

## Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Süresinin Fermente Sucuklarda Biyojen Aminlerin Oluşumu Üzerine Etkisi\*

Hilal ÇOLAK, Muammer UĞUR

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 16.02.2001

**Özet:** Bu çalışma, olgunlaşmanın ve farklı sıcaklıklarda muhafaza süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Bunun için hazırlanan fermente sucuklar, olgunlaşma öncesi ve olgunlaşma sonrası ile farklı sıcaklıklarda (buzdolabı ve oda sıcaklığı) muhafazanın 3., 7., 14., 21., 30., 45., 60., 90. ve 180. günlerinde floresans dedektör kullanılarak HPLC yöntemiyle biyojen aminler (triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin), fiziko-kimyasal özellikler (rutubet, pH, su aktivitesi) ve mikrobiyolojik yönden (toplam aerob bakteriler, Enterobacteriaceae etkenleri, Pseudomonaslar, laktik asit bakterileri) incelenmiştir. Olgunlaşma öncesi sucuk örneklerinde, biyojen aminlerden triptamin 2,3 mg/kg,  $\beta$ -feniletilamin 2,9 mg/kg, putresin 54,8 mg/kg, kadaverin 4,3 mg/kg, histamin 42,4 mg/kg, tiramin 29,8 mg/kg, spermidin 9,2 mg/kg ve spermin 12,9 mg/kg, olgunlaşma sonrası sucuk örneklerinde ise triptamin 8,5 mg/kg,  $\beta$ -feniletilamin 21,3 mg/kg, putresin 110,6 mg/kg, kadaverin 10,1 mg/kg, histamin 121,7 mg/kg, tiramin 159,9 mg/kg, spermidin 12,0 mg/kg ve spermin 26,1 mg/kg olarak belirlenmiştir. Biyojen aminlerin miktarında spermin ve spermidin hariç muhafaza süresi boyunca artışlar tespit edilmiştir.

Buzdolabı ve oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerin 180. gününde triptamin miktarı sırasıyla 23,4 ve 50,3 mg/kg,  $\beta$ -feniletilamin 33,1 ve 60,6 mg/kg, putresin 223,5 ve 351,5 mg/kg, kadaverin 23,5 ve 61,9 mg/kg, histamin 188,3 ve 426,4 mg/kg, tiramin 245,1 ve 351,0 mg/kg, spermidin 7,3 ve 6,0 mg/kg, spermin 14,2 ve 12,8 mg/kg olarak bulunmuştur. Gerek olgunlaşma öncesi ve sonrasında, gerekse muhafaza süresince putresin, histamin ve tiramin diğer biyojen aminlere göre daha yüksek miktarlarda saptanmıştır. Sonuç olarak, biyojen aminler oda sıcaklığında muhafaza edilen sucuklarda, buzdolabındakilere oranla daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. Fermente sucuklarda biyojen amin oluşumun önlenmesi için üretimde hijyenik kalitesi yüksek et kullanılması, amin-negatif starter kültürlerle olgunlaşma süresinin kısa tutulması ve üretim sonrasında sucukların düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi önerilmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Türk sucuğu, biyojen aminler, histamin, putresin, tiramin

### The Effect of Different Temperature and Time in Storage on the Formation of Biogenic Amines in Fermented Sucuks

**Abstract:** The aim of this study was to determine the effect of maturing and storing time at different temperatures on biogenic amine formation in fermented sucuk produced in Turkey. For this purpose, fermented sucuks were analysed for biogenic amines (tryptamine,  $\beta$ -phenylethylamine, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine and spermine) by means of HPLC using a fluorescence detector, for physicochemical characteristics (humidity, pH, water activity) and for microbiological characteristics (aerobic plate count, Enterobacteriaceae, Pseudomonas, lactic acid bacteria) before and after maturation and on days 3, 7, 14, 21, 30, 45, 60, 90 and 180 of storage using different storage conditions (refrigerator and room temperature). Before maturation, biogenic amines were as follows: tryptamine 2.3 mg/kg,  $\beta$ -phenylethylamine 2.9 mg/kg, putrescine 54.8 mg/kg, cadaverine 4.3 mg/kg, histamine 42.4 mg/kg, tyramine 29.8 mg/kg, spermidine 9.2 mg/kg and spermine 12.9 mg/kg. After maturation, biogenic amine values were determined to be tryptamine 8.5 mg/kg,  $\beta$ -phenylethylamine 21.3 mg/kg, putrescine 110.6 mg/kg, cadaverine 10.1 mg/kg, histamine 121.7 mg/kg, tyramine 159.9 mg/kg, spermidine 12.0 mg/kg and spermine 26.1 mg/kg. During storage, increases were determined in the amount of biogenic amines, except spermine and spermidine. In the analysis performed on day 180 the amount of biogenic amines were as follows: tryptamine 23.4 and 50.3 mg/kg,  $\beta$ -phenylethylamine 33.1 and 60.6 mg/kg, putrescine 223.5 and 351.5 mg/kg, cadaverine 23.5 and 61.9 mg/kg, histamine 188.3 and 426.4 mg/kg, tyramine 245.1 and 351.0 mg/kg, spermidine 7.3 and 6.0 mg/kg, and spermine 14.2 and 12.8 mg/kg respectively, in refrigeration and at room temperature. Both before and after maturation and during storage, putrescine, histamine and tyramine levels were higher than those of other biogenic amines. In conclusion, biogenic amines were higher in sucuks stored at room temperature than in refrigeration. Some suggestions can be made in order to prevent the occurrence of biogenic amines in fermented sucuks. These include using the meat in hygienic conditions, shortening the maturation time with amine-negative starter cultures and storing the sucuks at low temperature after production.

**Key Words:** Turkish sucuk, biogenic amines, histamine, putrescine, tyramine.

\* Bu çalışma İ.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-502/180398

## Giriş

Biyojen aminler, amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan azotlu bileşiklerdir (1,2). Bu aminler, kimyasal yapı olarak alifatik (putresin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatik (tiramin,  $\beta$ -feniletilamin) veya heterosiklik (histamin, triptamin) olabilirler (2). Biyojen aminler, gıdalarda mikrobiyel orijinli enzimler tarafından spesifik serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşurlar (3-5). Gıdalarda meydana gelen en önemli biyojen aminler histamin, tiramin, putresin, kadaverin,  $\beta$ -feniletilamin, triptamin, spermidin ve spermin'dir. Bu aminler sırasıyla histidin, tirozin, ornitin, lizin, fenil alanin, triptofan ve arginin amino asitlerinden dekarboksilazların etkisi ile oluşmaktadır (2,6-8). Spermin ve spermidin putresinden de meydana gelebilmektedir (6). Mikrobiyal ve biyokimyasal aktivite yönünden koşulların uygun olduğu ortamlarda bulunan, serbest amino asit veya protein içeren tüm gıdalarda biyojen aminlere rastlanılmaktadır (2). Biyojen aminlerin özellikle balık, balık ürünleri, peynir, et ve et ürünleri gibi çeşitli gıdalarda, bira, şarap, lahana turşusu gibi fermente ürünlerde önemli miktarda oluştukları bildirilmektedir (8). Dünyanın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda ticari marketlerden toplanan fermente sucukların yüksek düzeyde biyojen amin içerdikleri rapor edilmiştir (1,3,9-11). Ancak, ülkemizde üretilen fermente sucuklarda biyojen aminler üzerine araştırmalara pek rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, ülkemizde üretilen fermente sucuklarda, olgunlaşmanın ve farklı sıcaklıklarda muhafaza süresinin biyojen aminlerin (triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin) oluşumları üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

*Staphylococcus xylosus* ve *Pediococcus pentosaceus* içeren starter kültür (Floracarn) ilave edilmiş fermente sucuklar kullanılmıştır.

### Metod

Hazırlanan sucuklar 1. gün 22 °C ve % 95 RH (relatif nem), 2. gün 23 °C ve % 90 RH, 3. gün 24 °C ve % 65 RH, 4. gün 24 °C ve % 65 RH ve 90 m/sn hava cereyanında olgunlaştırma işlemine tabi tutuldu. Olgunlaşma işleminden sonra sucuklar buzdolabı (+4 °C

$\pm 1$ ) ve oda sıcaklığında (+22 °C  $\pm 5$ ) olmak üzere iki grup halinde muhafazaya alındı. Sucukların üretimi farklı tarihlerde olmak üzere üçer kez tekrarlandı. Her iki gruptaki sucuk örnekleri (+4 °C ve oda sıcaklığı) olgunlaşma öncesi, sonrası ve muhafazanın 3., 7., 14., 21., 30., 45., 60., 90. ve 180. günlerinde biyojen aminler, rutubet, pH, su aktivitesi ve mikrobiyal sayılar (toplam aerob bakteri, Enterobacteriaceae, laktik asit bakterileri ve Pseudomonaslar) açısından analiz edildi.

### Analitik Metotlar

Biyojen aminler (triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin) Paulsen ve ark. (12) tarafından geliştirilen HPLC (High Performance Liquid Chromatography) metoduna göre tayin edildi. 10 g örnek triklorasetikasit ile homojenize edildikten sonra membran filtreden süzüldü. Filtratin 0.4 ml'si dansil klorür reaktifi ile türevlendirilerek floresans dedektör aracılığıyla HPLC sisteminde analiz edildi.

Rutubet miktarı, örnek 105 $\pm$ 2 °C'de sabit ağırlığa gelene kadar bekletilerek tayin edildi. pH için örnekler distile su ile homojenize edildikten sonra pH-metre (Hanna HI 9321) ile ölçümleri yapıldı. Su aktivitesi, higrometre (Lufft) ile ölçüldü. Tüm analizler her örneğe iki kez uygulandı.

### Mikrobiyolojik Analizler

Sucuk örneklerinden hazırlanan ana dilüsyondan, seri üst dilüsyonlar hazırlanarak toplam aerob bakteri sayımı Plate Count Agar'da (PCA, Oxoid), Enterobacteriaceae sayımı Violet Red Bile Dextrose Agar'da (VRBD, Acumedia), Pseudomonaslar, Pseudomonas Agar'da (PsA, Oxoid), Laktik Asit Bakterileri sayımı Man Ragosa Sharpe Agar'da (MRS-Agar, Oxoid) yapıldı.

## Bulgular

Fermente sucuk örneklerinde, olgunlaşma öncesi, olgunlaşma sonrası ve farklı sıcaklıklarda (buzdolabı ve oda sıcaklığı) muhafazanın 3., 7., 14., 21., 30., 45., 60., 90. ve 180. günlerinde tespit edilen biyojen aminlerin (triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin) miktarları Tablo 1'de; rutubet, su aktivitesi ve pH değerleri Tablo 2'de; toplam aerob bakteri, Enterobacteriaceae grubu etkenler, laktik asit bakterileri ve Pseudomonasların sayım sonuçları ise Tablo 3'te verildi. Tablolarda gösterilen değerler, farklı tarihlerde yapılan üç üretim grubuna ait analiz sonuçlarının ortalamalarıdır.

Tablo 1. Fermente sucuklarda olgunlaşma ve muhafaza sırasındaki biyojen amin miktarları (mg/kg kuru madde).

Biyojen Aminler	Olgunlaşma Öncesi	Olgunlaşma Sonrası	Muhafaza Şekli	Muhafaza süresi									
				3.gün	7.gün	14.gün	21.gün	30.gün	45.gün	60.gün	90.gün	180.gün	
Triptamin	2,3	8,5	Buzdolabı sıcaklığı	12,7	19,9	21,8	23,8	25,9	24,9	26,4	25,4	23,4	
			Oda sıcaklığı	38,4	41,3	41,5	42,2	43,8	45,0	46,2	49,1	50,3	
Feniletilamin	2,9	21,3	Buzdolabı sıcaklığı	26,2	32,4	31,8	33,8	36,2	37,5	38,0	37,1	33,1	
			Oda sıcaklığı	59,1	72,3	71,5	67,2	69,0	59,6	67,2	66,0	60,6	
Putresin	54,8	110,6	Buzdolabı sıcaklığı	129,7	150,6	152,8	177,6	201,9	197,9	223,5	228,4	223,5	
			Oda sıcaklığı	205,7	279,1	276,2	333,8	345,3	335,6	355,7	356,1	351,5	
Kadaverin	4,3	10,1	Buzdolabı sıcaklığı	15,2	17,2	19,3	23,1	26,5	22,3	22,9	27,2	23,5	
			Oda sıcaklığı	32,1	30,5	45,3	58,0	61,4	59,9	60,7	66,0	61,9	
Histamin	42,4	121,7	Buzdolabı sıcaklığı	143,1	146,9	159,2	161,9	175,0	193,3	206,3	198,6	188,3	
			Oda sıcaklığı	158,7	202,4	308,0	360,6	369,8	405,0	439,0	432,3	426,4	
Tiramin	29,8	159,9	Buzdolabı sıcaklığı	193,3	219,5	245,7	256,1	264,3	258,2	246,5	239,2	245,1	
			Oda sıcaklığı	210,3	256,8	269,6	327,1	336,1	337,1	363,2	363,4	351,0	
Spermidin	9,2	12,0	Buzdolabı sıcaklığı	30,1	19,6	14,8	18,8	6,9	5,0	5,0	5,1	7,3	
			Oda Sıcaklığı	17,4	13,3	13,6	12,2	11,0	9,6	8,0	8,5	6,0	
Spermin	12,9	26,1	Buzdolabı sıcaklığı	28,1	21,5	18,8	28,5	17,2	10,4	15,6	15,9	14,2	
			Oda sıcaklığı	17,3	14,2	21,8	17,0	18,5	13,5	16,2	16,2	12,8	

Tablo 2. Fermente sucuklarda olgunlaşma ve muhafaza sırasında tespit edilen fiziko-kimyasal analiz sonuçları.

Fiziko-kimyasal Değerler	Olgunlaşma Öncesi	Olgunlaşma Sonrası	Muhafaza Şekli	Muhafaza süresi									
				3.gün	7.gün	14.gün	21.gün	30.gün	45.gün	60.gün	90.gün	180.gün	
Rutubet (%)	49,0	42,3	Buzdolabı sıcaklığı	38,5	36,0	32,5	30,9	29,5	25,3	23,8	22,3	21,1	
			Oda sıcaklığı	33,1	25,7	18,8	16,1	14,1	12,1	11,5	10,4	9,5	
Su aktivitesi(a <sub>w</sub> )	0,966	0,945	Buzdolabı sıcaklığı	0,941	0,933	0,923	0,918	0,910	0,893	0,882	0,843	0,832	
			Oda sıcaklığı	0,919	0,896	0,838	0,786	0,755	0,715	0,705	0,662	0,653	
pH	5,48	4,44	Buzdolabı sıcaklığı	4,47	4,49	4,54	4,58	4,59	4,66	4,78	4,88	4,54	
			Oda sıcaklığı	4,48	4,48	4,56	4,61	4,64	4,58	4,71	4,66	4,35	

Tablo 3. Fermente sucuklarda olgunlaşma ve muhafaza sırasında tespit edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları (log<sub>10</sub> kob/g).

Mikroorganizma Sayıları	Olgunlaşma Öncesi	Olgunlaşma Sonrası	Muhafaza Şekli	Muhafaza süresi									
				3.gün	7.gün	14.gün	21.gün	30.gün	45.gün	60.gün	90.gün	180.gün	
Toplam Aerob Bakteri	7,05	8,31	Buzdolabı sıcaklığı	8,24	8,22	8,14	7,98	7,59	7,45	7,32	6,56	5,62	
			Oda sıcaklığı	8,26	8,21	7,95	7,53	7,37	7,08	6,35	5,65	3,94	
Enterobacteriaceae	4,86	1,27	Buzdolabı sıcaklığı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
			Oda sıcaklığı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Laktik Asit Bakterileri	6,57	7,95	Buzdolabı sıcaklığı	8,19	8,15	8,05	7,94	7,56	7,36	7,23	6,38	5,51	
			Oda sıcaklığı	8,16	8,13	7,85	7,41	7,17	7,02	6,23	5,45	3,79	
Pseudomonaslar	4,37	1,90	Buzdolabı sıcaklığı	1,60	0,88	-	-	-	-	-	-	-	
			Oda sıcaklığı	1,20	-	-	-	-	-	-	-	-	

## Tartışma

Bu çalışmada, ülkemizde üretilen fermente sucuklarda olgunlaşmanın ve farklı sıcaklıklarda (buzdolabı ve oda sıcaklığı) muhafaza süresinin biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. Fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu, hammadde olarak kullanılan etin mikrobiyolojik kalitesine ve olgunlaşma ile depolanma sırasında ortama hakim olan mikroorganizmalara bağlı olarak gelişir (13-15). Et ve et ürünlerinde biyojen aminleri oluşturan en önemli bakterilerin Enterobacteriaceae familyasına bağlı etkenler, Pseudomonaslar ve laktik asit bakterileri olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (2,8,16,17). Bu çalışmada, olgunlaşma öncesinde sucuk hamurunda biyojen aminlerin sentezinden sorumlu olan Enterobacteriaceae familyasına ait etkenler  $4,86 \log_{10}$  kob/g, Pseudomonaslar  $4,37 \log_{10}$  kob/g olarak saptanmıştır. Bu mikroorganizmaların sayılarına bağlı olarak olgunlaşma öncesinde sucuk hamurunda 2,3 mg/kg triptamin, 2,9 mg/kg  $\beta$ -feniletilamin, 54,8 mg/kg putresin, 4,3 mg/kg kadaverin, 42,4 mg/kg histamin, 29,8 mg/kg tiramin, 9,2 mg/kg spermidin ve 12,9 mg/kg spermin tespit edilmiştir (Tablo 1). Sucuk hamurunda bulunan bu biyojen aminlerin varlığının etin hijyenik kalitesinden kaynaklandığı kabul edilmektedir.

Fermente sucukların olgunlaşma sonrasında pH'larının 5,48 den 4,44'e, su aktivitelerinin ( $a_w$ ) 0,966'dan 0,945'e düştüğü saptanmıştır (Tablo 2). Olgunlaşma sırasında pH ve  $a_w$  düşmesine ve artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak Enterobacteriaceae etkenleri  $4,86 \log_{10}$  kob/g'dan  $1,27 \log_{10}$  kob/g'a, Pseudomonaslar ise  $4,37 \log_{10}$  kob/g'dan  $1,90 \log_{10}$  kob/g'a düşmüştür (Tablo 3). Hernandez-Jover ve ark. (3) fermente sucukların olgunlaşması sırasında meydana gelen koşulların Gram negatif bakterilerin gelişimini önlediğini rapor etmişlerdir. Sucukların olgunlaşması sırasında pH'nın düşüşü ile birlikte bakteriler arasındaki rekabet sonucu, laktik asit bakterileri ortamda gelişerek, baskın duruma geçmektedir. Bundan dolayı, fermente sucuklarda amin-pozitif laktik asit bakterilerinin biyojen amin üretmeleri stimule edilmektedir (17). Bu çalışmada laktik asit bakteri sayıları olgunlaşma öncesi  $6,57 \log_{10}$  kob/g iken, olgunlaşma sonunda  $7,95 \log_{10}$  kob/g'a yükselmiştir. Fermente sucuklarda olgunlaşma süresinde görülen benzer mikrobiyel değişimler bir çok araştırmacı tarafından da bildirilmiştir (3,9,13,18).

Fermente sucukların olgunlaşması sırasında mikrobiyel değişimlerle ilgili olarak biyojen aminlerin miktarının yükseldiği gözlenen bu çalışmada, putresin, histamin ve tiraminin en yüksek miktarlarda olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Histamin ve tiramin miktarlarının artışında amin pozitif laktik asit bakterilerinin etkili olduğu düşünülmektedir. Sucuklarda yüksek miktarlarda histamin ve tiramin oluşumunun, laktik asit bakteri kontaminasyonu ile ilişkili olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (4,17). Olgunlaşma sırasında putresin miktarında görülen artış, muhtemelen olgunlaşmanın ilk günlerinde ortama hakim olan Enterobacteriaceae familyasına ait etkenler ve Pseudomonaslardan ileri gelmektedir. Enterobacteriaceae etkenleri ve Pseudomonas'ların putresin ürettiği bir çok araştırmacı tarafından da rapor edilmiştir (2,8,19,20). Fermente sucuklarda olgunlaşma sırasında biyojen aminlerin miktarlarının arttığı, çeşitli araştırmacılar tarafından da bildirilmiş (3,9-11), bu araştırmada da biyojen aminlerin miktarlarının arttığı saptanmıştır.

Bu çalışmada, muhafaza süresince buzdolabı ve oda sıcaklığında saklanan fermente sucuk örneklerinde, pH değerleri açısından büyük bir farklılık gözlenmemiş, buzdolabında muhafaza edilen sucuk örneklerinde 180. günde pH değeri 4,54 iken, oda sıcaklığında bu değer 4,35 olarak saptanmıştır. Muhafaza süresi boyunca tespit edilen düşük pH, biyojen amin oluşumu için uygun bir ortam oluşturmaktadır (2,21). Zira, asidik ortamlarda, bakteriler kendilerini koruyabilmek için biyojen amin üretirler (1,16,21-23). Buzdolabı ve oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde düşen su aktivitesi ve pH değerlerine paralel olarak, Enterobacteriaceae etkenleri, her iki muhafaza grubunda da 3. günde, Pseudomonaslar ise buzdolabında muhafaza edilen örneklerde 14. günde, oda sıcaklığındaki örneklerde 7. günde tespit edilememiştir. Buna karşın, laktik asit bakterileri floraya hakim duruma geçmiş, ancak 14. günden sonra her iki muhafaza grubunda da sayıları giderek azalmıştır.

Muhafaza sırasında proteolizis etkisiyle, muhtemelen ortamda mevcut olan laktik asit bakterilerinin dekarboksilaz aktivitesine bağlı olarak, biyojen amin miktarlarında (spermidin ve spermin hariç) artışlar gözlenmiştir. (Tablo 1). Muhafaza süresince önemli artışlar putresin, histamin ve tiraminde görülmüştür.

Putresin miktarları, buzdolabında muhafazanın 3. gününde 129,7 mg/kg olarak bulunmuş, 60. güne kadar düzenli bir artış göstererek, 223,5 mg/kg olarak

belirlenmiş ve muhafaza sonuna kadar bu miktar sabit kalmıştır. Oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde belirlenen putresin miktarı ise buzdolabındaki örneklere göre büyük bir artış göstererek, muhafazanın 3. gününde 205,7 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Putresin miktarlarındaki bu artış muhafazanın 60. gününe kadar devam etmiş ve 355,7 mg/kg olarak bulunmuştur. Bu verilere göre, oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde daha fazla olmak üzere, her iki sıcaklık grubunda da putresin artışları meydana geldiği görülmektedir. Bu çalışmada tespit edilen putresin miktarlarıyla benzer sonuçlar, Vandekerckhove (10), Wortberg ve Woller (11), Paulsen ve ark. (12) ve Hernandez-Jover ve ark. (24) tarafından da elde edilmiştir.

Fermente sucuklarda yüksek miktarlarda histamin bulunuşu, histamin oluşturan mikroorganizmaların kontaminasyonunu ve kullanılan etin depolanma süresini gösterir. (9,13,17,25,26). Bu çalışmada, buzdolabında muhafazanın 3. gününde 143,1 mg/kg'a artış gösteren histamin miktarı, 60. güne kadar yükselmiş (206,3 mg/kg) ve 180. günde ise 188,3 mg/kg değerine düşmüştür. Buna karşın, oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerdeki histamin miktarı, 3. günde, 158,7 mg/kg'a yükselmiştir. Histamin miktarında, muhafazanın 60. gününe kadar hızlı bir artış gözlenerek (439,0 mg/kg) 180. günde ise 426,4 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda 25 °C'de amin oluşumlarının 4 °C'ye göre daha fazla olduğu bildirilmektedir (2,27,28). Bu çalışmada belirlenen histamin miktarları, fermente sucuklarda Vandekerckhove (10), Paulsen ve ark. (12), Hernandez-Jover ve ark. (24), Eerola ve ark. (29), tarafından bulunan histamin miktarları ile uyumluluk göstermektedir.

Muhafaza süresince tiramin miktarı buzdolabındaki örneklerde 3. günde 193,3 mg/kg'a yükselerek, 30. günde 264,3 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Tiramin miktarı, muhafazanın 180. gününe kadar hafif bir azalma göstererek, bu günde 245,1 mg/kg olarak bulunmuştur. Oda sıcaklığında yapılan muhafazada ise, örneklerdeki tiramin miktarı 3. günde 210,3 mg/kg'a artış göstermiş, bu durum muhafazanın 60. gününe kadar devam etmiş (363,2 mg/kg) ve 180. günde 351,0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından sucuklarda yapılan çalışmalarda saptanan tiramin miktarları; Vandekerckhove (10) maksimum 1506,3 mg/kg (ort. 368,2 mg/kg), Hernandez-Jover ve ark. (24) 53,3-513,4 mg/kg, Koehler ve Eitenmiller (30) maksimum 374 mg/kg (ort.133 mg/kg) olarak bu çalışmada saptanan tiramin seviyeleri ile paralellik göstermektedir.

Buzdolabı ve oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresince triptamin,  $\beta$ -feniletilamin ve kadaverin miktarlarında büyük artışlar kaydedilmemiştir (Tablo 1).

Bu çalışmada analiz edilen diğer altı biyojen aminden farklı olarak spermidin ve sperminin, muhafaza süresi boyunca azalma eğiliminde olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Hernandez-Jover ve ark. (3) ve Trevino ve ark. (31) da sucuklarda muhafaza süresi boyunca, spermidin ve spermin miktarlarında azalma eğilimi kaydetmişlerdir. Sucuklarda başlangıç seviyelerine göre spermidin ve spermin miktarlarında görülen azalmalar, bu poliaminlerin mikroorganizmalar tarafından azot kaynağı olarak kullanılması ile açıklanmaktadır (3,5). Çalışmamızda bulunan spermidin ve spermin miktarları, diğer araştırmacıların (3,16,24,31) sonuçları ile uyum içerisindeydi.

Sonuç olarak, bu çalışmada etin hijyenik kalitesine bağlı olarak olgunlaşma öncesinde sucuk hamurunda triptamin,  $\beta$ -feniletilamin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin biyojen aminleri tespit edilmiştir. Olgunlaşma sırasında ortama hakim olan mikroflora ve amin oluşumunu sağlayan ortamın etkisiyle biyojen aminlerin miktarlarında artışlar saptanmıştır. Muhafaza sırasında da biyojen aminlerin miktarlarında önemli ölçüde artışlar (spermidin ve spermin hariç) tespit edilmiştir. Bu artışlar, genellikle 60. güne kadar devam ederek, 90. ve 180. günlerde hemen hemen sabit kalmıştır. Sıcaklığın, muhtemelen bakterilerin dekarboksilaz aktivitesini arttırması nedeniyle, oda sıcaklığında muhafaza edilen örneklerde, buzdolabında muhafaza edilen örneklere oranla daha fazla miktarda biyojen aminlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma öncesinde, sonrasında ve muhafaza süresinde biyojen amin miktarlarında görülen artışların en fazla putresin, histamin ve tiraminde olduğu saptanmıştır.

Fermente sucuklarda biyojen amin oluşumunda en önemli faktörlerin üretimde kullanılan etin hijyenik kalitesi, fermente sucuk üretimindeki kontaminasyonlar ve özellikle olgunlaşma sırasında biyojen aminlerin oluşumunu sağlayan ortam olduğu kanısına varılmıştır. Bunun önlenmesi için amin oluşumunda önemli rol oynayan laktik asit bakterileri ve proteolitik aktivitenin en aza indirilebilmesi amacı ile sucuk üretiminde iyi hijyenik kalitede et kullanılması, amin-negatif starter kültürlerden yararlanılarak olgunlaşma süresinin kısaltılmasının sağlanması ve üretim sonrası sucukların düşük sıcaklıklarda muhafaza edilmesi önerilmektedir.

## Kaynaklar

- Majjala, R.L., Eerola SH, Aho, M.A., Hirv, J.A.: The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *J. Food Protect.* 1993; 56 (2): 125-129.
- Santos, S.: Biogenic amines: their importance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1996; 29: 213-231.
- Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, T., Marine-Font, A., Carmen Vidal-Carou, M.: Effect of starter cultures on biogenic amine formation during fermented sausage production. *J. Food Protect.* 1997; 60 (7): 825-830.
- Masson, F., Talon, R., Montel, M.C.: Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *Int. Food Microbiol.* 1996; 32: 199-207 .
- Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Carmen Vidal-Carou, M.: Reduction of biogenic amine formation using a negative amino acid-decarboxylase starter culture for fermentation of fuet sausages. *J. Food Protect.* 2000; 63 (2): 237-243.
- Kalac, P., Spicka, J., Krizek, M., Stediedlova, S., Pelikanova, T.: Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut. *Food Chem.* 1999; 67 : 275-280.
- Hornero-Mendez, D., Garrido-Fernandez, A.: Rapid HPLC analysis of biogenic amines in fermented vegetable brines. *J. Food Protect.* 1997; 60 (4): 414-419.
- Shalaby, A.R.: Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* 1996; 29 (7): 675-690.
- Tschabrun, R., Sick, K., Bauer, F., Kranner, P.: Bildung von Histamine in Schnitffesten Rohwürsten. *Fleischwirtsch.* 1990; 70 (4): 448-452.
- Vandekerckhove P.: Amines in dry fermented sausages. *J. Food Sci.* 1977; 42: 283-285.
- Wortberg, B., Woller, R.: Zur Qualität und frische von fleisch und fleischwaren im Hinblick auf ihren Gehalt an biogenen Aminen. *Fleischwirtsch.* 1982; 62 (11): 1457-1463.
- Paulsen, P., Bauer, F., Vali, S.: Biogenic amines in fermented sausage. 1. Methods for the determination of biogenic amines. *Fleischwirtsch.* 1997; 77 (5): 450-452.
- Bauer, F., Seus, I., Paulsen, P., Vali, S.: The formation of biogenic amines in meat and meat products. 40<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology. 1994; Netherlands.
- Bauer, F., Tschabrun, R., Sick, K.: Content and formation of histamine in long ripened dry sausages. *Agr. Food Chem. Consumer.* 1989; Versailles, France.
- Eerola, S., Majjala, R., Roig-Sagues, A.X., Salminen, M., Hirvi, T.: Biogenic amines in dry sausages as affected by starter culture and contaminant amine-positive lactobacillus. *J. Food Sci.* 1996; 61 (6): 1243-1246.
- Bover-Cid, S., Schoppen, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C.: Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausages. *Meat Sci.* 1999; 51: 305-311.
- Majjala, R., Eerola, S.: Contaminant Lactic Acid Bacteria of dry sausages produce histamine and tyramine. *Meat Sci.* 1993; 35: 387-395.
- Roig-Sagues, A.X., Hernandez-Herrero, M.M., Lopez-Sabater, E.I., Rodriguez-Jerez, J.J., Mora-Ventura, M.T.: Microbiological events during the elaboration of "fuet", a Spanish ripened sausage. Relationships between the development of histidine and tyrosine-decarboxylase-containing bacteria and pH and water activity. *Eur. Food Res. Technol.* 1999; 209: 108-112.
- El Daher, N.S., Simard, R.E.: Putrefactive amine changes in relation to microbial counts of ground beef during storage. *J. Food. Protect.* 1985; 48 (1): 54-58.
- Slemr, J.: Biogene amine als potentieller chemischer qualitätsindikator für Fleisch. *Fleischwirtsch.* 1981; 61 (6): 921-926.
- Teodorovic, V., Buncic, S., Smljanic, D.: A study of factors influencing histamine production in meat. *Fleischwirtsch.* 1994; 74 (2): 170-172.
- Majjala, R.: Histamine and tyramine production by a lactobacillus strain subjected to external pH decrease. *J. Food Protect.* 1994; 57 (3): 259-262.
- Masson, F., Lebert, A., Talon, R., Montel, M.C.: Effects of physico-chemical factors influencing tyramine production by *Carnobacterium divergens*. *J. Appl. Microbiol.* 1997; 83: 36-42.
- Hernandez-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogues, M.T., Marine-Font, A., Vidal-Carou, M.C.: Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *J. Agric. Food Chem.* 1997; 45 (6): 2098-2102.
- Kranner, P., Bauer, F., Helwig, E.: Investigations on the formation of histamine in raw sausages. 37<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology. 1991; Kulmbach, Germany.
- Roig-Sagues, A.X., Hernandez-Herrero, M., Rodriguez-Jerez, J.J., Lopez-Sabater, E.I., Mora-Ventura, M.T.: Histidine decarboxylase activity of *Enterobacter cloacae* 515/19 during the production of ripened sausages and its influence on the formation of cadaverine. *J. Food Protect.* 1997; 60 (4): 430-432.
- Ababouch, L., Afilal, M.E., Rhafiri, S., Busta, F.F.: Identification of histamine-producing bacteria isolated from sardine (*Sardina Pilchardus*) stored in ice and ambient temperature (25 °C). *Food Microbiol.* 1991; 8: 127-136.
- Blaschey, I., Welz, P., Möpke, H.U.: Untersuchungen über das histaminbildungsver mögen ausgewählter enterobacteriaceae-spezies in Abhängigkeit von Temperatur und pH-wert-einfluß. *Arch. Lebensmittelhyg.* 1991; 42 (6): 154-156.
- Eerola, H.S., Roig-Sagues, A.X., Hirvi, T.K.: Biogenic amines in Finnish dry sausages. *J. Food Safety.* 1998; 18 (2): 127-138.
- Koehler, P.E., Eitenmiller, R.R. : High pressure liquid chromatographic analysis of tyramine, phenylethylamine and tryptamine in sausage, cheese and chocolate. *J. Food Sci.* 1978; 43: 1245-1247.
- Trevino, E., Beil, D., Steinhart, H.: Determination of biogenic amines in mini salami during long-term storage. *Food Chem.* 1997; 58 (4): 385-390.