

# Su kirliliğinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın biyojen amin seviyeleri üzerine etkileri

Derya BOZKURT DURAN<sup>1</sup> Mustafa CALAPOĞLU\*<sup>1</sup>, Defne CEBECİ<sup>1</sup>, Uğur ŞAHİN<sup>1</sup>, Hasan KALYONCU<sup>2</sup>

1 Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 32260, Isparta

2 Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 35040, İzmir

\*Sorumlu İletişim Yazarı: [calapoglu@hotmail.com](mailto:calapoglu@hotmail.com)

## Özet

Çalışmanın amacı, Çandır Deresi beton havuz (İstasyon I), Karacaören I Baraj Gölü ağ kafes (İstasyon II), Çatak Baraj Gölü ağ kafes (İstasyon III) çiftliklerinde (Isparta, Türkiye) üretimi yapılan *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) kas dokularındaki biyojen amin seviyeleri ile su kirliliğine bağlı olarak değişebilen su kalitesi özellikleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Şubat 2016'da, istasyonlardan *O. mykiss* kas dokusu ve su örnekleri eşzamanlı olarak alındı. İstasyondan alınan su örneklerinin fizikokimyasal parametreleri dikkate alınarak YSKYY'e (Yüzeysel Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği) göre istasyonların su kalitesi seviyeleri belirlendi. Üretim çiftliklerinden alınan *O. mykiss* kas örneklerinde tiramin, 2-feniletülin, putresin, kadaverin ve triptamin seviyeleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile histamine seviyeleri ise enzim-bağlı immüno-sorbent ölçümü (ELISA) ile belirlendi. YSKYY'e göre yapılan değerlendirmede, her üç istasyondan alınan su örneklerinin su kalitesi düzeyleri bakımından II. kalite sınıfına dahil oldukları belirlenmiştir. Nitrit ve toplam azot değerlerine dayanarak yapılan değerlendirmede ise istasyon III'ün diğer istasyonlara göre en düşük kirliliğe sahip olduğu, İstasyon II'nin orta derece kirli olduğu ve İstasyon I'in ise diğer istasyonlara göre en fazla kirliliğe sahip olduğu bulundu. İstasyon I'den alınan *O. mykiss* kas dokusu örneklerinde putresin ve histamin seviyelerinin İstasyon II ve III'den alınan *O. mykiss* kas dokusu örneklerindeki ölçümlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulundu ( $p < 0,001$ ). Çevresel kirlleticilerin birikimine ve maruziyetine bağlı olarak meydana gelen mikrobiyal kontaminasyon, balık dokularındaki biyojen amin üretiminin temel kaynağıdır. Su kaynaklarının kontaminasyonu, balık dokularında biyojen amin birikimine yol açarak balık refahının yanı sıra balık kalitesine de olumsuz yönde etkilemektedir.

**Anahtar kelimeler:** Gökkuşağı alabalığı, biyojen amin, su kirliliği, histamin, putresin

## Water pollution on biogenic amine levels of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

### Abstract

The aim of the study is to determine the relationship between the water quality properties which can vary depending on pollution sources and biogenic amine concentrations in the muscle tissues of farmed *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) in concrete pond farms located in Candir River (Station I), Karacaören I Reservoir (Station II) and Çatak Reservoir (Station III) in Isparta, Turkey. The *O. mykiss* muscle tissue and water samples were obtained in three stations, on February 2016, simultaneously. In three stations, fourteen physicochemical parameters were measured in water samples and water quality levels determined by YSKYY (Surface Water Quality Management Regulation). Muscle tissue tryptamine, 2-phenylethylamine, putrescine, cadaverine, tyramine concentrations were determined with high-performance liquid chromatography (HPLC) method, and histamine were determined with ELISA in *O. mykiss* flesh from three fish farms. The water's physical and chemical parameters show that the water quality in all stations are categorised as class II, according to the Turkish YSKYY. However, based upon its nitrite and total nitrogen values, Station II was found to be less polluted than the other stations, followed by a moderate degree of pollution for Station III, and significantly higher levels or pollution for Station I. The putrescine and histamine levels were higher in muscle of the *O. mykiss* from the station I, compared to station II and III ( $p < 0.001$ ). We concluded that microbial contamination due to environmental pollutant accumulation and exposure are an important source of biogenic amines generation within the fish tissues. Contamination of water bodies causes biogenic amines accumulation in fish tissues and consequently negatively contributing to quality of fish as food as well as fish welfare.

**Key words:** Rainbow trout, biogenic amines, water pollution, histamine, Putrescine

## 1 GİRİŞ

Endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan çevre kirliliğinin giderek artması, gıda güvenliği ve balıkçılık yönetimi açısından önemli sorun oluşturmasının yanı sıra insan sağlığı için de ciddi bir tehdit unsurudur. Biyobelirteç kullanımı yoluyla kirleticilerin etkilerinin araştırılması, sucul ekosistemlerin durumunun izlenmesi ve değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bununla birlikte, suda yaşayan organizmalardaki kirleticilerin belirlenmesi yolu ile izlenmesi, kirleticiyi maruz kalma ile biyolojik etki arasındaki ilişki hakkında bilgi sağlamada yetersiz olabilmektedir (Nigro vd., 2006). Sucul ekosistemlerde kirleticilerin varlığı, anormal morfoloji,

oksidan/antioksidan statüsünde değişiklik, biyomoleküler yapıların (DNA, proteinler, lipidler ve aminoasitler gibi küçük moleküller) değişimi gibi fizyolojik, histolojik ve moleküler yöntemlerin kullanımı ile belirlenebilmektedir (Binelli vd., 2007; Coffinet vd., 2008; Pavlica vd., 2001; Rocher vd., 2006).

Biyojen aminler serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu ile oluşan, düşük molekül ağırlıklı, uçucu olmayan alifatik, alisiklik ve heterosiklik organik azotlu bazik karakterde bileşiklerdir (Halasz vd., 1994; Rice vd., 1976). Öncül amino asitten  $\alpha$ -karboksil grubunun uzaklaştırılması, öncül amino asite karşılık gelen biyojen aminin oluşumuna yol açabilmektedir. Çoğu biyojen aminin ismi kökenini oluşturan amino asitten gelmektedir. Histidin dekarboksilasyonu sonucu histamin, triptofan ve tirozin amino asitlerinin dekarboksilasyonu sonucu tiramin, lizin amino asitinden kadaverin ve putresin biyojen amini ise glutamin, arginin ve agmantin amino asitlerinden oluşabilmektedir (Bodmer vd., 1999; Halasz vd., 1994; Majala vd., 1995).

Balık bozulması oldukça karmaşık bir olaydır (Hungerford, 2010). Balıkların duyuşal değerlendirmesi, balık kalitesini tespit etmek için yeterli olmamaktadır ve bu nedenle de balık kalitesinin değerlendirmesinde kimyasal testlere ihtiyaç duyulmaktadır (Gökoğlu ve Varlık, 1992). Balıklarda biyojen aminlerin oluşumu türe özğüdür. Biyojen aminler, histidine zengin (koyu kaslı) balıklarda histidine fakir balıklara (beyaz kaslı) kıyasla çok daha yüksektir (Auerswald vd., 2006; Prester vd., 2009). Histamin balık bozulmasının değerlendirilmesinde en önemli parametrelerden biri olmasına rağmen, tek başına histamin içeriği balık örnekleminin hijyenik kalitesinin güvenilir bir göstergesi olmayabilir (Mendes, 1999). Bu nedenle Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (USFDA), balık bozulması ile ilişkilili olan diğer biyojen aminlerin miktarlarının belirlenmesini de tavsiye etmektedir (US Food and Drug Administration, 1996).

Kültür balıkçılığında balık kalitesini etkileyen faktörler yetiştirilen balık türünün özelliklerine, yetiştiricilik koşullarına, beslenme rejimlerine, hasat ve hasat sonrası uygulamalara bağlıdır. Kültür balıkçılığının yapıldığı sucul ortamın temizliği ve güvenilirliği son derece önem taşımaktadır. Göller, nehirler, biriktirme hazneleri ve denizel kıyı bölgeleri gibi su kaynakları direkt olarak endüstri, ziraat, kentsel yerleşimler ve balık üretim çiftliklerinden kaynaklanan aşırı miktardaki atıklar için depo görevi yapmaktadır. Dolayısıyla, kültür balığı yetiştiriciliği yapılan sularda suyun kirliliği ve suda sediment birikimi mikroorganizmaların çoğalması üzerinde önemli etkiye sahiptir. Su ortamında yaşıyan canlıların kirliliğe maruz kalması durumunda ise patojen mikroorganizmaların gelişimine imkan sağlanarak bakteriyel biyojen amin dekarboksilazlar aracılığı ile biyojen amin oluşumuna katkı sağlanmaktadır.

Biyojenik aminler büyük ölçüde proteince zengin gıdalar ve fermente gıdalarda bulunmaktadır. Biyojenik aminlerin oluşması serbest amino asitlerin varlığı, dekarboksilaz enzimi aktivitesi gösteren mikroorganizmaların ortamda bulunması, bu mikroorganizmaların sayısı vemi­kroorganizmaların gelişimi için pH ve sıcaklık gibi uygun çevre koşullarının var olmasına bağlıdır (Gökoğlu ve Varlık 1995; Majala vd., 1993). Balıkların yapısında bulunan amino asitlerin enzimatik dekarboksilasyonu ile bir çok amin bileşikleri oluşmaktadır. Dekarboksilaz enzimi için gerekli olan substrat, serbest amino asitlerdir. Bu nedenle balığın bozulması veya ayrışması süresince bakteriyel proteoliz ve ardından serbest amino asitlerin enzimatik dekarboksilasyonu ile biyojen aminler üretilmektedir (Eitenmiller ve De Souza, 1984). Biyojen aminler balık bozulmalarında kimyasal indikatör vazifesi görmelerinin yanı sıra gıda zehirlenmesi riskinden dolayı önemli olup balık eti kalitesi ve güvenilirliği ile yakından ilişkilidirler.

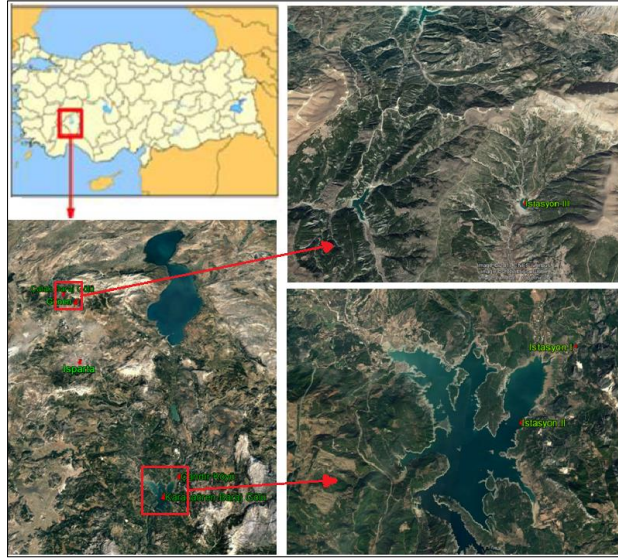
Bu çalışmada, Karacaören I ve Çatak Baraj Göllerindeki ağ kafes çiftliklerinden ve ayrıca Çandır Deresi beton havuz çiftliğinden *O mykiss* örnekleri alınarak su kirliliğinin balık etindeki biyojen amin seviyeleri ile ilişkileri belirlenerek, su kirliliğinin balık kalitesi ve güvenilirliği üzerine etkileri tartışılmıştır.

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Deney Grupları

Yapılan deneylerin tümü Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 02.08.2014-14-01 protokol no'lu etik kurul onayı ile yapıldı.

Bu çalışmada biyolojik materyal olarak yetişkin erkek gökkuşağı alabalığı (*O mykiss*) kullanılmıştır. Deney grupları çevresel kirlilik etkenleri dikkate alınarak oluşturulmuştur. Deney grupların seçiminde aynı ticari firmanın çiftliklerinin olmasına ve grup içi ve gruplar arasındaki alabalıkların seçiminde yetiştiriciliğine uyum sağlamış olmalarına, aynı yaşta (13 aylık), aynı cinste (erkek), yemleme tipi ve çeşidinin aynı olmasına (Optiline 3P, Skretting, Turkey; % 41 CP, % 24 EE, % 3,9 CF % 22,1 NFE; % 1.5 b.w.) ve aynı ağırlıkta (200-250 gr) olmalarına dikkat edilmiştir. Balık örnekleri istasyonlardan eş zamanlı olarak toplanmıştır. Deney grupları, İstasyon I (Çandır beton havuz alabalık çiftliği); 37°26'54.43"N–30°54'04.16"E, İstasyon II (Karacaören I Baraj Gölü ağ kafes alabalık çiftliği); 37°24'37.68"N–30°52'33.06"E ve İstasyon III (Çatak Baraj Gölü ağ kafes alabalık çiftliği); 37°59'31.30"N–30°27'48.92"E olmak üzere üç gruptan oluşturulmuştur. Örneklem yerleri Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. *O. mykiss* örneklerinin toplandığı istasyonların haritası. İstasyon I (Çandır beton havuz alabalık çiftliği), İstasyon II (Karacaören I Baraj Gölü alabalık çiftliği), ve İstasyon III (Çatak Baraj Gölü alabalık çiftliği).

## 2.2. Balık Örneklerinin Toplanması

Çandır deresi (İstasyon I) Karacaören Baraj Gölü (İstasyon II), ve Çatak Baraj Gölü (İstasyon III) yerel balık üretme çiftliklerinde yetiştirilen yaklaşık olarak 200-250 gram ağırlığında ve 13 aylık, istasyon başına 8'er adet erkek Gökkuşuğu alabalığı (*O. mykiss*) istasyonlardan Şubat, 2016 tarihinde ağ kepçe ile yakalanmıştır.

## 2.3. Doku Örneklerinin Alınması ve Nakli

Balık kas dokusu örnekleri balık örneklerinin toplandığı yerde alındı. Anestezik ajan olan Trikaïn metansülfonat (MS-222)'den 0,5 M NaHCO<sub>3</sub> tamponunda (pH= 7,4) 10 g/L konsantrasyonunda stok çözelti hazırlandı. Balıklar 0,5 g/L'lik anestezik solüsyon içerisinde konularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi uygulanan balıklardan kas dokuları eksize edildi, soğuk % 0,9'luk sodyum klorür çözeltisiyle yıkandı ve plastik torbalara konularak soğuk zincirde laboratuvara nakledildi. Analiz zamanına kadar -80°C' de muhafaza edildi.

## 2.4. Balık Kas Dokularının Biyojen Amin Seviyelerinin Belirlenmesi

Balık kas dokularının histamin seviyeleri ticari Ridascreen Histamine/ELISA kiti (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany) ile kit protokolüne göre belirlendi. Histamin miktarları mg/kg olarak ifade edildi.

Balık örneklerinin kadeverin, tiramin, putresin, 2-feniletılamin ve triptamin biyojen aminlerinin seviyeleri HPLC yöntemi ile Anlı ve arkadaşlarının protokolüne göre belirlendi (Anlı vd., 2004). Özet olarak, biyojen aminler 2,5 g örnek ile 0,4 M perklorik asid ile ekstrakte edilerek dansil klorür ile türevlendirildi. Kromatografik ayırma, Çözücü A (tampon/asetonitril/su;1:18:12 v/v) ve Çözücü B (tampon/asetonitril/su 0,01:9:1 v/v) ile sürekli gradyanlı bir elüsyon programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayırma işlemi % 40 çözücü B ile başlamış ve daha sonra 20 dk içinde % 60' a kadar artırılmıştır. Sistem bir sonraki analize geçmeden önce 10 dakika dengelenmiştir. Akış hızı 1 mL/dak ve kolan sıcaklığı ise 30°C'ye ayarlanmıştır. Örneklerin süpernatant kısımlarından 20 µL alınarak Prodigy 5 µ ODS(2) kolonlu (250 x 4,6 mm), HPLC (Shimadzu, Tokyo, Japan) sistemine enjekte edilmiştir. Pikler 220 nm'de izlenmiştir (DAD dedektör). Miktar tayini için kullanılan biyojen amin standartları; kadeverin, putresin, tiramin, triptamin, histamin ve feniletılaminidir. Kadeverin, tiramin, putresin, 2-feniletılamin ve triptamin biyojen aminlerinin miktarları mg/L olarak ifade edilmiştir.

## 2.5. Su Örneklerinin Alımı ve Analizi

Çalışmanın yapıldığı istasyonlardaki suyun fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için su örneklerinin ve biyolojik örneklerin alınması aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir. Su örnekleri *O. mykiss* üretimi yapılan ağ kafeslerden yaklaşık olarak 5 m uzaklıktan ve 25 cm derinlikten alınırken, karasal beton havuz çiftliğinde ise çıkış suyundan alınmıştır. Su örnekleri alımında polipropilen şişeler kullanılmıştır. Örnekler şişelendikten ve etikelendikten sonra +4°C'de muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir.

Alınan su numunelerinin sıcaklığı (°C), pH değeri, elektrik iletkenliği (µS/cm) ve çözünmüş oksijen (mg O<sub>2</sub>/L) ölçümleri arazide yapılmıştır. Nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N), amonyum azotu (NH<sub>4</sub>-N), nitrit azotu (NO<sub>2</sub>-N), orto-fosfat iyonu (PO<sub>4</sub>-P mg/L), klorür iyonu (Cl mg/L) ölçümleri laboratuvarında yapılmıştır. Su sıcaklığı (°C): Testo 915-1 marka oksijen-metre'nin sıcaklık göstergesi ile arazide ölçülmüştür. pH değerleri WTW pH 330i marka pH metre ile arazide ölçülmüştür. Çözünmüş oksijen (mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>) WTW oxi 340 marka oksimetre ile arazide ölçülmüştür. Elektriksel iletkenlik (µS cm<sup>-1</sup>) WTW cond.330i marka elektriksel iletkenlik ölçer kullanılarak arazide ölçülmüştür. Klorür iyonu miktarı (Cl- mg L<sup>-1</sup>): Spektrofotometrik yöntemle Merck Nova 60- 14897 kiti kullanılarak ölçülmüştür.

Nitrit azotu (NO<sub>2</sub>-N mg L<sup>-1</sup>) spektrofotometrik yöntemle Merck Nova 60-14776 kiti kullanılarak ölçülmüştür. Nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N mg L<sup>-1</sup>) spektrofotometrik yöntemle Merck Nova 60-09713 kiti kullanılarak ölçülmüştür. Amonyum azotu (NH<sub>4</sub>-N mg L<sup>-1</sup>)

spektrofotometrik yöntemle Merck Nova 60- 14752 kiti kullanılarak ölçülmüştür. Orto-fosfat iyonu ( $PO_4\text{-P}$  mg/L): Spektrofotometrik yöntemle Merck Nova 60- 14543 kiti kullanılarak ölçülmüştür.

## 2.6. İstatistiksel Analiz

SPSS 15.0 for Windows istatistik paket programı kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. Öncelikle, verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Gruplar arası farklılık tek yönlü ANOVA ile değerlendirilirken iki grup arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Turkey-HSD testi kullanıldı.

## 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Üç farklı istasyondan alınan su örneklerinde suyun kalitesini ortaya koymak üzere yapılan analizlerde amonyum, nitrat, total azot seviyeleri Karacaören I Baraj Gölü'nde, Çatak Baraj Gölü'nden elde edilen değerlere göre daha yüksek bulundu. Çözünmüş oksijen, bikarbonat, pH, ve elektriksel konduktivite değerleri ise Çatak Baraj Gölü'nde Karacaören Baraj Gölü'ne göre daha yüksek seviyede bulundu. Çandır Deresi beton havuz alabalık çiftliğinin çözünmüş oksijen, nitrat ve total azot değerleri Çatak ve Karacaören I Baraj Göllerine göre daha yüksek bulundu. Her üç istasyondan alınan su örneklerinin YSKYY'ye göre su kalitesi düzeyleri ise tüm istasyonlarda II. kalite sınıfına dahil olmaktadır (Tablo. 1). Ayrıca alabalık üretimi ve refahı için farklı kaynaklardan elde edilen ve önerilen standart değerler göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede (Solbe, 1988; Lawson, 1995; FAWC, 1996) ise İstasyon I (Çandır beton havuz alabalık çiftliği) hariç çalışmaya dahil edilen diğer istasyonların alabalık üretimi ve refahı için uygun su kalitesi içerisinde yer almaktadır.

**Tablo 1.** İstasyonlara göre su örneklerinin fiziko-kimyasal özellikleri

2 Fiziko-kimyasal parametreler	3 İstasyon I	4 İstasyon II	5 İstasyon III
Sıcaklık (°C)	10,02	13,2	13,8
pH	8,2	8,2	8,3
Çözünmüş oksijen	8,9	8,3	8,5
Electric conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	350	338	445
Amonyum (mg/ L)	<0,06	0,08	<0,06
Klor (mg/L)	2,38	6,5	3,55
Nitrit (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01
Nitrat (mg/L)	8,99	1,33	0,03
Fosfat (mg/L)	<0,05	<0,05	<0,05
Sülfat (mg/L)	2,92	12,55	31,47
Karbonat (mg/L)	24,00	24,00	48,00
Bikarbonat (mg/L)	219,60	189,10	237,90
Total fosfor (mg/L)	<0,02	<0,02	<0,02
Total azot (mg/L)	2,403	0,410	0,133
<b>Su kalitesi düzeyi (YSKYY)</b>	<b>II</b>	<b>II</b>	<b>II</b>

Çalışmamızda Çandır beton havuz, Çatak Barajı ve Karacaören I Barajı ağ kafes balık çiftliklerinden alınan balık örneklerinin kas dokularında HPLC yöntemi ile yapılan putresin ölçümleri sırasıyla  $9,73\pm 2,40$ ,  $5,98\pm 0,80$  ve  $6,98\pm 1,32$  mg/L olarak bulundu. Çandır beton havuz alabalık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu putresin seviyelerinin Karacaören I Barajı (Isparta-Burdur) ve Gönen Çatak Barajı (Isparta) ağ kafes balık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu putresin seviyelerine göre daha yüksek seviyede olup bu artışın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ( $P < 0.001$ ) bulunmuştur. Grup içi farklılıkları tanımlamak üzere yapılan Tukey's HSD testi sonuçlarına göre Çandır beton havuz alabalık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu putresin seviyelerinin diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür. Ayrıca, Karacaören I Barajı ve Gönen Çatak Barajı ağ kafes balık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu putresin seviyeleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Karacaören I Barajı ağ kafes alabalık çiftliğinden alınan örneklerin putresin seviyelerinin daha yüksek çıkmış olmasına rağmen bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı Tablo 2'de görülmektedir ( $p > 0,05$ ).

Çalışmamızda Çandır beton havuz, Çatak Barajı ve Karacaören I Barajı ağ kafes balık çiftliklerinden alınan balık örneklerinin kas dokularında (balık eti) ELISA yöntemi ile yapılan histamin ölçümleri sırasıyla  $4,28\pm 0,46$ ,  $2,76\pm 0,16$  ve  $3,58\pm 0,32$  mg/kg olarak bulundu. Çandır beton havuz alabalık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu histamin seviyelerinin Karacaören I Barajı (Isparta-Burdur) ve Gönen Çatak Barajı (Isparta) ağ kafes balık çiftliğinden alınan balık örneklerinin kas dokusu histamin seviyelerine göre daha yüksek seviyede olup bu artış istatistiksel olarak da anlamlıdır ( $P < 0,001$ ) (Tablo2).

Balık yetiştiriciliğinde kullanılan suyun temizliği ve güvenilirliği son derece önem taşımaktadır. Göller, nehirler, biriktirme haznelere denizel kıyı bölgeleri gibi su kaynakları direkt olarak endüstri, ziraat, kentsel yerleşimler veya dolaylı olarak hava emisyonlarının atmosferik birikiminden kaynaklanan aşırı miktardaki atıklar için depo görevi görmektedir.

**Tablo 2.** İstasyonlara göre balık kas dokusu biyojen amin konsantrasyonlarının ortalama değerleri, standart sapmaları ve istatistiksel değerlendirmesi

Gruplar	İstasyon I	İstasyon II	İstasyon III	P değeri (ANOVA)
Histamin (mg/kg) <sup>a</sup>	4,28±0.46	3,58±0.32	2,76±0.16	<0,001
Putresin (mg/L) <sup>b</sup>	9,73±2.40	6,98±1.32	5,98±0.80	<0,001
Triptamin (mg/L)	*	*	*	*
2-feniletılamin (mg/L)	*	*	*	*
Kadaverin (mg/L)	*	*	*	*
Tiramin (mg/L)	*	*	*	*

**Not:**Grup içi farklılıkların tanımlanmasında Post hoc testi olarak Tukey's HSD testi kullanıldı. <sup>a</sup>Histamin için istasyonlar arası p değerleri; p<0,01 (İstasyon I - İstasyon II), p<0,005 (İstasyon I - İstasyon III), p<0,001 (İstasyon II - İstasyon III). <sup>b</sup>Putresin için istasyonlar arası p değerleri: p<0,005 (İstasyon I - İstasyon II), p<0,05 (İstasyon I - İstasyon III groups); p>0,05 (İstasyon II - İstasyon III). \*:Değerlendirme yapılmadı

Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ve Nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) gibi azotlu bileşikler doğal olarak ekosistemdeki azot döngüsünden meydana gelmektedir (Bryan ve Loscaizo, 2011). İnsan aktivitelerinin sonucu olarak su sistemlerine giren fazla miktardaki azotlu bileşikler nitrat ve nitrit konsantrasyonları artışına katkı sağlamaktadırlar. Nitrat ve nitrit konsantrasyonunda artışa yol açan faktörlerin başında gübreler ve pestisitler gibi zirai kimyasalların potansiyel kullanımları gelmektedir. Kincheloe ve arkadaşları tatlı su türlerinin korunmasında nitrat seviyesinin maksimum değerinin 2.0 mg/L'yi aşmamasının gerektiğini belirtmişlerdir (Kincheloe vd., 1979). Bu çalışmada, Karacaören I Barajı ağ kafes balık çiftliğinden ve Gönen Çatak Barajı ağ kafes balık çiftliğinden alınarak analizi yapılan su örneklerinin nitrat konsantrasyonlarını sırasıyla 1,33 ve 0,03 mg/L olarak bulundu. Elde edilen bu sonuçlar nitrat konsantrasyonu açısından her iki istasyonda güvenli seviyenin aşılmadığını göstermektedir. Nitrat konsantrasyonları dikkate alınarak yapılan değerlendirmede her iki istasyonunda alabalık yetiştiriciliği için uygun olduğunu göstermektedir.

Çandır beton havuz alabalık çiftliğinden alınan su örneğindeki nitrat konsantrasyonu 8,99 mg/L olarak total azot seviyesi ise 2,403 mg/L bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar nitrat ve total azot seviyeleri açısından bu istasyonun balık yetiştiriciliği açısından güvenli seviyenin aşıldığını göstermektedir. Çandır beton havuz alabalık çiftliğinin milliparkın hemen altında yer alması kirleticilerin etkisinden uzak kalmasına neden olmaktadır. Fakat bu balık tesisinden önce var olan diğer balık tesisi ve parkın alt kısmında yer alan yerleşim birimi akarsuyu az da olsa etkilemektedir. Normalde akarsulardaki çözülmüş oksijen değerlerinin göllerdeki çözülmüş oksijen değerlerinden yüksek çıkması beklenir. Karasal havuzların sadece nitrat ve total azot değerleri yüksek olması nedeniyle su kalitesi bakımından II. kalite olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, beton havuzun dip temizliği ve aynı zamanda su çıkışının yüzeyden olmasına bağlı olarak yem artıklarının dibe çökerek nitrat ve total azot değerlerinin yüksek çıkmasına yol açabilir. Bu istasyondaki diğer tüm parametreler ise su kalitesi düzeyi olarak I. sınıf kalite seviyesindedir..

Karacaören I Barajı (Isparta-Burdur) ağ kafes balık çiftliğinden ve Gönen Çatak Barajı (Isparta) ağ kafes balık çiftliğinden alınarak analizi yapılan su örneklerinin total azot konsantrasyonları sırasıyla 0,410 ve 0,133 mg/L olarak bulunmuştur. Karacaören I Barajı (Isparta-Burdur) ağ kafes balık çiftliğinden alınan su örneklerinin total azot ve aynı zamanda nitrat konsantrasyonları Gönen Çatak Barajı (Isparta) ağ kafes balık çiftliğinden alınan su örneği değeri ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Isparta ilindeki tarım alanları Isparta ilinin yaklaşık olarak %28,13'nü oluşturmaktadır (Anonymous, 2004). Karacaören I Barajı rakımı yaklaşık olarak 200 m yüksekliğe tekabül etmektedir ve rakımı yaklaşık olarak 1000 m olan Isparta ili ile kısmen Burdur ilinden gelen suların beslenmektedir. Zirai ve kentsel aktiviteler Karacaören I Barajı'nın çok çıkışlı azot kirliliğinin ana kaynağını oluşturmaktadır. Karacaören I Barajı'nın tek çıkışlı azot kirliliği oluşturan kaynakları ise endüstriyel atıklar, evsel atık su arıtım artıkları ve balık üretim çiftliklerinden kaynaklanan atıklardır. Özellikle Isparta'daki tarım alanları Karacaören I Barajı'na pestisit, azot ve fosfor kirliliğinin oluşmasına önemli katkı sağlamaktadır. Çatak Barajı, rakım olarak Isparta'nın üst bölgesinde yer alması, kentsel yerleşim yeri olmaması ve aynı zamanda zirai uygulama alanı içermemesi bakımından çeşitli kirleticilere maruziyeti olmayan bir coğrafik konumda yer almaktadır. Dolayısıyla, Çatak Barajındaki birincil kirletici kaynak sadece balık üretim çiftliklerinden kaynaklanan kirleticilerdir.

Biyojenik aminler, balık ve balık ürünleri ile pek çok gıda maddesinde doğal olarak bulunmaktadır. Ayrıca, suyun dolayısıyla su ortamında yaşayan canlıların kirliliğe maruz kalması durumunda bakteri oluşumu artmakta ve bakteriyel kontaminasyona bağlı olarak da bakteriyel dekarboksilaz enzimleri aracılığı ile canlı sistemlerde biyojen amin oluşumuna katkı sağlanmaktadır. Biyojenik aminler balık bozulmasının biyokimyasal belirteci olmasının yanı sıra gıda zehirlenmesi riskinden dolayı toplum sağlığı açısından ciddi bir öneme sahiptirler. Balık üretim çiftliklerinin bulunduğu sucul ortamların çevresel kirleticilere maruz kalmaması veya su kalitesinin balık üretimi için uygun şartlarda olması, üretim, işleme ve depolama basamaklarında uygun şartların sağlanması biyojenik amin üretiminin kontrol altına alınmasındaki en önemli yoldur. Halk sağlığının korunması açısından biyojenik amin oluşma riski bulunan gıdaların üretim ve depolanmasında bu aminlerin oluşumunun kontrol altına alınması gerekmektedir (Shalaby, 1996).

Bakteriyel faaliyetler sonucunda balık ve balık ürünlerinde, başta histamin olmak üzere, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, β-feniletılamin ve agmatin tüketiciler için risk oluşturmaktadır (Auerswald vd.,2006). Çevre şartlarını bakteriyel faaliyetleri ortadan kaldıracak şekilde düzenlemek büyük önem taşımaktadır (Özoğul vd., 2004). Ayrıca balıkta oluşan biyojenik aminlerle, bakteriyel endotoksin (Prester vd., 2009) ve balığın duyu kalitesinin değişmesi arasında yüksek korelasyon bulunmaktadır (Hungerford, 2010). Putresin diğer biyojenik aminler gibi balıklarda besin kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan bir parametredir ve 20 mg/L'nin altındaki değerleri balık eti kalitesinin iyi düzeyde olduğunu göstermektedir ve bu değer balık eti kalitesi değerlendirmesinde kritik değeri ifade etmektedir (Krizek vd., 2004). Balık ürünlerinde putresin oluşumu başlıca bakteriyel ornitin- ve lizin- dekarboksilaz aktivitesi sonucu oluşmaktadır (Bover-cid vd., 2001). Su kirliliğindeki artışa bağlı olarak meydana gelen bakteriyel kontaminasyon gökkuşağı alabalığı etindeki putresin seviyelerinde artışa yol açabilir.

Avrupa Birliği (EU), 1000 g balık etindeki histamin yasal limitini 100 mg olarak belirtirken, son olarak Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) bu limiti 50 mg/kg olarak belirlemiştir (Food and Drug Administration, 2011). Çalışmamızda ise balık çiftliklerinin tümünden alınan balıkların kas dokusundaki (balık eti) histamin seviyeleri, EU ve FDA'nın öngördüğü yasal limitlerin çok altındaki değerlere sahiptir ve çalışmamızda bulduğumuz histamin seviyeleri histamine hassas insanlarda (50-100 mg/kg) dahi toksik etki oluşturmayacak düzeydedir.

Biyojen aminler, besinlerde istenmeyen lezzet, koku ve ayrıca potansiyel olarak toksik reaksiyon ürünlerinin oluşumuna yol açmasından dolayı besin endüstrisinde ciddi bir problemdir. YSKYY'ye göre yapılan su kalitesi değerlendirmesinde her üç istasyonun da aynı kalitede olduğu görülmektedir. Fakat nitrat ve total azot seviyelerine göre yapılan değerlendirmede Çandır beton havuz çifliğinin diğer istasyonlara göre en kirli istasyon olduğu ardından da Karacaören I Baraj Gölü'nün Çatak Baraj Gölü'ne göre daha kirli olduğu yapılan su analizleriyle ortaya konulmuştur. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre sudaki kirlilik ile doğru orantılı olarak balık kas dokusu histamin ve putresin seviyeleri de artmaktadır.

#### 4. SONUÇ

Sonuç olarak, gökkuşağı alabalığının kas dokusu örneklerinin biyojen amin seviyelerinin özellikle de histamin seviyesinin tatlı sularda çevresel kirliliğin potansiyel etkilerini test etmede biyo-belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Yaptığımız çalışmaya dayanarak balık üretim çiftliklerinden elde edilen *O. mykiss* örneklerinin çevresel kirliliğin değerlendirilmesinde iyi bir biyo-belirteç olabileceğini önermekteyiz. Çünkü bu çalışma modelinde kullanılan biyolojik materyalin her iki örneklemin yapıldığı istasyonlarda yemleme tipi, yemleme tarzı, yaş gibi parametreleri kontrol altına alınarak ekosistemdeki besin zincirinden kaynaklanacak dolaylı kontaminasyonların ortadan kaldırılması ile endüstriyel ve zirai aktivitelerden kaynaklanan mutajen ve kimyasallara direkt olarak maruz kalmaları sağlanmıştır.

#### Teşekkür

Araştırma, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (Proje No: 4367-YL1-15) tarafından desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

- Anlı, R.E., Vural, N., Yılmaz, S., & Vural, Y.H. 2004. The Determination of Biogenic Amines in Turkish Red Wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 53-62.
- Anonymous, 2004. Working Report for 2004, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of Turkey, Provincial Directorate of Isparta, Isparta. (Tr).
- Auerswald, L., Morren, C., & Lopata, A.L. 2006. Histamine Levels in Seventeen Species of Fresh and Processed South African Seafood. *Food Chem*, 98, 231-239
- Binelli, A., Riva, C., & Provini, A. 2007. Biomarkers in Zebra Mussel for Monitoring and Quality Assessment of Lake Maggiore (Italy). *Biomarkers*, 12(4), 349-368.
- Bodmer, S., Imark, C., & Kneubühl, M. 1999. Biogenic Amines in Foods: Histamine and Food Processing. *Inflammation Research*, 48, 296-300.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., & Vidal-Carou, M.C. 2001. Changes in Biogenic Amine and Polyamine Contents in Slightly Fermented Sausages Manufactured with and without Sugar. *Meat Science*, 57(2), 215-221.
- Bryan, N.S., & Loscalzo, J. 2011. Nitrite and nitrate in human health and disease (p. 306). New York: Humana Press.
- Coffinet, S., Cossu-Leguille, C., Bassères, A., Gonnet, J.F., & Vasseur, P. 2008 Response of the Bivalve *Unio Tumidus* and Freshwater Communities in Artificial Streams for Hazard Assessment of Methyl Methacrylate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(6), 1371-1382.
- Eitenmiller, R.R., & De Souza, S. 1984. Enzymatic Mechanisms for Amine Formation in Fish, In *Seafood Toxins*, ed. E. R. Ragelis, American Chemical Society, Washington, DC.
- FDA. *Food and Drug Administration*. 2011. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. Department of Health and Human Services Public Health Service Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Food Safety.
- Gökoğlu, N. & Varlık, C. 1992. Dumanlanmış Gökkuşağı Alabalığının (*Salmo gairdneri* R. 1836) Raf Ömrü Üzerine Araştırma. *Gıda Dergisi*, 17(1), 61-65.

- Gökoğlu, N., & Varlık, C. 1995. Sardalya Konservelerinin Histamin Biyojen Amini Yönünden İncelenmesi. *Gıda/The Journal of Food*, 20(5), 273-279.
- Halász, A., Baráth, Á., Simon-Sarkadi, L., & Holzapfel, W. 1994. Biogenic Amines and Their Production by Microorganisms in Food. *Trends in Food Science Technology*, 5, 42-49.
- Hungerford, J.H. 2010. Scombroid Poisoning: A Review. *Toxicon*, 56, 231-243.
- Kincheloe, J.W., Wedemeyer, G.A., & Koch, D.L. 1979. Tolerance of Developing Salmonid Eggs and Fry to Nitrate Exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 23(1), 575-578.
- Krizek, M., Vácha, F., Vorlová, L., Lukášová, J., & Cupáková, S. 2004. Biogenic Amines in Vacuum-Packed and Non-Vacuum-Packed Flesh of Carp (*Cyprinus carpio*) Stored at Different Temperatures. *Food Chemistry*, 88, 185-191.
- Maijala, R., Nurmi, E., & Fischer, A., 1995. Influence of Processing Temperature on the Formation of Biogenic Amines in Dry Sausages. *Meat Sciences*, 39, 9-22.
- Maijala, R.L., Eerola, S.H., Aho, M.A., & Hirn, J.A. 1993. The Effect of GDL-Induced pH Decrease on the Formation of Biogenic Amines in Meat. *Journal of food protection*, 56(2), 125-129.
- Mendes, R. 1999. Changes in Biogenic Amines of Major Portuguese Bluefish Species During Storage at Different Temperatures. *Journal Food Biochemistry*, 23, 33-43.
- Nigro, M., Falleni, A., Del Barga, I., Scarcelli, V., Lucchesi, P., Regoli, F., & Frenzilli, G. 2006. Cellular Biomarkers for Monitoring Estuarine Environments: Transplanted Versus Native Mussels. *Aquatic Toxicology*, 77(4), 339-347.
- Özoğul, F., Küley, E., & Özoğul, Y. 2004. Balık ve Balık Ürünlerinde Oluşan Biyojenik Aminler. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 21(3-4), 375-381.
- Pavlica, M., Klobučar, G.I., Mojaš, N., Erben, R., & Papeš, D. 2001. Detection of DNA Damage in Haemocytes of Zebra Mussel Using Comet Assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 490(2), 209-214.
- Prester, Lj., Macan, J., Varnai, VM, Orct, T, Vukusic, J., & Kipic, D. 2009. Endotoxin and Biogenic Amine Levels in Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*), Sardine (*Sardina pilchardus*) and Mediterranean Hake (*Merluccius merluccius*) stored at 22C. *Food Additives & Contaminants*, 26, 355-362.
- Rice, S., Eitenmiller, R., & Koehler, P. 1976. Biologically Active Amines in Food. A Review. *J. Milk and Food Technology*, 39, 353-358.
- Rocher, B., Le Goff, J., Peluhet, L., Briand, M., Manduzio, H., Gallois, J., Devier, M.H., Geffard, O., Gricourt, L., Augagneu S., Budzinski, H., Pottier, D., Andre, V., Lebailly, P., & Cachot, j. 2006. Genotoxicant Accumulation and Cellular Defence Activation in Bivalves Chronically Exposed to Waterborne Contaminants from the Seine River. *Aquatic Toxicology*, 79(1), 65-77.
- Shalaby, A. R. (1996). Significance of Biogenic Amines to Food Safety and Human Health. *Food Research International*, 29, 675-690.
- US Food and Drug Administration (USFDA). 1996. Decomposition and Histamine in Raw, Frozen Tuna and Mahi-Mahi, Canned Tuna, and Related Species. Compliance Policy Guides 7108.240, Section 540.525

## Extended Abstract

Increasing levels of environmental pollution caused by industrial and agricultural activities are becoming a significant problem when it comes to food safety and the management of fisheries, representing a major threat to human health. Assessing the impact of these pollutants via the use of biomarkers is essential for evaluating the condition of aquatic ecosystems. Biogenic amines are organic bases of low-molecular mass comprising aliphatic, mono-, di- and poly-amines, catecholamines, indolyl and imidazolyl amines. As their formation and metabolism occurs widely in living organisms they are also present in a variety of different foods, primarily as a consequence of microbial amino acid decarboxylation.

The aim of the study is to determine the relationship between the water quality properties which can vary depending on pollution sources and *biogenic amine* concentrations in the *muscle tissues* of farmed *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) in concrete pond farms located in Candir River (Station I), Karacaören I Reservoir (Station II) and Çatak Reservoir (Station III) in Isparta, Turkey.

The *O. mykiss* muscle tissue and water samples were obtained in three stations, on February 2016, simultaneously. In three stations, fourteen physicochemical parameters were measured in water samples and water quality levels determined by YSKYY (Surface Water Quality Management Regulation). Muscle tissue tryptamine, 2-phenylethylamine, putrescine, cadaverine, tyramine concentrations

were determined with high-performance liquid chromatography (HPLC) method, and histamine were determined with ELISA in *O mykiss* flesh from three fish farms.

The water's physical and chemical parameters show that the water quality in all stations are categorised as class II, according to the Turkish YSKYY. However, based upon its nitrite and total nitrogen values, Station II was found to be less polluted than the other stations, followed by a moderate degree of pollution for Station III, and significantly higher levels of pollution for Station I. The highest nitrate nitrogen value was measured at Station I inflow and outflow (8.99 mg/L and 5.13 mg/L, respectively). It is thought that the high level of nitrate nitrogen inflow is due to the influence of the fish farms and settlements that exist in the upper part of Station I. Nevertheless, total nitrogen and nitrate nitrogen concentrations were slightly higher in Station I (0.410 mg/L and 1.33 mg/L respectively) than Station II (0.133 mg/L and 0.03 mg/L respectively). The station III has highest electric conductivity (445  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) despite of lack of point pollutant sources.

Agricultural and urban activities are major sources of nonpoint nitrogen pollution in Karacaören Reservoir. Primary point sources of pollutants in Karacaören Reservoir are industrial discharge, municipal wastewater treatment facilities, and fish farm wastes. However, the primary pollutants in Çatak Reservoir consist solely of fish farms. Agricultural areas account for 28.13 percent of the Isparta basin area, concentrated along the main stem of the Isparta, Eğirdir and Aksu basins in the upper part of Karacaören Reservoir. Sewage discharge and agricultural areas in Isparta province contribute pesticides, nitrogen and phosphorus to Karacaören Reservoir.

The results of this study showed that there were statistically significant differences between the groups in terms of muscle putrescine and histamine levels. The fish from Station III displayed significantly lower levels of muscle putrescine and histamine when compared with those from stations I and II ( $p < 0.001$ ). The changes in biomarkers of biogenic amin in Rainbow trout were found to be associated with higher concentrations of nitrogen pollution in this water body. Nitrogen is one of the main end-products of fish loading, and can affect not only the rearing water, but also the environment as a whole. Importantly, from a public health perspective, histamine and putrescine levels need to be considered in any histamine toxicity assessment and levels of the nitrogen species (nitrite, nitrate and nitrosamines) should be closely monitored to secure the safety of food and the management of fisheries.

We concluded that microbial contamination due to environmental pollutant accumulation and exposure are an important source of biogenic amines generation within the fish tissues. Contamination of water bodies causes biogenic amines accumulation in fish tissues and consequently negatively contributing to quality of fish as food as well as fish welfare.