen Azot (%)			

Yine Tablo 9’da peynirlerde proteolizin bir ölçüsü olarak bilinen suda çözünen azot oranlarının en az % 0,51, en çok % 1,17 ve ortalamanın % $0,79 \pm 0,16$ olduğu gözlemlendi. Aynı tabloda gösterildiği gibi % 5’lik PTA’da çözünen azot oranları 40 örnekte en çok % 0,27, en az % 0,06 ve ortalama % $0,17 \pm 0,06$ olarak elde edilirken, % 12’lik TCA’da çözünen oranları % 0,32-0,69 arasında seyrederek ortalama % $0,49 \pm 0,09$ olarak hesaplandı. Tablo 10’da görüldüğü gibi suda çözünen azot miktarının toplam azota oranıyla bulunan olgunlaşma

katsayısının örneklerdeki oranı % 37,74 ile % 16,55 arasında değişmekle birlikte ortalama değeri % $24,58 \pm 5,48$ olarak hesaplandı. Yapılan analizlerle elde edilen histamin miktarları da aynı tabloda verilmiştir. Buna göre histamin düzeyi en az 6,78 mg/100 g olarak ve üç örnekte ise 250 mg/100g 'dan büyük olarak bulundu. Ortalama histamin miktarı ise $70,65 \pm 67,38$ mg/100g olarak hesaplandı. İstatistiksel analiz sonucunda bu iki değer arasındaki korelasyon ise $p<0,001$ değeriyle önemli bulundu.

Tablo 10. Peynir örneklerinin histamin (n=40) ve olgunlaşma arasındaki korelasyon sonuçları

Analiz	En çok	En az	Ort. $\pm$ Std.	Korelasyon Değeri (r)
Olgunlaşma	37,74	16,55	$24,58 \pm 5,48$	
İnd. (%)				
Histamin	>250	6,78	$70,65 \pm 67,38$	0,811**
(mg/100 g)				

** $p<0,001$ Çok yüksek düzeyde önemli (P value 2-tailed significant)

6. TARTIŞMA

İncelenen örneklerdeki asitlik değerlerinin % 0,94 ile % 2,62 arasında değiştiği görüldü ve ortalama $1,80 \pm 0,38$ olarak tespit edildi. Sonuçlar bazı araştırmacıların (134, 135) değerleriyle (% 1,95, % 1,83) benzerlik gösterirken, bazı araştırmacıların (136 - 139) değerlerinden (% 1,01, % 1,66, % 1,413, % 1,09) yüksek çıktı. Demirci (140)'nin bulduğu değerden ise (% 2,96) düşük olduğu görüldü. Şengül (141), çiğ ve pastörize süt kullanarak, farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırdığı tulum peyniri örneklerinde asitlik değerini çiğ süttten yapılan tulum peynirlerinde (% 0,55), pastörize süttten yapılan peynirlerde ise (% 0,90) olarak belirlemiştir. Asitliğin farklılık göstermesinin nedenini ise pastörize süte katılan starter kültürlerin ortama hâkim olarak asitliği arttırmasına bağlayarak açıklamıştır. Araştırmacı aynı zamanda farklı ambalajlar üzerinde yaptığı çalışmalarda en yüksek asitlik değerini (% 0,76) tahta ambalaj materyalinde saptadığını, tulum (% 0,72) ve plastik bidondaki (% 0,70) yüzde asitliğin ise istatistiki açıdan önemsiz bulunduğunu bildirmiştir. Buna ilaveten Keleş (142)'de çiğ süttten yapılan tulum peyniri numunelerinin asiditesini, pastörize süttten yapılanlara oranla daha fazla bulunduğunu bildirmiştir. Örneklerimizin hiçbirinin TS 3001'de belirtilen % 3 değerinin üzerinde olmadığı ve hepsinin asitliğinin laktik asit cinsinden standartlara uygun olduğu görüldü. Asitlik faktörünün süttün mayalandığı esnada, pıhtılar oluşurken ve telemenin baskıya alındığı sırada oluştuğu ve tulum peynirinin asidik tatta olduğu bilinmektedir (143).

Yüksek asitlik değerine sahip olan örneklerin daha fazla olgunlaşmaya maruz kaldığı düşünölmekle birlikte örneklerdeki asitlik farkının nedeni olarak

yapım aşamasında faaliyet gösteren mikroorganizmalar, ürünlerin muhafaza şartları, sütteki laktoz oranları gösterilebilir.

Asitlik faktörünün oluşması; bu değer in olgunlaşma ile artış göstererek pH değerinin düşmesi, laktik asit bakterilerinin laktozdan laktik asit oluşturmasıyla ilgilidir (144). Elde edilen sonuçlara göre minimum pH 4,04 , maksimum pH 5,69 ve ortalama pH değeri $5,10 \pm 0,40$ olarak bulundu. Sonuçlar bazı çalışmalarla karşılaştırıldığında Patır ve ark. (138)'nın buldukları değerden (5,92) yüksek, Çalim (145)'ın bulunduğu değerle (7,22) benzer olduğu görüldü. Araştırmacı Şengül (141), tulum peyniri örneklerinde pH değerini , çiğ süttten yapılan tulum peynirlerinde (4,43) ve pastörize süttten yapılan peynirlerde ise (4,60) olarak belirlemiştir. pH değerindeki farklılığın sebebi olarak, peynirlerin süzülme sonrasında özünde kalan laktoz miktarından kaynaklanmış olabileceğini ileri sürmüştür. Araştırmacı aynı zamanda tulum peynirlerinin pH düzeylerini ambalaj materyalleri ile karşılaştırmış ve bu durumu istatistiki olarak önemli ($P < 0,01$) bulmuştur. Buna göre tulumda muhafaza edilen peynirlerde pH değerini en yüksek (6,68), plastik bidondakini ise en düşük (4,40) bulmuştur. Bulduğumuz değerler arasındaki küçük farklılığın işlenen süttteki mikrofloranın çeşitliliği, olgunlaşma süresi, muhafaza sıcaklığı ve farklı ambalajlarda muhafazasından kaynaklandığı söylenebilir.

Peynirin esasını oluşturan kısım suyun dışında kalan besleyici bileşenleri içeren kuru maddedir. Peynirin kuru madde miktarı arttıkça beslenme değeri de o ölçüde artar. Karaibrahimoğlu ve Üçüncü (25), tulum peynirlerinin üretim parametreleri üzerine yaptıkları bir araştırmada, telemenin ısıtılması, mayalama sıcaklığının yüksek olması ve mayalama süresinin kısa olmasının kuru madde

miktarında artışa neden olduğunu söylemişlerdir. Bununla birlikte tulum peyniri yapımında kullanılan sütün çiğ ya da pastörize olması da tulum peynirlerinin kuru madde değerlerini etkilemektedir. Bostan ve Uğur (146) çalışmalarında çiğ süttten ürettikleri tulum peynirinin kuru madde değerinin pastörize süttten üretilenlere oranla daha yüksek olduğunu bildirirken, benzer sonuçla Şengül (141), çalışmasında çiğ süttten yapılan tulum peynirlerinin kurumadde miktarını (%52,96), pastörize süttten yapılan tulum peynirlerinin kurumadde miktarından (%50,29) önemli düzeyde yüksek bulunduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda ortalama kuru madde miktarı $54,94 \pm 5,13$ olarak bulundu. Tulum peynirlerinde elde edilen ortalama kuru madde miktarı bazı araştırmacıların (137, 143, 147, 148, 149, 150) çalışmalarındaki değerler ile (% 54,32, % 55,72, % 57,14, % 56,85, % 57,36, % 57,20) benzerlik gösterirken Çakmakçı ve ark. (139), İzmen (151), Akyüz (136) ve Demirci (140)'nin değerlerinden (% 69,10, % 63,41, % 62,71, % 59,46) düşük çıktığı görüldü. Birkaç örneğin üretildikleri yörelerde yapım tekniklerinin çeşitli olmasından dolayı içerdiği su oranlarındaki farklılık standart sapmanın yüksek olmasının sebebi olarak gösterilebilir. Elde ettiğimiz sonuca göre genel anlamda örneklerimizin besleyici değerinin yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 8'de belirtildiği üzere örneklerdeki ortalama yağ ve kuru maddede yağ oranları sırasıyla $\% 27,35 \pm 6,85$ ve $\% 49,15 \pm 10,53$ olarak hesaplandı. Minimum (%5) ve maksimum (%36) yağ oranları arasındaki bu farklılık peynir yapımında kullanılan sütlerin değişik kaynaklardan elde edilmesinden ve standart bir üretim tekniğinin olmadan farklı usüllerle işlenmesinden kaynaklandığı söylenebilir. Örneklerimizdeki yağ oranının tulum peyniri hakkında bilgiler veren pek çok araştırmacının (135, 143, 147, 150, 151, 152) bulgularıyla (% 26,80, %

25,15, % 28,80, % 27,26, % 28,14, % 29,27) benzerlik gösterdiği, bunun yanı sıra Demirci (140) ve Güven ve Konar (149)'ın belirledikleri değerlerden ise (% 30,89, % 31,79) düşük çıktığı görüldü. Kuru maddede yağ oranları ise Yetişmeyen (134)'in değerinden (% 56,15) düşük, Akyüz (136), Dığrak ve ark (152), Eralp (148), Erceyes ve ark (153)'nın değerlerinden yüksek çıktı.

Tulum Peyniri Standardı (15)'na göre, numunelerin ortalama kuru maddede yağ miktarı yönünden, tam yağlı tip sınıfında olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 40 adet numuneden 6'sının yağlı tipe, 1'inin ise az yağlı tip sınıfına girdiği belirlendi.

Peynirlerde tuz kullanımı, üründe koliform bakteri gelişimini engellemesi nedeniyle önemlidir. Özellikle gaz oluşturan ve kokuşma yapan mikroorganizmalara karşı kalkan görevi yaparken peynirde istenen kabuk oluşumunu da sağlar. Bununla birlikte peynirde istenmeyen tatların oluşumunu önler ve suda çözünebilir azotun çoğalmasına yardımcı olur (154). Tulum peynirlerinde tuzlama işlemi telemenin tuzlanması aşamasında yapılır. Yani ham peynir parçalandıktan sonra tuz ilave edilir. Bu şekilde peynir suyu daha hızlı uzaklaşır ve tuz daha homojen bir biçimde dağılır (6). Tablo 8'de görüldüğü gibi incelenen tulum peyniri örneklerinde tuz miktarı ortalama % 3,29 değerini aldı. Belirlenen bu tuz miktarları Güven ve Konar (149)'ın sonuçlarından (% 2,56) yüksek iken, bu konuda çalışmalar yapan diğer araştırmacıların (136, 140, 150, 151, 155) bulgularından (% 5,12, % 4,59, % 4,66, , % 3,82, % 3,40, % 3,71) düşük , Gönc (143), Kurt ve ark. (135), Bostan (137), Dığrak ve ark. (152), Koçak ve ark. (147)'nın değerleriyle benzer bulundu. TS 3001 (15)'e göre örneklerimizin kuru maddede tuz oranları incelendiğinde sadece 8 adedinin ikinci

sınıf tulum peyniri olarak nitelendirilebilir. Sonuçlardaki bu farklılıklara sebep olarak tulum peynirine ilave edilen tuz miktarının belli bir standardının olmaması ve üreticilerin tecrübe ve alışkanlıklarına göre değişmesi gösterilebilir.

Örneklerimizdeki kül oranları ortalama olarak $3,37 \pm 0,91$ düzeyinde bulundu. Elde ettiğimiz bu sonuçlar Çakmakçı ve ark (139) 'nın değerleriyle benzerlik gösterirken Çalım (145), Akyüz (136), Kurt ve ark (135), Bostan (137) ve Keleş ve Atasever (156)'nın değerlerinden (% 4,45, % 5,50, % 4,73, % 4,92, % 3,78) düşük çıktı. Kül miktarının tulum peyniri örneklerinde farklılık göstermesi, üretimde kullanılan sütün farklı hayvanlardan elde edilmiş sütler olması ve peynirin kuru madde oranlarının standart olmamasından kaynaklanabileceği söylenebilir (142, 157). Çalım (145), tulum peynirleri ile ilgili çalışmasında numunelerin kül miktarındaki farklılıkların, sahip oldukları kuru maddedeki tuz miktarlarından kaynaklandığını ve kuru maddede tuz miktarı yüksek olan grupların kül miktarlarının da yüksek olduğunu bulmuştur.

Gıda maddesindeki suyun buhar basıncının değişmesine neden olan her faktör su aktivitesini de değiştirmektedir. İncelediğimiz tulum peynirlerinin su aktivite değerleri 0,80 – 0,982 arasında değişti ve örneklerin genel ortalaması $0,93 \pm 0,03$ olarak bulundu.

Örneklere ait ortalama toplam azot oranı $3,25 \pm 0,29$ olmakla birlikte protein değerleri ortalama $20,76 \pm 1,93$ olarak bulundu (Tablo 9). Peynirlerde toplam azot içeriği hem protein içeriklerinin hem de proteoliz düzeylerini belirlemede kullanılan önemli bir parametredir (80). Özer ve arkadaşları (103) geleneksel Urfa peyniri üzerinde yaptıkları bir araştırmada, inek ve koyun sütünden ayrı ayrı yapılan peynirlerde toplam azot miktarının muhafaza süresi

boyunca (90 gün) azaldığını, bu azalmanın inek sütlerinden yapılan peynirlerde istatistiksel açıdan önemli olduğunu, koyun sütünden yapılan peynirlerde ise azalmanın 30. günden sonra önemli olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ortalama protein miktarı sadece Akyüz (136) ve Güven ve Konar (149)'ın değerleri (% 21,54 ve % 20,96) ile benzerlik gösterirken, bu konuda çalışan diğer bazı araştırmacıların (140, 143) değerlerinden (% 25,98 , % 22,91) düşük, bazılarının (134, 135, 152, 157) değerlerinden ise (% 16,91, % 18,51, % 18,35, % 19,84) yüksek bulundu. Çalıştığımız örneklerdeki bu değişimin sebebi olarak örneklerimizdeki kuru madde ve yağ oranlarındaki farklılıklar gösterilebilir.

Peynirlerdeki suda çözünen azot içeriği de proteolizi belirlemede kullanılan parametrelerden birisidir (158). Suda çözünen azot içeriği, peynirde kazein hidrolize uğraması ile oluşan düşük molekül ağırlıklı azot fraksiyonlarının düzeyini açıklayan bir tanımdır. Olgunlaşma indeksi, peynirdeki toplam azotta bulunan suda çözünen azot miktarını verdiği için çalışmamızda suda çözünen azot miktarı önemlidir. Peynir teknolojisinde proteolitik aktivitenin bir göstergesi olarak kabul edildiğini ve olgunlaşma düzeyini belirlemek için yaygın olarak kullanılmış olduğunu gözlemledik (80). Güler ve Uraz (159) tulum peynirinin yağ ve protein kompozisyonunu inceledikleri çalışmalarında suda çözünen azot miktarını ortalama % 0,59, Dinkçi ve ark (27) ise Kargı tulum peynirleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada suda çözünen azot oranını ortalama % 0,56 olarak bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada suda çözünen azot oranları ise Tablo 9'da görüldüğü gibi % 0,51 ile % 1,17 arasında değişti ve ortalama $0,79 \pm 0,16$ olarak bulundu. Tuncel ve ark. (160) nın Ezine peynirinde yaptıkları çalışmada suda çözünür azot oranının % 3,29 ile % 22,66 arasında olduğunu söylemişlerdir.

Elde ettiğimiz sonuçların farklı çıkmasının peynir yapımında kullanılan sütlerin kalite değişkenliklerinden ve olgunlaşma sürelerindeki farklılıklardan kaynaklandığı söylenebilir.

% 12'lik TCA'da çözünen azot oranları, orta ve kısa zincirli peptidler ile amino asitlerden oluşmaktadır. Peynirlerde protein olmayan azot değeri belirlenirken suda çözünen azot ekstraktının % 12'lik trikloroasetikasitle (TCA) çökeltilmesi ile, amino azot değerinin ise; suda çözünen azot ekstraktının % 5'lik fosfotungustikasitle (PTA) çökeltilmesi ile elde edilen değer olduğu ifade edilmiştir (108, 161, 162). Godinho ve Fox (163), peynirlerin tuz içeri artarken triklorasetik asitte çözünen azot oranlarında azalma gözlemlediğini, ayrıca bu oranın peynirin içinden dışına doğru gidildikçe yükseldiğini savunmuşlardır. Mutluer (164) sünme peynirlerde yaptığı deneysel bir çalışmada depolama süresinin sünme peynirlerinin % 12 TCA'da çözünen azot oranları üzerine etkisini önemli bulmuştur. Yine bir başka çalışmada % 5 PTA'da çözünen azot oranlarının, peynirlerin olgunlaşması süresince artış gösterdiği söylenmiştir (150). Yine bu görüşü destekler nitelikte Özer ve ark (103)'nın yaptıkları deneysel çalışmada, hem koyun sütünden hem de inek sütünden yapılan peynirlerde suda çözünen azot, fosfotungustik asitte çözünen azot, protein ve protein olmayan azot miktarlarında depolama boyunca bir artışın olduğu savunulmuştur ayrıca Tuncel ve ark. (160)'nın ezine peynirlerinde olgunlaşma süresi boyunca proteoliz düzeyini inceledikleri bir başka çalışmada Ezine peynirinin toplam azot içeriğinde değişim gözlemlenmezken, % 12'lik TCA ve %5'lik PTA da çözünen azot fraksiyonlarının oranında önemli düzeyde artış olduğu sonucuna varmışlardır (161). Araştırmacıların bir çoğu bunun nedeninin, olgunlaşma süresince ortaya çıkan

küçük moleküllü peptidlerin % 12'lik TCA ve % 5'lik PTA'da çözünür özellik göstermesinden kaynaklandığını söylemişlerdir.

Tablo 9'da görüldüğü üzere örneklerimizdeki ortalama TCA-N ve PTA-N değerleri sırasıyla % $0,49 \pm 0,09$ ve % $0,17 \pm 0,06$ olarak hesaplandı. Sonuçları karşılaştırdığımızda Yetiştirmeyen (134)'in geleneksel peynirler üzerinde yaptığı piyasa araştırmasında bulduğu değerlerden (TCA ;% $0,54 \pm 0,02$ ve PTA; % $0,32 \pm 0,02$) düşük olduğu görüldü. Tunçtürk ve ark (165)'nin otlu peynirlerde yaptıkları bir araştırmada olgunlaşma boyunca gözlenen serbest amino grupları içeriği, TCA'da çözünen azot (protein olmayan azot) ve PTA'da çözünen azot (amino azot) değerleri olgunlaşma boyunca artmış ve ortalama olarak bulduğumuz sonuçlardan oldukça yüksek çıkmıştır. Literatür araştırmalarımızda gördüğümüz kadarıyla tulum peynirlerinde azot fraksiyonları sınırlı sayıda çalışılmıştır. Olgunlaşma süresinin bazı azot fraksiyonlarındaki artışa sebep olduğu ve diğer peynir çeşitlerinde yapılan çalışmaların da desteklediği bu görüşten yola çıkarak, tulum peynirlerindeki TCA ve PTA oranlarının diğer peynirlere kıyasla düşük olmasının nedeninin tam olarak olgunlaşmadan piyasaya sürülmesinden kaynaklandığı fikri ileri sürülebilir.

Yaptığımız çalışmada incelediğimiz 40 adet tulum peyniri örneğinde histamin miktarı en düşük 6,78 ve en çok 251 mg/100 g ve ortalama 70,65 olarak hesaplandı. gıdalarda toksik olarak minimum histamin düzeyinin saptanması mümkün olmamakla birlikte yapılan bir çalışmada (28), tek seferde 40 mg'dan fazla biyojen amin alınması ile vücutta toksikolojik etkiler ortaya çıkacağı belirtilirken, bir başka çalışmada (166) peynirlerde histamin için toksik limitin 70-1000 mg/kg (7-100 mg/100 g) olduğu belirtilmiştir. Genel olarak satışa

sunulan Tulum peynirlerinin histamin düzeyleri oldukça yüksek çıkmıştır. Örneklerimizden 13 tanesi 40 mg/100 g dan küçük olmasına rağmen yine de bu miktarın toksik bir etki oluşturmayacağını söyleyemeyiz. Çünkü eğer birey vücudunda doğal olarak bulunan monoaminooksidaz enzimlerini (histamini detoksifiye eden) inhibe edecek özellikte ilaç kullanmış ise ya da tükettiği gıdalarla düşük miktarlarda da olsa vücuduna biyojen amin aldıysa bu limit aşılabılır. Bu sebeple toksikolojik etkinin bireyin vücut duyarlılığına bağlı olduğunu söyleyebiliriz.

Tablo 10’da peynirlerimizdeki olgunlaşma indeksi ortalama $\% 24,59 \pm 5,48$ olarak hesaplandı. Bu oranın minimum $\% 16,55$ ve maksimum $\% 37,74$ gibi çok geniş bir aralıkta seyretmesine, peynirlerin değişik sürelerde bekletilerek piyasaya verilmesi ve tuz oranlarının farklı olması sebep olabilir. Buna göre elde ettiğimiz sonuç Güven ve Konar (149) ve Yetişmeyen (134) ‘in değerlerinden ($\% 30,78$, $\% 28,13$) düşük ve Koçak ve ark (147), Koçak ve ark (167), Güler (150)’in bulunduğu değerlerden ($\% 17,61$, $\% 15,64$, $\% 20,79$) yüksek çıkmıştır. Güler ve Uraz (159) Ankara ilinde farklı süpermarketlerde satışa sunulan tulum peynirlerini inceledikleri çalışmalarında ortalama olgunlaşma indeksi değerini $\%17,73$ bulurken, bu değer piyasadaki tulum peynirlerinin bazı özelliklerini araştıran Öner ve ark. (168) tarafından $\% 26,52$ olarak saptanmıştır. Tarakçı ve arkadaşları (169) inek sütünden yapılmış ve cam kavanozlarda olgunlaşmaya bırakılmış tulum peynirlerinde yaptıkları araştırmada olgunlaşma oranının sürekli arttığını, 90. günde bu değer $\% 35,73$ olarak hesaplandığını ve bu değişimi istatistiksel olarak önemli bulduklarını belirtmişlerdir.

Peynirlerde proteoliz süresince rengi, yapısı ve lezzetinde belirgin değişiklikler olmakla beraber açığa çıkan peptid ve serbest amino asitlerin düzeyi de artmakta ve bunun sonucunda da aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen aminlerin miktarı artmaktadır (40). Bu nedenle olgunlaşmanın bir göstergesi olan fosfotungustik asitte çözünen azot (PTA-N) ve trikloroasetik asitte çözünen azot (TCA-N) değerleri ile biyojen amin oluşumu doğru orantılıdır (106).

Nizamlıoğlu (170) yaptığı çalışmada 3-6 aylık olgunluk sürecindeki Tulum peynirlerindeki histamin düzeyinin en az 8,0 ve en çok 22,00; 3-6 ay ve üzeri olgunluk sürecindeki tulum peynirlerinde ise en az 18,00 en çok 51,00 olduğunu tespit ederek ticari tulum peyniri örneklerinin histamin miktarlarının olgunlaşmaları sırasında zamanla önemli düzeyde arttığını istatistiksel olarak ortaya koymuştur. Antila ve ark. (171) yaptıkları deneysel çalışmalarda olgunlaşmış ve sert peynirlerde biyojen amin miktarının daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Yine Durlu-Özkaya (88)'nin 20 adet tulum peyniri ile yürüttüğü bir çalışmada örneklerin % 40 ında histamin olduğunu ve 8,02 mg/100g düzeyinde buldukları histaminin toksik düzeyin altında olduğunu bildirmişlerdir.

Korelasyon tablosu (Tablo 10) incelendiğinde örneklerdeki histamin ile olgunlaşma değerleri arasında pozitif yönde bir korelasyon varlığı ile önemlilik derecesinin yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$).

Tarakçı ve ark (169), Tulum peynirlerinde olgunlaşma ile histamin arasındaki ilişkiyi araştırdıkları bir çalışmada, 2. gün 19,24 mg/kg olan histamin miktarının 90. günde 230,08 mg/kg'a ulaştığını gözlemlemişlerdir. Peynirlerimizdeki histamin miktarlarının fazla olmasının nedenini olgunlaşma indekslerinin yüksek olmasına bağlayabiliriz ancak peynirlere işlenen sütün

mikrobiyel florasının ve muhafaza sıcaklıklarının da histamin değerleri üzerinde etkisinin olduğunu unutmamalıyız.

Elazığ ilinde satışı sunulan ve beğenilerek tüketilen, farklı illere ait kuru tulum peynirlerinin incelendiği bu araştırma kapsamında örneklerin kimyasal kalite parametreleri bakımından Türk Standartları Enstitüsü Tulum Peynir Standardına uygun olduğu ancak histamin düzeylerinin oldukça yüksek bulunduğu ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği görölmüştür. Ayrıca biyojen aminlerin gıdaların bozulmasının bir göstergesi olmasından dolayı, ölkemizde peynirlerde de histamin miktarı için resmi düzenlemelerle bir limit oluşturulması gereklidir. Literatür çalışmaları değerlendirildiğinde tulum peynirlerinde olgunlaşma kriteri olarak bilinen bazı azot fraksiyonlarının (TCA-N ve PTA-N) tespitinin oldukça sınırlı sayıda olduğu görölmüştür ve bu açıdan çalışmamızın önem arz ettiği düşünölmektedir. Yapılan bu çalışmada her ne kadar örneklerin olgunlaşma değerleri ile histamin miktarı arasında pozitif bir korelasyon olsa da, çiğ süttten üretilen peynirlerde histamin miktarının azaltılması açısından olgunlaşma süresinin kısaltılması yasal açıdan mümkün değildir. Bu yüzden tulum peyniri yapımında kullanılacak süttün pastörize edilmesi, dekarboksilaz aktivitesi olmayan veya zayıf olan starter kültürlerin seçimi, olgunlaşma süresi boyunca muhafaza sıcaklığının düşük tutulması ve üretimin hijyenik koşullarda gerçekleştirilmesi çok daha önemli olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Steijns JM. Dairy Products and Health : Focus on Their Constituents or on Matrix? Int. Dairy J. 2008;18(5): 425-435.
2. Haug A, et al. Bovine Milk in Human Nutrition . Lipids in Health and Disease. 2007;6: 25.
3. Öztekin L. Kaşar Peynirinde Uçucu Yağ Asitlerinin Tayini Üzerinde Araştırmalar. Gıda,1989; 14 (3) :149-154.
4. Kılıç S, Vapur UE. Peynirde Acılık Problemi, Etki Eden Faktörler ve Kontrol Altına Alınması. Bilimsel Gıda Dergisi, 2003; 4; 35.
5. Demirci M. Peynirin Beslenmedeki Yeri ve Önemi. Gıda, 1990; 15(5):225-289.
6. Üçüncü M. Süt Teknolojisi. II. Bölüm, IV. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir,1999.
7. Çetinkaya A. Yöresel Peynirlerimiz. 1. Baskı, Academic Book Production. Kars, s.212, 2005.
8. Tekinşen OC. Tekinşen K.K. Süt ve Süt Ürünleri Temel Bilgiler, Teknoloji,Kalite Kontrolü. Selçuk Üniv. Basımevi. Konya, 2005.
9. Türkiye İstatistik Kurumu 2009. Tarım Hayvancılık İstatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?tb_id=46&ust_id=13 Erişim Tarihi:05.01.2015
10. Çakmakçı S, Dağdemir E, Hayaloğlu AA, Gürses M, Gündoğdu E. Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008; 24, 293-299.
11. Devlet Planlama Teşkilatı, Gıda Sanayii Özel ihtisas Komisyonu Raporu: Süt ve Mamulleri Sanayii Alt Komisyonu Raporu. 8. Beş Yıllık Kalkınma Raporu. Yayın No: 2696, Ö.İ.K: 644. Devlet Planlama Teşkilatı, Ankara, 2001.
12. Üçüncü M. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi, Cilt 1, I. Baskı, Meta Basım Matbaacılık, Bornova, 2004.
13. Kurt A, Çakmakçı S, Çağlar A, Akyüz N. Erzincan Tulum (Şavak) Peynirinin Yapılışı, Duyusal, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 1991;16: 295-302.
14. Tekinşen KK, Uçar G. Konya Yöresinde Üretilen Mahalli Tulum Peynirleri. Akademik Gıda Dergisi, 2007;25: 33-37.
15. Türk Standardları Enstitüsü. Tulum Peynir Standardı.TS 3001.Türk Standardları Enstitüsü: Ankara, 2006.

16. Ateş G, Patır B. Starter Kültürlü Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler Üzerine Araştırmalar. Fırat Üni. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2000; 15(1): 45-56.
17. Demirci M. ve Şimşek O. Süt İşleme Teknolojisi. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. (Ed). İstanbul,1997.
18. Dağdemir V. Erzincan İlinde Tulum Peynirinin İmalat Maliyeti ve Pazarlama Marjının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Turk J. Agric. For. 2000; 24: 57–61.
19. Ateş G. Starter Kültürlü Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler Üzerine Araştırmalar. Fırat Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Elazığ, 1999.
20. Koca N. Çeşitli Starter Kültür Kombinasyonlarının İzmir Teneke Tulum Peynirinin Nitelikleri Üzerine Etkileri. Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. İzmir, 1996.
21. Çakmakçı S. Türkiye Peynirleri: Peynir Biliminin Temelleri (Ed: A.A. Hayaloğlu ve B. Özer) s.585-614, 2011.
22. Arslaner A. Geleneksel Yöntem ve Farklı Sütlerden Isıl İşlem Uygulanarak Üretilen ve Farklı Ambalaj Materyallerinde Olgunlaştırılan Erzincan Tulum Peynirinde Bazı Kalite Niteliklerinin Tespiti. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Erzurum, 2008.
23. Güven M. İnek, Koyun ve Keçi Sütlerinden Üretilen ve Farklı Materyallerde Olgunlaştırılan Tulum Peynirlerinin Özellikleri Üzerine Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Adana, 1993.
24. Bayar N. Farklı Ambalaj Materyallerinin Tulum Peynirinin Çeşitli Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Müh. A.B.D. Doktora Tezi. Van, 2008.
25. Karaibrahimoğlu Y, Üçüncü M. Erzincan Tulum Peynirinin İşlem ve Ürün Parametrelerinin Belirlenmesi, E.Ü. Müh. Fak. Derg., Seri: B,1988; 6(2): 79-97.
26. Morul F, İşleyici Ö. Divle Tulum Peynirinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Dergisi. 2012; 23(2): 71 – 76.
27. Dinkçi N, Ünal G, Akalin AS, Varol S, Gönç S. Kargı Tulum Peynirinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri, Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi. 2012; 49(3): 287-292.

28. Yerlikaya P, Gökoğlu N. Gıdalarda Biyojen Aminlerin Varlığı ve Önemi , Gıda Mühendisliği Dergisi, 2002: 12; 24-30.
29. Durlu-Özkaya F, Ayhan K, Vural N. Biogenic Amines Produced by Enterobacteriaceae Isolated From Meat Products. Meat Science. 2001: 58(2); 163-166.
30. Yeğin S, Üren A. Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. 10. Gıda Kongresi, 2008.
31. Karahan AG. Gıdalarda Biyojen Aminler. Mikrobiyoloji Dergisi. 2003; 05: 21-32.
32. Ayres JC, Mundt JO, Sandine WE. Foodborne Illnesses. Microbiology of Foods. Chapter: 21,1980.
33. Bodmer S, Imark C, Kneubühl M. Biogenic Amines In Foods: Histamin and Process in Inflammation Research; 1999; 48: 296-300.
34. Karavicova J, Kohajdova, Z. Biogenic Amines in Food, Chem. Pap., 2005; 59: (1), 70-79.
35. Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Research International 1996; 29 (7), 675- 690.
36. Halasz A, Barath A, Simon-Sarkadi L, Holzapfel W. Biogenic Amins and Their Production by Microorganisms in Food. Trends Food Science Technol 1994; 5: 42-48.
37. Ayhan K, Durlu-Özkaya F. Biogenic Amines In Foods. Chapter 5. (In: Metabolism and Applications of Lactic Acid Bacteria), 2007;87-113, Ed: Barbaros ÖZER, Research Signpost Publishing, 201, Kerala-India.
38. Vale S, et al. Biogenic Amines in Brazilian Cheeses.food Chemistry 1998; 63: 343-348.
39. Saldamlı İ. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları ,2007.
40. Stratton JE, Hutkins RW, Taylor SL. Biogenic Amines in Cheese and Other Fermented Foods: A Review. J.Food Protect., 1991; 54, 460-470.
41. Önal A. Current Analytical Methods For the Determination of Biogenic Amines in Foods. 2007: 103; 1475-1486.
42. Taylor SL. Histamine Food Poisoning: Toxicology and Clinical Aspects. CRC. Critical Reviews in Toxicology And Clinical Aspects. 1986; 17, 91-117.
43. Joosten MLJ, Stadhouders J. Conditions Allowing The Formation Of Biogenic Amines In Cheese. 1.Decarboxylative Properties Of Starterbacteria. Neth. Milk Dairy J. 1987; 41: 247-258.

44. Yeğın S, Üren A. Gıdalarda Biyojen Amin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs, Erzurum, 2008.
45. Teodorovic V, Buncic S, Smiljanic D. A Study of Factors Influencing Histamine Production in Meat, *Fleischwirtsch.*, 74 (2), pp. 170-172.
46. Gardini F, Martuscelli, M, Caruso CM, Galgano, F, Crudele MA, Fayati F, Guerzoni, ME, Suzzi G. Effect of pH, Temperature and NaCl Concentration on The Growth Kinetics, Proteolytic Activity and Biogenic Amine Production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2001; 64: 105-117.
47. Santos S. Biogenic Amines: Their Importance in Foods. *Int.J.Food Microbio.* 1996: 29, 213-231.
48. Ababouch, L, Afilal ME, Rhafiri S, Butsa FF. Identification of Histamine Producing Bacteria Isolated From Sardine Stored in Ice and Ambient Temperature (25°C), *Food Microbiol.* 1991; 8, 127-136.
49. Lonvaund-Funel A. Biogenic Amines in Wines: Role of Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 2001; 199: 9-13.
50. Maijala R. Histamine and Tyramine Production By a *Lactobacillus* Strain Subjected to External pH Decrease, *J.Food Protect.* 1994; 57, 259-62.
51. Masson F, Lebet A, Talon R, Montel MC. Effects of Physico-Chemical Factors Influencing Tyramine Production By *Carnobacterium Divergens*. *J. App. Microbio.* 1997; 83: 36-42.
52. Beutling, D. Biogene Amine in Der Ernährung, *Arch. Lebensmittelhyg.* 1994; 47, 97-101.
53. Maijala RL, Eerola SH, Aho MA, Hirn JA. The Effect of GDL-induced pH Decrease on the Formation of Biogenic Amines in Meat, *J.Food Protect.*, 1993; 56 (2), 125-9.
54. Hernandez-Herrero MM, Roig-Sagues AX, Rodriguez-Jerez JJ, Mora-Ventura MT. Halotolerant and Halophilic Histamine-forming Bacteria Isolated During the Ripening of Salted Anchovies, *J. FoodProtect.* 1999; 62 (5), 509-514.
55. İnal T. Besin Hijyeni-Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Genişletilmiş İkinci Baskı. Final Ofset A.Ş. 1992, İstanbul.
56. Wurtziger J.; Dickhaut G. Zur Lebensmittelrechtlichen Beurteilung von Histamin Fischen und Fischerzubereitungen. *Fleischwirtschaft*. 1978; (6): 989-994.
57. Varlık C, Gün H, Gökoğlu N. Ton Konservelerinde Histamin Düzeylerinin Belirlenmesi. *Gıda Cilt* 1992; 17 (4): 239-245.

58. Lehane L. Olley J. Histamine Fish Poisoning Revisited. *International Journal of Food Microbiology*. 2000; 58:1-37.
59. Rawless DD, Flick GJ. Biogenic Amines in Fish and Shell Fish. *Adv. Food Nut. Res.*, 1996; 39:329-365.
60. Rodriguez-Jerez JJ, E.I., Lopez-Sabater, AX, Roig-Sagues MT, Mora-Ventura, Histamine, Cadaverine and Putrescine Forming Bacteria from Ripened Spanish Semipreserved Anchovies. *Journal of Food Science*, 1994; 59(5): 998-1001.
61. Serpe L, Demasi D, Salzillo A, Scatola L. Histamine Content in Fish Products During 1990-1993 Period. *Indusrie Alimentari*. 1995; 34, 108-14.
62. Edmunds WJ, Eitenmiller RR. Effect of Storage Time and Temperature on Histamine Content and Histidine Decarboxylase Activity of Aquatic Species. *J. Food Sci.* 1975; 40: 516-519.
63. Fletcher GC, Summers G, Winchester RV, Wong RJ. Histamine and Histidine in New Zealand Marine Fish and Shellfish Species, Particularly Kahawai (*Arripis Trutta*). *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 1995; 4(2):53-74.
64. Çoban Emir Ö. Elazığ'da Tüketime Sunulan Balıklarda Histamin Düzeyi ile Diğer Bazı Kimyasal Kalite Parametrelerinin Araştırılması, Y.Lisans, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, 2004.
65. Veciana-Nogues MT, Marine-Font A, Vidal-Carou MC. Biogenic Amines in Fresh and Canned Tuna. Effects of Canning on Biogenic Amine Contents. *J. Agric Food Chem.* 1997; 45 (11), Vol. 4324-8.
66. Hernandez-Jover T, Izoquierdo-Pulido M, Veciana-Nogues MT, Vidal-Carou MC. Biogenic Amine Sources in Cooked Cured Shoulder Pork, *J. Agric Food Chem.* 1996; 44, 3097-101.
67. Smith JS, Kennedy PB, Kastner CL, Moore MM. Biogenic Amine Formation Fresh Vacuum Packaged Beef During Storage At 1°C For 120 Days, *J. Food Protect.* 1993; 56, 497-500.
68. Bover-Cid S, Izoquierdo-Pulido M, Vidal-Carou MC. Effect Of Interaction Between A Low Tyramine Producing *Lactobacillus* And Proteolytic *Staphylococci* On Biogenic Amine Production During Ripening And Storage Of Dry Sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 65: 113-123.
69. Taylor, S.L.; Leatherwood, M. A Simplified Method For Histamine Analysis Of Food. *J. Food Science*. 1978; 43: 247-250.
70. Suzzi G. and Gardini F. Biogenic Amines in Dry Fermented Sausages: A Review, *International Journal of Food Microbiology*. 2003; 88 (1), 41-54.

71. Vidal-Carou MC, Espunyes, AA, Ulla-Ulla MC, Marine-Font A. Histamine And Tyramine In Spanish Wines: Their Formation During The Winemaking Process. *Am. J. Enol. Vitic.* 1990; 41(2): 160-167.
72. Denli Y, Anli E. Şarap ve Birada Biyojen Aminlerin Önemi. *Gıda*,1998; 23(5): 323-327.
73. Gloria MBA, Izoquierdo-Pulido M. Levels And Significance of Biogenic Amines In Brazilian Beers. *J. Food Comp. Analysis.*1999; 12: 129-136.
74. Halasz A., Barath, A., Holzapfel, W. H. The biogenic amine content of beer; the effect of barley, malting and brewing on maine concentration. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*,1999; 5-6: 418-423
75. Izoquierdo-Pulido M, Font-Fabregas J, Vidal-Carou MC. Influence Of *Saccharomyces Cerevisiae* Var. *Uvarum* On Histamine And Tyramine Formation During Beer Fermentation. *Food Chem.* 1995; 54: 51-54.
76. Özdestan, Ö. Benzol Türevleri Kullanılarak Biyojen Aminlerin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemiyle Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. s,114, 2004.
77. Coşansu S. Determination of Biogenic Amines in Fermented Beverage, Boza. *Journal of Food, Agriculture & Environment.* 2009; 7 (2): 54-58.
78. Yeğin S. ve Üren A. Biogenic Amine Content Of Boza: A Traditional Cerealbased, Fermented Turkish Beverage. *Food Chem.* 2008; 111, 983-987.
79. Yaldirak, G. Doğal Fermantasyon ile Üretilen Şalgam Suyunda Farklı Fermantasyon Sıcaklığının Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkisi. Sakarya Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi. 2011.
80. Koçak C., Aydınlioğlu G., Uslu K. Ankara Piyasasında Satılan Dil Peynirlerinin Proteoliz Düzeyi Üzerine Bir Araştırma. *Gıda* 1997; 22(4):251-255.
81. Ten Brink B, Damink C, Joosten HMLJ, Huisin't Veld JHJ. Occurrence and Formation of Biologically Active Amines in Foods. *International Journal of Food Microbiology.* 1990; 11: 73-84.
82. Kalac P, Spicka J, Krizek M, Steidlova S, Pelikánová T. Concentration of Seven Biogenic Amines in Sauerkraut, *Food Chemistry.* 1999; 67, 275-280.
83. Yücel U, Üren, A. Şarap ve Lahana Turşularındaki Biyojen Amin Miktarları. *Akademik Gıda*, 2006; 4(19), 26-31.
84. Yücel U, Üren A, Turantaş F. Lahana Turşularında Biyogen Aminler: Sitrik Asit Ve Tuz Konsantrasyonlarının Etkisi. XII. Biyoteknoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, 17-21 Eylül, Ayvalık/Balıkesir,2001.

85. Erkan N. Biyojen Aminler ve Su Ürünleri için Önemi, TSE Standart Ekonomik ve Teknik Dergi, 2004; 506, 84-93.
86. Moret S, Smela D, Populin,T, Conte LS. A Survey on Free Biogenic Amine Content of Fresh and Preserved Vegetables, Food Chemistry, 2005; 89, 355-361.
87. Ergen KÖ. Sofralık Zeytinlerde Biyojen Amin Miktarlarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2006.
88. Durlu-Özkaya F, Ayhan K, Özkan G. Biogenic Amines Determination in Tulum Cheese By High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Milchwissenschaft. 2000; 55 (1), 27-8.
89. Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 4 th ed. London: Current Biology Publication; 1999. p 602.
90. Yetişmeyen A, Yıldız, F. Peynirlerde Biyojen Amin Riski, Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2005; 2 (2).
91. Bakirci İ. Peynirlerde Biyojen Amin Oluşumu ve Etkili Faktörler. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı, s. 328-336, Tekirdağ, 2000.
92. Varlık C. Soğukta Depolanan Sardalyalarda Histamin Düzeyinin Belirlenmesi. Gıda 1994; 2: 119-24.
93. Jones JM. Food Safety. 2nd Print. Minnesota USA: Eagon Press St. Paul, 1992.
94. Doull J, Klaassen CD, Amdur MO. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 2nd ed. New York, Macmillan Publishing Co. Inc., 1980.
95. Joosten HMLJ. The Biogenic Amine Contents Of Dutch Cheese And Their Toxicological Significance. Neth. Milk Dairy, J. 1988; 42: 25-42.
96. Chang SF, Ayres JW, Sandine WE. Analysis of Cheese for Histamine, Tyramine, Triptamine, Histidine, Tyrosine, and Tryptophane. Journal of Dairy Science. 1985; 68: 2840-2846.
97. Anli, RE. Şaraplarda Bazı Biyojen Aminlerin Belirlenmesi. Gıda, 2002; 27 (3): 225-227.
98. Özkaya FD, Tunail N. Beyaz Peynirlerde Biyogen Amin Riski. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. (Edit: Demirci M.). Rebel Yayıncılık, s,146-147, İstanbul, 2000.
99. Doeglas HMG, Huisman J, Nater JP. Histamine İntoxication After Cheese. Lancet. 1967; 2: 1361-1362.

100. Hoda H, Awad and Khalafalla F. Histamine Level In Imported Scombroid Fishes. Vet. Med., J Giza. 1993; 43 (3):67-71.
101. Stockemer, J.; Stede, M. Quantitative Histamin Bestimmung Durch Fluorimetrie Archiv für Lebens mittel Hygiene 1979; 30, 59-61.
102. Kawabata T, Ishizaka K, Miura T. Studies on The Allergy Like Food Poisoning Associated With Putrefaction of Marine Product. VI İnfluence of Trimethylamine and Trimethylamine Oxide Added to Histamine of Sardine Upon Their Own Action in Vivo. Bull. Jap. Soc. Fish.1956; 21:1177.
103. Özer HB, Atasoy AF, Akın MS. İnek ve Koyun Sütlerinden Geleneksel Yöntemle Üretilen Urfa Peynirlerinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları: 2002; 27(5), 328.
104. Fox PF, Mcsweeney PLH. Proteolysis in Cheese During Ripening. Food Rev. Int., 1996; 12(4), 457-509.
105. Joosten HMLJ. and Weerkamp AH. Vormingvanbiogeneaminen in kaas. Voedings Middelen Technologie. 1994; 27; (3); 9-11.
106. Sumner SS, Roche F. and Taylor SL. Histamine Formation By Enterococci İn Goat Cheese. İnt. J. Of food microbiol. 1990; 11, 225-230.
107. Seyes 2003 Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, Peynirde Olgunlaşmayı Saptamada Uygulanan Analiz Yöntemleri, İzmir Bildiri No: P69, 22-23 Mayıs, 2003
108. Fox PF. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. Journal Dairy Science. 1989; 72 (6): 1379-1400.
109. Lange J, Thomas K, Wittmann C. Comparison of A Capillary Electrophoresis Method with High-Performance Liquid Chromatography for The Determination of Biogenic Amines in Various Food Samples, Journal of Chromatography. 2002; 779, 229-239.
110. Moret S, Conte LS. High-Performance Liquid Chromatographic Evaluation of Biogenic Amines in Foods, An Analysis of Different Methods of Sample Preparation in Relation to Food Characteristics, Journal of Chromatography A, 1996; 729, 363-369.
111. Busto O, Valero Y, Guasch J. And Borull F. Solid Phase Extraction Applied to The Determination of Biogenic Amines, in Wines by HPLC, Chromatography, 1994; 38(9-10), 571-578.
112. Hışıl Y. Enstrümental Gıda Analizleri-I,Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova, İzmir, 1994; 1-3, 54.

113. Aygün O. Biyojen Aminler - Süt ve Süt Ürünlerindeki Varlığı ve Önemi. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med. 22 (2003), 1-2-3: 91-95.
114. Lerke PA, Bell LD. A Rapid Fluorometric Method For The Determination Of Histamine İn Canned Tuna, J.FoodSci., 1976; 41, 1282-1284.
115. Paulsen P, Bauer F, Vali S. Biogenic Amines İn Fermented Sausage. 1.Methods for the determination of biogenic amines Fleischwirtsch., 1997;77 pp. 450-452.
116. Van Boekel MAJS, Arentsen-Stasse, AP. Determination Of Aromatic Biogenic Amines And Their Precursors in Cheese by HPLC, J. of Chromatography, 1987; 389, 267-272.
117. Kataoka H, Shindoh S, Makita M. Selective Determination of Volatile Nitrosamines by Derivatization With Diethyl Chlorothiophosphate and Gas Chromatography With Flame Photometric Detection, J.Chromatogr. A, 1996; 723, 93.
118. Ordonez AI, Ibanez FC, Torre P, Barcina Y. Formation of Biogenic Amines in Idiazabal Ewe's-Milk Cheese: Effect of Ripening, Pasteurization and Starter. J.Food Protect., 1997; 60 ,1371-1375.
119. Skog K, Jagerstad M, Solyakov A, Arvidsson P. Analysis of Nonpolar Heterocyclic Amines in Cooked Foods and Meat Extracts Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry, J.Chromatogr. A. 1998; 803, 227-233.
120. Standara S, Vesela M, Drdak M. Determination of Biogenic Amines in Cheese By İon Exchange Chromatography, Nahrung, 2000; 44, 311-314.
121. Kalac P, Svecova S, Pelikanova T. Levels of Biogenic Amines in Typical Vegetable Products, Food Chemistry , 2001; 77, 349-351.
122. Aygün O, Schneider E, Scheuer R, Usleber E, Gareis M, Märtilbauer E. Comparison of ELISA and HPLC for the Determination of Histamine in Cheese 1999 May; 47(5):1961-4.
123. Marcobal A, Polo MC, Martí'n-A' lvarez PJ, Moreno-Arribas MV. Biogenic Amine Content Of Red Spanish Wines: Comparison Of A Direct ELISA and an HPLC Method For The Determination Of Histamine İn Wines. Food Research International 38 (2005) 387–394.
124. Türk Standardları Enstitüsü, Beyaz Peynir, T.S. 591, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara,1974.
125. American Dry Milk Institute, Standards for Grades of Dry Milks Including Methods of Analysis. American Dry Milk Institute-ADMI, Chicago, 1971.

126. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC, 1984.
127. American Public Health Association, Standards Methods for the Examination of Dairy Products, 13th. Ed., American Public Health Association, New York, 1974.
128. Lang KW, Sternberg MP. Calculation of Moisture Content of a Formulated Food System to any Shown Water Activity. Journal of Food Sci. 1980; 45: 1228-1230.
129. International Dairy Federation, Milk, Determination of Nitrogen Content, FIL-IDF 20B, Brussels: International Dairy Federation, 1993.
130. Kuchroo CN, Fox PF. Soluble Nitrogen in Cheddar Cheese: Comparison of Extraction Procedures. Milchwissenschaft, 1982; 37: 331-335.
131. Uraz T, Şimşek B. Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi. Gıda, 1998; 23, 371-375.
132. Polchroniadou A, Michaelidou A, Paschaloudis N. Effect of Time, Temperature and Extraction Method on The Trichloroacetic Acid-Soluble Nitrogen of Cheese. Int. Dairy Journal, 1999; 9, 559-568.
133. Jarret WD, Aston JW, Dulley JR.. A Simple Method for Estimating Free Amino Acids in Cheddar Cheese. Australian Journal of Dairy Technology. 1982; 37: 55-58.
134. Yetişmeyen A. Bazı Geleneksel Peynirlerimizin Biyojen Amin İçeriğinin Saptanması ve Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal Özellikleri ile Olan İlişkisinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara, 2005.
135. Kurt A, Çağlar A, Çakmakçı S, Akyüz N. Erzincan Tulum (Şavak) Peynirinin Kimyasal Özellikleri. Gıda, 1991a; 16(5), 295-302.
136. Akyüz N. Erzincan (Şavak) Tulum Peynirinin Yapılışı ve Bileşimi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Dergi. 1981; 12(1), 85-112.
137. Bostan K. Değişik Ambalajlar İçinde Bulunan Tulum Peynirlerinin Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri, "Her Yönüyle Peynir", II. Baskı, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fak. 1991. Yayın No: 125, 249-253, Tekirdağ Zir Fak Basımevi, Tekirdağ.
138. Patır B, Ateş G, Dinçoğlu AH, Kök F . Elazığ' da Tüketime Sunulan Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi ile Laktik Asit Bakterileri Üzerine Araştırmalar. F.Ü. Sağlık Bil. Dergi. 2000; 14(1), 75-83.
139. Çakmakçı S, Şengül M, Çağlar A. Karın Kaymağı Peynirinin Üretim Tekniği ve Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. Atatürk Üniversitesi, Gıda 1995; 20 (4): 199-203.

140. Demirci M. Ülkemizin Önemli Peynir Çeşitlerinin Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri, Özellikle Mineral Madde Bileşimi ve Enerji Değerleri Üzerinde Araştırmalar. T.Ü. Tekirdağ Zir. Fak. 1987; 7, 44, Tekirdağ.
141. Şengül M. Çiğ ve Pastörize İnek sütünden Yapılan ve Farklı Ambalaj Materyallerinde Olgunlaştırılan Tulum Peynirlerinin Bazı Kalite Kriterlerinin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enst., Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum, 1995.
142. Keleş A. Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Tulum Peynirinin Farklı Ambalajlarda Olgunlaştırılmasının Kaliteye Etkisi Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Selçuk Üniv, Sağlık Bilimleri Enst. Konya, 1995.
143. Göncü S. Divle Tulum Peynirinin Teknolojisi ve Bileşimi Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 1974; 12 (3), 515-533.
144. Tekinşen OC, Atasever M, Keleş A, Tekinşen KK. Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir Üretim ve Kontrol, Selçuk Üniv Basımevi, Konya, 2002.
145. Çalım HD. Konya ve Çevresinde Farklı Tip Ambalajlarda Tüketime Sunulan Tulum Peynirlerinin Kalite Nitelikleri. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Konya, 2007.
146. Bostan K. Uğur M, Aksu H. Deri ve Plastik Bidonlar İçinde Satışa Sunulan Tulum Peynirlerinin Duyusal, Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Pendik Hayv. Hast. Merk. Araşt. Enst. Derg, 1992; 23, 1.75-83.
147. Koçak C, Gürsel A, Uslu K, Aydın G. Proteolytic Changes in Tulum Cheeses Marketed in Ankara. Tr. Journal of Agriculture and Forestry, 1996a; 20, 268-271.
148. Eralp M, Kaptan N. Antalya İli Genel Sütçülüğüyle Süt Mamulleri Üzerinde İncelemeler”, A.Ü. Z.F. Yayınları, 436, A.Ü. Basımevi, Ankara, 1970.
149. Güven M, Konar A. Ankara, İstanbul ve Adana Piyasalarında Farklı Ambalajlarda Satılan Tulum Peynirlerinin Bazı Kimyasal Özellikleri ve Standarda Uygunluğu. Tr. Journal of Agriculture and Forestry. 1995;19, 287-291.
150. Güler Z. Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinin Serbest Yağ Asitleri İle Duyusal (Tat-Koku) Nitelikleri Arasındaki İlişkiler Üzerine Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2000.
151. İzmen E.R, Türkiye Mihaliç, Tulum ve Beyaz Peynirlerinin Terkipleri. Y.Z.E. Çalışmaları: 86, Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara. 1939.
152. Dığrak M, Yılmaz Ö, Özçelik S. Elazığ Kapalı Çarşısında Satışa Sunulan Erzincan (Şavak) Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Bazı Fiziksel Kimyasal Özellikleri. Gıda Dergisi, 1995;19 (6); 381-387.

153. Erceyes Ö, Tokatlı M, Bayram M, Erinç H, Yıldırım Z, Yıldırım M. Tokat Piyasasında Satışa Sunulan Tulum Peynirlerinin Bazı Niteliklerinin İncelenmesi, Türkiye 9. Gıda Kongresi Kitabı, 24-26, Bolu, Mayıs, 2006.
154. Yaygın H. Salamuralı Tulum Peynirinin Yapılışı ve Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. E.Ü. Zir. Fak. Dergi. 1971;8(1), 91-124.
155. Çağlar F. Pratik Peynircilik, Türk Yük. Zir. Müh. Birliği İş Kitapları. Sayı :10, Hüsniyat Basımevi. İstanbul, 1947.
156. Keleş A, Atasever M. Divle Tulum Peynirinin Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalite Nitelikleri, Süt Teknolojisi, 1996;1(1), 47-53.
157. Şengül M. Tulum Peynirinden İzole ve İdentifiye Edilen Bazı Laktik Asit Bakteri Suşlarının Starter Kültür Özellikleri ve Peynirlerin Bazı Özelliklerinin Tespiti. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum, 2001.
158. Uraz T. Peynirlerde Acı Tadın Oluşumu A.Ü.Z.F. Yayınları 1979;730, s 13, Ankara.
159. Güler Z, Uraz T. Proteolytic and Lipolytic Composition of Tulum Cheeses. Milchwissenschaft. 2003; 58 (9-10): 502-505.
160. Tuncel NB, Güneşer O, Engin B, Yaşar K, Zorba NN, Karagül-Yüceer Y. Ezine Peyniri II. Olgunlaşma Süresince Proteoliz Düzeyi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, 2010.
161. Michaelidou A, Katsiari MC, Kondyli E, Voutsinas LP, Alichanidis E. Effect of A Commercial Adjunct Culture on Proteolysis in Low-Fat Feta-type Cheese. International Dairy Journal. 2003; 13 (2- 3), 179-189
162. McSweeney PLH. and Fox PF. Chemical Methods for the Characterization of Proteolysis in Cheese During Ripening. Lait 1997;77: 41-76.
163. Godinho M, Fox PF. 1982. Ripening of Blue Cheese Influence of Slting Rate on Prpteolysis. Milchwissenschaft. 1982; 37(2): 72-75.
164. Mutluer U, Uygulanan Bazı Farklı İşlemlerin Sünme Peynirin Özellikleri Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2007.
165. Tunçtürk Y, Ocak E, Köse Ş. Farklı Süt Türlerinden Üretilen Van Otlu Peynirlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ile Proteoliz Profillerinde Olgunlaşma Sürecinde Meydana Gelen Değişimler. Gıda 2014; 39 (3): 163-170.
166. Henry M. Dosage Biologique de l'histamine dans les Aliments. Ann. Fals. Exp. Chim., 1960; 53: 24-33.

167. Koçak C, Gürsel A, Avşar YK, Semiz A. Ankara Piyasasındaki Tulum Peynirlerinin Bazı Nitelikleri. Tr. Journal Of Agriculture And Forestry. 1996b;20, 121-125.
168. Öner Z, Şanlıdere HA. Keçi Sütü Kullanılarak Yapılan Mihaliç Peynirinin Özelliklerinin Belirlenmesi. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu. Mayıs 2003; 141.
169. Tarakçı Z, Küçüköner E, Sancak H, Ekici K. İnek Sütünden Üretilerek Cam Kavonozlarda Olgunlaştırılan Tulum Peynirinin Bazı Özellikleri. YYÜ. Vet. Fak. Derg. 2005; 16(1), 9-14.
170. Nizamlıoğlu M. Kaşar ve Tulum Peynirlerinde Histamin Ve Tiramin Düzeyleri. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Konya,1990.
171. Antila P, Antila V, Matilla J, Hakkarainen H. Biogenic Amines in Cheese. 1. Determination of Biogenic Amines in Finnish Cheese Using High Performance Liquid Chromatography. Milchwiss. 1984a; 39 (2), 81-85.

8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğretimime Elazığ Fırat İlkokulu'nda, daha sonra Mezre İlköğretim Okulu'nda devam ettim. Liseyi Balakgazi Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2006-2010 yılları arasında İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimi aldım. 2011 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü'nde lisans üstü eğitimime başladım.

2013 yılında Şanlıurfa ili Eyyübiye Merkez ilçesinde Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'nde Gıda Kontrolörü olarak göreve başladım ve halen devam etmekteyim.