



Inhibitory Effect of Rosemary Essential Oil and Its Nanoemulsion on the Formation of Biogenic Amines by Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Bacteria

Yılmaz UÇAR^{*1}, Mustafa DURMUŞ², Esmeray KÜLEY³, Koray KORKMAZ⁴

^{1,4}Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, 52400, Ordu, Türkiye

^{2,3}Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-6770-6652>, ²<https://orcid.org/0000-0002-2836-5154>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0655-0105>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-2940-6592>

*Corresponding author e-mail: yucar@cu.edu.tr

Article Info

Received: 11.12.2021

Accepted: 08.03.2022

Online published: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1035443

Keywords

Bacteria,
Biogenic amine,
Essential oils,
Decarboxylase broth,
Nanoemulsion

Abstract: The effect of nanoemulsions based on rosemary essential oil (BNE) and its purified version (BEO) on the growth of fish spoilage bacteria (*P. luteola*, *P. damsela*, *V. vulnificus*, *E. faecalis*, *S. liquefaciens*, and *P. mirabilis*) and foodborne pathogens (*S. Paratyphi A*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, and *E. faecalis*) and their biogenic amine formation were investigated in tyrosine decarboxylase broth (TDB) using HPLC method. The flavour compounds of extracted BEO were determined using GC-MS. Physical properties of BNE (viscosity, thermodynamic stability, droplet size, and surface tension) were analysed. Tween 80, BEO, and BNE were inhibitory effects on the growth performances of the pathogenic and spoilage bacteria. Differences in ammonia (AMN) and biogenic amine (BA) production among groups were statistically significant ($p < 0.05$). The highest HIS production was obtained by spoilage *E. faecalis* (58.76 mg L^{-1}) and the lowest by *V. vulnificus* (2.29 mg L^{-1}). Almost all other BAs such as PUT, CAD, SPD, and PHEN were formed by pathogens and spoilage groups. *S. aureus* ($143.05\text{-}702.88 \text{ mg L}^{-1}$) was the main high tyramine (TYR) producer in TDB. HIS production by *V. vulnificus* was considerably suppressed in the presence of BNE ($p < 0.05$). Although the effect of treatment groups (Tween 80, BEO, and BNE) varied depending on the bacterial strain and specific amine, all groups generally decreased AMN and BA accumulation by bacteria. Consequently, the results show that all bacteria tested are capable of decarboxylating more than one amino acid and conversion of rosemary oil into nanoemulsion suppressed BA production activity and its nano-form can be used as an alternative antimicrobial agent in processed or packaged fish or food products.

To Cite: Uçar, Y, Durmuş, M, Küley, e, Korkmaz, K, 2022. Inhibitory Effect of Rosemary Essential Oil and Its Nanoemulsion on the Formation of Biogenic Amines by Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Bacteria. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 32(1): 199-212. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.1035443>

Biberiye Esansiyel Yağı ve Nanoemülsiyonunun Balıkta Bozulma Etmeni Bakteriler ile Gıda Kaynaklı Patojenik Bakteriler Tarafından Üretilen Biyojenik Aminler Üzerine Etkilerinin incelenmesi

Makale Bilgileri

Geliş: 11.12.2021

Kabul: 08.03.2022

Online yayınlanma: 15.03.2022

DOI: 10.29133/yyutbd.1035443

Anahtar Kelimeler

Bakteri,
Biyojenik amin,
Esansiyel yağlar,
Dekarboksilaz sıvısı,
Nanoemülsiyon

Öz: Biberiye esansiyel yağı (BEO) ve nanoemülsiyonunun (BNE) balıkta bozulma etmeni bakteriler (*P. luteola*, *P. damsela*, *V. vulnificus*, *E. faecalis*, *S. liquefaciens* ve *P. mirabilis*) ve gıda kaynaklı patojenik bakterilerin (*S. Paratyphi* A, *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*) gelişimi ve biyojenik amin (BA) üretimleri üzerine etkileri tirozin dekarboksilaz sıvısında (TDB) HPLC yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Ekstrakte edilmiş BEO uçucu bileşenleri GC-MS kullanılarak belirlenmiştir ve elde edilen BNE'nun fiziksel özellikleri (viskozite, termodinamik kararlılık, damlacık boyutu ve yüzey gerilimi) analiz edilmiştir. Tween 80, BEO ve BNE, patojen ve bozucu bakterilerin büyüme ve gelişme performanslarına inhibe edici yönde etkili olmuştur. Gruplar arasında amonyak (AMN) ve biyojenik amin (BA) üretiminde istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek histamin (HIS) üretimi, bozucu *E. faecalis* (58.76 mg L⁻¹) suşunda ve en düşük *V. vulnificus* (2.29 mg/L) suşunda gözlenmiştir. Putresin (PUT), kadaverin (CAD), spermidin (SPD) ve 2-fenilettilamin (PHEN) gibi hemen hemen tüm diğer BA'ler patojenler ve bozulma grupları tarafından üretilmiştir. *S. aureus*, en yüksek tiramin (TYR) üreten (143.05-702.88 mg L⁻¹) suş olmuştur. *V. vulnificus* tarafından HIS üretimi, BNE varlığında önemli ölçüde baskılanmıştır ($p<0.05$). Muamele gruplarının (Tween 80, BEO ve BNE) etkisi bakteri suşuna ve spesifik amine bağlı olarak değişse de, tüm muamele grupları genel olarak bakteriler tarafından AMN ve BA üretimini azaltmıştır. Sonuç olarak, mevcut çalışma test edilen tüm bakterilerin birden fazla amino asidi dekarboksile etme yeteneğine sahip olduğunu, biberiye esansiyel yağının nanoemülsiyona dönüştürülmüş formunun biyojenik amin üretimlerini baskıladığını ve bunun işlenmiş veya paketlenmiş balık veya gıda ürünlerinde alternatif bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

1. Giriş

Pek çok gıda kaynaklı hastalık, patojenik mikroorganizmalarla kontamine olmuş gıdaların tüketimiyle sonuçlanmaktadır (Uçar, 2020a; Korkmaz ve ark., 2021). Gıda kaynaklı bakterilerle ilgili ekonomik zarar ve sağlık riskini azaltmada en etkili yaklaşım gıdaları antimikrobiyal ajanlarla muamele etmektir. Gıdalarda doğal katkı maddelerinin kullanımına olan ilgi gıda firmaları ve tüketiciler tarafından artmaktadır. Bu yüzden temel odak konusu sentetik alternatifleri yerine güvenli ve daha etkili doğal antimikrobiyaller olmuştur (Al-zoreky ve Al-Taher, 2015). Özellikle şifalı bitkiler ve diğer bitkisel kaynaklardan izole edilen esansiyel yağlar ve içeriklerinin mikroorganizmaların büyümesini yavaşlatmada etkili oldukları gözlenmiştir (Pereira ve ark., 2014). Son zamanlarda en çok dikkati çeken esansiyel yağlardan biri de biberiye uçucu yağıdır. Biberiye, Lamiaceae ailesindedir. Yapraklarından ve uçucu yağından yararlanır. Biberiyenin esansiyel yağı ya da ekstraktları et ürünlerinde, yağ içeren gıdalarda, yağlarda oksidasyona ve ransiditeye karşı kullanılabilir. Antioksidan özelliği, yapısında bulunan karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitten kaynaklanmaktadır. Biberiye esansiyel yağının ana bileşenleri; 1.8-cineole, α -pinene, camphor, camphene, borneol, piperitone, linaloldur.

Gelişmiş ülkelerde toplumun büyük bir kısmı gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklara maruz kalmaktadır. Söz konusu bu mikroorganizmaların ürettikleri istenmeyen bileşiklerinden olan biyojenik aminler, insan ve hayvanlarda hastalığa yol açan toksik maddelerdir. Bu aminler balık, balık ürünleri, et ürünleri, yumurta, peynir, fermente sebzeler, meyveler, soya ürünleri, bira, şarap, fındık ve çikolata gibi geniş gıda ürünlerinde mevcut olmaktadır (ten Brink ve ark., 1990). Biyolojik olarak aktif aminler sinir ve metabolizma gibi biyolojik sistemlerde önemli fonksiyonlara sahip olmalarından dolayı önemlidir. Biyojenik aminler aynı zamanda kanseri tetikleyici etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu aminler aynı zamanda gıda kalitesini belirlemede bir gösterge sağlamaktadır. Ancak vücudun tolere edebileceği limitlerin üzerinde olması akut toksisite gibi ölüme kadar varabilecek ciddi problemlere de neden

olmaktadır. Bu nedenle son zamanlarda gıda kökenli patojenlerin gelişimini azaltma yönünde çeşitli metotlar geliştirilmeye çalışılmaktadır (Telli ve ark., 2006). Bunlar arasında nanoteknoloji ve emülsiyon uygulamalarının kombine kullanımları dikkat çekmektedir (Özogul ve ark., 2016; 2017; 2020; Uçar, 2020b)

Antimikrobiyal ajan olarak bitki esansiyel yağlarının kullanımı oldukça yüksek uçucu oluşları, güçlü kokulu olmaları, suda az çözünmeleri ve mikroorganizmalar ile direk etkileşimlerinde sınırlı özelliklerinden dolayı pek çok potansiyel sakıncaları vardır (Ghosh ve ark., 2014). Bu dezavantajlar birçok gıda ve içecek uygulamaları için saf esansiyel yağların uygulamalarını şimdilik sınırlamaktadır. Uygun kolloidal dağıtım sisteminde esansiyel yağların enkapsülasyonu veya emülsiyonları bu sınırlamaların pek çoğunun üstesinden gelebilir. Su içinde yağ nanoemülsiyonları, enkapsüle etmede ve esansiyel yağ gibi hidrofobik bileşiklerin dağılımında kullanılan en etkili kolloidal sistemlerden biridir (Salvia-Trujillo ve ark., 2015). Bu nanoemülsiyonlar sıvı ortam içinde dağılan küçük yağ damlacıklarından oluşmaktadır. Nanoemülsiyonlar bakteri, mantar ve virüslere karşı geniş antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Majeed ve ark., 2015). Nanoemülsiyon tabanlı dağıtım sistemi yüksek yüzey-hacim oranı ve küçük partikül boyutundan dolayı enkapsüle edilmiş esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitesini artırabilir (Salvia-Trujillo ve ark., 2015). Özellikle küçük partikül boyutu antimikrobiyal hücre kaplama ve fostolipid membran alt tabakasına ulaşma açısından parçacığın penetre olma kabiliyetini artırabilir. Nanoemülsiyonlar aynı zamanda bilinen emülsiyonlardan daha iyi ve uzun süre fiziksel stabiliteye sahip olma eğilimindedirler. Bu da pek çok gıda ve içecek ürünleri içinde kullanımı açısından önem arz etmektedir (McClements & Rao, 2011).

Donsi ve ark. (2012), farklı esansiyel yağ bileşenlerinden oluşan nanoemülsiyonların *Escherichia coli*, *Lactobacillus delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* gibi 3 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini önemli ölçüde etkilediği rapor edilmiştir. Chang ve ark. (2012), lipit fazında % 60 mısır yağı içeren kekik nanoemülsiyonlarının *Z. bailii* gelişimine karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) 375 µg mL⁻¹ iken, % 90 mısır yağı içeren kekik nanoemülsiyonları için bu değer 6000 µg mL⁻¹ olarak belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda gıda endüstrilerinde nanoemülsiyonların önemli bir antimikrobiyal ajan olarak görev alacağı bildirilmiştir. Literatür çalışmalarına bakıldığı zaman bu konuda ülkemizde ve dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir. Bu çalışmada biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların gıda kaynaklı patojen ve balıkta bozucu bakterilerin ürettiği oldukları biyojen aminlere karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve oldukça tatmin edici sonuçlar bulunmuştur. Sistem içindeki esansiyel yağ formu dikkate alındığında, bunun antibakteriyel özellikleri nanoemülsiyon sistemine dahil edilerek geliştirilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bakteriyel suş izolasyonu ve identifikasyonu

Balık bozucu bakterilerin (*P. damsela*, *E. faecalis*, *V. vulnificus*, *P. mirabilis*, *S. liquefaciens*, *P. luteola*) izolasyonu ve tanımlanması Yazgan ve ark., (2019) tarafından tanımlandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bakteriler, Akdeniz'de yakalanan üç bozulmuş balık türü olan uskumru (*Scomber scombrus*), hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardinella aurita*) ve Adana yakınlarındaki yerel bir çiftlikten elde edilen gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'ndan elde edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) ve *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (Rockville, USA), *Salmonella* Paratyphi A (NCTC13) ise Tıp Kültürleri Ulusal Koleksiyonundan (Londra, Birleşik Krallık) temin edilmiştir.

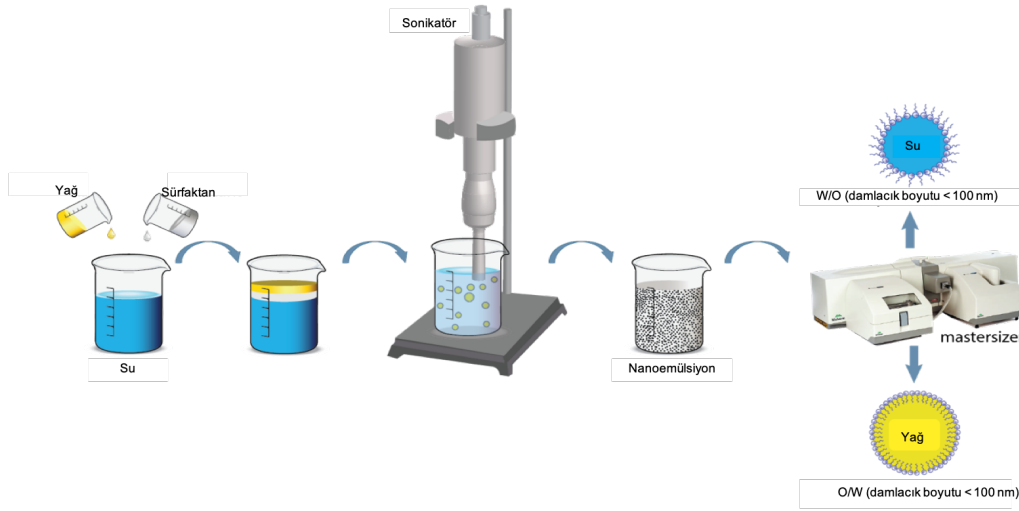
2.2. Uçucu yağ eldesi ve bileşimi

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağları BIOMESI (Adana, Türkiye) firmasından elde edilmiştir. Esansiyel yağ kompozisyonunun tanımlanması, Yazgan ve ark., (2019) tarafından detaylı olarak tarif edildiği gibi Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS, Perkin Elmer Clarus 500, Waltham, ABD) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

2.3. Nanoemülsiyon hazırlanması

Biberiye esansiyel yağı (su içinde yağ) bazlı nanoemülsiyon, ultrasonik emülsifikasyon temelli yüksek enerjili bir işlemle Özogul ve ark. (2017) tarafından bildirilen yöntemle göre küçük

modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Suda yağ nanoemülsiyonu, toplam nanoemülsiyonun %11'ini oluşturan bir yağ fazı ve toplam nanoemülsiyonun % 89'unu oluşturan su fazı kullanılarak hazırlanmıştır. Nanoemülsiyon, biberiye esansiyel yağının Tween 80 (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Almanya) ve su ile 10:1:89 w/w oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra emülsiyonlar ultrasonik homojenizatör (Optic Ivymen System CY-500, Barselona, İspanya) kullanılarak 72 amplitüdde (titreşim genliği) 15 dakika homojenize edilmiştir. Ultrasonik homojenleştiricinin gücü 500 W ve yayılan ultrasonun frekansı 20 KHz olmuştur. Enerji girişi, 1/4 inç titanyum alaşımlı prob (5.6 mm çap (Ø) ve 60 mm yükseklik) içeren bir piezoelektrik dönüştürücü içeren bir sonotrot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sırasında, emülsiyonun ürettiği ısı, beher etrafında buz kullanılarak kontrol edilmiştir. Ultrasonikasyon yöntemiyle biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun üretimi için şematik diyagram Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Ultrasonikasyon yöntemiyle biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun üretimi için şematik diyagram.

2.4. Nanoemülsiyonların fiziksel özellikleri

Biberiye esansiyel yağ nanoemülsiyonlarının fiziksel özelliklerinin tüm ölçümleri 25 °C'de Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez laboratuvarlarından hizmet alımı yapılarak analiz edilmiştir. Nanoemülsiyonun ortalama damlacık boyutu ve polidispersite indeksi, Malvern Panalytical Mastersizer 2000 (Malvern, İngiltere) kullanılarak analiz edilmiştir. Termodinamik stabilite, Shafiq ve ark., (2007) tarafından önerilen yöntem kullanılarak 14 gün boyunca analiz edilmiştir. Nanoemülsiyonun viskozitesi, ARES reometre (TA Instruments, New Castle, ABD) ile ölçülmüştür. Nanoemülsiyonun yüzey gerilimi Attension Theta gonyometre (Biolin Scientific, Espoo, Finlandiya) ile ölçülmüştür.

2.5. Tirozin dekarboksilasyon sıvısının hazırlanması ve bakterilerin aşılması

Bu çalışmada kullanılan tüm gıda kaynaklı patojenik suşlar ile bozucu bakterilerin biyojenik amin üretimleri, tirozin dekarboksilaz sıvısı (TDB) kullanılarak incelenmiştir. TDB, 1 g pepton, 0.5 g Lab-Lemco tozu (Oxoid CM0017, Hampshire, İngiltere), 2.5 g NaCl (Merck 1.06404.1000, Darmstadt, Almanya), 4.01 g L-tirozin (Sigma, Steinheim, Almanya) ve 500 mL distile su içerisinde 2.5 mg piridoksal HCl (Sigma P9130, Steinheim, Almanya) pH (5.5 - 6.8), 1M KOH (Riedel-deHaen 06005, Seelze, Almanya) veya % 6 TCA (Riedel-deHaen 27242, Seelze, Almanya) ile optimum büyüme pH'larına göre ayarlanmıştır. Bu aşamadan sonra TDB, 10 ml'lik şişelere konularak kullanılmadan önce 15 dakika içinde 121°C'de otoklavlanmıştır. Daha sonra stok kültürlerden 0.5 mL alınarak, biyojenik amin üretmesi için TDB'ye inoküle edilmiştir. Bu şekilde kullanılan her bir bakteri türünün özellikle, histamin (HIS), kadaverin (CAD), tiramin (TYR), triptamin (TRPT), 2- feniletilamin (PHEN), agmatin (AGM), putresin (PUT), spermin (SPN), spermidin (SPD), dopamin (DOP) ve serotonin (SER) üretim kapasitesi belirlenmiştir. Kontrol grubunda TDB içerisine herhangi bir emülsiyon katkısı olmamıştır.

2.6. Toplam bakteriyel gelişimin belirlenmesi

TDB içinde oluşturulan muamele sayısı toplamda 4 gruptan oluşmaktadır. Bunlar, kontrol grubu (herhangi bir katkı olmayan), Tween 80 (%1) grubu, BEO (% 1 biberiye esansiyel yağı) grubu ve BNE (% 1 biberiye esansiyel yağı kullanılarak hazırlanmış nanoemülsiyon) grubudur. TDB'de gelişen her bir bakteriyel kültürden 0.1 ml alınarak uygun seyreltikler hazırlanmış (10^{-10} 'a kadar), sonrasında Plate Count Agar üzerine aşılama yapılmıştır. Petri kutuları 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir.

2.7. Biyojenik amin analizleri

Biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların bozucu ve patojen bakterilerin amino asit dekarboksilasyon aktivitesi üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla biyojen amin analizi (Özoğul, 2004) gerçekleştirilmiştir. Biyojen aminlerin türevlendirilme işlemi için Redmond ve Tseng (1979) metodu kullanılmıştır. Biyojen amin üreten bakterilerin gelişimi Niven besiyeri (Niven ve ark., 1981) kullanılarak belirlenmiştir.

2.8. İstatistik analiz

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

3. Bulgular

3.1. Biberiye uçucu yağının kimyasal bileşimi

Biberiye esansiyel yağı uçucu bileşenlerinin GC-MS analizi, 11 bileşik olarak tanımlanmıştır (Çizelge 1). 1.8-Cineole, diğer yazarlar tarafından bildirilene benzer bir düzey olan toplam tanımlanmış bileşiklerin % 53.08'ini oluşturan mevcut ana bileşiktir (Özoğul ve ark., 2017). Biberiye esansiyel yağında 1.8-cineole (% 27.6) önemli oranda içerdiği bildirilmiştir (Nowak ve ark. 2012). % 1'den daha yüksek miktarlarda bulunan diğer bileşikler arasında α -pinene (% 11.57), camphor (% 8.96), caryophyllene (% 4.54), b-myrecene (% 3.96), borneol (% 3.46) ve camphene (% 3.01) bulunmaktadır. Bu maddelerin de oldukça güçlü antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bununla beraber literatürde farklı biberiye esansiyel yağı içeriklerinin olduğu bilinmektedir. Bitkilerin uçucu yağ bileşiminin genetik, çevresel faktörler, gelişim aşaması ve ekstraksiyon yöntemlerine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Özoğul ve ark., 2017).

Çizelge 1. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) esansiyel yağının kimyasal bileşimi

Bileşik adı	(%)
α -Pinene	11.57
1.8-Cineole	53.08
Camphor	8.96
β - Pinene	1.25
b-Myrecene	3.96
Caryophyllene	4.54
Camphene	3.01
α -Terpineol	1.96
Borneol	3.46
Terpinene-4-Ol	1.05
Bornyl Acetate	1.78

3.2. Biberiye uçucu yağı nanoemülsiyonunun fiziksel özellikleri

Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun fiziksel özellikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Tween 80 (% 1 w/w) ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutu (Z-ortalama) ortalama 447.6 nm bulunmuştur. Bulgularımızın diğer araştırma çalışmalarıyla karşılaştırılmasıyla, bu çalışmada test edilen biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun damlacık boyutunda Özoğul ve ark., (2017)

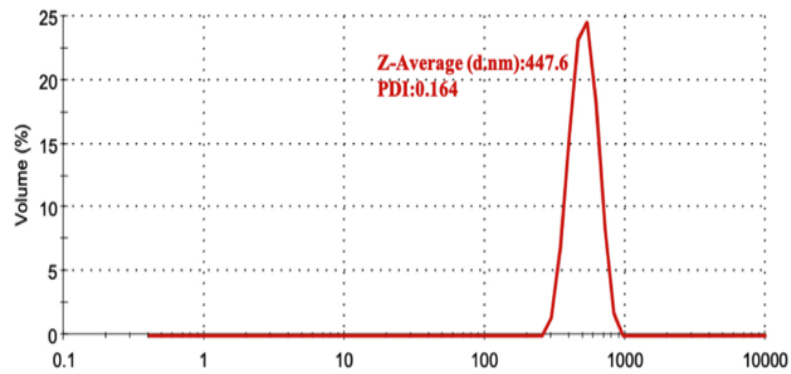
tarafından yapılan çalışmada bildirilen sonuçlara göre (63.02 nm) bir artış olduğu gözlenmekte ve bunun nedeninin ise emülsifiye edici madde olarak kullanılan Tween 80'nin konsantrasyonlarının % 3'ten % 1'e (w/w) düşürülmesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, su içinde yağ emülsiyonlarının hazırlanmasında iyonik olmayan yüzey aktif maddeler olarak kullanılan Tween 80 uygulaması, emülsiyonun hidrofilik-lipofilik dengesi açısından dengede olmuştur (Chu ve ark., 2020). Ayrıca, polimer bazlı yüzey aktif maddelerle karşılaştırıldığında, küçük molekülü bir yüzey aktif madde olarak Tween 80, damlacık yüzeyinde adsorbe etmede daha etkili olmuştur (Chu ve ark., 2020).

Öte yandan viskozite, nanoemülsiyonun fizikokimyasal karakterizasyonunda kullanılan çok önemli bir parametredir. Araştırmamızda viskozite 0.88 N s m^{-2} olarak bulunmuştur. Nanoemülsiyonların fiziksel stabilitesi üzerinde viskozitenin büyük bir etkisi vardır. Bu nedenle, bu çalışmada incelenen biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun viskozitesi, emülsiyon stabilitesini arttırmaktadır. Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyonun yüzey gerilimi ise 33.93 N m^{-1} olarak bulunmuştur. Önceki araştırmalar, biberiye esansiyel yağ bazlı nanoemülsiyonunun yüzey gerilimi (32.55 N/m) hakkında benzer bir veriye sahip olduğunu bildirmiştir (Özogul ve ark., 2017). Ayrıca, biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonu, oda sıcaklığında 15 günlük depolama sırasında iyi termodinamik stabilite sergilemiştir.

Çizelge 2. Biberiye esansiyel yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonunun fiziko-kimyasal özellikleri

Sıcaklık (°C)	25
Viskozite (N s m^{-2})	0.88
Yüzey gerilimi	33.93
Termodinamik stabilite	++
Damlacık boyutu (nm)	447.6

Biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun PDI'si Şekil 2'de verilmiştir. PDI değeri, damlacıkların partikül boyutu dağılımı olarak tanımlanabilir. Sıklıkla, PDI değerleri 0.0'dan (tek tip damlacık) 1.0'a (çeşitli damlacık boyutu popülasyonlarına sahip numune) uzanır. Küçük bir PDI değeri, dar bir parçacık boyutu dağılımını temsil eder. Bu çalışmada biberiye uçucu yağı için PDI değeri 0.164 olarak bulunmuştur. Ayrıca sonuçlar göstermiştir ki, elde edilen PDI değeri, yüzey aktif madde konsantrasyonlarına ve nanoemülsiyonun geliştirilmesi için kullanılan sulu faz miktarına ve ayrıca ultrasonik emülsifikasyonun etkisine bağlı olmuştur (Chu ve ark, 2020).



Şekil 2. Biberiye esansiyel yağı nanoemülsiyonunun parçacık boyutu dağılımı ve PDI değeri.

3.3. Tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim

Tirosin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim Çizelge 3'te verilmiştir. Kontrol grubunda bakteriyel gelişim $8.06 \text{ log kob ml}^{-1}$ (*P. damsela*) ile $9.05 \text{ log kob g}^{-1}$ (*S. aureus*) arasında değişkenlik göstermiştir. Test edilen gruplar arasında genellikle en düşük bakteriyel yük, BEO grubunda gözlenmiştir.

Çizelge 3. Tirozin dekarboksilaz sıvısında bakteriyel gelişim (log kob ml⁻¹)

	Bakteri	Gruplar			
		Kontrol	Tween 80	BEO	BNE
Gıda kaynaklı patojenik bakteri	<i>S. aureus</i>	9.05±0.2 ^x c	9.03±0.3 ^c	7.51±0.2 ^a	8.57±0.3 ^b
	<i>K. pneumoniae</i>	8.94±0.4 ^c	8.74±0.6 ^a	8.84±0.1 ^b	8.86±0.1 ^b
	<i>S. Paratyphi A</i>	9.07±0.5 ^d	8.99±0.5 ^c	8.07±0.0 ^b	7.77±0.1 ^a
	<i>E. faecalis</i>	8.53±0.2 ^d	8.33±0.0 ^c	7.86±0.3 ^a	8.14±0.2 ^b
Balık bozucu bakteri	<i>P. damsela</i>	8.06±0.0 ^c	8.14±0.0 ^d	7.26±0.2 ^a	7.41±0.1 ^b
	<i>E. faecalis</i>	8.97±0.1 ^c	8.77±0.1 ^b	8.97±0.1 ^c	8.68±0.4 ^a
	<i>V. vulnificus</i>	9.02±0.4 ^b	8.98±0.1 ^{ab}	9.10±0.1 ^c	8.94±0.1 ^a
	<i>P. mirabilis</i>	8.48±0.1 ^c	8.41±0.2 ^{bc}	8.18±0.2 ^a	8.32±0.1 ^b
	<i>S. liquefaciens</i>	8.99±0.3 ^d	8.87±0.1 ^c	8.43±0.1 ^b	7.80±0.2 ^a
	<i>P. luteola</i>	8.93±0.2 ^b	9.01±0.2 ^c	8.88±0.2 ^b	8.82±0.1 ^a

BEO: Biberiye esansiyel yağı, BNE: Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyon.

^xOrtalama değer, ± standart sapma, n=3. Aynı satır üzerindeki farklı harfler (a-d) istatistiksel farkı göstermektedir.

Biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyonu TDB'de kontrol ve Tween 80'e göre daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olmuştur. Çalışmada, muamele gruplarının etkisi bakteri türüne göre değişkenlik göstermesine karşın BEO diğer test edilen gruplara kıyasla bakteriyel gelişimde yüksek inhibisyon aktivite sergilemiştir. Biberiye esansiyel yağı yüksek flavonoid maddeler içermesinden dolayı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bu çalışmada kullanılan suşlar arasında bakteriyel gelişimi en fazla azaltan grup BEO olmuştur. BEO'yu takiben sırayı BNE almıştır. Gıda kaynaklı patojenik bakteriler tamamı tüm muamele gruplarından negatif yönde etkilenmiş ve bakteriyel gelişimleri azalmıştır. En fazla gelişimi azalan suş 1.54 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. aureus* (BEO grubunda) sonrasında 1.30 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. Paratyphi A* (BNE grubunda) gelmektedir. Gelişimi en fazla olan grubun ise Tween 80 olduğu gözlenmiştir. Balık bozucu bakteriler arasında ise kontrol grubuna kıyasen muamele grupları arasında gelişimi artan ve azalan suşlar olduğu tespit edilmiştir. Tween 80 grubunda *P. damsela* ile *P. luteola* ve BEO grubunda *V. vulnificus* suşlarının tamamı 0.08 log kob ml⁻¹ artış ile gelişimi artan suşlar olmuşturlardır. Fakat bu artışlar istatistiksel olarak önemsiz kabul edilmişlerdir (p<0.05). En fazla gelişimi azalan suş 1.19 log kob ml⁻¹ azalış ile *S. liquefaciens* (BNE grubunda) sonrasında 0.80 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. damsela* (BEO grubunda) gelmektedir. En yavaş gelişimi azalan suş 0.04 log kob ml⁻¹ azalış ile *V. vulnificus* (Tween 80 grubunda) sonrasında 0.05 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. luteola* (BEO grubunda) ve sonrasında ise 0.07 log kob ml⁻¹ azalış ile *P. mirabilis* (Tween 80 grubunda) gelmektedir. Patojenik bakterilerde olduğu gibi bozucu bakteriyel suşlarında gelişimlerinin en fazla olduğu grup Tween 80 olmuştur.

Literatüre bakıldığında biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyon formlarının gıdalara uygulanması ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. Fakat benzer çalışmalara rastlamak mümkündür. Bunlarda daha çok antimikrobiyal analiz çalışmaları olup biyojen amin üretimi üzerine odaklanılmamıştır. Abdollahzadeh ve ark., (2014) kekik, biberiye ve tarçından elde ettikleri esansiyel yağların *L. monocytogenes* PTCC 1163 suşuna karşı antibakteriyel aktivitelerini ölçmüşler ve oldukça etkili olduklarını bildirmişlerdir. Yine Özogul ve ark., (2020) kekik yağının nanoemülsiyona dönüştürülmesinin Yazgan ve ark., (2019) limon yağının nanoemülsiyona dönüştürülmesinin antibakteriyel aktiviteyi arttırdığını rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere aromatik bitki yağları ve ekstraktlarının içeriği ve kalitesi ekolojik koşullar, yağın ekstrakte edilmiş şekli ve diğer faktörlerine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Mevcut çalışmada da genel olarak bakıldığında muamele grupları olan Tween 80, BEO ve BNE, kullanılan patojen ve bozucu bakterilerin büyüme ve gelişme performanslarına TDB'de inhibe edici yönde etkili olmuştur. Biberiye esansiyel yağının fenol içeriği nanoemülsifiye edilmiş formundan daha yüksek olmasına rağmen, grupların antimikrobiyal etkinliği farklılık göstermiştir. Bu farklılık, mikrobiyal büyüme ve hayatta kalma üzerindeki etkinin bir sonucu olarak, büyüme ortamı ile birlikte çalışan ekstrelerin saf veya nanoemülsifiye çözünür bireysel bileşenlerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir.

3.4. Tirozin dekarboksilaz sıvısında AMN, TMA ve biyojen amin üretimi

Biberiye esansiyel yağı kullanılarak oluşturulan su içerisinde yağ nanoemülsiyonu ile biberiye esansiyel yağının TDB'de gıda kaynaklı patojen ve balık bozucu bakterilerin ürettiği AMN, TMA ve biyojen aminler üzerindeki etkisi Çizelge 4 ve 5'te verilmiştir. Esansiyel yağların bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi esansiyel yağın içerdiği kimyasal bileşiklere göre farklılıklar gösterebilmektedir. *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus spp.*, *K. pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* ve *E. faecalis* gibi gıda kaynaklı patojenlerin amonyak ve biyojen amin üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Gokdogan ve ark., 2012; Kuley ve ark., 2012). Çalışmamızda TDB içerisinde patojen ve bozucu bakteriyel üyeler arasında AMN, TMA ve diğer biyojenik aminler üretimi bakımından farklılıklar bulunmuştur.

Biberiyenin kullanılan tüm formları gıda kaynaklı patojenik bakterilerin AMN üretimini önemli ölçüde inhibe etse de en fazla inhibisyon *S. aureus* (kontrol, Tween 80, BEO ve BNE grupları için sırasıyla 288.79 mg L⁻¹, 69.44 mg L⁻¹, 25.29 mg L⁻¹ ve 18.60 mg L⁻¹) suşunda gözlenmiştir. Gokdogan ve ark. (2012) histidin dekarboksilaz sıvısında AMN üretiminin en düşük *L. monocytogenes* (68 mg L⁻¹) ve en yüksek *E. coli* (210 mg L⁻¹) tarafından gerçekleştiğini bulmuşlardır. Lizin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler 965 mg L⁻¹'den daha düşük amonyak üretmiştir. Mevcut çalışmamızda AMN üretimi 18.60 - 834.68 mg L⁻¹ aralığında tespit edilmiştir. Gıda kaynaklı patojenler arasında AMN üretimi açısından fazla dalgalanma gözlenmemesine karşın sadece *S. Paratyphi A* suşunda Tween 80'in AMN üretimini teşvik ettiğini, *E. faecalis* suşunda ise biberiyenin nanoemülsiyon formununun (BNE) esansiyel yağdan (BEO) daha az etkili olduğu gözlenmiştir. Bozucu bakteriler arasında da benzer şekilde *E. faecalis* suşunda Tween 80'in, *P. luteola* suşunda BNE grubunun ve *V. vulnificus* ile *S. liquefaciens* suşlarında da BEO grubunun AMN üretimini teşvik ettiğini, *P. damsela* ve *E. faecalis* suşlarında ise BNE'nin BEO'dan daha az etkili olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılan muamele gruplarında bakteri türüne bağlı olarak putresin (PUT) üretiminde dalgalanmalar gözlenmiştir. Fakat buna rağmen hiçbir grup, kontrolden daha yüksek miktarda PUT üretimini stimüle etmemiştir. En fazla inhibisyon gözlenen suşlar gıda kaynaklı patojenler arasında *S. Paratyphi A* ve *E. faecalis*'te gözlenirken bozucu bakteriler arasında bu inhibisyon *V. vulnificus* ile *S. liquefaciens* suşlarında gözlenmiştir. Kadaverin (CAD) üretimine bakıldığında kullanılan tüm muamele grupları gıda kaynaklı patojen ve bozucu bakterilerin üretimini inhibe ederken üretim değerleri 1.55 mg L⁻¹ (BEO grubu patojen *E. faecalis*) ile 65.24 mg L⁻¹ (kontrol grubu *S. aureus*) aralığında bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında *K. pneumoniae* suşunun Tween 80 ve BEO grubu ile bozucu *E. faecalis* suşunun kontrol-Tween 80 ve BNE-BEO grupları kendi aralarında benzer CAD üretimine neden olmuşlardır ve bu üretim miktarları istatistiki açıdan önemsiz olmuştur (p<0.05). CAD üretiminde gözlenen en fazla inhibisyon sırasıyla *P. damsela* (yaklaşık 11 kat), *K. pneumoniae* (yaklaşık 10 kat) ve *S. Paratyphi A* (yaklaşık 9 kat) suşlarında olmuştur. Durlu-Ozkaya ve ark. (2001) Enterobacteriaceae üyelerinin % 1 aminoasit içeren beyin kalp infüzyon sıvısında başlıca PUT, CAD, TYR ve HIS ürettiğini belirtmişlerdir. Tavuk derisinden izole edilen 7 farklı *Aeromonas* üyesinin PUT (<3.7 mg L⁻¹) ve 5 üyesinin CAD ürettiği (73.8 mg L⁻¹) gözlenmiştir (Buňková ve ark. 2010). *Staphylococcus* üyelerinin yüksek miktarda PUT ve PHEN (>100 mg L⁻¹) oluşturduğu gözlenmiştir (Seitter ve ark., 2011). Mevcut çalışmada, bakteriler tarafından PUT üretimi 0.78 mg L⁻¹ (patojen *E. faecalis*) ve 146.98 mg L⁻¹ (*S. liquefaciens*) aralığında ve CAD üretimi ise 1.51 mg L⁻¹ (*P. damsela*) ve 65.24 mg L⁻¹ (*S. Paratyphi A*) aralığında olmuştur.

Çizelge 4. TDB'de gıda kaynaklı patojenler tarafından üretilen AMN, TMA ve BAs (mg L⁻¹)

	Gruplar	Gıda Kaynaklı Patojenik Bakteri			
		<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. Paratyphi A</i>	<i>E. faecalis</i>
AMN	Kontrol	288.79±8.89 ^d	709.46±58.67 ^d	209.80±9.93 ^c	140.16±1.65 ^d
	Tween 80	69.44±1.99 ^c	564.25±19.59 ^c	246.39±15.26 ^d	78.12±5.13 ^c
	BEO	25.29±1.13 ^b	277.43±7.86 ^b	181.76±7.57 ^a	25.71±1.92 ^a
	BNE	18.60±1.00 ^a	181.35±6.42 ^a	200.20±7.18 ^b	40.74±1.17 ^b
TMA	Kontrol	51.81±1.27 ^d	43.65±0.92 ^d	20.84±0.05 ^d	56.78±2.16 ^b
	Tween 80	40.00±0.00 ^c	15.68±0.04 ^b	10.09±0.01 ^b	42.45±2.34 ^{ab}
	BEO	32.88±1.24 ^b	21.97±1.37 ^c	11.57±0.69 ^c	37.80±2.44 ^a
	BNE	22.29±0.02 ^a	8.75±0.36 ^a	7.45±0.52 ^a	38.48±2.39 ^a
PUT	Kontrol	93.24±1.14 ^d	90.46±1.87 ^c	32.67±2.56 ^d	19.85±0.16 ^d
	Tween 80	47.46±0.11 ^c	37.18±1.30 ^b	26.44±1.93 ^c	10.69±0.97 ^c
	BEO	30.61±1.21 ^b	36.68±0.04 ^b	17.98±2.85 ^b	2.93±0.19 ^b
	BNE	17.80±0.54 ^a	8.68±0.37 ^a	3.67±0.04 ^a	0.78±0.01 ^a
CAD	Kontrol	24.17±7.48 ^d	20.78±1.96 ^c	65.24±0.06 ^d	8.36±0.57 ^c
	Tween 80	21.05±0.02 ^c	17.06±0.09 ^b	47.71±7.28 ^c	2.04±0.10 ^b
	BEO	14.75±0.58 ^b	17.72±0.33 ^b	12.56±0.38 ^b	1.55±0.14 ^a
	BNE	7.45±0.49 ^a	2.00±0.07 ^a	6.80±0.25 ^a	1.77±0.04 ^{ab}
SPD	Kontrol	89.05±2.14 ^c	50.36±2.76 ^d	32.44±0.07 ^c	5.23±0.04 ^c
	Tween 80	55.91±0.14 ^b	45.64±1.75 ^c	27.16±1.82 ^b	2.95±0.16 ^b
	BEO	56.12±1.66 ^b	28.44±1.94 ^b	24.21±5.07 ^a	2.34±0.00 ^a
	BNE	15.56±0.11 ^a	6.00±0.77 ^a	32.43±2.83 ^c	2.33±0.06 ^a
TRPT	Kontrol	10.44±0.04 ^c	25.76±0.88 ^d	21.13±1.10 ^d	0.16±0.01 ^b
	Tween 80	10.55±0.02 ^c	8.03±0.91 ^c	13.02±0.72 ^c	0.18±0.01 ^c
	BEO	5.67±0.15 ^b	3.30±0.51 ^a	5.62±0.12 ^b	0.13±0.00 ^{ab}
	BNE	3.55±0.01 ^a	5.91±0.26 ^b	3.87±0.02 ^a	0.03±0.00 ^a
PHEN	Kontrol	0.00±0.00 ^a	9.46±0.64 ^b	0.52±0.02 ^b	0.42±0.03 ^a
	Tween 80	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.74±0.05 ^b
	BEO	2.32±0.12 ^c	0.00±0.00 ^a	0.97±0.00 ^c	0.41±0.00 ^a
	BNE	2.03±0.03 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.70±0.00 ^b
SPN	Kontrol	87.95±0.71 ^d	45.00±3.67 ^d	16.82±0.02 ^c	11.58±0.10 ^c
	Tween 80	23.06±1.15 ^b	31.27±3.11 ^c	11.78±0.74 ^a	10.76±0.05 ^{bc}
	BEO	39.46±2.17 ^c	14.29±9.85 ^a	13.00±1.03 ^b	9.67±0.23 ^b
	BNE	12.22±0.60 ^a	21.54±0.07 ^b	12.13±1.05 ^{ab}	4.10±0.02 ^a
HIS	Kontrol	20.15±0.73 ^d	27.37±1.80 ^d	30.45±0.04 ^d	30.44±0.01 ^c
	Tween 80	12.76±0.78 ^c	20.23±0.09 ^c	21.66±0.05 ^c	27.18±0.01 ^{bc}
	BEO	3.24±0.65 ^a	6.54±0.35 ^b	15.46±0.65 ^a	25.70±1.17 ^b
	BNE	4.56±0.17 ^b	2.82±0.15 ^a	19.29±0.89 ^b	16.60±0.64 ^a
SER	Kontrol	641.14±13.07 ^d	91.48±0.40 ^d	59.48±0.16 ^d	60.22±3.02 ^c
	Tween 80	195.52±10.11 ^c	56.98±4.54 ^c	41.83±0.18 ^c	50.17±2.01 ^b
	BEO	133.28±10.25 ^b	35.37±2.17 ^b	22.70±0.23 ^b	37.90±2.88 ^{ab}
	BNE	64.72±4.47 ^a	29.75±0.35 ^a	18.78±1.68 ^a	32.08±1.30 ^a
TYR	Kontrol	702.88±9.76 ^d	234.01±2.67 ^c	86.65±6.33 ^d	116.89±5.67 ^c
	Tween 80	326.14±11.79 ^c	136.30±3.85 ^b	56.97±2.63 ^c	48.62±2.45 ^b
	BEO	262.33±21.98 ^b	23.91±1.71 ^a	28.73±1.44 ^b	29.98±1.30 ^a
	BNE	143.05±4.81 ^a	20.37±0.02 ^a	26.89±3.48 ^a	35.48±2.66 ^{ab}
DOP	Kontrol	547.11±34.12 ^d	385.15±20.02 ^d	686.31±14.98 ^d	16.79±1.02 ^b
	Tween 80	322.96±11.07 ^a	249.37±10.77 ^c	293.70±12.68 ^c	11.41±0.02 ^a
	BEO	400.98±28.08 ^c	196.013±8.56 ^b	242.13±3.02 ^b	11.08±0.01 ^a
	BNE	383.97±27.73 ^b	142.45±10.06 ^a	58.14±2.63 ^a	11.61±0.62 ^a
AGM	Kontrol	235.85±11.95 ^c	224.23±0.21 ^c	256.15±7.08 ^c	30.21±1.02 ^d
	Tween 80	175.87±12.24 ^b	125.98±6.45 ^a	175.41±9.98 ^b	24.25±1.56 ^c
	BEO	123.08±8.73 ^a	150.66±4.20 ^b	92.30±6.89 ^a	15.70±4.11 ^b
	BNE	124.20±5.91 ^a	127.91±0.03 ^a	90.78±5.42 ^a	7.94±4.47 ^a

Çizelge 5. TDB'de balıkta bozulma etmeni bakteriler tarafından üretilen AMN, TMA BAs (mg L⁻¹)

	Gruplar	Balık Bozucu Bakteri					
		<i>P. damsela</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>P. luteola</i>
AMN	Kontrol	975.10±65.67 ^d	299.34±10.02 ^c	834.68±61.51 ^d	540.56±25.75 ^b	543.64±29.55 ^d	353.56±6.69 ^d
	Tween 80	595.37±38.86 ^c	580.46±41.56 ^d	200.65±0.70 ^b	522.87±27.63 ^b	243.64±7.54 ^b	241.54±11.23 ^a
	BEO	192.36±15.44 ^a	203.46±13.06 ^a	281.95±7.83 ^c	411.77±13.19 ^a	313.77±14.30 ^c	261.59±6.49 ^b
	BNE	300.75±0.79 ^b	239.78±6.71 ^b	138.81±5.07 ^a	396.05±18.05 ^a	197.75±9.65 ^a	321.53±28.17 ^c
TMA	Kontrol	153.46±7.72 ^d	20.78±1.13 ^d	26.15±1.28 ^c	21.35±1.91 ^c	8.30±0.19 ^d	5.38±0.29 ^c
	Tween 80	67.41±3.57 ^c	18.87±0.62 ^c	17.93±1.14 ^b	16.26±1.23 ^b	5.01±0.32 ^c	3.75±0.43 ^b
	BEO	48.91±0.06 ^b	13.56±1.04 ^b	17.16±0.16 ^b	12.06±0.45 ^{ab}	2.43±0.11 ^b	2.82±0.05 ^{ab}
	BNE	15.42±0.82 ^a	6.00±0.89 ^a	13.26±0.35 ^a	10.29±0.06 ^a	1.74±0.04 ^a	2.07±0.20 ^a
PUT	Kontrol	100.08±5.78 ^d	77.76±4.14 ^c	97.50±3.43 ^d	59.10±4.82 ^c	146.98±0.42 ^d	56.61±1.43 ^d
	Tween 80	73.38±4.50 ^c	42.05±3.24 ^b	76.58±4.40 ^c	58.75±3.87 ^c	108.23±6.73 ^c	46.87±3.42 ^c
	BEO	31.16±2.99 ^a	45.17±0.71 ^b	21.20±0.28 ^b	18.59±0.20 ^b	16.20±0.88 ^b	30.23±0.92 ^b
	BNE	51.75±0.64 ^b	29.93±1.44 ^a	13.04±0.16 ^a	7.41±0.26 ^a	10.21±0.04 ^a	12.86±1.63 ^a
CAD	Kontrol	17.75±0.36 ^c	15.50±0.70 ^c	9.13±0.19 ^c	9.54±0.65 ^c	14.69±0.31 ^c	10.72±0.18 ^c
	Tween 80	4.05±0.25 ^b	14.27±1.03 ^b	3.08±0.17 ^b	8.09±0.13 ^c	9.06±0.75 ^b	9.05±0.04 ^{bc}
	BEO	2.12±0.11 ^{ab}	7.52±0.49 ^a	2.40±0.19 ^{ab}	2.88±0.16 ^a	8.63±0.53 ^b	7.28±0.69 ^b
	BNE	1.51±0.01 ^a	7.51±0.14 ^a	1.76±0.06 ^a	5.20±0.29 ^b	3.17±0.30 ^a	3.84±0.32 ^a
SPD	Kontrol	23.56±1.88 ^c	58.10±0.97 ^d	10.02±0.92 ^c	30.40±0.83 ^d	25.79±2.46 ^c	2.92±0.11 ^c
	Tween 80	22.19±1.84 ^c	47.53±0.96 ^c	9.04±0.11 ^b	23.82±2.84 ^c	14.90±1.12 ^a	2.25±0.07 ^b
	BEO	16.47±3.18 ^b	18.34±1.53 ^a	4.94±0.93 ^a	19.63±1.69 ^b	22.93±1.45 ^b	1.48±0.10 ^{ab}
	BNE	11.82±0.91 ^a	40.25±0.95 ^b	4.15±0.24 ^a	6.18±0.01 ^a	16.77±0.29 ^{ab}	1.38±0.06 ^a
TRPT	Kontrol	35.50±1.16 ^c	23.59±0.60 ^c	9.94±0.53 ^c	44.94±1.30 ^d	10.62±0.71 ^c	7.99±0.10 ^d
	Tween 80	22.14±2.03 ^{ab}	18.04±1.05 ^b	2.09±0.12 ^a	25.95±0.37 ^a	6.05±0.53 ^b	5.40±0.24 ^b
	BEO	26.33±1.84 ^b	7.46±0.12 ^a	3.09±0.15 ^{ab}	34.09±2.11 ^c	3.38±0.84 ^a	6.86±0.03 ^c
	BNE	20.19±0.71 ^a	8.26±0.25 ^a	4.12±0.25 ^b	30.39±1.30 ^b	4.09±0.61 ^a	2.44±0.00 ^a
PHEN	Kontrol	45.88±2.67 ^c	6.03±0.04 ^c	8.42±0.53 ^c	11.34±0.06 ^c	15.28±0.39 ^c	0.00±0.00 ^a
	Tween 80	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.48±0.03 ^a	9.76±0.05 ^b	13.18±1.01 ^b	0.00±0.00 ^a
	BEO	6.94±0.34 ^b	0.00±0.00 ^a	7.89±0.15 ^c	9.08±0.04 ^b	9.85±0.70 ^a	0.00±0.00 ^a
	BNE	0.59±0.01 ^a	5.72±0.28 ^b	2.38±0.07 ^b	3.36±0.51 ^a	10.69±0.56 ^a	0.00±0.00 ^a
SPN	Kontrol	184.95±5.59 ^d	131.33±3.30 ^d	93.25±2.51 ^d	66.27±2.96 ^d	113.15±1.34 ^d	91.46±1.20 ^b
	Tween 80	117.52±1.91 ^b	110.14±7.13 ^c	30.21±0.34 ^c	16.90±0.31 ^c	96.69±0.42 ^c	90.10±5.05 ^b
	BEO	151.30±8.36 ^c	87.80±2.95 ^b	10.23±0.15 ^b	10.37±0.04 ^b	35.38±1.92 ^b	85.55±4.04 ^{ab}
	BNE	64.69±0.92 ^a	32.34±1.58 ^a	5.06±0.27 ^a	4.34±0.79 ^a	20.34±1.17 ^a	83.18±5.43 ^a
HIS	Kontrol	25.45±0.64 ^d	58.76±2.33 ^c	24.17±0.47 ^c	24.08±0.45 ^c	32.58±1.63 ^c	30.35±0.01 ^d
	Tween 80	12.16±0.42 ^b	33.40±0.36 ^b	5.45±0.07 ^b	20.58±0.30 ^b	19.61±0.92 ^b	26.62±0.04 ^c
	BEO	16.23±0.18 ^c	22.22±0.20 ^a	2.86±0.01 ^a	22.30±1.63 ^{bc}	12.17±0.05 ^a	22.47±0.43 ^b
	BNE	6.39±0.46 ^a	31.64±1.81 ^b	2.29±0.02 ^a	15.66±0.48 ^a	13.39±0.50 ^a	15.31±0.93 ^a
SER	Kontrol	61.63±3.43 ^c	23.97±1.30 ^c	77.07±1.16 ^c	30.19±0.31 ^d	43.59±0.27 ^c	71.36±0.50 ^d
	Tween 80	53.58±2.18 ^{bc}	8.43±0.11 ^b	49.60±0.57 ^b	20.91±1.24 ^c	28.29±0.82 ^b	50.57±0.29 ^b
	BEO	50.52±2.40 ^b	8.29±0.38 ^b	34.51±1.27 ^a	14.40±1.06 ^b	10.06±1.49 ^a	62.72±4.44 ^c
	BNE	42.36±0.03 ^a	5.06±0.61 ^a	56.33±3.05 ^{bc}	10.13±0.20 ^a	11.92±1.08 ^a	33.56±2.28 ^a
TYR	Kontrol	281.97±11.14 ^d	242.00±12.02 ^d	211.23±3.47 ^c	126.73±0.24 ^d	151.96±2.57 ^c	49.83±0.71 ^c
	Tween 80	149.87±5.19 ^c	219.11±9.92 ^c	93.84±4.77 ^b	51.26±1.86 ^c	67.76±1.53 ^b	31.14±2.67 ^b
	BEO	56.15±4.53 ^b	159.57±7.50 ^a	48.10±1.33 ^a	22.82±0.74 ^a	60.30±1.59 ^a	29.93±0.72 ^b
	BNE	12.63±0.86 ^a	176.84±6.87 ^b	48.11±1.15 ^a	29.79±1.46 ^b	67.41±4.78 ^b	25.07±0.80 ^a
DOP	Kontrol	1187.20±18.10 ^c	567.67±34.18 ^d	66.54±4.90 ^c	3889.45±148.10 ^c	473.33±4.70 ^d	1946.20±156.83 ^d
	Tween 80	718.61±64.26 ^b	107.27±10.28 ^a	62.78±5.50 ^{bc}	5391.01±205.14 ^d	383.32±12.82 ^c	1123.72±104.08 ^c
	BEO	822.80±35.50 ^{bc}	210.06±12.56 ^b	58.45±4.16 ^b	2436.30±98.10 ^b	222.62±3.70 ^b	559.67±146.45 ^b
	BNE	111.60±2.73 ^a	260.80±17.71 ^c	39.58±1.63 ^a	1659.14±39.21 ^a	36.22±0.32 ^a	211.34±22.48 ^a
AGM	Kontrol	608.98±20.30 ^c	248.43±12.16 ^c	274.81±1.52 ^d	147.83±5.59 ^c	197.65±8.15 ^d	210.30±1.34 ^c
	Tween 80	144.29±2.02 ^b	149.61±12.71 ^b	258.12±18.39 ^c	135.15±1.05 ^b	179.75±2.10 ^c	126.28±7.13 ^a
	BEO	73.04±4.97 ^a	117.41±8.72 ^a	28.58±0.88 ^a	197.53±7.34 ^d	73.85±0.85 ^b	164.34±5.38 ^b
	BNE	94.32±5.45 ^{ab}	155.05±1.82 ^b	103.73±4.19 ^b	119.81±0.04 ^a	69.09±5.17 ^a	164.35±10.86 ^b

BEO: Biberiye esansiyel yağı, BNE: Biberiye esansiyel yağı bazlı nanoemülsiyon.

*Ortalama değer, ± standart sapma, n=3. Aynı satır üzerindeki farklı harfler (a-d) istatistikî farkı göstermektedir.

Spermidin (SPD) üretiminde de benzer şekilde patojen bakterilerin besi ortamında kullanılan tüm grupların amin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. Spermidin (SPD) üretiminde suşlar arası dalgalanma gözlenirken *S. Paratyphi A*'da BNE, SPD üretimini Tween 80 ve BEO'ya göre teşvik etmiş ve kontrol ile aralarında benzer üretim değerleri (32.43 - 32.44 mg L⁻¹) gözlenmiştir. Spermin (SPN) üretiminde patojen bakterilerin besi ortamında kullanılan tüm grupların amin üretimini inhibe ettiği gözlenmiştir. En yüksek üretimler kontrol gruplarında gözlenirken muamele grupları arasında dalgalanmalar gözlenmiştir. Patojen suşlarda çok fazla SPN üretimi gözlenmezken bozucu grupta daha fazla üretim söz konusu olmuştur. SPN üretiminde en fazla inhibisyon yine bozucu suşlarda ve *V. vulnificus* ile *P. mirabilis*'te gözlenmiştir. Balık bozucu grupta da muamele grupları arasında SPD üretimi açısından farklılıklar gözlenmiştir. Patojen suşlarda en düşük ve en yüksek SPN üretimi 4.10 - 45.00 mg L⁻¹ ile *E. faecalis* (BNE) ve *K. pneumoniae* (kontrol)'de gözlenirken bozucu suşlarda en düşük ve en yüksek SPN üretimi 4.34 - 184.95 mg L⁻¹ ile *P. mirabilis* (BNE) ve *P. damsela* (kontrol)'de gözlenmiştir. *S. Paratyphi A* suşundan en düşük SPN üretimi Tween 80 grubunda gözlenmiştir. *S. aureus*'ta ise BEO, Tween 80'den daha az inhibitör etki yaratmıştır. Bu sonuçlardan da görüldüğü üzere biyojen amin üretiminde muamele gruplarının her zaman inhibe edici etkide olmadığı ve bunun nedeninin de bakteriyel suş, kullanılan besi ortamı gibi faktörlerden etkilendiği sonucuna varılmaktadır.

Triptamin (TRPT) üretimine bakıldığında gıda kaynaklı patojenik bakteriler tarafından çok fazla üretim gözlenmezken bozulma etmeni bakterilerin daha fazla üretim yaptığı görülmekte ve en düşük ve en yüksek üretimleri 2.09 - 44.94 mg L⁻¹ aralığında olmuştur ve sırasıyla *V. vulnificus* (Tween 80) ile *P. mirabilis* (kontrol) suşlarında gözlenmiştir. Patojen organizmalarda ise bu değerler 0.03 mg L⁻¹ (BNE grubu *E. faecalis*) - 25.76 mg L⁻¹ (kontrol grubu *K. pneumoniae*) aralığında olmuştur. 2-feniletülin (PHEN) üretimi açısından sonuçlar incelendiğinde, patojen suşların oldukça az üretim yaptıklarını, bozucu bakterilerin ise daha fazla ürettikleri görülmektedir. *S. aureus*'ta BEO ve BNE grupları PHEN üretimini teşvik ederken kontrol ve Tween 80 gruplarında hiçbir üretim gözlenmemiştir. *K. pneumoniae*'de ise muamele gruplarının tamamı PHEN üretimini baskılamıştır. *S. paratyphi A*'da ise BEO grubu (0.97 mg L⁻¹), bozucu *E. faecalis*'te ise Tween 80 grubu (0.74 mg L⁻¹) en yüksek PHEN üretimi ile sonuçlanmıştır. Tüm suşlar arasında sadece *P. luteola*'da kontrol dahil hiçbir grupta PHEN üretimi gözlenmemiştir. Tüm suşlar arasında en fazla inhibisyon *P. damsela*'de (77 kat) gözlenmiştir.

Bakteriler tarafından üretilen serotonin (SER) ve dopamin (DOP) sırasıyla 5.06 ve 11.08 mg L⁻¹'nin üzerinde olup, *S. aureus* (641.14 mg L⁻¹) ve *P. mirabilis* (5391.01 mg L⁻¹) en yüksek SER ve DOP üreten bakteriler olmuştur. Muamele grupları test edilen bakteriler tarafından SER ve DOP üretimini engelleyici etkiye sahip olmuştur. En yüksek inhibitör etki ise SER için *S. aureus* suşunda DOP için *S. Paratyphi A* suşunda gözlenmiştir. *V. vulnificus* suşunda kontrolden sonra en az inhibitör etki gösteren grup BNE olması bu suşta SER üretimi açısından stimüle edici eki yaratmıştır. DOP üretiminde patojen *E. faecalis*'te muamele grupları kontrole göre inhibitör etkisi yaparken muamele grupları kendi aralarında istatistiksel olarak farklı olamayan sonuçlar göstermişlerdir. DOP üretiminde genel olarak yüksek üretimler bozucu grupta daha fazla olmasına karşın patojen suşlarda da gözlenmiştir. Patojen suşlardan *E. faecalis* en düşük DOP üretirken, bozucu grupta *V. vulnificus* en düşük DOP üreten suş olmuştur. TDB içerisinde agmatin (AGM) üretimi de DOP üretimine benzer sonuçlar göstermiştir. AGM incelendiğinde patojen suşların tamamında muamele gruplarının önemli bir inhibe edici etkisi gözlenmiştir.

Tüm muamele gruplarının kontrole kıyasen TMA üretimini baskıladığı, en fazla inhibisyonun ise *P. damsela* suşunda olduğu tespit edilmiştir. TDB içerisinde bozucu bakteriler arasında en düşük ve en yüksek TMA üreten bakteri sırasıyla BNE grubunda 1.74 mg L⁻¹ olarak *S. liquefaciens* ve hiçbir katkı olmayan kontrol grubunda 153.46 mg L⁻¹ oranıyla *P. damsela* olmuştur. Yine aynı dekarboksilaz sıvısı içerisinde patojen bakteriler arasında ise en düşük ve en yüksek TMA üreten bakteri ise sırasıyla BNE grubunda 7.45 mg L⁻¹ üretim ile *S. Paratyphi A* ve kontrol grubunda 56.78 mg L⁻¹ oranında *E. faecalis* olmuştur.

Gıdalarda oldukça önemli olan biyojen aminlerden biri histamindir (HIS). Özellikle yağlı balıklarda depolama ile birlikte yüksek konsantrasyonu toksik etki yaratmaktadır. Kontrol gruplarında HIS üretimi 20.15 mg L⁻¹ (*S. aureus*) ve 58.76 mg L⁻¹ (bozucu *E. faecalis*) arasında değişiklik göstermiştir. Biberiyenin tüm formları ve Tween 80, tüm kullanılan gıda kaynaklı patojenlerin ve bozucu bakterilerin HIS üretimini baskılamıştır. Bu da biberiyenin özellikle kolay bozulabilen balık gibi et ürünlerinde enfeksiyona yol açabilecek potansiyeli olan patojenlerin metabolit üretimini baskıladığı görülmektedir. Genel olarak HIS üretimi patojen grupta 2.82-30.45 mg L⁻¹ aralığında, bozucu grupta ise

2.29 - 58.76 mg L⁻¹ aralığında olmuştur. Patojen ve bozucu suşlar hemen hemen benzer oranlarda HIS üretmişlerdir. *S. aureus*'ta ve *S. Paratyphi A*'da biberiye esansiyel yağının (BEO) nanoemülsiyon formundan (BNE) daha çok inhibitör etkide olduğu gözlenmiştir. Benzer durum *E. faecalis* ve *S. liquefaciens* bozucu suşlarında da görülmüştür. Bu durumdan farklı olarak *P. damsela* ve *P. mirabilis* suşlarında ise Tween 80 BEO'dan HIS üretiminde daha inhibe edici etkili olmuştur. Önemli oranda inhibisyon ise *V. vulnificus* suşunda (yaklaşık 10 kat) gözlenmiştir. Bu durum tirozin destekli besi ortamında bile biberiye esansiyel yağı ve nanoemülsiyonun bozucu mikroorganizmaların amin üretimini inhibe ettiğini göstermektedir. López-Sabater ve ark. (1996) kültür ortamında *K. pneumoniae*'nin 216 ppm histamin ürettiğini belirtmiştir. Chang ve ark. (2008) *S. aureus* izolatlarının kültür ortamında 12.7 ve 33.0 mg kg⁻¹ arasında HIS ürettiğini rapor etmiştir. *K. pneumoniae*'nin histidinden yüksek oranda HIS ürettiği (>3400 mg L⁻¹), *E. faecalis*'in ise zayıf HIS üreticisi (<10 mg L⁻¹) olduğu bulunmuştur (Özogul ve Özogul, 2007). Bu çalışmada *K. pneumoniae* ve patojen *E. faecalis* sırasıyla 2.82 - 27.37 mg L⁻¹ ve 16.60 - 30.44 mg L⁻¹ HIS üretmiştir.

TDB içinde bozulma etmeni bakteriler arasında tiramin (TYR) açısından kayda değer miktarlarda üretim gözlenmiştir. Muamele grupları tüm patojen organizmaların TYR üretimini azaltmasına rağmen en yüksek inhibisyon *K. pneumoniae*'de (2-11 kat) gözlenmiştir ve patojen bakteriler arasında *K. pneumoniae* tarafından üretilen TYR miktarını kullanılan BEO ve BNE grupları önemli ölçüde engellemiştir. *S. Paratyphi A* ve *E. faecalis* suşları kayda değer miktarda TYR üretmesine rağmen en fazla üretim *S. aureus*'ta (143.05 - 702.88 mg L⁻¹) gözlenmiştir. Bozulma etmeni bakteriler arasında TYR açısından kayda değer miktarlarda üretim *P. damsela* (12.63 - 281.97 mg L⁻¹) ve *E. faecalis* (159.57 - 242.00 mg L⁻¹) suşlarında gözlenmiştir. Fakat patojen bakteriler arasında *S. aureus* tarafından üretilen TYR miktarını kullanılan BEO ve BNE grupları önemli ölçüde engellemiştir. BEO ve BNE grupları genel olarak TYR üretimini kontrol ve Tween 80 gruplarından daha fazla inhibe ederken, *V. vulnificus*'ta BEO ve BNE grupları benzer oranda etki etmişlerdir ve bu minör farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (p<0.05). KučeroVá ve ark. (2009) süt ve peynirden izole edilen Enterococcus üyelerinin çoğunun tirozin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir. Hsitidin dekarboksilaz sıvısında gıda kaynaklı patojenler tarafından TYR birikimi 1.1 - 13.4 mg L⁻¹ arasında olmuştur (Gokdogan ve ark., 2012). Bu çalışmada, kontrol gruplarında TYR üretimi 49.83 mg L⁻¹ (*P. luteola*) ve 702.88 mg L⁻¹ (*S. aureus*) arasında olmuştur. Bu kadar yüksek TYR üretimi, besi ortamının tirozin destekli olmasından kaynaklanmaktadır. Genel olarak bakıldığında kullanılan besi ortamının TDB olduğu düşünüldüğünde TYR üretimine oldukça müsait koşullar olması BEO ve BNE'nin bu organizmalar üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Literatür çalışmalarına bakıldığında zaman zaman bu konuda ülkemizde ve dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunduğu görülmektedir. Bu çalışmada biberiye esansiyel yağı ve bu yağ kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların gıda kaynaklı patojen ve balıkta bozucu bakterilerin ürettiği biyojen aminlere karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve oldukça tatmin edici sonuçlar bulunmuştur. Sistem içindeki esansiyel yağ formu dikkate alındığında, bunun antibakteriyel özellikleri nanoemülsiyon sistemine dahil edilerek geliştirilmiştir. Nanoemülsiyon, test edilen çoğu bakteri türlerine karşı antimikrobiyal özellikler göstermiştir, ancak bu etkinin bakteriyostatik veya bakterisidal etki olduğu gözlenmemiştir. Nanoemülsiyon hazırlama yöntemi ve formülasyonundaki gelişme, antibakteriyel özelliklerini daha da iyileştirmek için daha fazla araştırılması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından A-2012 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynakça

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., & Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35(1), 177e183.

- Al-zoreky, N. S., & Al-Taher, A. Y. (2015). Antibacterial activity of spathe from *Phoenix dactylifera* L. against some foodborne pathogens. *Industrial Crops and Products*, 65, 241-246.
- Buňková, L., Buňka, F., Klčovská, P., Mrkvička, V., Doležalová, M., & Kráčmar, S. (2010). Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food Chemistry*, 121(1), 203-206.
- Chang, S. C., Kung, H. F., Chen, H. C., Lin, C. S., & Tsai, Y. H. (2008). Determination of histamine and bacterial isolation in swordfish fillets (*Xiphias gladius*) implicated in a food borne poisoning. *Food Control*, 19(1), 16-21.
- Chang, Y., McLandsborough, L., & McClements, D. J. (2012). Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: Influence of ripening inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 12056-12063.
- Chu, Y., Gao, C., Liu, X., Zhang, N., Xu, T., Feng, X., ... & Tang, X. (2020). Improvement of storage quality of strawberries by pullulan coatings incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. *LWT*, 122, 109054.
- Donsì, F., Cuomo, A., Marchese, E., & Ferrari, G. (2014). Infusion of essential oils for food stabilization: Unraveling the role of nanoemulsion-based delivery systems on mass transfer and antimicrobial activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 212-220.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., & Vural, N. (2001). Biogenic amines produced by Enterobacteriaceae isolated from meat products. *Meat Science*, 58(2), 163-166.
- Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 392-397.
- Gokdogan, S., Özogul, Y., Kuley, E., Özogul, F., Kacar, C., & Ucar, Y. (2012). The influences of natural zeolite (cliptinolite) on ammonia and biogenic amine formation by foodborne pathogen. *Journal of Food Science*, 77(8), M452-M457.
- Korkmaz, K., Tokur, B., & Uçar, Y. (2021). Enzimatik hidroliz yöntemi kullanılarak balık işleme atıklarından balık protein hidrolizatı üretimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(2), 502-513.
- KučeroVá, K., SVobodoVá, H., Tůma, Š., Ondráčková, I., & Plockova, M. (2009). Production of biogenic amines by Enterococci. *Czech Journal of Food Sciences*, 2, 50-55.
- Kuley, E., Balıkcı, E., Özoğul, İ., Gökdogan, S., & Özoğul, F. (2012). Stimulation of cadaverine production by foodborne pathogens in the presence of *Lactobacillus*, *Lactococcus*, and *Streptococcus* spp. *Journal of Food Science*, 77, 650- 658.
- López-Sabater, E. I., Rodríguez-Jerez, J., Hernández-Herrero, M., & Mora-Ventura, M. T. (1996). Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area. *International Journal of Food Microbiology*, 28(3), 411-418.
- Majeed, H., Antoniou, J., Shoemaker, C. F., & Fang, Z. (2015). Action mechanism of small and large molecule surfactant-based clove oil nanoemulsions against foodborne pathogens and real-time detection of their subpopulations. *Archives of Microbiology*, 197(1), 35-45.
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285-330.
- Niven, Jr, C. F., Jeffrey, M. B., & Corlett Jr, D. A. (1981). Differential plating medium for quantitative detection of histamine-producing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(1), 321-322.
- Nowak, A., Kalemba, D., Krala, L., Piotrowska, M., & Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-6.
- Özoğul, F. (2004). Production of biogenic amines by *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hafnia alvei* using a rapid HPLC method. *European Food Research and Technology*, 219, 465–469.
- Özogul, F., & Özogul, Y. (2007). The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Research Technology*, 225, 385–394.

- Özogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 422-430.
- Özogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Köşker, A. R., Öz, M., & Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT*, 75, 677-684.
- Özogul, Y., Boğa, E. K., Akyol, I., Durmus, M., Ucar, Y., Regenstein, J. M., & Köşker, A. R. (2020). Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and foodborne pathogens. *Food Bioscience*, 36, 100635.
- Pereira, V., Dias, C., Vasconcelos, M., Rosa, E., & Saavedra, M. (2014). Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*). *Industrial Crops and Products*, 52, 1-7.
- Redmond, J. W., & Tseng, A. (1979). High-pressure liquid chromatographic determination of putrescine, cadaverine, spermidine and spermine. *Journal of Chromatography A*, 170(2), 479-481.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2015). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, 547-556.
- Seitter, M., Geng, B., & Hertel, C. (2011). Binding to extracellular matrix proteins and formation of biogenic amines by food-associated coagulase-negative Staphylococci. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 483-7.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Design and development of oral oil in water ramipril nanoemulsion formulation: *in vitro* and *in vivo* assessment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(1), 28-44.
- Telli, R., Gök, V., & Çağlar, A. (2006). Aromatik uçucu yağ bileşenlerinin gıdalardaki antibakteriyel etkileri. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, Bolu 939.
- ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., & In't Veld, J. H. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11(1), 73-84.
- Uçar, Y. (2020a). Su ürünlerinde nisin uygulamaları. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 639-651.
- Uçar, Y. (2020b). Antioxidant effect of nanoemulsions based on citrus peel essential oils: Prevention of lipid oxidation in trout. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(5), 1900405.
- Yazgan, H., Ozogul, Y., & Kuley, E. (2019). Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on foodborne pathogens and fish spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 306, 108266.