

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLI SUDA ÇÖZÜNEBİLİR
KİTOSANIN KANAL YAYIN BALIĞI (*Ictalurus punctatus*)'NİN
SOĞUK VE DONMUŞ MUHAFAZASINDAKİ GIDA KALİTESİ VE
GÜVENLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BARIŞ KARSLI

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. EMRE ÇAĞLAK

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. SEVİM KÖSE

DOÇ. DR. SERKAN KORAL

DOÇ. DR. FATİH ŞABAN BERİŞ

DR. ÖĞR. ÜYESİ HAKAN KARAOĞLU

DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

RİZE- 2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLI SUDA ÇÖZÜNEBİLİR KİTOSANIN
KANAL YAYIN BALIĞI (*Ictalurus punctatus*)'NİN SOĞUK VE DONMUŞ
MUHAFAZASINDAKİ GIDA KALİTESİ VE GÜVENLİĞİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK danışmanlığında, Barış KARSLI tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 04/03/2019 tarihinde Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda **DOKTORA** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı
Başkan	: Prof. Dr. Sevim KÖSE
Üye	: Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK
Üye	: Doç. Dr. Serkan KORAL
Üye	: Doç. Dr. Fatih Şaban BERİŞ
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Hakan KARAOĞLU

İmzası




Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ



ÖNSÖZ

Yüksek moleköl ağırlıklı suda çözünebilir kitosanın kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*)'nın soğuk ve donmuş muhafazasındaki gıda kalitesi ve güvenliği üzerine etkisinin araştırılması amacıyla hazırlanan bu doktora tez çalışması Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Doktora tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesinde bana her türlü desteği sağlayan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK'a, deneysel çalışmalarımın yürütülmesinde, planlanmasında, laboratuvar koşullarının ve gerekli imkanların sağlanmasında bana destek veren Louisiana State Üniversitesi, Gıda Bilimleri Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Witoon PRINYAWIWATKUL'a, laboratuvar çalışmalarımda bana yardımını esirgemeyen Dapeng LI ve Nancy K. RUBIO'ya, çalışmalarım ve tez yazım aşamasındaki tavsiyelerinden dolayı sayın Doç. Dr. Serkan KORAL ve Doç. Dr. Kenan GEDİK'e, yazım aşamasındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Akif ER'e teşekkür ederim.

Doktora eğitimime yurtdışı doktora araştırma burs programı kapsamında sağladığı maddi destekten dolayı TÜBİTAK'a ve bu çalışmanın yapılabilmesi için vermiş olduğu maddi destekten dolayı Louisiana State Üniversitesi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu günlere gelebilmemde en büyük emek sahibi olan başta saygıdeğer annem ve babama, tez çalışmam sırasında her türlü desteği esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili eşim ve canım oğluma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Hazırlanan bu doktora tezi TÜBİTAK BİDEP tarafından 1059B141600499 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Barış KARSLI

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘‘Yüksek Molekül Ağırlıklı Suda Çözünebilir Kitosanın Kanal Yayın Balığı (*Ictalurus punctatus*)’nın Soğuk ve Donmuş Muhafazasındaki Gıda Kalitesi ve Güvenliğı Üzerine Etkisinin Araştırılması’’ başlıklı bu tezi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğı Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığıımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.
04/03/2019



Barış KARSLI

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğın kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLI SUDA ÇÖZÜNEBİLİR KİTOSANIN KANAL YAYIN BALIĞI (*Ictalurus punctatus*)'NIN SOĞUK VE DONMUŞ MUHAFAZASINDAKİ GIDA KALİTESİ VE GÜVENLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Barış KARSLI

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

Danışmanı: Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK

Bu çalışmada, yüksek molekül ağırlıklı suda çözünebilir kitosanın kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*)'nın soğuk ve donmuş muhafazasındaki gıda kalitesi ve güvenliği üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla beş farklı kaplama solüsyonu oluşturulmuş: (1) %1 kitosan (KT) + %1 asetik asit (AA) solüsyonu (800%1AA), (2) %1 aspartik asit (APA) solüsyonu (%1APA), (3) %1 KT + %1 APA solüsyonu (800%1APA), (4) %3 APA solüsyonu (%3APA), (5) %3 KT + %3 APA solüsyonu (800%3APA) ve filetolar daldırma yöntemi ile kaplanmıştır. Çalışmada balık filetolarının yüzeyine inoküle edilen farklı gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı kitosanın etkisi ve aynı kaplama solüsyonları ile kaplanarak buzdolabı ve donmuş muhafaza şartlarında depolanan filetoların kalitesi ve raf ömrüne kitosanın etkisi araştırılmıştır. Test edilen tüm patojen bakterilere karşı en etkili kaplama grubunun %3'lük kitosan kullanılarak hazırlanan 800%3APA grubunun olduğu ve bu grubun *V. parahaemolyticus* üremesini tamamen bastırdığı gözlemlenmiştir. Soğuk ve donmuş depolama çalışmalarında da %3 kitosan uygulamasının; mikrobiyal üremenin inhibe edilmesinde, lipit oksidasyonun kontrolünde, ağırlık kaybı ve pişirme kaybının azaltılmasında, su tutma kapasitesi, renk ve tekstür değişimlerinin korunmasında diğer gruplara göre istatistikî açıdan önemli ($P<0,05$) derecede etkili olduğu ve soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarının raf ömrünü artırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak yüksek molekül ağırlıklı suda çözünebilir kitosanın antioksidan ve antimikrobiyal etkisi sayesinde su ürünlerinde kaplama materyali olarak kullanılabilceği ortaya konulmuştur.

2019, 160 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kitosan, Yenilebilir Kaplama, Kanal Yayın Balığı, Antimikrobiyal Aktivite, Soğuk ve Donmuş Muhafaza

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE HIGH MOLECULAR WEIGHT WATER-SOLUBLE CHITOSAN EFFECT ON FOOD QUALITY AND SAFETY IN THE COLD AND FROZEN STORAGE OF THE CHANNEL CATFISH (*Ictalurus punctatus*)

Bariş KARSLI

**Recep Tayyip Erdoğan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Fisheries
Ph.D. Thesis
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emre ÇAĞLAK**

In this study, the investigation of the high molecular weight water-soluble chitosan effect on food quality and safety in the cold and frozen storage of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) was aimed. For this purpose, five different coating solutions were prepared; (1) a 1% chitosan (KT) in the 1% acetic acid (AA) solution (800%1AA), 2) a 1% aspartic acid (APA) solution (%1APA), (3) a 1% KT in the 1% AS solution (800%1APA), (4) a 3% AS solution (%3AS), (5) a 3% KT in the 3% AS solution (800%3AS), and coating solution was applied to the fillets using dipping technique. In the study, the effect of chitosan against different food borne pathogenic bacteria inoculated on the surface of fish fillets and the effect of chitosan on the quality and shelf life of fillets, coated with the same coating solutions, stored in refrigerator and frozen storage conditions was investigated. It was observed that the most effective coating group against all pathogenic bacteria tested was 800%3AS prepared using 3% chitosan and this group completely suppressed the growth of *V. parahaemolyticus*. In the refrigerated and frozen studies, 3% chitosan treatment compared to other groups was found to be statistically significant effective ($P < 0,05$) in inhibiting microbial growth, controlling lipid oxidation, reducing of weight loss and cooking loss, and retaining of water holding capacity, color, and texture changes, and the treatment increased the shelf life of channel catfish stored in the cold storage conditions. Consequently, the high molecular weight water-soluble chitosan can be used as a coating material in seafood thanks to its antioxidant and antimicrobial effect.

2019, 160 pages

Keywords: Chitosan, Edible Coating, Channel Catfish, Antimicrobial Activity, Cold and Frozen Storage

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Ambalajlar	3
1.2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar	4
1.2.2. Kitosan.....	6
1.3. Su Ürünlerinde Soğuk Muhafaza	9
1.4. Su Ürünlerinde Donmuş Muhafaza	9
1.5. Dondurulmuş Su Ürünlerini Çözdürme İşlemi (Defrost).....	14
1.6. Kanal Yayın Balığı	15
1.7. Çalışmada Kullanılan Patojen Bakteriler Hakkında Bilgiler.....	16
1.7.1. <i>Escherichia coli</i>	16
1.7.2. <i>Salmonella</i>	17
1.7.3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ve <i>Vibrio cholerae</i>	18
1.7.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
1.7.5. <i>Listeria monocytogenes</i>	20
1.8. Literatür Taraması	21
1.8.1. Kitosanın Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Çalışmalar.....	21
1.8.2. Soğuk Muhafaza Şartlarında Depolanan Su Ürünlerinin Kalite Parametrelerine Kitosanın Etkisi Hakkında Çalışmalar	27
1.8.3. Donmuş Muhafaza Şartlarında Depolanan Su Ürünlerinin Kalite Parametrelerine Kitosanın Etkisi Hakkında Çalışmalar	33
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	40
2.1. Materyal.....	40
2.1.1. Balık.....	40
2.1.2. Kitosan.....	41

2.1.3.	Bakteriler	42
2.2.	Metot.....	42
2.2.1.	İnokülasyon Çalışmasında Kullanılan Bakterilerin Hazırlanması.....	42
2.2.2.	Kaplama Solüsyonlarının Hazırlanması	43
2.2.3.	İnokülasyon İşleminde Kullanılan Balıkların Hazırlanması, İnokülasyonu ve Kaplanması	44
2.2.4.	Kanal Yayın Balıklarına İnoküle Edilen Bakterilerin Belirlenmesi.....	46
2.2.5.	Soğuk ve Donmuş Muhafaza Çalışmasında Kullanılan Balıkların Hazırlanması ve Kaplama İşlemleri	46
2.2.5.1.	pH Analizi.....	47
2.2.5.2.	Ağırlık Kaybı.....	47
2.2.5.3.	Pişirme Kaybı	49
2.2.5.4.	Santrifüj Kaybı	49
2.2.5.5.	Toplam Uçucu Bazik Azot Tayini (TVB-N) Tayini	50
2.2.5.6.	Lipit Oksidasyonu.....	50
2.2.5.7.	Tekstür Profil Analizi (TPA).....	51
2.2.5.8.	Renk Analizi (L*, a*, b*)	51
2.2.5.9.	Mikrobiyolojik Analizler	52
2.2.5.10.	Duyusal Analizler	53
3.	BULGULAR	55
3.1.	İnokülasyon Çalışması.....	55
3.1.1.	<i>Salmonella typhimurium</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	55
3.1.2.	<i>Escherichia coli</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler.....	56
3.1.3.	<i>Vibrio cholerae</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	57
3.1.4.	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler.....	59
3.1.5.	<i>Staphylococcus aureus</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler.....	60
3.1.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	61
3.2.	Soğuk Muhafaza Çalışması	62
3.2.1.	pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler	62
3.2.2.	Santrifüj Kaybında Meydana Gelen Değişimler	63
3.2.3.	Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler	65
3.2.4.	TVB-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler	66
3.2.5.	TBARS Miktarında Meydana Gelen Değişimler	67
3.2.6.	TAMB Değerinde Meydana Gelen Değişimler	68
3.2.7.	TAPB Değerinde Meydana Gelen Değişimler	70

3.2.8.	Toplam Koliform, <i>E. coli</i> ve <i>Salmonella</i> Değerinde Meydana Gelen Değişimler	70
3.2.9.	L*, a* ve b* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	71
3.2.10.	Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler	74
3.2.11.	Duyusal Özelliklerde Meydana Gelen Değişimler	77
3.3.	Donmuş Muhafaza Çalışması	80
3.3.1.	pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler	80
3.3.2.	Santrifüj Kaybında Meydana Gelen Değişimler	81
3.3.3.	Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler	82
3.3.4.	Ağırlık Kaybında Meydana Gelen Değişimler	83
3.3.5.	TBARS Miktarında Meydana Gelen Değişimler	85
3.3.6.	TAMB Değerinde Meydana Gelen Değişimler	86
3.3.7.	TAPB Değerinde Meydana Gelen Değişimler	87
3.3.8.	Toplam Koliform, <i>E. coli</i> ve <i>Salmonella</i> Değerinde Meydana Gelen Değişimler	88
3.3.9.	L*, a* ve b* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	89
3.3.10.	Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler	92
3.3.11.	Duyusal Özelliklerde Meydana Gelen Değişimler	96
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR	98
4.1.	İnokülasyon Çalışması	98
4.1.1.	<i>Salmonella typhimurium</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	99
4.1.2.	<i>Escherichia coli</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	101
4.1.3.	<i>Vibrio cholerae</i> ve <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler	103
4.1.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> popülasyonunda meydana gelen değişimler	104
4.1.5.	<i>Listeria monocytogenes</i> popülasyonunda meydana gelen değişimler	107
4.2.	Soğuk ve Donmuş Muhafaza Şartlarında Kanal Yayın Balığında Meydana Gelen Değişimler	109
4.2.1.	pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler	109
4.2.2.	Ağırlık Kaybında Meydana Gelen Değişimler	111
4.2.3.	Santrifüj Kaybında (Su Tutma Kapasitesi) Meydana Gelen Değişimler	112
4.2.4.	Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler	114
4.2.5.	TVB-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler	115
4.2.6.	TBARS Değerinde Meydana Gelen Değişimler	117
4.2.7.	Mikrobiyolojik Değerlerde Meydana Gelen Değişimler	119
4.2.8.	L*, a* ve b* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler	123

4.2.9. Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler	126
4.2.10. Duyusal Değerlerde Meydana Gelen Değişimler	129
5. ÖNERİLER	134
KAYNAKLAR	136
EKLER.....	155
ÖZGEÇMİŞ	160



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Kabuklu atıklarından kitin, kitosan ve kitosan oligosakkaritlerinin elde edilmesi	8
Şekil 2.	Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı	8
Şekil 3.	Kanal Yayın Balığı.....	16
Şekil 4.	İnokülasyon çalışmasında kullanılan kanal yayın balığı filetosu ve paket görüntüsü.....	40
Şekil 5.	Soğuk ve donmuş muhafaza çalışmalarında kullanılan kanal yayın balığı filetosu (A) ve soğuk zincir uygulaması (B)	41
Şekil 6.	Çalışmada kullanılan kitosan	41
Şekil 7.	İnokülasyon çalışmasının akış şeması.....	45
Şekil 8.	Soğuk ve donmuş muhafaza çalışmalarının akış şeması.....	48
Şekil 9.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince pH değerinde meydana gelen değişimleri	63
Şekil 10.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince santrifüj kaybında meydana gelen değişimleri.....	64
Şekil 11.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince pişirme kaybında meydana gelen değişimleri	65
Şekil 12.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince TVB-N değerinde meydana gelen değişimleri.....	67
Şekil 13.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince TBARS değerinde meydana gelen değişimleri.	68
Şekil 14.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince TAMB değerinde meydana gelen değişimleri	69
Şekil 15.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince TAPB değerinde meydana gelen değişimleri.....	71
Şekil 16.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince pH değerinde meydana gelen değişimleri	81
Şekil 17.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince santrifüj kaybında meydana gelen değişimleri.....	82
Şekil 18.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince pişirme kaybında meydana gelen değişimleri	83
Şekil 19.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince ağırlık kaybında meydana gelen değişimleri.....	84
Şekil 20.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince TBARS değerinde meydana gelen değişimleri	85
Şekil 21.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince TAMB değerinde meydana gelen değişimleri	87

Şekil 22. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince TAPB değerinde meydana gelen değişimleri..... 88



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Çalışmada kullanılan kitosanın özellikleri.....	41
Tablo 2.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Salmonella typhimurium</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi	56
Tablo 3.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Escherichia coli</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi	57
Tablo 4.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Vibrio cholerae</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi	58
Tablo 5.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Vibrio parahaemolyticus</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi	60
Tablo 6.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Staphylococcus aureus</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi.....	61
Tablo 7.	Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen <i>Listeria monocytogenes</i> popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi	62
Tablo 8.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişimleri.....	73
Tablo 9.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince tekstür değerlerinde meydana gelen değişimleri.....	76
Tablo 10.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince duyuşal parametrelerinde meydana gelen değişimleri.....	78
Tablo 11.	%3 kitosan ile kaplanan 800%3APA grubunun soğuk muhafazası sırasında 8. ve 10. günlerindeki duyuşal değişimlerinin taze kanal yayın balığı ile karşılaştırılması	80
Tablo 12.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişimleri.....	91
Tablo 13.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince tekstür değerlerinde meydana gelen değişimleri	95
Tablo 14.	Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince duyuşal parametrelerinde meydana gelen değişimleri.....	97

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a*	Kırmızılık Değeri
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APW	Alkaline Peptone Water
ATCC	American Type Culture Collection
a _w	Su Aktivitesi
AY	Analiz Yapılmadı
b*	Sarılık Değeri
BHI	Brain Heart Infusion
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekare
CT-SMAC	Sorbitol MacConkey Agar with Cefixime and Tellurite
CO ₂	Karbondioksit
ÇDYA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
DD	Deasitilasyon Derecesi
dk	Dakika
DMA	Dimetilamin
FA	Formaldehit
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Örgütü
g	Gram
H ₃ BO ₃	Borik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
kob/g:	Her Gramda Koloni Oluşturan Birim
L*	Aydınlık Derecesi
MA	Moleküler Ağırlık
MDA	Malonaldehit
mg	Miligram
MgO	Magnezyum Oksit

mm	Milimetre
MRS	Man, Rogosa, and Sharpe
MSA	Mannitol Salt Agar
N	Normal
O ₂	Oksijen
PBS	Phosphate Buffer Saline
pH	Hidrojen İyon Konsantrasyonu
RTEÜ	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
spp	Türler
STK	Su Tutma Kapasitesi
TCA	Trikloroasetik Asit
TCBS	Thiosulfate Citrate Bile Sucrose
TK	Toplam Koliform
TLA	Tespit Limitleri Altında
TPA	Tekstür Profil Analizi
TSB	Tryptic Soy Broth
TTBH	Tetrathionate Broth Base, Hajna
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
v/v	Hacimce Yüzde
w/v	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
XLD	Xylose Lysine Deoxycholate
800%1AA	%1'lik Kitosan ve Asetik Asit Grubu
800%1APA	%1'lik Kitosan ve Aspartik Asit Grubu
800%3APA	%3'lük Kitosan ve Aspartik Asit Grubu
°C	Derece Santigrat
µl	Mikrolitre
%	Yüzde
%1APA	%1'lik Aspartik Asit Grubu
%3APA	%3'lük Aspartik Asit Grubu

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Her geçen gün hızla artan dünya nüfusu, insanların dengeli ve sağlıklı beslenebilmesi açısından sınırlı olan besin kaynaklarının daha da verimli kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. İnsan sağlığı açısından önemli bir besin kaynağı olan su ürünleri, insanlar için gerekli protein talebinin bir kısmını karşılamada kullanılacak kaynaklar arasında ilk sırada yer almaktadır. Yüksek protein içeriğinin yanı sıra bünyesinde çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA), vitaminler, yağlar, karbonhidratlar, mineraller ve doğada bulunan hemen hemen tüm amino asitleri ihtiva etmesi de su ürünlerini değerli kılmaktadır. Özellikle sağlıklı ve dengeli beslenmenin önem kazandığı günümüzde kolesterol oranı ve kalorisi düşük olan balık eti; kolay sindirilebilmesi, yüksek oranda doymamış yağ içeriğine sahip olması, bağ dokularının azlığı ve esansiyel amino asit içeriği ile tüketiciler tarafından diyet grubu olarak tercih edilmektedir (Varlık vd., 2004; Koral, 2012).

Yüksek besin değerine sahip su ürünleri; bağ dokularının zayıf olması, doymamış yağ asitlerinin ve nem oranının yüksek olması nedeniyle diğer gıdalara oranla daha kısa sürede bozulabilmektedir. Su ürünlerinde bozulma, ölümden sonra geçen sürenin ilerlemesine bağlı olarak rigor mortis, otoliz ve kokuşma olarak üç aşamada gerçekleşmektedir. Bozulmalar diğer etlerde olduğu gibi, balık etinde de çok çeşitli şekillerde oluşmaktadır. Su ürünlerinde bulunan proteinler, lipitler ve protein olmayan azotlu bileşikler ölüm sonrası biyokimyasal reaksiyonlara maruz kalırlar. Buna bağlı olarak balık eti ölüm sonrası biyokimyasal reaksiyonların etkisi altında ve mikroorganizmaların çoğalması için iyi bir substrata sahip olmasından dolayı, uygunsuz depolama koşullarında kolayca bozulabilir (Ertaş, 1981; Ashie vd., 1996). Balıklarda gerçekleşen bozulma, gıdaların lezzetinde, görünüşünde, kokusunda ve tekstüründeki değişikliklere neden olmaktadır. Bununla beraber bozulma, balığın türü, büyüklüğü, cinsiyeti, beslenmesi, yağ kompozisyonu, avcılık alanı ve metodu, balık kaslarındaki ölüm sonrası değişimler ve yakalandıkları andaki açlık durumları gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Stammen vd., 1990). Bu nedenle, su ürünleri kaynaklarımızdan daha fazla yararlanabilmek adına avlanma sonrası gerekli hijyen ve

soğuk zincir uygulamalarını takiben elde edilen ürünlerin kısa bir süre içerisinde tüketilmesi veya tüketicilere en kaliteli şekilde ulaştırılması açısından uygun koşullarda muhafaza edilmesi gerekmektedir (Yağın, 2015). Ancak depolama sırasında, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmalardan kaynaklı su ürünlerinde kalite kayıpları meydana gelmektedir (Ashie vd., 1996).

Enzimatik ve kimyasal tepkimeler genellikle gıdaların ilk tazeliğinin kaybolmasından sorumludur. Oysa mikrobiyal aktivite bariz bozulmadan sorumlu olup ürünlerin raf ömrünü belirler (Gram ve Huss, 1996). Balık lipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asidi miktarı, onları oksidasyona oldukça duyarlı hale getirir. Lipit oksidasyonu gıdalarda acılaşıma, renk bozulması ve istenmeyen aroma oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif acılaşıma uzun süreli depolamadan sonra balıkların ret veya kabul edilmesi açısından önemli bir organoleptik özelliktir. Lipit oksidasyonunun sebep olduğu soğuk muhafaza edilmiş veya dondurulmuş gıdalardaki aroma değişiminin büyük bir kısmı hidroperoksitlerin ketonlara ve aldehitlere ayrılmasından kaynaklanmaktadır (Rahman, 2007). Lipit oksidasyonu lezzet ve tadı bozarken aynı zamanda gıdaların besin değerini düşürmektedir (Bera vd., 2006).

İnsan için gerekli olan dengeli beslenmenin bilincinde olan ülkeler, mevcut protein kaynaklarını koruyabilmek amacıyla gıda sanayinde yeni teknolojik imkânlar arayarak geleceğe yatırım yapmakta ve tüketiciyi duyuşal olarak da tatmin edecek ürünler üretmeyi amaçlamaktadırlar (Angiş vd., 2006). Bu amaçla geçmişten günümüze kadar geliştirilmiş farklı işleme teknolojileri mevcut olup, bu teknolojilerin tümünde amaç mevcut kaliteyi mümkün olduğu kadar koruyarak ürünlerin tüketilebilir durumunu uzun süre muhafaza etmektir (Patır ve Duman, 2006). Günümüzde su ürünleri endüstrisinde enzimatik ve mikrobiyal bozulmanın geciktirilmesi ile gıda güvenliğinin sağlanması için farklı muhafaza ve ambalaj teknikleri de kullanılmaktadır (Dursun ve Erkan, 2009). Ancak Özellikle mikrobiyal bozulmanın önlenmesi için kullanılan düşük sıcaklık uygulamaları, vakum paketlenme ve modifiye atmosfer paketlenme gibi geleneksel metotlara tamamlayıcı veya yerini alabilecek yeni endüstriyel metotların geliştirilmesi kaçınılmaz hal almıştır. Son zamanlarda, yenilebilir kaplamalar ve filmler, sentetik filmlere kıyasla avantajları nedeniyle büyük ilgi görmüştür (Duran, 2013; Dehghani vd., 2018).

1.2. Ambalajlar

Ambalaj, gıda ürünlerini dış etkenlerden ve hasarlardan koruyarak muhafaza etmekte ve tüketicilere içerik ve beslenme bilgisi sağlayan metal, kağıt, karton, cam, plastik ve tahtadan yapılmış materyallerdir (Marsh ve Bugusu, 2007). Gıda ambalajları yalnızca dağıtım zincirinde vazgeçilmez olmakla kalmaz, aynı zamanda gıda ürünlerinin tedarik zinciri boyunca bozulmasını da önlemektedir. Ambalajın birincil işlevi, bozulmayı önleyerek ürünlerin tazeliğini korumak ve raf ömrünü uzatmaktır. Gıda kalitesini ve güvenliğini etkileyen ambalaj malzemelerinin temel özellikleri; bariyer, mekanik, kimyasal reaktivite ve göç özellikleridir. Günümüzde gıda ambalajları geleneksel koruma özellikleri dışında muhafaza ettikleri ürünler için birçok fonksiyonel özelliğe de sahiptirler. Kimyasal koruma, gazlara maruz kalma (tipik olarak oksijen), nem (kazanç veya kayıp) veya ışığa maruz kalma gibi çevresel etkilerin tetiklediği bileşim değişikliklerini en aza indirir. Mikroorganizmalara (patojenler ve bozulma ajanları), böceklerle, kemirgenlere ve diğer hayvanlara engel teşkil ederek ürünlerde biyolojik koruma sağlar ve bozulmayı önler (Marsh ve Bugusu, 2007; Singh vd., 2017).

Günümüzde su ürünleri endüstrisinde enzimatik ve mikrobiyal bozulmanın geciktirilmesi ile gıda güvenliğinin sağlanması için farklı muhafaza ve ambalaj teknikleri kullanılmaktadır (Dursun ve Erkan, 2009). Gıda sanayinde kullanılan film kaplamalar sentetik ve yenilebilir (biyobozunur) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Sentetik kaplamalar endüstride yaygın bir kullanıma oranına sahip olmasına rağmen, bu materyaller petrokimya esaslı olup çevre kirliliğine, ciddi ekolojik problemlere ve ilave geri dönüşüm masraflarına neden olmaktadır (Krochta, 2002). Özellikle mikrobiyal bozulmanın önlenmesi için kullanılan düşük sıcaklık ve modifiye atmosfer paketleme gibi geleneksel metotlara tamamlayıcı veya yerini alabilecek yeni endüstriyel metotların geliştirilmesi kaçınılmaz hal almıştır. Gıda ambalajı, bir gıda ürününün korunmasında ve pazarlanmasında artık sadece pasif bir role sahip değildir. Gıda ambalaj sektöründeki yeni gelişmeler, ambalajı sadece gıdayı koruma işlevini yerine getiren bir malzeme olmaktan çıkarıp, tüketicide merak uyandırmakta ve bilgilendirmektedir. Böylelikle gıdayı korumayı amaçlayan pasif ambalajlama teknolojileri günümüzde yerini, gıdaların korunmasında, satılmasında, özelliklerinin iyileştirilmesinde, çevresel atık değerlerinin

azaltılmasında önemli rol oynayan, aktif ve akıllı ambalajlama teknolojilerine bırakmıştır (Dehghani vd., 2018). Aktif ve akıllı ambalajlamanın yeni konseptleri, gıdaların raf ömrünü uzatarak, gıda kalitesini ve güvenliğini korumak, iyileştirmek veya izlemek için sayısız ve yenilikçi çözümler sunarak giderek artan önemli bir rol oynamaktadır. Su ürünleri tüketimine yönelik son eğilim ile tüketiciler yüksek kaliteli ve güvenli ürünlere talep etmektedir, bu yüzden geleneksel sentetik polimer malzemelerin kullanımı yönündeki artan kaygılar, yenilebilir doğal kaplama materyallerine daha fazla dikkat çekmektedir (Bourtoom, 2008; Dehghani vd., 2018).

1.2.1. Yenilebilir Film ve Kaplamalar

Yenilebilir film ve kaplamalar, gıdaları korumak ve raf ömürlerini uzatmak amacıyla bir gıdanın yüzeyi üzerinde oluşturulmuş ince tabakalı, gıdayla birlikte yenilebilen, sentetik olmayıp doğal kaynaklardan ve biyolojik olarak çözünebilen maddelerden elde edilmiş kirletici olmayan maddelerdir. Bunlar gıda yüzeylerine veya gıda katmanları arasına uygulandığında nem, gaz ve katı hareketliliğinin kontrolünü sağlayabilen yenilebilir nitelikteki ambalaj materyalleridir (Bourtoom, 2008). Yenilebilir bir kaplama, bir gıda ürünü üzerinde bir kaplama olarak oluşturulmuş ince bir yenilebilir malzeme tabakasıdır; yenilebilir bir film ise, önceden oluşturularak gıda bileşenlerinin üzerine veya arasına yerleştirilebilen yenilebilir bir malzemeden yapılmış ince bir tabakadır. Bu sistemler arasındaki ana fark, yenilebilir kaplamaların genellikle ürünü bir çözelti içine daldırmak suretiyle gıda üzerinde sıvı halde uygulanmasıdır, yenilebilir filmler ise önce katı ürün olarak kalıplanıp, daha sonra gıda ürünü üzerinde bir kaplama olarak uygulanmasıdır (McHugh, 2000). Bu malzemelerin uygulanması, dondurulmuş gıdalarda nem transferinde azalmaya ve ayrıca daha düşük oksijen geçirgenliğine neden olur. Yenilebilir bu malzemeler, yüksek bariyer, mekanik verim, iyi duyuşal nitelikler, toksik bileşiklerden yoksun, güvenlik, basitlik, düşük maliyet ve ayrıca yeterli fizikokimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyal stabiliteye sahip olmalıdırlar. Yenilebilir film ve kaplamalar genellikle gıda kalitesini korumak için oksijen ve yüzey dehidrasyonunu sınırlamak için etkili bir bariyer sağlayabilir, ayrıca antioksidanları, pigmentleri, aroma bileşiklerini, antimikrobiyal ajanları ve vitaminleri kapsülleyebilirler. Genellikle gıdalara önemsiz besin değeri sağladıkları için katkı maddeleri yerine bileşen olarak düşünölmelidirler (Debeaufort vd., 1998). Yenilebilir filmlerin ve kaplamaların

istenen kalitesine göre ürünün duyuşsal nitelikleriyle etkileşimi sınırlamak için tatsız olmalarını gerektirmektedir. Eğer belirli bir tat ve lezzet mevcutsa, bunlar gıda ürününü tamamlayacak nitelikte olmalıdır. Yenilebilir ambalajlar, gıdaların mekanik özelliklerinin yanı sıra parlaklık, renk, şeffaflık, yapışma veya pürüzlülük gibi duyuşsal özelliklerini de geliştirebilir (Labuza ve Contreras-Medellin, 1981).

Yenilebilir filmlerin, ürünlerin raf ömrünü uzatabilecek, organoleptik özelliklerini ve besin değerini artırabilen, anti-esmerleştirici maddeler, renklendiriciler, tatlandırıcılar, baharatlar, antimikrobiyal ve antioksidan bileşikler gibi aktif maddeleri taşıma potansiyeli yüksektir. Bir diğer önemli gerçek ise bu filmler ve kaplamalar gıda ile tüketilebilir olmasından dolayı olumsuz çevresel etkileri daha düşüktür (Bourtoom, 2008). Biyolojik olarak bozulabilen yenilebilir filmler ve kaplamalar, üretildikleri malzemenin tipine göre kategorize edilebilir. Her kimyasal sınıf, filmler için kullanıldığında doğal avantajlarına ve sınırlamalarına sahiptir. Polisakkaritler, proteinler ve lipitler bu amaç için kullanılan üç ana materyaldir. Polisakkaritler yaygın olarak bulunur ve genellikle uygun maliyetlidir. Polisakkaritler ve proteinlerin aksine, lipitler biyopolimer değildir ve yapışkan filmler oluşturamazlar. Bu nedenle lipitler düşük bir polariteye sahip oldukları için, daha iyi bir su buharı bariyeri oluşturacak şekilde ya kaplama filmlerine ya da biyopolimerlere eklenirler. Polisakkarit bazlı filmler ve kaplamalar selüloz, nişasta (doğal ve modifiye), pektin türevleri, deniz yosunu ekstraktları (alginatlar, karagenan ve agar vs.), eksüda sakızları (akasya, tragakant ve guar) ve kitosan kullanılarak hazırlanabilir (Dehghani vd., 2018). Polisakkaritler genellikle çok hidrofilik olduğundan, polisakkarit kaplamaların nemlendirici etkisi göz ardı edilebilir olmakla birlikte, O₂ ve CO₂ için seçici geçirgenliğe ve lipit göçüne karşı dirençlidir (Bourtoom, 2008).

Geçmişten günümüze çeşitli tarımsal ürünlerden ve/veya gıda ürünü atıklarından elde edilen biyo-bazlı polimerlerin geliştirilmesi ve uygulanması için önemli araştırmalar yapılmıştır. Bu tür biyopolimerler arasında, nişastalar, selüloz türevleri, kitosan/kitin, zamlar, proteinler (hayvan veya bitki bazlı) ve lipitler bulunur. Bu malzemeler, raf ömrünü uzatmak için taze veya ileri işlenmiş gıdaları kaplamak üzere ince film ve kaplamalar elde etme olanağı sunar (Cutter, 2006). Bu yenilebilir kaplamalar/filmler, renk, doku, duyuşsal kalite, antioksidan özellikler, etilen uçucu bileşiklerin üretimi gibi

taze ve minimum işlenmiş gıdalarda birkaç parametreyi etkileyen O₂, CO₂ ve aromatik bileşikler gibi gazların transferini kısıtlayan modifiye edilmiş bir atmosfer yaratır ve anaerobik süreçlerin sonucu olarak mikrobiyal büyüme kısıtlanır (Falguera vd., 2011).

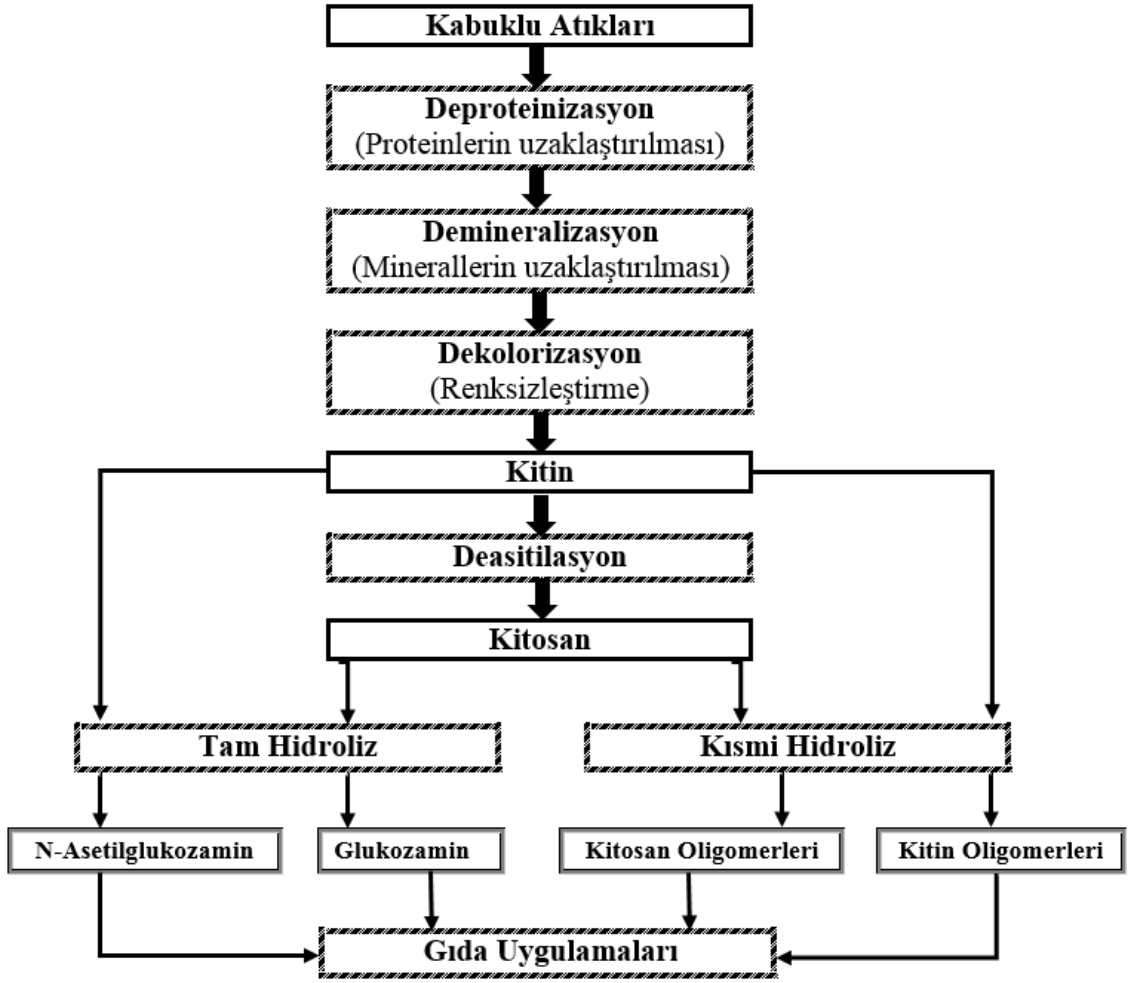
1.2.2. Kitosan

Kitinin başlıca kaynaklarını kabukluların (yengeç, karides, istakoz, kerevit vs.) dış iskeletleri, mantar ve böceklerin hücre duvarları oluşturmaktadır (Tharanathan ve Kittur, 2003). Kabuklu su ürünlerinin kabukları, yaklaşık olarak %30-40 protein, %30-50 kalsiyum karbonat ve %20-30 oranında kitin içermekte olup, bu oran türe ve mevsime bağlı olarak değişmektedir. Kitosan kitinin deasetillenmiş formudur (Şekil 1) ve kimyasal olarak 2-asetamido-2-deoksi-β-d-glikoz (N-asetil glukozamin) yapısındaki kitinden (1-4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz şeklinde oluşmaktadır (Şekil 2). Deasetilasyon kitin yapısında bulunan asetil gruplarının indirgenmesi işlemidir. Deasetilasyon derecesi kitinin zincir yapısında bulunan asetil gruplarının yüzde kaçının indirgenmiş olduğunu ifade eder (Seo, 2006). Deasetilasyon derecesi (DD), türlere ve hazırlanma yöntemlerine bağlı olarak %56-99 arasında değişmekte olup, genel olarak %70 veya üzeri deasetilasyon derecesine sahip olan kitin, kitosan olarak bilinmektedir. Deasetilasyon derecesinin yanı sıra molekül ağırlığı ve viskozitenin kontrol edilmesi çok önemlidir. Çünkü bu özellikler birçok uygulama için kitosanın yararlılığını yansıtmaktadır. Doğal kitinin moleküler ağırlığı (MA) genellikle bir milyon daltondan daha büyüktür. Ticari kitosan ise ürüne ve ürün kalitesine bağlı olarak 100.000-1.200.000 daltonluk bir moleküler ağırlığa sahiptir. Viskozite, kitosanın ticari uygulamalarının belirlenmesinde önemli bir faktör olup, kitosan çözeltilisinin viskozitesi, deasetilasyon derecesi, molekül ağırlığı, konsantrasyon, iyonik güç, pH ve sıcaklık gibi birçok faktörden etkilenir (Li vd., 1992).

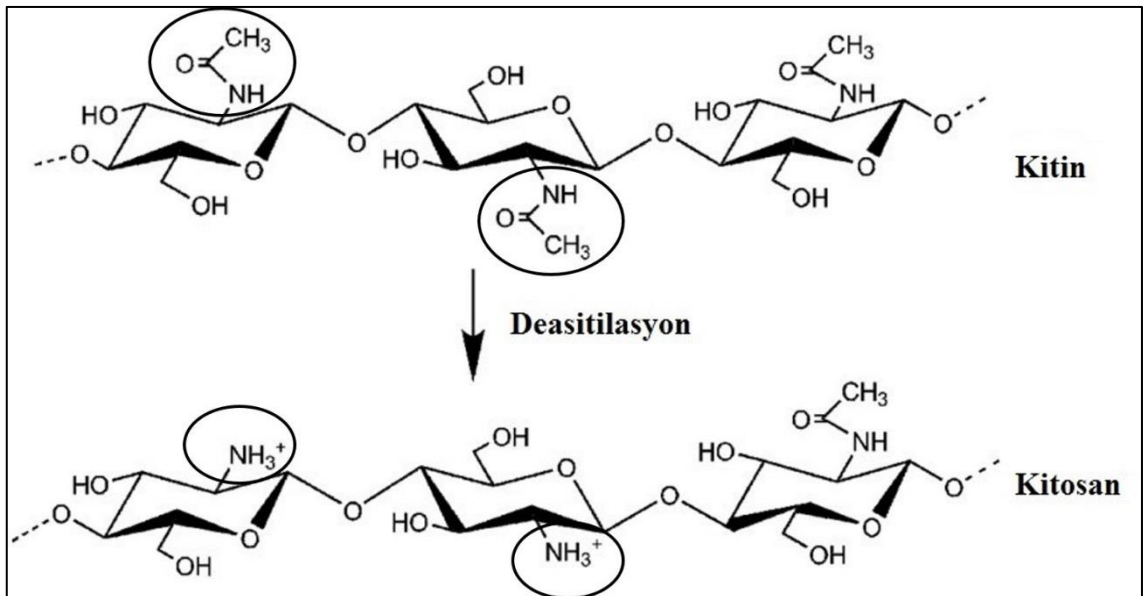
Kitosan kokusuz, tatsız, beyaz renkli, yarı şeffaf partikül veya toz halinde olan bir biyopolimerdir. Kitosan biyoparçalanabilirliği, biyoyumluluğu, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ve toksik olmamasından dolayı yenilebilir filmler ve kaplamaların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Tüm bu özelliklerinin yanı sıra; durultma, esmerleşme inhibisyonu, emülsiyon oluşturma, nem tutma, kıvam arttırma, absorpsiyon vb. amaçlarla gıda katkı maddesi olarak ta kitosanın kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Lopez-Caballero vd., 2005; Zivanovic vd., 2005). Bu sayede, kitosan; biyoteknoloji, ilaç, atık su

arıtma, kozmetik ve gıda bilimi gibi farklı alanlarda güncel ve potansiyel uygulama çeşitliliğine sahiptir. Doğal bir ürün olan kitosan, doku kalitesini korumasının yanında, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleriyle su ürünlerinin depolanmasında bir kaplama malzemesi olarak kullanılabilir (Jeon vd., 2002).

Kitosan ve türevleri bakteri, mantar ve virüsleri içeren geniş bir spektrumdaki mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ajan olarak yoğun ilgi çekmiştir (No vd., 2002). Aynı zamanda, kitosanın antimikrobiyal aktivitesini keşfetmek için gıda koruyucuları, yara sargı bantları ve antimikrobiyal tekstil ürünleri gibi ticari uygulamalar geliştirilmiştir (No vd., 2007). Kitosan filmler seçici gaz (CO_2 ve O_2) geçirgenliği ve iyi mekanik özelliklerine sahiptir (Ruiz-Navajas vd., 2013). Kitosanın antimikrobiyal etkisini iç faktörler (molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi, çözünürlüğü vs.), mikrobiyal faktörler (bakteriyel cins, tür, yaş vs.) ve dış faktörler (pH, sıcaklık vs.) gibi birçok faktör etkileyebilmektedir (Kong vd., 2010). Kitosan suda, alkali ve organik çözücülerde çözünmez, fakat pH'ı 6'dan az olan çoğu seyreltilmiş asitte çözünür. Kitosan filmler ve kaplamalar genellikle asetik asit kullanılarak oluşturulan solüsyonlar şeklinde uygulanmaktadır (Mohamed vd., 2013). Ancak, bu yöntem filmin oluşturulmasından sonra kalıntı olarak ortaya çıkan asetik asidin etkisiyle istenmeyen tat ve kokuya neden olabilmektedir. Ayrıca, aktif bileşikler ve plastikleştiriciler gibi küçük katkı molekülleri filmin fonksiyonel ve mekanik özelliklerinin azalması sonucunda muhtemelen film nötralizasyonu sırasında kaybolabilmektedir (Nakashima vd., 2006). Suda çözünebilir kitosan, kitosanın çözünürlük sınırlılığının üstesinden gelmek için ideal bir materyaldir. Kitosanın türevlerinin bir serisi (karboksimetil kitosan, kitosanın kuaterner amonyum türevleri ve N-(2-hidroksipropil)-3-trimetilamonyum klorür kitosan) nötr pH değerindeki su içinde film oluşturan bir çözelti hazırlamak için bazı araştırmacılar tarafından kullanılmıştır (Fernandes vd., 2010; Pinto vd., 2012; Yu vd., 2013). Son zamanlarda ki çalışmalar suda çözünebilir kitosan türevlerinin (hidroksietilakrilik-kitosan, etilamin-hidroksietil kitosan, karboksimetil-kitosan ve hidroksipropil-kitosan) hazırlanması üzerine odaklanmıştır (Xie vd., 2007; Ma vd., 2008; Anitha vd., 2009). Bu amaçla, yeni kitosan türevlerinin oluşturulması, sonrasında onların özelliklerinin karakterize edilmesi ve su ürünlerinde uygulanmaları önem arz etmekte ve gelecekteki araştırmaları teşvik etmektedir.



Şekil 1. Kabuklu atıklarından kitin, kitosan ve kitosan oligosakkaritlerinin elde edilmesi (Shahidi vd., 1999).



Şekil 2. Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı (Nilsen-Nygaard vd., 2015)

1.3. Su Ürünlerinde Soğuk Muhafaza

Soğutma işlemi, buz kristalleri oluşmadan ya da fark edilemeyecek düzeyde olduğu bir sıcaklık düşmesine dayanan bir koruma yöntemi olup, bu yöntemde genellikle mekanik soğutma kullanılmaktadır. Soğutma sıcaklığı, genellikle suyun donma noktasının üzerindeki bir sıcaklıktır. Soğutma işlemi genellikle kısa süreli saklama amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemin amacı; gıda maddesinin sıcaklığını donma noktası üzerinde muhafaza ederek mikroorganizmaların, diğer kimyasal ve enzimatik reaksiyonların oluşma derecesini yavaşlatmaktır. Bu sayede su ürünlerinin besinsel içeriklerinde oluşabilecek bozulmalar belirli bir süre önlenerek, tüketiciye taze ve kaliteli ürün tüketimi sağlanmaktadır (Ertaş, 1978). Su ürünleri kolay bozulabilir bir gıda olmasından dolayı avlamayı takiben tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen süre içerisinde, ürünlere soğuk muhafaza uygulanması zorunludur. Su ürünleri işletmelerinde uygulanan soğuk muhafazanın amaçları; yeni avlanmış balıkların 1-2 hafta üzerinde depolanmaları ve bunların deniz ya da karada nakli, yeni avlanmış balıkların daha sonra nakliye ve işleme için kısa süreli depolanması, dondurma işleminin ön prosesi için balığa ön soğutulma uygulanması, işleme sonucu meydana gelen ara ürünlerin kısa süre depolanması ve farklı ürünlerin depolanması için uzun süreli konservasyon amacı ile kullanılmaktadır (Pala ve Saygı, 1993). Su ürünlerinin yanı sıra diğer gıdalarda da kullanılan farklı soğutma yöntemleri vardır. Bunlar; buzla soğutma, kırılmış buz ile soğutma, soğutulmuş deniz suyu ile soğutma, su-buz karışımı ile soğutma, kuru buzla soğutma, yüksek nemli hava ile soğutma, derin soğutma ve ön soğutma olarak tanımlanmaktadır. Soğuk muhafaza şartlarında ürünlerin kalite değişimlerine sıcaklık, nem, hava akış hızı, gıdanın ambalajı ve şekli, soğutucunun yoğunluğu, ürünlerin başlangıç sıcaklığı ve mikrobiyal yükü gibi iç ve dış faktörler etki etmektedir (Varlık vd., 2004).

1.4. Su Ürünlerinde Donmuş Muhafaza

Dondurma, gıdaların kalitelerinin uzun süre korunduğu muhafaza yöntemlerinden birisidir (Fellows, 2009). Gıdaların donma noktası, gıdanın içerdiği sudaki çözünmüş maddenin cinsi ve miktarına bağlı olarak 0 °C'nin altındaki bir sıcaklık derecesidir. Gıdalar -0,5 °C ve -2 °C sıcaklıklarında mekanik olarak donar. Gıdanın içerdiği suyun

önemli bir kısmı -10 °C'ye kadar donarken, donabilir suyun tamamı ise -50/-70 °C'de buz kristalleri haline geçer. Ürünlerin, -10 °C ve -12 °C sıcaklıklarda depolanması dondurulmuş ürün tanımını ifade ederken, -18 °C ve altındaki sıcaklık derecelerinde depolanması derin dondurulmuş ifadesini temsil etmektedir (Varlık vd., 2004). Gıdalardaki su, donma işlemi ile faz değişikliğine uğrar ve sıvı halden katı buz haline dönüşmektedir. Bu da gıdalarda daha düşük bir su aktivitesi ile sonuçlanarak, ürünlerde bozulmaya neden olan mikrobiyolojik, kimyasal ve enzimatik aktivitelerin yavaşlatılmasına katkı sağlamaktadır (Fellows, 2009).

Bir ürünün içerdiği su, depolama esnasında ürünün dayanıklılığını azaltmakla beraber enzimatik, mikrobiyal ve kimyasal faaliyetlerin devamını sağlar. Dondurma işlemi ise bu faaliyetlerin çoğunu durdurmaktadır. Donma ve buz oluşumu sonucu gıda ürünlerinin içerdiği suyun hacminde %9'luk bir genişleme meydana gelmektedir. Donmuş depolama sırasında genellikle -18 °C ve bunun altındaki sıcaklıklar kullanılmaktadır (Varlık vd., 2004). Donma genellikle buz kristal oluşumu (çekirdeklenme) ve büyümeyi takiben gerçekleşen iki aşamalı bir işlemdir. Buz çekirdeği genellikle gıdalardaki ekstrasellüler boşluklarda ortaya çıkar, ancak hücre içi buz oluşumu yüksek donma oranlarında ortaya çıkabilir. Bir sistemdeki çekirdeklenme hızı, donma sıcaklığına ve oranına bağlıdır (Zaritzky, 2000). Gıdalardaki aktif yüzeylerde su moleküllerinin kristalleşmesinden kaynaklanan heterojen çekirdeklenme hakim olup, gıda yüzeylerinde homojen çekirdeklenme meydana gelmez. Bunun yerine, saf su içerisindeki su moleküllerinin rastgele yönelimleri sonucu çekirdeklenme oluşmaktadır (Fellows, 2009). Gıdalardaki ekstrasellüler buz oluşumu daha yüksek bir çözünme konsantrasyonunu indükler ve su aktivitesini azaltır. Bir gıda sistemindeki kimyasal denge noktasının korunabilmesi için hücre içi su dışarıya doğru hareket edebilir ve bu su dehidrasyona sebep olarak hücre dışı buz kristalleri üzerinde donmaya başlar (Zaritzky, 2000). Buz kristali boyutu bir sistemde oluşan çekirdek miktarıyla ters orantılıdır ve bu nedenle hızlı dondurma küçük buz kristalleri yaratırken yavaş dondurma daha büyük buz kristalleri oluşumuna neden olmaktadır. Dondurulmuş ürünlerde en yüksek kaliteyi sağlamak için hızlı bir dondurma oranı tercih edilmektedir. Hızlı dondurma ile ürünlerdeki su buz haline geçerken küçük buz kristalleri oluşturmakta ve bu da hücre duvarlarında daha az yapısal hasara neden olmaktadır. Hızlı dondurma işleminin bir diğer faydası ise daha düşük hücre büzülme ve dehidratasyon oranıdır (Rahman, 2007). Ayrıca, yavaş

dondurma yerine hızlı dondurma teknikleri kullanılarak ürünlerde meydana gelebilecek nem kaybından kaçınılabılır (Hui vd., 2004). Bu nedenle, termal dinlenme süresi olarak bilinen, balığın bünyesindeki suyun buza dönüştüğü sürenin 2 saatin altında tamamlanmış olması istenmektedir. Yavaş dondurmada buz kristalleri hücre dışında meydana gelir ve eğer yeterli zaman varsa ozmotik basınçla hücredeki su dışarı doğru göç eder. Böylece hücrede büzülme ve hücre zarında zarar meydana gelir. Dışa çıkan su hücre zarının zarar görmesi nedeniyle çözündürme işlemi esnasında geri dönüşümsüz şekilde su kaybına neden olur (Rahman, 2007).

Genel olarak, hava üfleli dondurma, plakalı dondurma, daldırarak dondurma, akışkan yataklı dondurma ve sıvı azot veya sıvı karbon dioksit gibi sıvılaştırılmış bir gazla hızlı kriyojenik dondurma en yaygın ticari dondurma yöntemleridir (Rahman, 2007). Su ürünleri endüstrisinde en popüler ve ekonomik dondurma yöntemleri ise kriyojenik dondurma ve hava üfleli dondurmadır (Goncalves ve Ribeiro, 2008). Dondurma işlemi, raf ömrünü uzatmak için su ürünlerindeki mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oranını azaltır. İlk dondurma işlemi esnasında mikrobiyal ölüm oranı en yüksek olup, donmuş depolamada zamanla kademeli olarak azalır. Dondurma işlemi, sıcaklık şoku, dehidrasyon, buz oluşumu, hücre dışı çözücü konsantrasyonu ve hücre içi çözünenlerin toksisitesi gibi faktörlerden dolayı su ürünlerinde mikrobiyal çoğalmayı engelleyebilir. Ayrıca dondurma işlemi mikroorganizmaların lipid içeren membranlarını dehidrasyon yoluyla bozar. Mikroorganizmalar $-5/-8$ °C'ye kadar, mayalar $-10/-12$ °C'ye kadar ve küfler $-12/-18$ °C'ye kadar biyolojik aktivitelerini sürdürürler (Zaritzky, 2000; Varlık vd., 2004). Ancak, donma mikrobiyal çoğalmayı yavaşlatmasına rağmen, enzimleri inaktive etmez. Donma, enzimatik ve mikrobiyal aktivitenin yanı sıra fizikokimyasal ve biyokimyasal reaksiyonları yavaşlatarak su ürünlerinin bozulma hızını azaltır. Dondurulmuş su ürünlerinin kalitesini materyal, donma hızı, depolama sıcaklığı, depolama süresi, paketleme ve çözündürme işlemi gibi çeşitli faktörler etkilemektedir (Fellows, 2009).

Büyük balıklar iç organları ve solungaçları çıkarılarak, küçük balıklar ise genellikle olduğu gibi dondurulur. Filetolar tek tek veya blok halinde dondurulur. Dondurma işleminden sonra ürünlere glazing uygulanabilir. Glazing; dondurulduktan sonra balıkların soğuk suya daldırılarak veya yüzeyine su püskürtülerek dış yüzeyinin ince bir

buz tabakası ile kaplanması işlemidir. Glazing yapılan balıklar paketlenerek en az -18 °C’de depolanırlar. Glazing, balığın depolama esnasında nem kaybetmesini önler, ayrıca hava ile temasını keserek balıklarda lipit oksitlenmesini geciktirir. Dondurulan balıklar mutlaka paketlenmelidirler (Turan, 2011). Özellikle paketlenmeden dondurulan ürünler hava hareketi olmayan odalarda depolanmalı, ışıktan uzak tutulmalıdır. Kurumanın, ağırlık kaybının ve oksidasyonun önlenmesi için ışık ve nem geçirmeyen materyal ile paketlenmelidir. Yağlı balıklar için vakum paket uygulanmalıdır. Dondurulacak balıklar çok taze olmalıdırlar. Bozulmaya başlamış balık dondurularak kalite özellikleri iyileştirilemez ve balıklarda bozulma dondurulsa bile devam eder. Taze olarak dondurulan balıklar çözündürüldükleri zaman başlangıçtaki tazeliğine yakın bir tazeliğe sahiptirler. Transport için seçilen sıcaklık -20/-25 °C olmalıdır (Kundakçı ve Ergönül, 2009).

Dondurma teknolojisi ile su ürünlerinin raf ömrü uzatılabilmekte, av yasağı olduğu zamanda ürünün kolayca bulunabilmesine imkan sağlamakta ve bazı işleme tesislerine uzun süre ham madde tedariki sağlanabilmektedir. Ayrıca ürünün soğuk ortamda uzak bölgelere ve ülkelere rahatlıkla naklinin sağlanabilmesine imkan tanımaktadır (Varlık vd., 2004). İthal edilen ürünlerin büyük bir kısmını dondurulmuş su ürünleri oluşturmakta ve bunların başında da 2014 yılı ithalat verilerine göre yaklaşık 25 bin ton ile uskumru veya kolyoz gelmektedir (TUIK, 2014). Su ürünleri, buz oluşumu, nem göçü, rekristalizasyon, protein denatürasyonu ve ayrıca mikrobiyal ve enzim aktivitesi nedeniyle donmuş depolama sırasında bozulabilir (Boonsumrej vd., 2007). Dondurulmuş balıklarda kalite kaybı, daha çok yağlı balıklarda lipit oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Yağsız balıklarda ise trimetilamin oksit (TMAO)’in enzimler vasıtası ile doğrudan dimetil amin (DMA) ve formaldehite dönüşmesi sonucu; formaldehit protein ilişkisi ile protein kalitesinde düşüş, dokularda sertleşme ve proteinin çözünürlüğünde azalma görülür (Varlık vd., 2004). Su ürünleri yüksek oranlarda çoklu doymamış fosfolipit içeriğine sahip olmasından dolayı, donmuş depolama sırasında lipit oksidasyonu açısından önem arz etmektedir. Donmuş depolamadaki su ürünleri zamanla yüzey su kaybına uğrar ve bu da protein denatürasyonu ile sonuçlanır. Dokularda su tutma kapasitesinde azalmaya neden olan bu olay et dokusunda değişiklikler meydana getirebilmektedir (Shenouda, 1980). Donmuş balıklar, oksijen mevcudiyetine, doku kompozisyonuna, serbest yağ asidi içeriğine ve lipit hidrolizine bağlı olarak değişen

derecelerde lipit oksidasyonuna maruz kalabilirler (Rahman, 2007). Omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerinin kaybının yanı sıra kötü koku ve tatların oluşumu yağlı balıklarda, beyaz etli yağsız balıklara oranla daha fazla sorun olabilir (Fellows, 2009). Balıkların kas proteinleri denatürasyona eğilimlidir. Donmuş depolama sırasında, protein ayrışması, çözünürlük ve besin değeri kaybına bağlı olarak balık bozulması meydana gelir. Su ürünlerinin yavaş dondurulması, kasın büyük buz kristalleri tarafından delinmesine bağlı olarak nem kaybına yol açarak istenmeyen doku değişikliklerine yol açabilir (Shenouda, 1980).

Bir gıdanın hücre içeriği, donma sırasında aşırı soğutulduğunda ozmozun bir sonucu olarak hücrelerde nem göçü meydana gelebilir. Nem göçü ve yeniden kristalleşme süreçleri ürünlerin görünümü, dokusu ve sululuğunda değişime neden olarak besin kayıplarına yol açmaktadır (Zaritzky, 2000). Dondurulmuş gıdalarda nem göçü, donmuş dokularda nem bariyeri olmaması nedeniyle donma yanığına neden olur. Doku yüzeylerinde buz süblimleşmesi sonucu olarak gıda üzerinde opak bir renk tabakası oluşur (Rahman, 2007). Nem göçü etlerde damla kaybına neden olabilir ve bu sıvı damlama, çözünme işleminden sonra ete geri absorbe edilemez (Zaritzky, 2000). Damlama kaybı ürünlerde enzimatik aktivite ve mikrobiyal büyümeyi (özellikle de psikrofilik ve patojenik mikroorganizmalar) tetikleyebilir (Fellows, 2009). Nem göçünü önlemek için, depolama sırasında sıcaklık dalgalanmasından kaçınılmalıdır. Sıcaklık dalgalanmaları bir gıdanın iç tabakasından yüzeye (dışarıya) doğru nem göçü ile sonuçlanır (Zaritzky, 2000). Buz kristallerinin yeniden kristalleşmesi (rekristalizasyon), balıklarda kalite kaybına yol açan fiziksel bir değişimdir. Ayrıca, rekristalizasyon damlama kaybı oranını da arttırabilir (Zaritzky, 2000). Balıklarda buzun yeniden kristalleşmesini önlemek için, nem geçişini sınırlayan kompakt ambalajların yanı sıra düşük ve istikrarlı bir depolama sıcaklığı kullanılmalıdır (Fellows, 2009).

Dondurma işleminin neden olduğu protein denatürasyonu tipik olarak, dehidrasyon, oksidasyon, tuz konsantrasyonu, buz oluşumu, rekristalizasyon ve hücrel metabolit aktivite gibi bir takım faktörün sonucu oluşmaktadır. Proteinlerin işlevselliği, su tutma kapasitesi, köpürme, jelasyon, viskozite ve emülsifikasyon özellikleri ile ölçülebilir. Protein denatürasyonu, esas olarak serbest yağ asitleri ve formaldehit varlığına bağlı olarak kas dokusunda değişikliklere neden olabilir (Zaritzky, 2000). Lipit

oksidasyonu gıdalarda acılaşıma, renk bozulması ve istenmeyen tatlara neden olur (Rahman, 2007). Dondurulmuş gıdalarda lipit oksidasyonunun neden olduğu aroma değişiminin büyük bir kısmı, hidroperoksitlerin keton ve aldehitlere ayrışmasından kaynaklanmaktadır. Lipit oksidasyonu lezzet ve tadı bozarken ayrıca gıdaların besin değerini düşürmektedir (Bera vd., 2006).

1.5. Dondurulmuş Su Ürünlerini Çözdürme İşlemi (Defrost)

Donmuş muhafaza işlemi kadar önemli olan bir konu da dondurulmuş su ürünlerini çözdürme işlemidir. Çözdürme işleminde dikkat edilecek en önemli nokta, ürünlerdeki sıvının dışarıya çıkmasını önlemektir. Çözdürme oranı, suyun dondurulmadan önceki orijinal pozisyonuna geçişi esnasında sıvı kaybından kaçınmak için yeterli yavaşlıkta olmalıdır. Fakat çözdürme oranı istenenden çok da yavaş olmamalıdır. Kontrolsüz şartlarda çözdürme ile ürün kalitesi azalmakta ve üründeki bakteri sayısını da artırmaktadır. Bu nedenle su ürünlerinde en uygun çözdürme yöntemleri kullanılmaya özen gösterilmelidir. Donmuş su ürünlerinin çözdürülmesinde kullanılan en ideal yöntem, yüksek nem ve sıcaklığı (0/+8 °C) olan odalarda çözdürme işlemi olup, pratikte suya daldırma yöntemi kullanılmaktadır. Bununla beraber su ürünleri etlerinin çözdürülmesinde kullanılan farklı çözdürme yöntemleri de mevcuttur (Varlık vd., 2004).

Çözdürme yöntemleri;

- Hava ile çözdürme
- Suda çözdürme
- Vakumla çözdürme
- Elektriksel direnç ile çözdürme
- Mikrodalga ile çözdürme
- Hibrit çözdürme
- Yüksek basınçla çözdürme
- Ohmik çözdürme
- Akustik çözdürme

1.6. Kanal Yayın Balığı

Nearktik (Grönland, Kuzey Amerika ve Meksika'nın kuzey bölgelerini kapsar) bölgesine özgü olan kanal yayın balığı (Şekil 3), Kanada, kuzey ve doğu Amerika ve ayrıca kuzey Meksika'nın bazı kısımlarında yaygın bir şekilde dağılım göstermektedir. Ayrıca, Çek Cumhuriyeti ve Romanya, Malezya'nın bazı kısımları ile Endonezya'nın neredeyse birçok kesiminin sularına da getirilmiştir (URL-1). Kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818), Amerika Birleşik Devletleri'nde ticari olarak yetiştirilen en önemli tatlı su balıklarından biridir ve ABD su ürünleri yetiştiriciliğinin %60'ından fazlasını oluşturmaktadır (Chatakondi vd., 2016). Küresel su ürünleri yetiştiriciliği üretimi 2015 yılında 411.790 tondur (FAO, 2017). Kanal yayın balığı, derinden çatallı kuyruk yüzgeci tarafından, mavi yayın balığı hariç diğer yayın balıklarından kolayca ayırt edilir. Mavi yayın balığından ise ancak yanlarındaki siyah benekler ve yuvarlak kenarlı anal yüzgeci sayesinde ayırt edilebilirler. Arka ve yanları zeytin yeşili veya kayrak mavisi, karın kısmı ise gümüşimsi beyazdır. Derisi pürüzsüz ve pulsuz olan kanal yayın balığının ağzının yanlarında bir kedinin bıyıklarına benzeyen dört adet bıyığı bulunmaktadır. Dorsal ve başa en yakın karın yüzgeçlerinin önünde keskin dikenler vardır. Ortalama olarak, 30-60 cm uzunluğunda olan kanal yayın balıkları derin havuzlarda, nehir ve göllerde bulunabilir. Kanal yayın balığı; balık, böcek, kerevit, yumuşakça ve bitki materyali dahil olmak üzere çok çeşitli yiyeceklerle beslenirler. Vücutlarında yüksek konsantrasyonlarda koku veren duyu organları ve tat tomurcukları vardır, bu da onların karanlıkta ve çamurlu sularda yiyecek bulmasını sağlar. Yetişkinler gün boyunca daha büyük havuzların derinliklerinde kalırlar ve beslenmeleri için gece sığ ya da örtü yakınında hareket ederler (URL-2).

Vitaminler, proteinler, mineraller açısından oldukça besleyici bir balık olan kanal yayın balığı yağsız bir balıktır. Doymuş yağ asitlerini çok az içeren bu balıklarda karbonhidrat miktarı da düşük seviyelerdedir. Kanal yayınları, su sıcaklıkları 24 °C'ye ulaştığında ilkbaharda veya yaz başında ürerler. Yumurtalarını hızlı akıntılardan korumak için onları çatlaklara, oyuklara veya döküntülere bırakırlar. Kanal yayın balıklarında erkekler dişilerden daha koyu renktedirler. Yetiştiriciler genel olarak 1 ile 5 kg arasındaki balıkları damızlık olarak seçerler. Fakat yayın balıkları küçük iken takriben 250-300 g ağırlıktan itibaren cinsel olgunluğa erişmiş duruma gelebilirler. 5 kg'dan büyük olan

balıklar ise bakımları güçleşeceğinden pek damızlık olarak kullanılmazlar (Alpbaz, 2009).

Çalışmada kullanılan kanal yayın balığını sistematik olarak sınıflandırılması aşağıdaki gibidir;

Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Şube:	Chordata (Kordalılar)
Sınıf:	Actinopterygii (Işımsal yüzgeçliler)
Takım:	Siluriformes (Yayingiller)
Aile:	Ictaluridae
Cins:	<i>Ictalurus</i>
Tür:	<i>Ictalurus punctatus</i> (Rafinesque, 1818)



Şekil 3. Kanal Yayın Balığı (*Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818)(URL-3)

1.7. Çalışmada Kullanılan Patogen Bakteriler Hakkında Bilgiler

1.7.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, insan ve hayvan bağırsaklarından izole edilen ve sağlıklı bir insan bağırsak sisteminin önemli bir parçası olarak kabul edilen çevresel mikroorganizmalardır. *E. coli*, araştırma ve gıda güvenliği amacıyla mikrobiyoloji laboratuvarlarında geniş çapta kullanılan ve çoğu zararsız olan büyük bir bakteri grubudur. Patojenik *E. coli* ise geniş bir yelpazede insan hastalıklarına neden olabilir ve gastrointestinal sistemden, idrar yolu, kan dolaşımı ve merkezi sinir sistemine kadar karışmaktadır (Croxen vd., 2013). *E.*

coli'nin belli serotipleri “shiga toksin” olarak adlandırılan bir sitotoksin üretmekte ve bu tip organizmalara *E. coli* üreten Shiga toksin denilmektedir. Bu toksinler HeLa ve Vero doku kültürü hücrelerine toksik etki yapmakta ve bu nedenden dolayı verotoksin 1 ve 2 olarak da adlandırılırlar. Günümüzde verotoksin üreten 100'den fazla *E. coli* serotipinin olduğu bilinmektedir. Ancak *E. coli* O157:H7 verotoksin üreten en önemli suş olup, bilinen en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. *E. coli* O157:H7 dondurulmuş veya soğukta saklanan ürünlerde, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik gıdalarda uzun süre canlılığını sürdürebilir. Bu ortamlarda karşılaştığı olumsuz çevre koşullarına adapte olarak direnç kazanabilir. *E. coli* O157:H7'nin, pH 4,5-5,5 değerlerinde bir ortama maruz kalması durumunda aside adapte olarak direnç kazandığı ve bu sayede *E. coli* O157:H7'nin hem asidik gıdalarda hem de fermente gıdalarda aside direnç kazanarak canlılığını sürdürdüğü bilinmektedir (Coia, 1998; Leenanon ve Drake, 2001; Hsin-Yi ve Chou, 2001). Gram negatif bir basil olan *E. coli* O157:H7, pH 7,2 ve 37 °C'de optimum üreme göstermekle beraber, hareketli, fakültatif anaerob, %6,5 NaCl içeren ortamda gelişebilen, donma sıcaklığına dirençli, ışınlamaya ve ısısız uygulamalara dirençsiz bir bakteri türüdür. Ayrıca, *E. coli* O157:H7'nin 24 saatte sorbitolü fermente edememesi, β- glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmaması ve 44-45 °C'de gelişmemesi veya çok zor gelişebilmesi özellikleri ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılmaktadır (Coia, 1998; Halkman vd., 2001).

1.7.2. Salmonella

Enterobacteriaceae familyasına ait *Salmonella*; aerob veya fakültatif anaerob, sporsuz, gram negatif, kapsülsüz bir bakteridir (Amagliani vd., 2012). *S. pullorum* ve *S. gallinarum* haricinde diğer *Salmonella* türleri hareketlidirler. Isı, asit ve alkol etkilerine karşı dirençlidirler. Genel besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. 37 °C'de 24-48 saatte küçük, yuvarlak S tipi koloniler meydana getirirler. *Salmonella* cinsinin tanımlanan yaklaşık 2500 serotipi mevcut olup, doğada yaygın olarak dağılım gösteren bu serotiplerin sadece 50 kadarı insanlarda patojen olarak kabul edilmektedir (Halkman, 2005; Iwamoto vd., 2010). Bu serotipler, özellikle kuşlar olmak üzere, hayvanlar ve insanların bağırsak sistemlerinde yaşarlar (Norhana vd., 2010). *Salmonella*, dünya çapında gıda kaynaklı hastalıkların önde gelen nedenlerinden biri olarak kabul edilir (Feldhusen, 2000). *Salmonella* cinsinin genel bulaşma şekli sindirim kanalıdır. Küresel bir rapora göre, insan

enfeksiyonlarından en sık sorumlu olan tifo olmayan *Salmonella* serotipleri, Enteritidis ve ardından Typhimurium'dur. Özellikle *S. typhimurium* antibiyotiklere karşı dirençleri üst düzeydedir (Gal-Mor vd., 2014). Salmonellozis, *Salmonella* bakterisinin neden olduğu bir enfeksiyondur. Salmonellozis vakalarının çoğu kirlenmiş gıdaların yenmesi ile kaynaklanır (Iwamoto vd., 2010). Genellikle akut gastroenterite neden olur ve enfekte olan kişiler enfeksiyondan 12 ila 72 saat sonra ishal, ateş ve abdominal kramplara maruz kalırlar. Hastalık genellikle 4 ila 7 gün sürer, ancak ölümlere yol açmaz; Bununla birlikte, yaşlılar, bebekler ve bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde ciddi hastalıklarla sonuçlanabilmektedir (Scallan vd., 2011). 1998-2004 yılları arasında deniz ürünleri ile ilişkili gıda kaynaklı hastalık salgınlarının önde gelen nedeni *Salmonella* olmuştur. FDA, tüketime hazır deniz ürünleri de dahil olmak üzere çeşitli balık ve kabuklu deniz ürünlerinde *Salmonella*'nın varlığını ortaya çıkarmıştır (Iwamoto vd., 2010). Eğer 25 gram gıdada *Salmonella* varlığına rastlanırsa gıdanın reddedilmesi gerekmektedir (Halkman, 2005).

1.7.3. *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio cholerae*

Vibrio cinsi tatlı sudan derin deniz suyuna kadar su ortamlarında yaygın olarak dağılan orta derecede halofilik bakterilerden oluşan bir gruptur. *Vibrio*'lar sporsuz, gram negatif, kıvrık, 0,5 µm eninde ve 1,4-2,6 µm boyunda bakterilerdir (Farmer vd., 2005). *Vibrio* türleri sıcak sularda (18 °C'nin üzerinde) en çok izole edilen bakterilerdir ve toplam bakteri sayısının %40'ından fazlasını oluştururlar. Referans türe bağlı olarak *Vibrio* cinsinin 40 ila 70 arasında türü mevcut olup, bunların 12 türü insan için patojeniktir. *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* ve *V. vulnificus*; enfeksiyonların sayısı, dağılımı ve şiddeti açısından en önemli türlerdir (Thompson vd., 2006).

İnsanlar için patojen olan deniz kaynaklı birkaç mikroorganizmadan birisi olan *V. parahaemolyticus* esas olarak sahil ve nehir ağızlarında bulunan bir mikroorganizmadır. Açık deniz balıklarında nadir bulunan bu bakteriye, 20-25 °C'deki sıcak sahil sularında sık rastlanılır ve deniz ürünlerinin yanı sıra diğer gıdalar üzerinde de hızla üreyebilirler. Hareketli ve çubuk şeklinde olan bu bakteri 10-40 °C'de arasında üreyebilir, ancak optimum üreme sıcaklığı 35-37 °C'dir. 8-10 °C'nin altında üreyemeyen bu bakteri, bu sıcaklık koşullarında belirli bir süreden sonra canlılıklarını yitirirler. Fakat dondurulmuş

gıdalarda canlılıklarını iyi bir şekilde koruyabildikleri bildirilmiştir. Bu nedenle dondurulmuş ve çözündürülmüş gıdalarda iyi hijyen koşulları sağlanmaz ise bu bakteriler tekrar ortamda üreyebilir ve diğer ürünlere bulaşabilir. Ayrıca *V. parahaemolyticus*, üreyebilmesi için %0,5-8 arasında bir tuzlu ortama ihtiyaç duymakla beraber, pH 5-11 (optimum pH 7,5) arasında üreyebilirler (Baker-Austin vd., 2018; URL-4).

Fakültatif anaerob olan *V. cholerae*, ısıya, dezenfektanlara ve kuruluğa dayanıksızdır. Ayrıca aside karşı çok duyarlı olan bu bakteri alkali ortamları sever ve en iyi pH 7,4-9,6 arasında ürerler. Optimal üreme sıcaklığı 37,5 °C olup, 22–40 °C aralığında üreyebilirler. *V. cholerae* de tatlı suda bulunabilir. Büyüklükleri 1,5-3,0 µm boyunda ve 0,5 µm eninde olan *V. cholerae* şiddetli ve sulu diyare hastalığı koleralarının etkenidir. Bu, kişiden kişiye bulaşma yoluyla mümkün olmasına rağmen, genellikle kontamine yiyecek veya suyun alınmasından kaynaklanan ağır bir ishal hastalığıdır. Kolera belirtisiz bir durumdan, çok ağır diyare, kusma, ileri derecede sıvı kayıpları ve ölüme kadar değişen klinik tablolar gösterir. Çok hızlı öldürebilen bir hastalık alan koleranın belirtileri gözlenen bir birey hemen tedavi edilmezse, 2-3 saat içinde hipotansiyon gelişmesine bağlı olarak ölebilir (Siriphap vd., 2017; URL-5).

1.7.4. *Staphylococcus aureus*

Stafilokoklar, *Micrococcaceae* familyasının bir üyesi olup, 0,5-1,5 µm çapında kok şeklindedirler. Stafilokoklar, birden fazla düzlemde bölünerek üzüm salkımı şeklinde düzensiz kümeler oluşturur ve birçok dış etkene karşı dayanıklıdırlar. Bunun yanında ısıya kısmen dirençlidirler ve yüksek tuz içeren ortamlarda da üreyebilirler. Patojenik stafilokoklar yaygın olarak koagülaz üretme yetenekleri ile tanımlanır (Harris vd., 2002). *Staphylococcus* türleri fakültatif anaerob, gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyen ve katalaz pozitif bakterilerdir. *Staphylococcus* cinsine ait, çoğu insan vücudunu kolonize eden 32 tür ve 8 alt tür mevcuttur. Ancak bu türler içerisinde en belirgin ve en çalışılmış olan *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterileridir (Kloos ve Bannerman, 1994). Başta ısıl işlem olmak üzere mikroorganizma sayısının azaltılmasına karşı uygulanan yöntemlere yüksek duyarlılık gösteren *S. aureus*; insanlarda zehirlenmeye yol açan ve ısıl işleme dayanıklı enterotoksinler üretebilmektedir. *S. aureus*'un hücre duvarı, yaklaşık 20-40 nm kalınlığında, görünüşte nispeten şekilsiz olan

sert koruyucu bir tabakadan oluşmaktadır (Shockman ve Barrett, 1983). *S. aureus* patojen bir bakteridir ve intoksikasyon tipi gıda zehirlenmelerine neden olmakla beraber gıdaya bulaşma nedeninin en önemli etkenini insanlar oluşturmaktadır. Bunun nedeni olarak ise insanların yaklaşık %30-40'nın burun mukozasında *S. aureus* bakterisinin bulunmasıdır. *S. aureus*'un işlem görmüş gıdalarda bulunmasına izin verilmezken, çiğ et gibi gıdalarda az sayıda bulunmasına izin verilebilir (Halkman, 2005; Küçükçetin ve Milci, 2008). *S. aureus* genelde nişasta ve protein içeriği yüksek olan gıdalarda gelişim göstermektedir. Özellikle balık, makarna, patates, et ve süt ürünleri ile bunlardan yapılan yemeklerde yaygın olarak ortaya çıkmaktadır. Hijyen şartlarına uyulmadan hazırlanan, uygun şartlarda ve hijyen ortamlarda muhafaza edilmeyen, ayrıca açıkta bekletilen yiyeceklerde stafilokokal zehirlenme vakaları önemli derecede tehlike oluşturmaktadır. *S. aureus* tarafından sentezlenen ve sindirim sistemi üzerine etkili olan enterotoksinlerin gıdalarla birlikte vücuda alınması sonucunda ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalığa Stafilokokal gıda zehirlenmesi adı verilmektedir (Küçükçetin ve Milci, 2008). Çeşitli ülkelerde gıda zehirlenme vakalarının yaklaşık olarak 1/3'ünün enterotoksijenik *S. aureus*'lar ile kontamine olmuş gıdalardan kaynaklandığı belirtilmiştir (Mutluer vd., 1993).

1.7.5. *Listeria monocytogenes*

Gram pozitif bir basil olan *Listeria* cinsi bakterilerin 6 türü mevcuttur. *Listeria monocytogenes*, *Listeria* türleri içerisinde insanlara patojen olarak kabul edilen tek ve en çok bilinen türüdür. Düşük sıcaklıklarda gelişebilen ve 13 serotipe sahip *L. monocytogenes*, fakültatif anaerobik ve spor oluşturmeyen bir bakteri türüdür. Bu tür birçok mikroorganizmanın inhibe olabileceği asit ve bunların konsantrasyonuna karşı direnç göstermektedir (Luo vd., 2017; Rodrigues vd., 2017). *L. monocytogenes* gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojen bakteriler içerisinde en yüksek ölüm oranına sahip bir gıda patojeni olup, yılda yaklaşık 200 milyon dolar maddi kayba yol açmaktadır (Luksiene ve Paskeviciute, 2011). *L. monocytogenes* gıda kaynaklı hastalık olarak bilinen listeriosis neden olmakta ve bu türün dünya çapında üç serotipinin (4b, 1/2a ve 1/2b) insanlarda gıda kaynaklı hastalık oluşturma oranının yüksek olduğu bilinmektedir (Ciccio vd., 2012; Weller vd., 2015). *L. monocytogenes*, deniz mahsulleri de dahil olmak üzere süt ve et ürünleri gibi birçok farklı gıda listeriosis salgını ile ilişkilendirilmektedir (Lakicevic vd., 2015). Listeriosis en fazla tüketime hazır gıdalarda görülmektedir ve bu

nedenle FDA tüm hazır gıdalarda *L. monocytogenes* tolerans sınırını sıfır (bir gıdadan alınan iki farklı 25 g numuneden herhangi birinde *L. monocytogenes* saptanması) olarak belirlemiştir (FDA, 2003). Listeriosis, invazif (yayılan) *L. monocytogenes* vakaları olarak tanımlanır, bu da organizmanın normal olarak karaciğer, dalak, beyin omurilik sıvısı ve kan dahil olmak üzere vücudun steril kısımlarını dahi enfekte ettiği anlamına gelmektedir. Septomlar genellikle ateş ve baş ağrısını takiben sıklıkla ishal ve diğer gastrointestinal septomlar olarak ortaya çıkmakta ve bunlar genellikle enfekte olan kişiye göre değişiklik göstermektedir (Todd ve Notermans, 2011).

1.8. Literatür Taraması

Kitosan ticari olarak elde edilebilmesi ve birçok formda kullanılabilmesi nedeniyle kitine kıyasla daha fazla ilgi çekmektedir. Kitosanın en büyük avantajı yenilenebilir ve çevre dostu doğal bir biyopolimer olmasıdır. Toksik olmaması nedeniyle de kitosanın, gıda endüstrisinde antimikrobiyal ve antioksidan etki sağlamak, durultma, esmerleşme inhibisyonu, emülsiyon oluşturma, yenilebilir film oluşturma, nem tutma, kıvam arttırma, absorpsiyon vb. amaçlarla gıda katkı maddesi olarak kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Zivanovic vd., 2005). Bu özellikleri ile son yıllarda eczacılık (kontrollü ilaç salınımı), medikal (yara bandı), atık su arıtımı, biyoteknoloji, kozmetik, gıda, tekstil ve ziraat gibi birçok farklı sektörde kullanım alanı bulmuştur (Synowiecki vd., 2003; Shahidi ve Abuzaytoun, 2005).

Literatürü incelediğimizde, kitosan-bazlı filmler ve kaplamalar çeşitli su ürünlerinde kullanılmış ve su ürünlerinin soğuk ve donmuş muhafazası esnasında kalite parametrelerine ve raf ömrüne olan etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, kitosanın molekül ağırlığı, deasetilasyon derecesi ve konsantrasyonuna bağlı olarak gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri de belirlenmeye çalışılmıştır.

1.8.1. Kitosanın Antimikrobiyal Etkisi Üzerine Çalışmalar

No vd. (2002), farklı moleküler ağırlığındaki kitosan (28, 224, 470, 746, 1106 ve 1671 kDa) ve kitosan oligomerlerinin (1-22 kDa) dört gram pozitif ve yedi gram negatif bakteriye karşı antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Çalışmada asetik asit içerisinde

çözündürülerek kullanılan kitosanların, kitosan oligomerlerinden daha iyi antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve %0,1 kitosan varlığında gram pozitif bakteriler üzerine kitosanın antibakteriyel aktivitesinin, gram negatif bakterilerden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. 1 ve 2 kDa molekül ağırlığına sahip kitosan oligomerlerinin diğer yüksek molekül ağırlıklarına göre *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerine karşı daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır. Farklı kitosan grupları içerisinde ise 746 kDa kitosanın en yüksek antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve bunu 470 kDa kitosanın izlediğini belirlemişlerdir. 746 kDa kitosanın *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 4,31, 4,34, 5,50, 8,31 ve 8,11 log kob/g değerlerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tsai vd. (2002), karideslerden elde edilen kitin ve kitosan maddelerinin antimikrobiyal etkisini ve buzdolabı şartlarında (4 °C) 10 gün süreyle depolanan somon filetolarının mikrobiyal kalitesi üzerine farklı konsantrasyonlarda (%0,2, %0,5 ve %1) hazırlanan kitosan kaplamaların etkisini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan kitin ve kitosanın antibakteriyel özelliklerinin benzer olduğunu ve deasetilasyon derecesi arttığında her ikisinin de antimikrobiyal aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Bakteriler üzerine kitosanın antimikrobiyal etkisinin, mantarlardan daha güçlü olduğunu saptamışlardır. En iyi antimikrobiyal etkiyi %98 deasetilasyon derecesine (DD) sahip kitosanın gösterdiğini ve bu kitosanın *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerine karşı minimal lethal konsantrasyonunun sırasıyla 100, 1500, 200, 100, 150 ve 50 ppm olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca %98 DD kitosan grubunun, depolama süresince somon filetoların toplam bakteri ve toplam koliform içeriğine önemli etkisinin olduğunu, özellikle %1 konsantrasyonunda hazırlanan kitosanın en iyi antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu antimikrobiyal etkinin depolamanın 9. gününde somon balıklarının toplam mezofilik ve psikrofilik içeriğinde sırasıyla yaklaşık 2 log kob/g ve 1 log kob/g azalış sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, somon balıklarının kitosan uygulamasıyla 5 günlük raf ömrünün 9 güne çıkarıldığını bildirmişlerdir.

Zheng ve Zhu (2003), farklı moleküler ağırlığındaki (5-305 kDa) kitosanların *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Çalışma

sonuçlarına göre kitosan konsantrasyonunun artışına bağlı olarak kitosanın antimikrobiyal etkisinin de arttığını, %1 konsantrasyonunda hazırlanan kitosanın, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı %100 inhibisyon oranına ulaştığını tespit etmişlerdir. Ayrıca moleküler ağırlığı arttığı zaman kitosanın antimikrobiyal etkisinin *S. aureus*'e karşı arttığını, ancak *E. coli*'ye karşı azaldığını bildirmişlerdir.

Liu vd. (2006), farklı konsantrasyon ve moleküler ağırlığına (55-155 kDa) sahip kitosanın *E. coli* üzerine antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak düşük molekül ağırlığına sahip kitosanın *E. coli* üremesi üzerine olan antimikrobiyal etkisinin, yüksek molekül ağırlığına sahip kitosandan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı molekül ağırlıkların tüm kitosanların 6 farklı konsantrasyonu (20, 50, 100, 200, 500 ve 1000 ppm) içerisinde 200 ppm ve üzerinde uygulanan kitosan uygulamalarının tümünün, *E. coli* bakterisine karşı iyi bir antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır.

Qin vd. (2006), suda çözünebilir farklı molekül ağırlığına sahip (1,3-400 kDa) kitosanın *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı önemli bir antibakteriyel aktivite göstermediğini, *Candida albicans*'e karşı ise belirgin bir antibakteriyel etkisinin olduğunu bulmuşlardır. Ancak, suda çözünemez asitte çözünebilir kitosanın bu üç bakteri üzerinde de önemli antibakteriyel etkisinin olduğunu ve en iyi antimikrobiyal etkiyi 50 MA suda çözünemez kitosan grubunun gösterdiğini saptamışlardır. Sonuçlara göre suda çözünebilir kitosanın antimikrobiyal bir ajan olarak uygun olmadığını ve 50 MA suda çözünemez kitosanın, asidik gıdalar için potansiyel bir koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Ye vd. (2008), soğuk tütsülenmiş somon balıklarında *L. monocytogenes* üremesi üzerine antimikrobiyal ajanlar [nisin, sodyum laktat (SL), sodyum diasetat (SD), potasyum sorbat (PS) ve sodyum benzoat (SB)] ile kombine edilmiş kitosan (düşük molekül ağırlığına sahip, %2 oranında) kaplamaların etkisinin araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre *L. monocytogenes* bakterisinin soğuk tütsülenmiş somon balıklarında buzdolabı şartlarında dahi yüksek seviyelerde üreyebildiğini tespit etmişlerdir. Ortam şartlarında (20 °C'de 10 gün) depolanan somon balıklarında görülen *L. monocytogenes* üremesine en iyi etkiyi kitosan ile kombine edilmiş 4,5 mg/cm² SL, 4,5 mg/cm² SL-0,6 mg/cm² PS ve 2,3 mg/cm² SL-500 IU/cm² nisin gruplarının etki ettiğini belirlemişlerdir.

9 mg/cm² SL ile kombine edilmiş kitosan kaplama grubunun *L. monocytogenes* üremesini yaklaşık 3,2 log kob/g azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca buzdolabı şartlarında 8 hafta süreyle depolanan somon balıklarında görülen *L. monocytogenes* üremesi üzerine en iyi etkiye kitosan filmler ile kombine edilmiş 4,5 mg/cm² SL grubunun sahip olduğunu bildirmişler ve bu ürünleri ticari olarak uygulamadan önce duyu analizlerle de desteklenmesi gerektiğinin vurgulamışlardır.

Fernandez-Saiz vd. (2010), balık çorbalarında *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *Salmonella* spp. bakteri türlerinin üremesi üzerine düşük molekül ağırlığına sahip kitosan (%90,8 DD) filmlerin etkilerini araştırmışlardır. %1,5 kitosan içecek şekilde hazırlanan kitosan filmlerin etkilerinin belirlenmesi amacıyla bakteri türlerini 3 farklı sıcaklıkta (4, 12 ve 37 °C) inkübe etmişlerdir. Sonuçlara göre, 40 mg ve 80 mg kitosan film eklenen balık çorbalarında bu üç patojen bakteri türünün üremesini tamamen durdurduğunu ve 25 günlük depolama süresince herhangi bir bakteri üremesi görülmediğini saptamışlardır. Bu grupları ise sırasıyla 20 mg ve 10 mg kitosan film eklenen grupların izlediğini, en çok üremenin ise kontrol grubunda olduğunu tespit etmişlerdir. İnkübasyon sıcaklığındaki artışa bağlı olarak bu patojen bakterilerin üremesi üzerine kitosan filmlerin etkisinin azaldığını, ayrıca kitosan filmlerin en iyi etkiyi *L. monocytogenes* üzerine gösterdiğini ve bunu sırasıyla *S. aureus* ve *Salmonella* spp. bakterilerinin izlediğini bildirmişlerdir.

Jung vd. (2010), farklı deasetilasyon derecesi ve viskoziteye sahip kitosanların antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, suda ve asitte çözünebilir iki farklı kitosanı %1'lik asetik asit içerisinde çözündürmüşlerdir. Kitosanın antibakteriyel etkisinin, kitosanın tipi ve bakteri türüne bağlı olarak değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Suda çözünebilir iki farklı deasetilasyon derecesine sahip %0,1'lik kitosan gruplarının *E. coli*, *V. parahaemolyticus*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 4 log kob/g (60DD)-5,39 log kob/g (80DD), 0,59 log kob/g (60DD)-0,48 log kob/g (80DD), 1,22 log kob/g (60DD)-4,05 log kob/g (80DD), 0,39 log kob/g (60DD)-0,77 log kob/g (80DD) ve 1,18 log kob/g (60DD)-1,54 log kob/g (80DD) oranlarında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak, %0,1 oranındaki suda çözünebilir bu kitosanın antibakteriyel aktivitesinin, %0,05'lik asit çözünebilir kitosandan daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle farklı DD'ye sahip %0,1'lik asit çözünebilir kitosan gruplarının, 14 farklı patojen bakterinin üremesini

tamamen kısıtladığını ve bu kitosan gruplarının kontrol grubuna göre 6,95-8,93 log kob/ml oranlarında antibakteriyel etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Jiang vd. (2011), soğuk tütsülenmiş somon balıklarında bulunan *L. monocytogenes* üremesinin kontrolü için uyguladıkları düşük molekül ağırlığına sahip kitosan kaplama/film ve kitosan ile kombine edilmiş antimikrobiyal katkıların (sodyum laktat (SL), sodyum diasetat (SD) ve potasyum sorbat (PS)) etkilerini araştırmışlardır. Bunun için soğuk tütsülenen somon balıklarının yüzeyine 4,4 log kob/g konsantrasyonu olacak şekilde *L. monocytogenes* inoküle etmişler ve balıklar %1 kitosan solüsyonu veya kitosan filmler ile kaplandıktan sonra vakum paketlenerek 4 °C'de 30 gün süreyle depolanmışlardır. Bakteri üremesinin özellikle herhangi bir kaplama uygulanmamış kontrol grubunda artış gösterdiği ve bu değerlerin depolama sonunda 6,9 log kob/g olduğunu bulmuşlardır. Depolama sonunda herhangi bir antimikrobiyal ilave edilmemiş kitosanın, *L. monocytogenes* üremesi üzerinde 3,2 log kob/g (kitosan kaplama) ve 3,6 log kob/g (kitosan film) oranında bir azalış sağladığını saptamışlardır. Ayrıca depolama sonunda soğuk dumanlanmış somon balıklarında görülen *L. monocytogenes* üremesi üzerine en etkili kitosan filmlerin $\geq 1,3$ log kob/g (%1,2 SL/%0,25 SD veya %2,4 SL), en etkili kitosan kaplamaların ise $\geq 2,8$ log kob/g (%1,2 SL/%0,25 SD veya %0,15 PS/%0,125 SD) değerinde bir azaltıcı etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Rodríguez-Núñez vd. (2012), *S. typhimurium* ve *S. aureus* bakterilerine karşı kitosan filmlerin antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada %1 (v/v) asetik asit içerisinde çözündürülerek hazırladıkları kitosan film disklerinin petri kutularında üremesi gerçekleşen *S. typhimurium* için %10,6 (%1 kitosan)-%31,3 (%3 kitosan) ve *S. aureus* için %10,3 (%1 kitosan)-%35,5 (%3 kitosan) çapında zon oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, farklı konsantrasyonlarda (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000 ppm) hazırlanan kitosan solüsyonlarında 24 saat süreyle inkübe edilen *S. typhimurium* ve *S. aureus* bakterilerinin en az üreme gösterdiği 2000 ppm kitosan grubunun kontrol grubuna (0 ppm kitosan) kıyasla, bakteriler üzerinde sırasıyla 2,1 log kob/g ve 1,40 log kob/g azalış sağladığını bildirmişlerdir.

Fernandez-Saiz vd. (2013), buzdolabı şartlarında (4 °C) 15 gün süreyle muhafaza ettikleri dil ve barlam balığı filetolarının mikrobiyal kalite kriterlerine kitosan filmlerin

etkisini araştırmışlardır. Çalışmada dūřuk molekūl ağırlığına sahip kitosanı (%83,3 DD) %2'lik asetik asit içerisinde özündürmüřler ve solūsyonda kitosanın oranını %3 olarak ayarlamışlardır. Daha sonra kitosan film ile kaplanan balıkların bir kısmına hava paketleme bir kısmına ise vakum paketleme uygulamışlardır. Kitosan ilavesiz hava ve vakum paket ile paketlenen dil ve barlam balıklarının toplam bakteri içeriğinin kabul edilen 7 log kob/g sınır değerini sırasıyla 8 ve 10. gūnlerde aştığını bulmuşlardır. Kitosan film uygulanan hava ve vakum paket gruplarında ise bu sınır değerinin 15 gūnlük depolama sūresince dahi aşılmadığını tespit etmişlerdir. *Pseudomonas* spp., laktik asit bakterileri ve H₂S üreten bakteri üremesi üzerine kitosan ve vakum paket kombinasyonunun iyi bir etki sağladığını, ancak kitosan film içermeyen hava ve vakum paket gruplarının bu bakteriler üzerinde en az etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca depolama sūresince hava ve vakum paketleme işleminin, balıklardaki *L. monocytogenes* üremesini engellemediğini, ancak bu paketlemelere kitosan film ilavesinin önemli katkı sağlayarak *L. monocytogenes* üremesine kısıtlayıcı bir etki sağladığını bildirmişlerdir.

Jiang vd. (2013), suda çözünebilir kitosan türevlerinin antimikrobiyal etkilerini belirlemek amacıyla bakteriler üzerine disk difūzyon metodunu uygulamışlardır. Çalışmada gram negatif ve gram pozitif patojen bakteriler üzerinde farklı molekūl ağırlığına (43 kDa ve 67 kDa) sahip kitosan türevleri kullanmışlardır. Sonuçlara göre kitosan türevlerin gram negatif bakterilerden *E. coli*, *Salmonella* ve *Vibrio* türlerinin üremesi üzerine ortalama zon büyüklüğünün sırasıyla 10,74 mm (43kDa ve 67 kDa), 9,82 mm (43 kDa)-0 mm (67 kDa) ve 11,09 mm (43 kDa)-11,34 mm (67 kDa) olduğunu bulmuşlardır. Gram pozitif bakterilerden *L. monocytogenes* ve *S. aureus* üremesi üzerine ise kitosan türevlerinin zon etkisinin sırasıyla 10,39 mm (43 kDa)-11,49 mm (67 kDa) ve 11,20 mm (43 kDa)-11,48 mm (67 kDa) olduğunu tespit etmişlerdir.

Rubio vd. (2018), yüksek molekūl ağırlığına (789 kDa ve 1017 kDa) sahip suda çözünebilir kitosanın bazı gram pozitif ve gram negatif patojen bakteriler üzerine antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışma grupları olarak; 789 kDa kitosan farklı oranlarda (%1, 2 ve 4) aspartik asit ve %1'lik asetik asit solūsyonunu içerisinde çözündürerek hazırlamışlardır. 1017 kDa kitosan %1, %2 ve %3 oranlarında aspartik asit ve %1'lik asetik asit solūsyonunu içerisinde çözündürerek hazırlamışlardır. Ayrıca,

kitosan ilave edilmeden %3'lük (w/v) aspartik asit ve %1'lik (v/v) asetik asit solüsyonları hazırlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanların, gram pozitif bakteriler üzerine olan antimikrobiyal etkisinin gram negatif bakterilerden daha fazla olduğunu saptamışlardır. %4'lük 789 kDa kitosanın *E. coli* üzerine en etkili grup olduğu ve *E. coli* üremesi üzerinde 2 log kob/g azalış sağladığını bulmuşlardır. Ancak, yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın *S. typhimurium* üremesine karşı önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. *V. parahaemolyticus* üzerine kitosan gruplarının antimikrobiyal etkisi *V. vulnificus* ve *V. cholerae* türlerine göre daha yüksek düzeylerde olduğunu ve konsantrasyona bağlı olarak yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın, *Vibrio* türlerinin üremesini tamamen kısıtladığını belirlemişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, aspartik asit içerisinde çözündürülen %2 ve %3'lük 1017 kDa kitosanın 96 saatlik inkübasyon süresi sonunda *S. aureus* üzerinde 3 log kob/g azalış sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, kitosan gruplarının *L. monocytogenes* üremesi üzerine önemli bir kısıtlayıcı etkisi olduğunu, 96 saatlik inkübasyon sonunda bu gruplarda üreme tespit edilemez iken kontrol grubunda 8,24 log kob/g olduğunu bildirmişlerdir.

1.8.2. Soğuk Muhafaza Şartlarında Depolanan Su Ürünlerinin Kalite Parametrelerine Kitosanın Etkisi Hakkında Çalışmalar

Tsai vd. (2002), karidesten elde ettiği kitin ve kitosanın antimikrobiyal etkisini belirlemek amacıyla, bu kitin ve kitosanı somon (*Oncorhynchus nereka*) filetolarının üzerine uygulamışlar ve ürünleri 4 °C'de 10 gün süreyle muhafaza etmişlerdir. %98 deasetilasyon derecesine sahip kitosanın, buzdolabında depolanan somon balığının raf ömrü üzerinde artırıcı bir etkisi olduğunu belirlemişlerdir. %1 kitosan ile muamele edilen balıklarda toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam aerobik psikrofilik bakteri (TAPB), toplam koliform (TK), *Vibrio* ve *Aeromonas* sayılarında kısıtlayıcı bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, depolama süresince somon filetolarının toplam uçucu bazik azot (TVB-N) içeriğine kitosanın etkili olduğunu ve DD'ye bağlı olarak bu etkinin de arttığını belirtmişlerdir. Depolama sonunda kontrol grubunun 5 gün raf ömrüne sahip olduğunu ve bunun %1 kitosan uygulanan somon balıklarında 9 güne çıkarıldığını bildirmişlerdir.

Jeon vd. (2002), Atlantik morina (*Gadus morhua*) ve ringa (*Clupea harengus*) balığının raf ömrünü arttırmak amacıyla balıkların üzerine farklı molekül ağırlığına sahip kitosan kaplama uygulamış ve balıkları 4 °C'de 12 gün süresince depolamışlardır. Kitosan kaplamanın morina ve ringa balığında nem kaybı, lipid oksidasyonu ve mikrobiyolojik üremeyi önlediğini tespit etmişlerdir. 900 kDa ve 1800 kDa molekül ağırlığına sahip kitosan ile kaplanan morina balığının nem kaybında gözlenen değerleri, kaplama uygulanmamış ve 660 kDa kitosan ile kaplanan gruplara göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Kontrol ve 600 kDa kitosan grubunun TVB-N içeriğini, morina balığı için depolamanın 8. gününde ve ringa balığı için 10. günde TVB-N için bildirilen limit değeri (30 mg N/100 g) üzerinde bulmuşlardır. 900 kDa ve 1800 kDa kitosan gruplarında tespit edilen TVB-N içeriğinin ise 12 günlük depolama süresince sınır değerleri aşmadığını bildirmişlerdir. Her iki balık türü için de tespit edilen toplam bakteri sayısının, kontrol grubunda depolamanın 6. gününde 6 log kob/g sınır değerini aştığını, ancak kitosan kaplama uygulanan grupların depolama süresince bu sınır değerinin altında kaldığını belirlemişlerdir. Ayrıca 1800 kDa molekül ağırlığına sahip kitosanın morina ve ringa balıkları üzerinde, 900 kDa ve 600 kDa molekül ağırlığına sahip kitosanlara kıyasla daha iyi bir koruyucu etkisi olduğunu tespit etmişlerdir.

Chhabra (2004), farklı konsantrasyonlarda (%0,5; %1 ve %2) hazırlanan kitosanın, 4 °C'de 15 gün süreyle depolanan istiridyeler üzerinde antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. Farklı konsantrasyonlar da hazırlanan tüm kitosan gruplarının inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmiştir. Farklı kitosan kaplama uygulanan istiridyelerin tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) içeriğinde depolama süresince artış gözlenmediğini ve gruplar arasında önemli farkların olmadığı tespit etmiştir. Mikrobiyolojik sonuçlara göre en yüksek etkiyi %2 kitosan solüsyonu ile muamele edilen grubun gösterdiğini ve bu grubu sırasıyla %0,5 ve %1 kitosan içeren grupların izlediğini ifade etmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan kitosanın antimikrobiyal bir materyal olarak kullanılabileceğini, fakat kitosanın antioksidan özelliğinin TBARS dışında farklı metotlarla da denemesi gerektiğini bildirmiştir.

Hammond (2004), farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları kitosanı Atlantik somonu (*Salmo salar*) üzerine uygulamış ve balıkların buzdolabı şartlarında (4 °C) muhafazası esnasında kitosanın antioksidan ve antimikrobiyal etkisini araştırmıştır.

Kitosanın antioksidan etkisinin konsantrasyona paralel olarak artış gösterdiğini, ancak bu etkinin et rengi üzerinde olumsuz bir etkiye neden olduğunu bildirmiştir. Kitosan ile muamele edilen balıkların mikrobiyal üreme açısından kısıtladığını ve bu kısıtlamanın konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiğini ifade etmiştir. Ayrıca, buzdolabı şartlarında 7 gün süreyle depolanan yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan ile muamele edilen grupların duyuşsal özelliklerinin, kontrol ve düşük molekül ağırlığına sahip gruplara göre panelistler tarafından daha çok beğeni kazandığını ve depolama süresince yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan grubunun en yüksek puan aldığını bildirmiştir.

Alak vd. (2010), palamut (*Sarda sarda*) filetolarının mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine kitosan film ile kaplama, modifiye atmosfer (MAP, %100 CO₂) ve vakum (VP) ambalajlamanın etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada en düşük pH değerine kitosan ile kaplanan palamut filetolarının, en yüksek ise kontrol grubuna ait örneklerin sahip olduğunu bulmuşlardır. Depolama süresince en düşük TAMB bakteri sayısının kitosan grubunda olduğunu ve bunu sırasıyla MAP, VP ve kontrol grubunun takip ettiğini bildirmişlerdir. Mikrobiyolojik olarak, kontrol ve VP grubu depolamanın 9. gününde, MAP grubunu ise 12. günde tüketilebilir sınır değer (6 log kob/g) üzerinde bulmuşlar, ancak kitosan grubunun 4 °C'de 15 günlük depolama süresince bu sınır değerini aşmadığını tespit etmişlerdir. Ancak, palamut filetolarının TBARS ve TVB-N içeriklerinin uygulanan kitosan kaplamalar ile önemli oranda yavaşlamadığını rapor etmişlerdir.

Souza vd. (2010), kitosan kaplama işleminin somon (*Salmo salar*) filetolarının raf ömrü üzerine etkilerini araştırmak amacıyla oluşturdukları çalışma gruplarını 0 °C'de 18 gün boyunca muhafaza etmişlerdir. Kitosan kaplama işlemi somon balıklarının pH, TBA, TMA ve TVB-N değerindeki artışını kısıtladığını bildirmişlerdir. Kontrol grubunun TVB-N ve TMA içeriğinin 15. günde sınır değerini aşarken, bu sınır değer kitosan kaplama uygulanan grupta 18. günde olduğunu bulmuşlardır. Kontrol ve kitosan kaplama uygulanmış somon balığının TBA içeriğinin ise sırasıyla depolamanın 12. ve 18. günlerde sınır değerini aştığını bildirmişlerdir. Kitosan ile kaplanan somon balıklarının toplam bakteri sayısının kontrol grubuna göre daha az olduğunu ve tüketilebilir sınır değerinin depolamanın 12. gününde kontrol grubunda, 18. gününde ise kitosan kaplama uygulanmış grupta aşıldığını belirtmişlerdir. Elde edilen kimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar

incelendiğinde, kitosan kaplama işleminin kontrol grubuna nazaran somon balıklarının raf ömrünü 3 gün artırdığını ifade etmişlerdir.

Runfeng ve Li (2011), farklı konsantrasyonlar (%1; %1,5; %2; %2,5 ve %3)'da hazırlanan kitosanın, buzdolabı şartlarında (4 °C) depolanan ot sazını (*Ctenopharyngodon idellus*)'nın raf ömrü üzerine etkilerini araştırmışlardır. Vakum paketlenerek depolanan çalışma gruplarının depolama süresince analiz edilen TVB-N, toplam bakteri ve duyuşal özelliklerine kitosan kaplamaların olumlu etkisinin olduğu tespit etmişlerdir. Ot sazınının TVB-N değeri üzerine %2'lik kitosan grubunun önemli etkisi olduğunu ve depolamanın 25. gününde kontrol grubunda 52,26 mg/100 g olan TVB-N değerinin, %2'lik kitosan grubunda 28,20 mg/100 g olduğu bulmuşlardır. Toplam bakteri sayısının kontrol grubunda depolamanın 10. gününden sonra limit değeri aştığını, ancak tüm konsantrasyonlardaki kitosan kaplama gruplarının 25 günlük depolama süresince bu sınır değerin altında kaldığını belirtmişlerdir. Özellikle, ot sazınının kalite kriterleri üzerine en iyi etkiyi %2'lik kitosan konsantrasyonun gösterdiğini ve bu kitosan grubunun buzdolabı muhafaza şartlarında ot sazınının raf ömrünü artırmak amacıyla kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Alak (2012), farklı çözücüler ile hazırlanan (%1,5 asetik asit, %1,5 laktik asit) kitosanın, uskumru (*Scomber scombrus*) filetoalarının kalite parametrelerine etkisini belirlemek amacıyla ürünleri buzdolabı şartlarında (4±1 °C) 9 gün süreyle depolamıştır. Her iki kitosan kaplamanın da depolama süresince uskumru filetoalarının kimyasal ve mikrobiyolojik değerleri üzerine etkisinin önemli olduğunu (p<0,05), ancak kontrol grubunun TBARS miktarının diğer kitosan kaplama gruplarından beklenmedik şekilde düşük olduğunu bulmuştur. Sonuç olarak kitosan kaplama uygulamasının, balıkların bozulmalarının azaltılması ve raf ömrünün arttırılmasında önemli ölçüde etkili olduğunu bildirmiştir.

Chamanara vd. (2012), yaptıkları çalışmada kitosan (molekül ağırlığı 190-310 kDa, deasetilasyon derecesi %75-85) kaplamaların etkisini belirlemek üzere gökkuşaağı alabalıklarını (*Oncorhynchus mykiss*) 15 gün süreyle buzdolabı koşullarında (5±1 °C) depolamışlardır. Bu amaçla 3 grup oluşturmuşlardır; Cs (kitosan %2 w/v), Cs+T (kitosan %2 w/v ve *Tymus vulgaris* yağı %1 v/v) ve C (kaplanmamış kontrol örnekleri). Tüm

örneklerin pH değerinin 3. günden sonra düştüğünü ve sonrasında depolama süresince arttığını bulmuşlardır. pH açısından maksimum artışın kontrol örneklerinde olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0,05$). Sertlik ve yapışkanlık açısından 15 günlük depolama süresince gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığını tespit etmişlerdir ($P>0,05$). Esneklik açısından kontrol grubu ile Cs grubu arasında önemli farklar bulmuşlardır ($P<0,01$). Sertlik ile su tutma kapasitesi arasında ters bir ilişki olduğunu, Cs örneklerinin su tutma kapasitesinin diğer gruplardan yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Duyusal değerlendirmeler neticesinde ise kontrol grubunun 9. günde kötü tat, koku ve renk değişimine sahip olduğunu, gökkuşağı alabalıklarının bu 8-9 günlük raf ömürlerinin kitosan ile kaplanan gruplarda en az 14 gün olduğunu bildirmişlerdir.

Mohan vd. (2012), buzlu depolama koşullarında sardalya (*Sardinella longiceps*) balıklarının kaliteleri üzerine %83 deasitilasyon derecesine sahip yenilebilir kitosan kaplamaların (%1 ve %2) etkinliğini araştırmışlardır. Kitosan kaplama işlemi uygulanan sardalya balıklarının daha uzun süre iyi duyuşal özelliklerini koruduğunu, uçucu bazlar ve oksidasyon ürünlerinin oluşumunu azalttığını tespit etmişlerdir. Kitosan kaplama uygulanan balıkların su tutma kapasitesi, damla kaybı ve tekstürel özelliklerinin herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farkların önemli olduğunu belirlemişlerdir. Depolama sonunda kontrol, %1'lik kitosan kaplama ve %2'lik kitosan kaplama gruplarının raf ömrünün sırasıyla 5 gün, 8 gün ve 10 gün olduğunu bildirmişlerdir.

Küçükgülmez vd. (2013), ekstrakte ettikleri kitosan ve ticari olan kitosanların farklı konsantrasyonlarının (%0,1 ve %1) etkisini tespit etmek amacıyla buzdolabı şartlarında (4 ± 1 °C) depoladıkları yılan balıklarının (*Anguilla anguilla*) renk, duyuşal ve mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir. 18 gün depolanan ürünlerin L^* , b^* , chroma, hue ve beyazlık değerlerinde iki tip kitosan kaplamanın da önemli etkisinin olmadığını ($P>0,05$), ancak kontrol grubunun a^* değerinin depolamanın son gününde kitosan kaplama gruplarından daha yüksek olduğunu bulmuşlardır ($P<0,05$). Toplam bakteri miktarının kitosan kaplama uygulanan ürünlerde kontrol grubuna göre daha yavaş olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak her iki tip kitosan kaplamanın yılan balıklarının raf ömrünü 5 günden 9 güne çıkardıklarını bildirmişlerdir.

Nowzari vd. (2013), gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerine kitosan-jelatin kaplama ve film paketlemenin etkisini belirlemek için, gökkuşacağı alabalığı filetoalarını buzdolabı şartlarında (4 ± 1 °C) 16 gün boyunca depolamışlardır. Gökkuşacağı alabalığındaki toplam bakteri sayısının depolama süresince artış gösterdiğini, kontrol grubunun depolamanın 8. gününde sınır değer olarak kabul edilen 7 log kob/g'ı aştığını, ancak kaplama uygulanan diğer gruplarda bu değer 16 günlük depolama sonunda sınır değer altında kaldığını bulmuşlardır. Depolama süresince tüm grupların TVB-N değerinin 25 mg N/100 g olarak kabul edilen sınır değer altında kaldığını, fakat en yüksek TVB-N değerinin kontrol grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Lipitlerin oksitlenmesi üzerine kitosan-jelatin kaplamanın, film paketlemeye kıyasla daha fazla koruyucu etkisi olduğunu ve bunun nedenini olarak antioksidan etkisini gösterebilmesi için kitosan aktif maddelerinin çözelti şeklinde geçişinin daha etkin olmasıyla kaynaklandığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak, kitosan-jelatin kaplama uygulanan ve film paketlenen ürünlerin iyi kalite özelliklerini koruduğunu ve buzdolabı şartlarında raf ömürlerini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Vatavali vd. (2013), bir buzdolabında buz içerisinde 20-22 gün süreyle muhafaza ettikleri kırmızı mercan (*Pagrus pagrus*) balığının mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal kalite özellikleri üzerine kitosan ve kekik esansiyel yağının etkilerini araştırmışlardır. Tüm grupların TBARS değeri 20 günlük depolama süresi boyunca 0,4 mg MDA/kg değerini aşmadığını, pH değerinin ise 6,6 (depolama başlangıcı) ile 6,9 (14. gün kontrol grubu) arasında değiştiğini saptamışlardır. TVB-N değerinin depolama süresince arttığı ve sınır değeri kabul edilen 30 mg N/100 g'ı kontrol grubunun 14. gün, %0,1 kekik esansiyel yağ katkı (OEO) grubun 16. gün, %2 kitosan katkı (CHI) grubun 20. gün aştığını, ancak kitosan ve kekik yağ kombinasyonu katkı (CHI+OEO, %0,1 v/w) grubun 20 gün süresince bu değerin altında kaldığını bildirmişlerdir. Mikrobiyolojik olarak ise toplam bakteri sayısının 7 log kob/g sınır değerini sırasıyla 14. gün (kontrol), 16. gün (OEO) ve 20. gün (CHI) aşıldığını, fakat CHI+OEO grubunun depolama sonunda bu limit değeri altında kaldığını tespit etmişlerdir. Mercan balıklarının duyuşal puanlamaları kontrol, OEO, CHI ve CHI-OEO grubunda sırasıyla 10. gün (tat açısından), 18. gün (tat açısından), 20. gün (hem tat hem koku açısından) ve 20. gün (tat açısından) tüketilebilir sınır değerinin altında kaldığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak, duyuşal, mikrobiyolojik ve fizikokimyasal sonuçlar baz alındığında kontrol grubunun yaklaşık 11-

12 gün raf ömrüne sahip olduğunu ve mercan balığının raf ömrünü OEO, CHI ve CHI-OEO uygulamalarının sırasıyla 3-4, 6-7 ve 8-9 gün uzattığını tespit etmişlerdir.

Bonilla vd. (2018), buzdolabı şartlarında (4 °C) 16 gün süreyle depolanan kanal yayın balıkları (*Ictalurus punctatus*) üzerine kitosan uygulama tekniklerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan orta molekül ağırlığına sahip kitosan (%0,5) %1'lik asetik asit içerisinde çözündürülmüştür. Oluşturulan kitosan solüsyonları kanal yayın balıklarına 3 farklı teknik kullanılarak uygulanmıştır: (1) sprey (SP, 100 gram balığa 15 ml kitosan solüsyonu), (2) daldırma (DP, 10 dk., 1:1 w/v) ve (3) vakum tambur (VC), 10 dk., 1:1 w/v). Ayrıca kitosan uygulanmamış kontrol grubu da oluşturmuşlardır. TVB-N açısından limit olarak kabul edilen 30 mg N/100 g değerinin; kontrol grubu için 8. günde, SP için 12. günde, DP ve VC için 16. günde aşıldığını tespit etmişlerdir. Kanal yayın balıklarının 16 günlük depolama süresince tüm gruplarda TBARS içeriğinde artış gözlemlendiğini, ancak depolama sonunda en yüksek değere sahip (0,5 mg MDA/kg) kontrol grubunun bile tüketilebilir limit değerinin (5 mg MDA/kg) çok altında kaldığını tespit etmişlerdir. Mikrobiyolojik sonuçlara göre kanal yayın balıklarının sınır değeri olarak kabul edilen 10^{-6} log kob/g değerinin kontrol grubunda 4. günde, SP ve DP grubunda 8. günde ve VC grubunda ise 12. günde aştığını bulmuşlardır. Sprey ve daldırma yöntemlerinin kanal yayın balıklarının renk ve kesme gücü değerlerinin depolama zamanına bağlı olarak daha az fiziksel değişim gösterdiğini saptamışlardır. Sonuç olarak kanal yayın balığı filetolarına vakum tambur yönteminin mikrobiyal raf ömrü açısından en etkili yöntem olduğu, ancak bu sonuçların duyuşal kabul edilebilirlik açısından da değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

1.8.3. Donmuş Muhafaza Şartlarında Depolanan Su Ürünlerinin Kalite Parametrelerine Kitosanın Etkisi Hakkında Çalışmalar

Theed vd. (1993), ticari kanal yayın balıklarının (*Ictalurus punctatus*) donmuş muhafazası (-18 °C) sırasında raf ömrü bozulmalarının 4 aylık depolama süreci içinde meydana gelebileceğini ve bu süreçte kanal yayın balıklarının doku, koku, renk, su tutma kapasitesi ve besin özelliklerinde istenmeyen değişimlere uğrayarak oksidasyon açısından güvenlik riskleri oluşturabileceklerini bildirmişlerdir.

Sathivel (2005), pembe somon (*Oncorhynchus gorbusha*) filetolarının üzerine %1 ve %2 oranlarında kitosan kaplama işlemi uygulamış ve polietilen torbalar içerine konulan balıkları 3 ay süresince -20 °C'de depolamıştır. Kitosan kaplanmış filetoların, kaplama uygulanmamış kontrol grubuna göre daha yüksek çözündürme verimine sahip olduğunu ve nem kaybını azaltmada daha etkili olduğunu ortaya konmuştur. Ayrıca, kitosan kaplamaların 3 aylık donmuş muhafaza süresince pembe karideslerde lipit oksidasyonunu ertelediğini, ancak bu grupların depolama süresince ölçülen L*, a* ve b* değerlerinin, kontrol grubundan farklı olmadığını bildirilmiştir.

Fan vd. (2009), donmuş depolama süresince gümüş sazanlarının (*Hypophthalmichthys molitrix*) kalitesi ve raf ömrü üzerine kitosan (160 MA ve %85 DD) kaplamanın etkisini araştırmak amacıyla oluşturulan ürünleri -3 °C'de 30 gün süreyle depolamışlardır. Başlangıçta sazan balıklarının toplam bakteri sayısının 2,9 log kob/g olduğunu ve bu değer depolamaya bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Kontrol grubunun toplam bakteri sayısının limit değeri olarak kabul edilen 7 log kob/g'ı depolamanın 25. gününde (7,1 log kob/g) aştığını, buna rağmen kitosan kaplama grubunun depolamanın 30. gününde (6,9 log kob/g) dahi sınır değer altında olduğunu bulmuşlardır. pH değerinin donmuş muhafaza şartlarında yavaş bir şekilde arttığını ve bu artışın kitosan grubunda daha da az olduğunu saptamışlardır. TVB-N miktarının 30 günlük depolama süresince tüm gruplarda limit değeri (35 mg/100 g) altında kaldığı ve depolama sonunda kontrol ve kitosan grubunun TVB-N miktarının sırasıyla 18,8 mg/100 g ve 30,2 mg/100 g olduğunu tespit etmişlerdir. Depolama süresince kitosan kaplama işleminin sazan balıklarının lipit oksidasyon zamanını önemli derecede kısıtladığını, kontrol grubunun TBA değerinin depolamanın 15. gününde sınır değerini (2 mg MDA/kg) aştığını, buna rağmen kitosan grubunun 30 günlük donmuş depolama sonunda bile 0,83 mg MDA/100 g düzeylerinde olduğunu bulmuşlardır. Duyusal değerlendirmeler sonucunda kitosan kaplama grubunun duyusal puanlarının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu ve depolama süresince tüketilebilir sınır değerlerin içerisinde kaldığını, ancak kontrol grubunun depolamanın 25. gününde sınır değerini aştığını bildirmişlerdir.

Duan vd. (2010), kitosan kaplama uyguladıkları morina (*Ophiodon elongates*) balığı filetolarını -20 °C'de 3 ay muhafaza etmişler ve depolama süresince balıkların fizikokimyasal, mikrobiyal ve lipit kalite parametrelerinde meydana gelen değişimleri

incelemişlerdir. Başlangıçta kitosan kaplanmış ve kaplanmamış balıklarda 6,76-7,05 arasında tespit edilen pH değerinin, donmuş muhafazanın birinci ayında 6,50-6,61 değerine düştüğünü ve depolama süresince pH değerinin 6,40-6,61 arasında kaldığını saptamışlardır. Donmuş muhafaza süresince morina balıklarının renk değişimleri üzerine kitosan kaplama işleminin herhangi bir etkisinin olmadığını, tüm gruplarda L* değerinin depolamaya bağlı olarak azaldığını, ancak a* ve b* değerlerinin ise düzensiz değişimler gösterdiğini bildirmişlerdir. Taze morina balıklarında 4,19 mg MA eq/kg olan TBARS değerinin depolama süresince tüm gruplarda inişli çıkışlı değerler aldığı, depolamanın 1. ayında gruplar arasındaki farkların önemsiz olduğunu, ancak depolamanın 2. ve 3. aylarında kaplama uygulanmış grupların TBARS değerinin, kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, donmuş muhafaza süresince morina balıklarının toplam mezofilik ve psikrofilik bakteri üremesini kitosan kaplama işleminin sınırladığını ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kitosan kaplama uygulanan grupların bakteri sayısının önemli düzeyde düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Dey ve Dora (2011), *Johnius gangeticus* balığından elde edilen surimi üzerine kriyoprotektan (donma koruyucusu) olarak kitosan uygulamışlar ve 180 gün boyunca donmuş muhafaza şartlarında (-20 °C) depolamışlardır. Depolama süresince pH değerinin değişmediğini ve gruplar arasında istatistiksel farklılıkların olmadığını bildirmişlerdir. Depolama başlangıcında kontrol ve % 1 kitosan uygulanmış grupların TVB-N miktarının sırasıyla 4,8 mg/100 g ve 4,4 mg/100 g olduğunu ($P>0,05$), 180 günlük depolama sonunda ise bu değerlerin yine sırasıyla 18,3 mg/100 g ve 13,8 mg/100 g'a yükseldiğini bulmuşlardır ($P<0,05$). Donmuş depolama süresince kitosan uygulamasının tekstür değerleri üzerine koruyucu etki gösterdiğini ve kitosan grubunun tekstür değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Duyusal olarak değerlendirilen balıkların genel kabul edilebilirliği üzerine kitosan uygulamanın herhangi bir olumsuz etkisinin gözlenmediği, hatta depolama sonunda genel kabul edilebilirlik açısından kitosan grubunun kontrol grubuna nazaran daha yüksek puan aldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak kitosan uygulama işleminin balıkların donmuş depolama süresince fizikokimyasal, biyokimyasal ve duyusal kalite parametrelerinde meydana gelen olumsuz değişimleri minimize ettiğini tespit etmişlerdir. Bu sayede balıkların donmuş muhafazası esnasında kas proteinlerinin doğal yapısını korumak amacıyla

kullanılan sakkaroz ve sorbitol'a alternatif bir kriyoprotektan olarak kitosanın kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Turan (2011), dondurularak depolanan fileto gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kalitesine kitosan ile glazelemenin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla çalışmada; kitosanla (%1 w/w, KG), asetik asitle (%1 w/w, AG), su (SG), glazeli ve glazesiz kontrol grubu olmak üzere 4 farklı çalışma grubu oluşturmuşlar ve ürünleri -18 °C'de 6 ay süreyle depolamışlardır. Kitosan ile kaplamanın, ürünlerin renk kaybında meydana gelen değişimleri kısıtladığını ve depolama süresince en yüksek aydınlık (L*) değerinin KG grubunda ve en düşük L* değerinin kontrol grubunda gözlendiğini bildirmişlerdir. Kırmızılık (a*) değerinin glazeli gruplarda depolama ile arttığı ancak kontrol grubunda değişmediğini, ayrıca sarılık (b*) değerinin depolamaya bağlı olarak tüm gruplarda düştüğünü ve en fazla düşüşün kontrol grubunda en az düşüşün ise KG grubunda olduğunu bulmuşlardır. pH değerinin depolama süresince tüm gruplarda arttığını ve en yüksek pH değerini kontrol ve SG gruplarında belirlemişlerdir. En düşük pH değerini ise %1 asetik asit içeren AG grubunda tespit etmişlerdir. TVB-N değeri açısından alabalıkların tüm gruplarda depolamaya bağlı olarak arttığını, ancak hiçbir grubun TVB-N için bildirilen tüketilebilir sınır değerinin (35 mg/100 g) üzerine çıkmadığını saptamışlardır. Fakat depolama sonunda TVB-N değeri en yüksek kontrol grubunda (32,53 mg/100 g), en düşük ise KG grubunda (23,28 mg/100 g) tespit etmişlerdir. Depolama başlangıcında 1,07-1,49 mg MA/kg arasında tespit edilen TBA değerinin de depolama süresince arttığını, ancak en çok artışın kontrol grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Depolama sonunda en yüksek TBA değerinin glazesiz kontrol grubunda (7,19 mg MA/kg), en düşük ise KG grubunda (3,98 mg MA/kg) tespit etmişlerdir. Sonuç olarak glazelemenin 6 aylık donmuş muhafaza şartlarında depolanan gökkuşuğu alabalık filetolarında protein ve lipit oksidasyonunu geciktirdiğini ve kitosan ile glazelemenin gökkuşuğu alabalıklarının kalitesini korumada etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Soares vd. (2015), endüstriyel dondurma kabinlerinde (-22 °C) depolanan Atlantik somon (*Salmo salar*) balığının kalite parametrelerini korumak amacıyla uyguladıkları glaze ve kitosan kaplamaların etkisini araştırmışlardır. Somon balıklarının toplam bakteri üremesi üzerine kitosan kaplama işleminin kısıtlayıcı bir etkisinin olduğunu ve depolamanın 181. gününde kontrol ve glaze uygulanmış grupların toplam bakteri

sayısının sırasıyla 4,42 log kob/g ve 3,65 log kob/g olduğunu, ancak %0,5 ve %1,5 kitosan uygulanmış gruplarda toplam bakteri sayısının tespit edilebilir limit değerlerin altında olduğunu belirlemişlerdir. Depolama süresince su kaybının artış gösterdiğini ve bu artışın kitosan gruplarında daha az olduğunu bulmuşlardır. Renk değişimlerinin %1,5 kitosan uygulanan somon balıklarında daha az olduğunu saptamışlardır. Somon balıklarının pH değerinin depolamanın 40. gününden itibaren azaldığını ve depolamanın 182. gününde gruplar arasında farkların olmadığını tespit etmişlerdir. Ancak, depolama sonunda kitosan kaplama uygulanmış somon balıklarının TVB-N miktarının kontrol grubuna göre daha yüksek, glaze grubuna göre ise daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Chouljenko vd. (2017), kriyojenik olarak dondurulmuş (-20 °C'de 120 gün) karideslerin (*Litopenaeus setiferus*) kalitesi üzerine kitosan nanopartikülleri ile vakum tamburun etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla 4 farklı solüsyon hazırlamışlardır. Bunlar; %1'lik asetik asit solüsyonu (AA, %1), %1'lik asetik asit içerisinde çözündürülen %0,5 kitosan solüsyonu (CH), %1'lik asetik asit içerisinde çözündürülen %0,167 sodyum tripolifosfat (TPP) solüsyonu ve %0,167 TPP eklenmiş kitosan solüsyonu (CH-TPP) şeklindedir. Karidesler daha sonra hazırlanan solüsyonlar ile vakum tamburlanarak kriyojenik olarak dondurulmuştur. Ayrıca herhangi bir solüsyon uygulanmadan sadece distile su ile vakum tambur edilen kontrol grubu da oluşturulmuştur. CH ve CH-TPP grupları diğer gruplar ile karşılaştırıldığında tüm depolama süresince daha düşük toplam aerobik bakteri sayısına sahip olduğunu ve bu grupların muamele edilmiş karideslerin renk, doku ve nem içeriğini koruduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, CH ve CH-TPP gruplarının diğer gruplara kıyasla yağ oksidasyonu üzerinde en fazla kısıtlayıcı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Soares vd. (2017), donmuş muhafaza (-18 °C) süresince Atlantik somon (*Salmo salar*) balığının organoleptik ve fizikokimyasal özellikleri üzerine glaze ve kitosan kaplamanın etkilerini araştırmışlardır. Taze somon balıklarının TVB-N miktarının 10,76 mg N/100 g olduğunu, glaze ve kitosan uygulamanın etkisiyle bu değer hafif düştüğünü ve 6 aylık depolama sonunda glaze ve kitosan gruplarının TVB-N miktarının sırasıyla 9,13 mg N/100 g ve 9,37 mg N/100 g olduğunu bulmuşlardır. Toplam bakteri sayısı üzerine kitosan kaplama işleminin önemli etkisi olduğunu ve depolama sonunda kitosan grubunun (tespit edilebilir limit değeri altında) toplam bakteri sayısının, kontrol (2,60 log

kob/g) ve glaze (2,44log kob/g) gruplarına göre önemli derece de düşük olduğunu bildirmişlerdir. Somon balığının tekstür (sertlik, çiğnenebilirlik, bağlılık ve elastikiyet) değerinde meydana gelen değişimlerin önemsiz olduğunu ve farklı kaplama uygulama işlemleri arasında önemli farkların olmadığını belirlemişlerdir. Duyusal açıdan değerlendirildiğinde ise panelistler kitosan kaplamanın somon balıklarına negatif yönde bir etkisi olmadığını, hatta görünüş ve renk gibi duyusal kriterler açısından kitosan kaplamanın olumlu katkılar sağladığını tespit etmişlerdir.

Dünya çapında, deniz ürünleri üreticisi şirketler tarafından büyük miktarda yengeç ve karides kabuğu değerlendirilmeden çevreye atılmaktadır. Özellikle son yıllarda atıkların yeniden değerlendirilmelerinin gündeme gelmesiyle birlikte, kabuklu su ürünleri çürümeye bırakılmak yerine, kimyasal veya biyolojik yöntemlerle yeniden değerlendirilmekte ve yeni ürünler elde edilmektedir. Bu şekilde edilen ürünlerin başında kitin ve başlıca türevi olan kitosan gelmektedir (Shahidi vd., 1999).

Gelişen teknolojiyle beraber gıdaların paketlenmesi ve depolanmasında yenilebilir film uygulamalarının önemi oldukça artmıştır. Kitosan; antitümör, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve hipokolesterolemik fonksiyonları nedeniyle daha iyi kalite ürünlerin geliştirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmakta ve bu araştırmalar güncel bir şekilde devam etmektedir. Kitosanın bu özellikleri sayesinde gelecek vaat eden bir ürün olduğu görülmektedir. Literatürde de görüldüğü üzere su ürünlerinin muhafazası ve raf ömrünün artırılması amacıyla kitosanın etkili bir şekilde kullanılabileceği farklı kaynaklarda yer almıştır. Bu konuda yapılmış olan çalışmalarda, asidik ortamda çözünen, düşük ve orta molekül ağırlığına sahip suda çözünebilir kitosan kullanılmıştır. Doğal antimikrobiyal ve antioksidan madde olan kitosan, nötral ve alkali pH değerlerinde çözünmez; fakat asidik pH derecelerinde çözünebilme yeteneği kazanır. Ancak asit kullanımı, çeşitli gıda uygulamalarında bir sınırlama olarak istenmeyen tat ve koku (keskin) sorununu ortaya çıkmaktadır. Bu problemin çözümü için suda çözünebilir kitosan üzerine geniş ölçüde çalışmalar yapılmıştır.

Literatürde yenilebilir kitosan kaplamalar ile çalışmalar mevcut olsa da gıdaların raf ömrü üzerine suda çözünebilir ve yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan kaplamaların etkisi çalışılmamıştır. Buna ek olarak, su ürünlerine uygulanan suda

özünür yüksek moleköl ağırlıklı kitosanın etkisine çok az sayıda çalışmada değinilmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonda (%3) hazırlanan yüksek moleköl ağırlığına sahip kitosan şimdiye kadar çalışılmamıştır. Bu kapsamda, suda çözünebilir yüksek moleköl ağırlığına sahip kitosan kaplamaların, kanal yayın balıklarının raf ömrüne ve kalite özelliklerine etkilerinin araştırılması ve bu kitosanların gıda kaynaklı bazı patojen (*E. coli*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*) bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi hedeflenmiştir.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

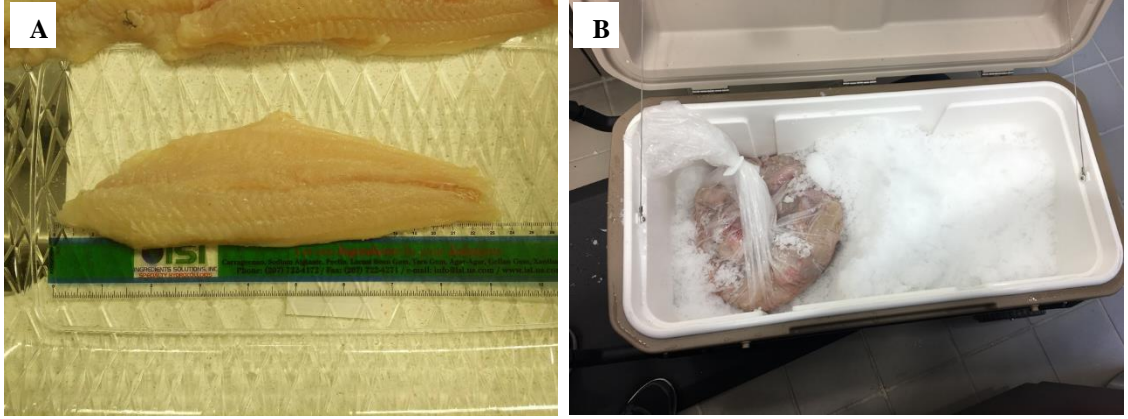
2.1. Materyal

2.1.1. Balık

Araştırma süresince üç farklı çalışma yürütülmüş olup bunlardan ilki olan bakteri inokülasyon çalışması için Amerika Birleşik Devletleri Louisiana Eyaleti Baton Rouge şehrinde bulunan yerel bir marketten temin edilen, $154,64 \pm 13,38$ g ortalama ağırlığına ve $24,79 \pm 2,95$ cm boyuna sahip donmuş kanal yayın balığı (*Ictalurus punctatus*) filetoları kullanılmıştır (Şekil 4). Soğuk muhafaza ve donmuş muhafaza şartlarında gerçekleştirilen 2. ve 3. çalışmalar için ise Amerika Birleşik Devletleri Louisiana eyaletinde aktif olarak üretim yapan özel bir işletmeden temin edilen $146,37 \pm 5,96$ ortalama ağırlığına ve $22,85 \pm 1,95$ cm ortalama boyuna sahip toplam 512 adet kanal yayın balığı filetoları kullanılmıştır (Şekil 5a). İşletmeye taze olarak temin edilen balıkların ölüm sırasında kalite kaybını aza indirmek amacıyla ilk olarak balıklara elektroşok uygulanarak ölümleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra otomatik bir bant üzerinde ilerleyen balıkların başları ayrılarak iç organları temizlenmiş ve fileto işleminden sonra balıklar buzlu strafor kutular (Şekil 5b) içerisinde Louisiana State Üniversitesi Animal and Food Science laboratuvarına getirilerek aynı gün içerisinde işleme alınmıştır.



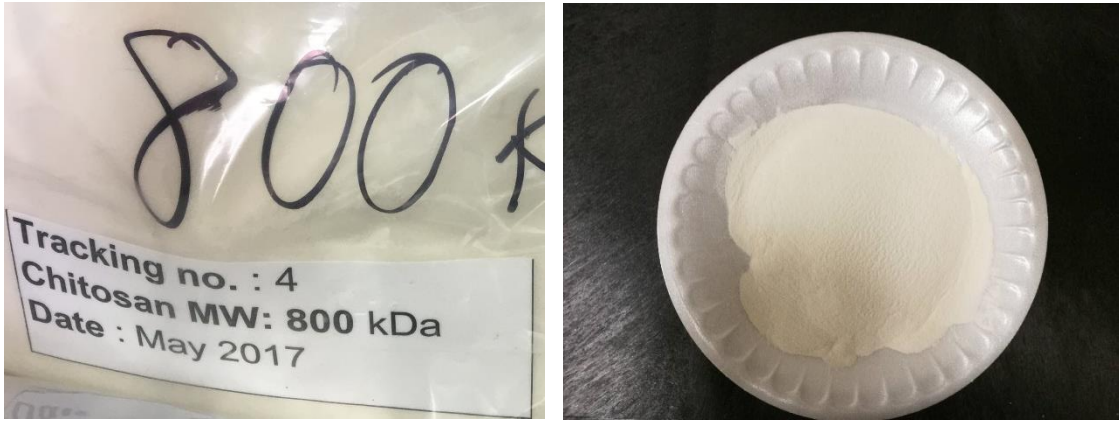
Şekil 4. İnokülasyon çalışmasında kullanılan kanal yayın balığı filetosu ve paket görüntüsü



Şekil 5. Soğuk ve donmuş muhafaza çalışmalarında kullanılan kanal yayın balığı filetosu (A) ve soğuk zincir uygulaması (B)

2.1.2. Kitosan

Çalışmada Alaska kar yengecinden elde edilen yüksek molekül ağırlığına sahip suda çözünebilir kitosan kullanılmıştır (Şekil 6). Kitosan, G.T.C Union Group L.T.D. (Qingdao, Çin) şirketinden temin edilmiş ve kitosanın özelliklerine ait bilgiler Tablo 1’de verilmiştir.



Şekil 6. Çalışmada kullanılan kitosan

Tablo 1. Çalışmada kullanılan kitosanın özellikleri

Kitosanın özellikleri	Standart	Sonuç
Moleküler ağırlığı (kDa)	-	800,00
Deasetilasyon derecesi (%)	85	85,70
Viskozitesi (cps)	500-1000	753,00
Çözünmeyen madde içeriği (%)	%1 en yüksek	0,27
Kül içeriği (%)	%1 en yüksek	0,66
Nem içeriği (%)	%10 en yüksek	8,35

2.1.3. Bakteriler

İnokülasyon çalışmasında *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Vibrio cholerae* ATCC 14035, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Listeria monocytogenes* V7 (serotip 1/2a) bakteri türleri kullanılmıştır. Bu patojen bakteri kültürleri Louisiana State University, Agricultural Chemistry Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. İnokülasyon Çalışmasında Kullanılan Bakterilerin Hazırlanması

-80 °C’de depolanmış olan bakteriler farklı zenginleştiriciler kullanılarak tekrar aktive edilmişlerdir. Bu işlem için her bakteri suşu 10 ml ilgili broth içeren tüpler içerisinde 37 °C’de bir gece inkübe edilmiştir. Zenginleştirici olarak, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 için Brain Heart Infusion broth (BHI); *Vibrio cholerae* ATCC 14035 ve *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802 için Alkaline Peptone Water (APW); *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* için Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) broth kullanılmıştır. Daha sonra her bakteri türü sorumlu kolonilerini izole etmek amacıyla seçici besiyerlerine ekilmiştir. *E. coli*, Cefixime ve Tellurite eklenen Sorbitol MacConkey (CT-SMAC) agar içerisinde 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. *S. typhimurium*, Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar içerisinde 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus*, Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose (TCBS) agar içerisinde 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. *S. aureus*, Mannitol Salt Agar (MSA) içerisinde 37 °C’de 24 saat ve *L. monocytogenes*, Modified Oxford Listeria Supplement eklenen Oxford Listeria Agar (MOLS-OLA) içerisinde 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, morfolojik ve reaksiyonel olarak uygun olan her bakteri zincirinin tek kolonisi seçilerek 10 ml ilgili zenginleştirici bulunan tüplere transfer edilmiş ve bir gece 37 °C’de inkübe edilerek çoğaltılmıştır. İnkübasyondan sonra ilgili tüpler içerisinde çoğaltılan bakteriler inokülasyon işlemi için hazır hale getirilmiştir.

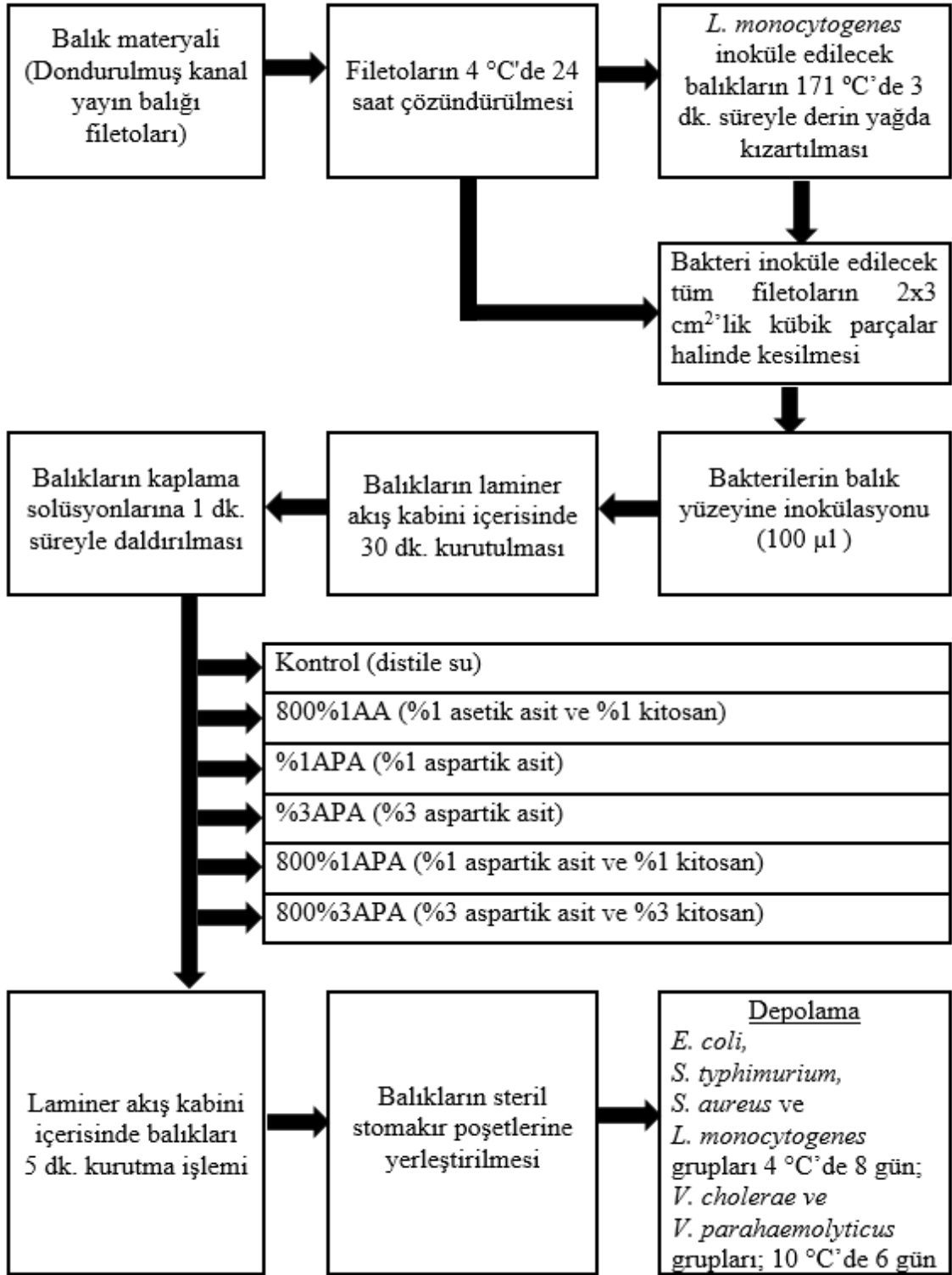
2.2.2. Kaplama Solüsyonlarının Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılmak üzere 6 farklı kaplama solüsyonu beherler içerisinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile 65 °C’de 40 dakika boyunca karıştırılarak hazırlanmıştır (Ek Şekil 1). Her bir çalışma için ayrı ayrı hazırlanan solüsyon grupları aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

- 1) **Kontrol:** Sadece 1000 ml distile su kullanıldı (herhangi bir kaplama uygulanmadı),
- 2) **800%1AA:** 10 g kitosan (%1, w/v) ve 10 ml asetik asit (%1, v/v), toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak çözündürüldü (literatürde yaygın olarak kullanılan mevcut bir uygulamadır),
- 3) **%1APA:** 10 g aspartik asit (%1, w/v), toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak çözündürüldü (bu grup sadece inokülasyon çalışmasında kullanıldı),
- 4) **%3APA:** 30 g aspartik asit (%3, w/v), toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak çözündürüldü,
- 5) **800%1APA:** 10 g kitosan (%1, w/v) ve 10 ml aspartik asit (%1, w/v), toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak çözündürüldü (literatürde olmayan bizim yeni çalışma grubu, bu grup sadece inokülasyon çalışmasında kullanıldı).
- 6) **800%3APA:** 30 g kitosan (%3, w/v) ve 30 ml aspartik asit (%3, w/v), toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak çözündürüldü (literatürde olmayan bizim yeni çalışma grubu).

2.2.3. İnokülasyon İşleminde Kullanılan Balıkların Hazırlanması, İnokülasyonu ve Kaplanması

Donmuş olarak satın alınan kanal yayın balıkları inokülasyon çalışmasından 24 saat önce buzdolabına alınarak çözünmesi sağlanmış ve daha sonra 25 g olacak şekilde yaklaşık 2x3 cm²'lik kübik parçalar halinde kesilmiştir (Ek Şekil 2a). Sadece *L. monocytogenes* grubu için balıklar yağ içerisinde 171 °C'de 3 dakika derin kızartma işlemine tabi tutulduktan (Ek Şekil 2b) sonra oda sıcaklığında balıkların kurumasına izin verilmiştir. Tüm bakteri gruplarında ani sıcaklık şokundan kaçınmak için balıklar laminar akış kabini altında 30 dakika iklimlendirilmiştir. Daha sonra farklı yoğunluğa sahip olan her bakteri kültürü (*S. typhimurium*: 5,53 log kob/g; *E. coli*: 4,34 log kob/g; *V. cholerae*: 2,90 log kob/g; *V. parahaemolyticus*: 3,48 log kob/g; *S. aureus*: 4,42 log kob/g; *L. monocytogenes*: 4,61 log kob/g), kendi çalışma grubunda ayrı bir otomatik pipet yardımıyla 100 µl miktarında balıkların yüzeyine inoküle edilmiştir (Ek Şekil 2c). İnoküle edilen balıklar, bakterilerin nüfuz etmesi için laminar bir akış kabini altında 30 dakika daha bekletilmiştir (Ek Şekil 2d). Ardından balıklar 1 dakika süreyle kaplama solüsyonlarına daldırılarak tekrar laminar bir akış kabini altında 5 dakika kurutulmuştur (Ek Şekil 2e). Kaplama uygulanarak kurutulan bu örnekler Whirl-Pak torbalarına konularak *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus* inoküle edilmiş balık grupları hariç (6 gün) örnekler 8 gün süre ile buzdolabında depolanmıştır (Ek Şekil 2f). Depolama süresince *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* ve *L. monocytogenes* için 4±1 °C, *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus* için 10±1 °C sıcaklık koşulları uygulanmıştır (Şekil 7). Tüm gruplar her iki günde bir (0, 2, 4, 6 ve 8) 10⁻¹ ile 10⁻⁶ seyreltme solüsyonları kullanılarak analiz edilmiş ve her bakteri grubundan her analiz günü için 2 paket kullanılarak 2 tekerrür yapılmıştır.



Şekil 7. İnokülasyon çalışmasının akış şeması

2.2.4. Kanal Yayın Balıklarına İnoküle Edilen Bakterilerin Belirlenmesi

İnokülasyon çalışmasında ise kanal yayın balıklarına yüzey inokülasyonu amacıyla kullanılan 4 gram negatif (*E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. typhimurium* ATCC 14028, *V. parahaemolyticus* ATCC 17802 ve *V. cholerae* ATCC 14035) ve iki gram pozitif (*S. aureus* ATCC 29213 ve *L. monocytogenes* V7 (serotip 1/2a) bakterinin belirlenmesi amacıyla her bir bakteri türü için spesifik mikrobiyolojik analiz gerçekleştirilmiştir. Daha önceden inokülasyon işlemi için hazır hale getirilen bakterilerin analizi için içerisinde 25 g balık bulunan Whirl-Pak torbalarına seyreltme sıvısı olarak 225 ml PBS eklenmiş ve 1 dk. süreyle stomakır cihazında homojenize edilmiştir. Homojen edilen örnekler PBS ile hazırlanan seri ondalık dilüsyonlar kullanılarak 10^{-6} 'ya kadar seyreltilmiştir. Her seyreltmeden iki paralel olmak üzere, her bir bakteri türü yayma yöntemi kullanılarak spesifik katı besiyerlerine 0,1 ml miktarında ekilmiştir. Daha sonra bakteri sayımı amacıyla petriler, *E. coli* için CT-SMAC besiyerinde 37 °C'de 48 saat; *S. typhimurium* için XLD Agar besiyerinde 37 °C'de 24 saat; *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* için TCBS Agar besiyerinde 37 °C'de 24 saat; *S. aureus* için MSA besiyerinde 37 °C'de 24 saat; *L. monocytogenes* için MOLS-OLA besiyerinde 37 °C'de 48 saat süreyle inoküle edilmiştir. İnokülasyondan sonra üreme görülen petri plaklarında 25-225 koloni içerenler dikkate alınarak bakterilerin sayısı hesaplanmış ve sonuçlar logaritmik olarak ifade edilmiştir (Karsli vd., 2018).

2.2.5. Soğuk ve Donmuş Muhafaza Çalışmasında Kullanılan Balıkların Hazırlanması ve Kaplanma İşlemleri

Soğuk ve donmuş muhafaza çalışması için temin edilen kanal yayın balıkları yukarıda (Bölüm 2.2.2) belirtilen farklı kaplama solüsyonları (kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA) içerisinde 1 dakika daldırma yöntemiyle kaplanmışlardır (Ek Şekil 3a). Daldırma işleminden sonra balık filetoalarının oda sıcaklığında 5 dk. kurumasına izin verilmiştir (Ek Şekil 3b). Kurutulan örnekler 22,5 cm çapındaki strafor tabaklar içerisinde 2 fileto olacak şekilde yerleştirilerek (Ek Şekil 3c) streç film ile kaplanmıştır (Ek Şekil 3d). Paketlenen bu ürünlerden başlangıç (0. gün) analizi için örnekler ayrılmış ve geri kalanlar soğuk muhafaza çalışması için +4 °C'de 12 gün süreyle, donmuş muhafaza çalışması için -20 °C'de 6 ay süreyle depolanarak muhafaza edilmiştir (Ek

Şekil 3e). Soğuk muhafaza çalışmasında örnekler 0., 3., 6., 8., 10. ve 12. günlerde, donmuş muhafaza çalışmasında ise 0. günden sonra aylık (1., 2., 3., 4., 5. ve 6. ay.) olarak analizler gerçekleştirilmiştir (Şekil 8). Donmuş muhafaza çalışmasında örnekler analiz öncesi 4 °C’de 24 saat süreyle çözündürülmüşlerdir. Her iki çalışmada da her bir grup için rastgele 3’er tabak alınarak 3 tekerrürlü olarak analizleri gerçekleştirilmiştir.

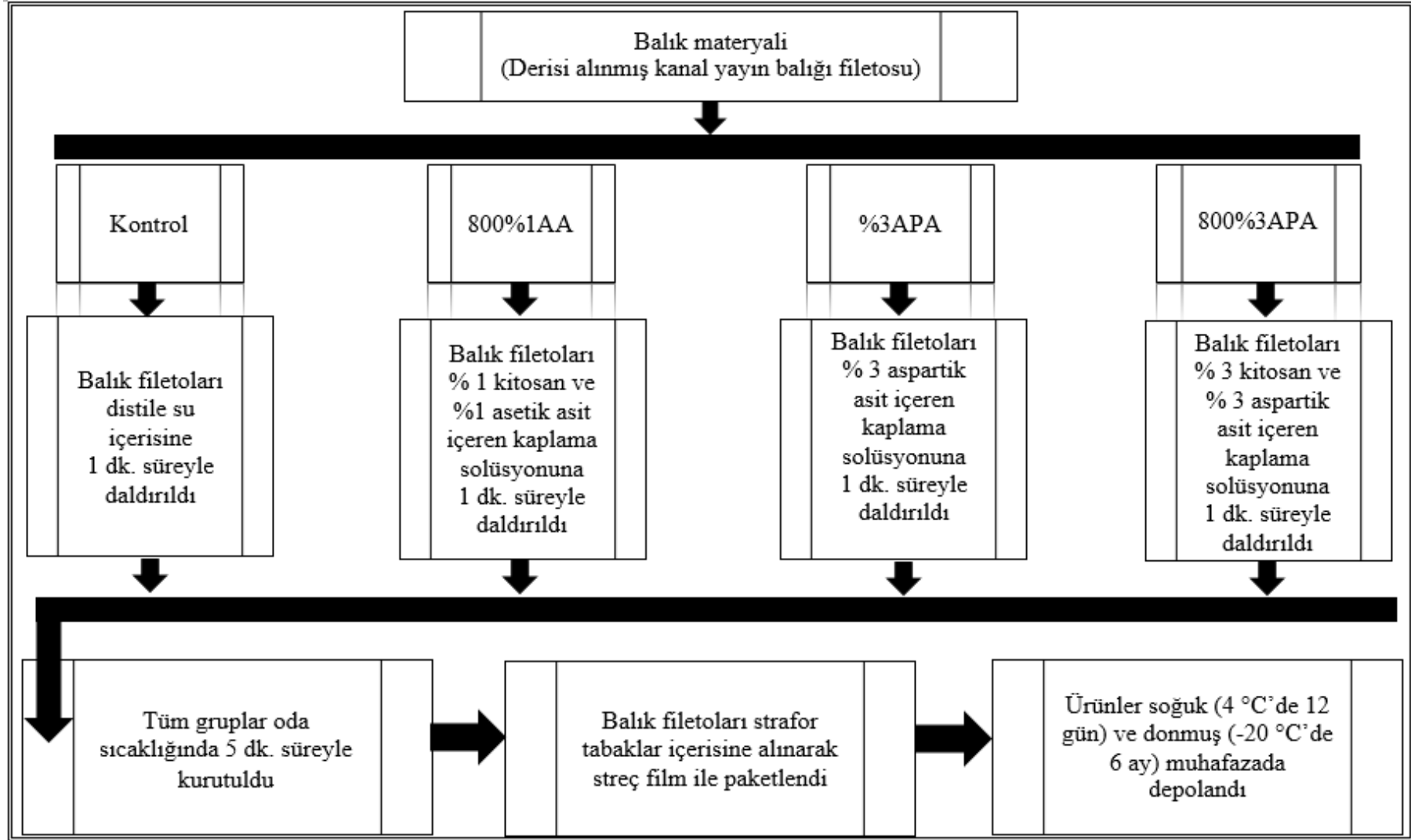
2.2.5.1. pH Analizi

Kanal yayın balığı filetolarından homojen olarak tartılan 10 g örneğin üzerine 100 ml distile su eklenmiş ve bu karışım 60 saniye süresince bir homojenizatör (Ultra-Turax IKA T18, Almanya) yardımıyla parçalanarak karıştırılmıştır. Elde edilen homojen karışım bir dijital pH metre (Mi-180, MARTINI Instruments, Amerika) kullanılarak ölçülmüştür (Kyra vd., 1997).

2.2.5.2. Ağırlık Kaybı

Ağırlık kaybı analizi yalnızca donmuş muhafazada kullanılan örnekler için gerçekleştirilmiştir. Farklı kaplama solüsyonları uygulanan kanal yayın balıklarının ağırlıkları dondurulmadan önce tartılmıştır (W_1). Daha sonra dondurularak muhafaza edilen örnekler her 30 günde bir analiz edilmek için 4 °C’de 24 saat süre ile çözündürülmüş ve örneklerin ağırlıkları tekrar tartılmıştır. Hesaplamalarda aşağıdaki formül kullanılmıştır (Li vd., 2017b).

$$\text{Ağırlık kaybı (\%)} = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100 \quad (1)$$



Şekil 8. Soğuk ve donmuş muhafaza çalışmalarının akış şeması

2.2.5.3. Pişirme Kaybı

Pişirme kaybının belirlenmesi için donmuş muhafazada kullanılan örnekler 4 °C’de 24 saat süre ile çözündürülmüştür. Soğuk muhafaza kullanılan örnekler ise direkt olarak kullanılmıştır. Bunun için balık örnekleri 1 cm³’lük parçalara bölünmüş ve tartılarak (W1) sıcaklığa dayanıklı kilitli poşetler (ziplock) içerisine konulmuştur. Bu poşetler daha önceden 85 °C sıcaklığa ayarlanmış bir su banyosu içerisinde 15 dakika tutulmuştur. Daha sonra bu pişmiş örnekler oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmuş ve kilitli poşetlerden çıkarılan örnekler tekrar tartılarak (W2) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Feng vd., 2016).

$$\text{Pişirme kaybı (\%)} = (W_1 - W_2)/W_1 \times 100 \quad (2)$$

W₁: örneklerin ilk ağırlığı

W₂: pişirildikten sonra örneklerin son ağırlığı

2.2.5.4. Santrifüj Kaybı

Santrifüj kaybı için balık etleri her biri 2 g (W₁) olacak şekilde küçük parçalara bölünmüştür. Bu parçalar içerisinde eşit ağırlıkta cam boncuk içeren ve suyu absorbe etmek için kağıt filtre yerleştirilen 50 ml’lik tüpler içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra bu tüpler bir soğutmalı santrifüj (Thermo Fisher Scientific, Sorvall ST 16R, Almanya) içerisine yerleştirilerek 4 °C’de 10 dakika için 1760xg hızında santrifüj edilmiş ve balık parçaları tüplerden çıkarılarak tekrar tartılmıştır (W₂). Santrifüj kaybının hesaplanması aşağıdaki formüle göre gerçekleştirilmiştir (Li vd., 2017b).

$$\text{Santrifüj kaybı (\%)} = (W_1 - W_2)/W_1 \times 100 \quad (3)$$

W₁: örneklerin ilk ağırlığı

W₂: pişirildikten sonra örneklerin son ağırlığı

2.2.5.5. Toplam Uçucu Bazik Azot Tayini (TVB-N) Tayini

TVB-N tayini Lücke-Geidel metoduna göre yapılmıştır. Bunun için 10 g balık eti bir balonun içerisine konulmuş ve üzerine 1 g magnezyum oksit (MgO), köpürmeyi önlemek için birkaç damla silikon yağı ve bir miktar saf su ilave edilmiştir. Daha sonra destilat kabı olarak kullanılan 500 ml'lik erlenmayer içerisine %3'lük borik asitten (H₃BO₃) 10 ml, tashirolendikatör karışımından 8 damla ve yaklaşık 100 ml saf su ilave edilmiştir. İçerisinde örnek bulunan balon ve destilat kabı destilasyon düzeneğine yerleştirilerek 15–20 dk. destilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen destilat, 0,1 N hidroklorik asitle (HCl) mevcut yeşil rengin grimsi renge dönüşene kadar titre edilmiş ve aşağıdaki formüle göre TVB-N miktarı hesaplanmıştır (İnal, 1992; Varlık vd., 1993).

$$\text{TVB - N (mg N/100g)} = \frac{\text{Sarfiyat HCl (ml)} \times 0,0014008 \times 100 \times 1000}{\text{Örnek miktarı (g)}} \quad (4)$$

2.2.5.6. Lipit Oksidasyonu

Soğuk ve donmuş muhafaza çalışmasında kullanılan kanal yayın balıklarının lipit oksidasyonunun belirlenmesi amacıyla TBARS analizi gerçekleştirilmiştir. TBARS değerinin belirlenmesi Lemon (1975) ve Chouljenko vd. (2017) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Bu yönteme göre küçük parçalar halinde kesilerek homojenize edilen balık örneklerinden 15 g tartılmış ve üzerine 30 ml ekstraksiyon çözeltisi (%7,5 trikloroasetik asit (TCA), %0,1 propil gallat ve %0,1 etilendiamintetraasetik (EDTA)) eklenerek bir homojenizatör aracılığıyla 30 saniye boyunca karıştırılarak parçalanmıştır. Elde edilen bu karışım 125 ml'lik erlenmayer içerisine filtre kâğıdı (Watman No:1) yardımıyla süzölmüştür. Süzöntülerden 5 ml örnek alınarak ağzı kapaklı 10 ml'lik cam tüpler içerisine konulmuş ve üzerine yeni hazırlanmış 0,02 M TBA reaktifi eklenmiştir. Ağzıları kapatılan tüpler vortekslenerek daha önceden 95 °C'ye ayarlanan su banyosunda 40 dakika tutulmuştur. Bu işlem kör ve 1 µmol/ml 1,1,3,3 tetraetoksipropan (TEP) standart solüsyonları içinde aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Isıtma işleminden sonra tüpler soğumaya bırakılmış ve soğutulmuş tüplerden alınan örnekler cam küvetler içerisine konularak 530 nm dalga boyuna ayarlı bir spektrofotometre ile okunmuştur. TBARS değeri hesaplanmasında örneklerin nem içeriği de kullanılarak sonuçlar aşağıdaki formüle göre yaş örnek üzerinden hesaplanmıştır. Daha sonra TBARS değeri 0,0-0,01

mol/mL konsantrasyonlarındaki TEP standart eğrileri kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar mg MDA/kg olarak ifade edilmiştir.

$$\mu\text{mol MDA}/\text{örnek} = A \times [(30 + \text{örneğin su miktarı})/5] \quad (5)$$

A: 5 ml ekstrat içerisindeki μmol malonaldehit

2.2.5.7. Tekstür Profil Analizi (TPA)

Tekstür parametrelerinin tespit edilmesi amaçlı donmuş depolamada kullanılan balıklar çözündürüldükten sonra, soğuk muhafazada kullanılan balıklar ise doğrudan kullanılmıştır. Bunun için her bir analiz gününde kanal yayın balıklarının dorsal kısmından eşit ölçülerde (2 x 2 x 1 cm) balık eti kesilmiştir. Daha sonra balık örneklerinin doku analizleri bir tekstür profil analiz (TPA) cihazı (TA.XT Plus, Surrey, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde 50 mm çapında alüminyum silindirik prob (TA-25, P/2) kullanılarak ürünlere 5 kg değerinde kuvvet uygulanmıştır. Cihaz şartları ön test hızı için 1,0 mm/s, test hızı için 5,0 mm/s ve son test hızı için 5,0 mm/s olarak ayarlanmıştır. Test koşulları ise iki ardışık döngü arasında 10 saniye olacak şekilde %60 sıkıştırma oranı ve 0,05 N tetikleme kuvveti uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde sertlik (kg), elastikiyet (mm), bağlılık, çıgnenebilirlik (kg/mm) ve esneklik değerleri tespit edilmiştir (Bourne, 1978).

2.2.5.8. Renk Analizi (L*, a*, b*)

Örneklerin renk parametreleri BC-10 renk ölçer cihazı (Konica Minolta, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk analizinde kullanılan L*, a*, b* değerleri CIE renk tablosuna göre belirlenmiştir. Bu tabloya göre L* örneklerin aydınlık derecesini (0= beyaz ve 100= siyah), a* yeşillik(-)/kırmızılık(+) ve b* mavilik (-)/sarılık (+) değerlerini temsil etmektedir.

2.2.5.9. Mikrobiyolojik Analizler

Soğuk muhafaza ve donmuş muhafaza çalışmalarında kullanılan kanal yayın balıklarının mikrobiyolojik kalite kriterlerinin belirlenmesi amaçlı depolama süresince TAMB, TAPB, TK ve *E. coli* analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca taze örnekte *Salmonella* varlığı da araştırılmıştır. TAMB, TAPB, TK ve *E. coli* sayılarının belirlenmesi amaçlı üretici firma tarafından belirtilen yöntemle göre 3M Petrifilm (3M Microbiology, St. Paul, MN) kullanılmıştır. Her analiz günü için, kanal yayın balığı filetolarından alınan 10 g örnek steril Whirl-Pak torbaları içerisine yerleştirilmiş ve üzerine 90 ml Phosphate Buffer Saline (PBS) eklendikten sonra stomakır cihazı (EasyMix, AES Laboratories, Fransa) içerisinde 1 dk. süreyle parçalanarak homojenize edilmiştir. Bu işlem sonunda 1/10 oranında seyreltilen örnekler PBS kullanılarak 10^{-6} 'ya kadar seyreltilmiştir. Daha sonra gerekli seyreltiden iki paralel olarak alınan 1 ml örnek 3M plastik yayıcı kullanılarak hazır besi yeri olarak kullanılan petrifilmle içerisinde ekimi yapılmıştır. Petrifilmle TAMB sayımı için 35 °C'de 48 saat, TAPB sayımı için 7 °C'de 10 gün (AOAC Official Method 990.12, 1994), TK ve *E. coli* sayımı için 35 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir (AOAC Official Method 998.02, 2002). İnkübasyondan sonra üreme görülen petrifilmlelerden 25-250 koloni içerenler dikkate alınarak bakteri sayımları hesaplanmış ve koloni birimi log kob/g olarak verilmiştir. Toplam bakteri sayımında petri filmlede görülen kırmızı renkli koloniler dikkate alınmıştır. *E. coli*/koliform sayımlarımda petrifilmlede de görülen gaz oluşturmuş mavi koloniler *E. coli* varlığını, gaz oluşumu görülen kırmızı ve mavi koloniler ise toplam koliform sayısını belirtmektedir. *Salmonella* varlığı testinde, 10 g balık örneği stomakır torbalarının içerisine alınmış ve üzerine *Salmonella* için spesifik zenginleştirici olan 90 ml Tetrathionate Broth Base, Hajna (TTBH) eklenerek bir stomakır cihazında 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Homojen örnekler 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra kolonilerin belirlenmesinde çizme yöntemi kullanılarak XLD agar besi yerine seyreltiden ekim yapılmıştır. Daha sonra petri plakları 35-37 °C'de 24 saat inkübe edilerek *Salmonella* varlığı araştırılmıştır (FAO, 1979).

2.2.5.10. Duyusal Analizler

Kanal yayın balıklarının duyusal kalite parametreleri iki farklı yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir. Hem soğuk muhafaza hem de donmuş muhafaza çalışmasında gerçekleştirilen duyusal değerlendirme analizi 8 eğitimli panelist tarafından yürütülmüştür. Bu kısımda panelistler kanal yayın balıklarının renk, koku, doku ve genel beğeni kriterlerini değerlendirmişlerdir. Panelistlerin değerlendirmelerinde; 8-9 (çok iyi), 6-7 (iyi), 4-5 (orta) ve 1-3 (çok kötü - kabul edilemez) puan aralığındaki hedonik skala kullanılmıştır ve bu skalaya göre 4 puanın altı tüketilebilirlik açısından reddedilmiştir (Amerine vd., 1965). Panelistler soğuk muhafaza çalışmasında kullanılan örnekleri depolamanın 0., 3., 6., 8., 10. ve 12. gününde, donmuş muhafaza çalışmasında kullanılan ürünleri ise depolamanın 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. gününde duyusal olarak değerlendirmeye almışlardır (Ek Şekil 4).

Sadece soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarında ayrıca ikinci bir duyusal değerlendirme yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem Waimaleongora-Ek vd. (2008)'e göre 75 kişilik bir tüketici paneli tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistler düzenli su ürünleri tüketicileri ve bu ürünler için hiçbir alerjik sorunları olmayan kişilerden seçilmiştir. Panelistler ürünleri görünüş, koku, doku ve genel beğeni kriterlerini 1'den 9'a kadar tanımlayıcı hedonik ölçek kullanarak her parametre için ayrı ayrı gerçekleştirmişlerdir. Ayrıca, satın alma amacı da "evet/hayır" seçeneği kullanılarak değerlendirilmiştir. Ürünlerin değerlendirilmesi Louisiana State University, Animal and Food Science bölümündeki duyusal analiz laboratuvarında yürütülmüştür (Ek Şekil 5a). Bu laboratuvar duyusal değerlendirmeler için tam teşkil olarak donanıma sahip olup içerisinde ana bir bilgisayar üzerinden yönetilen 15 bilgisayar bulunmaktadır. Panelistler ayrı ayrı bölmelerde olan bu bilgisayarlarda bulunan sorular üzerinden duyusal değerlendirme işlemini gerçekleştirmişlerdir (Ek Şekil 5b). Duyusal değerlendirmelerde ürünler ayrı ayrı strafor tabakalara konularak üzerlerine farklı kodlar yapıştırılmış ve panelistler tarafından ürün kodlarına göre duyusal değerlendirme yapılmıştır. Soğuk muhafaza çalışmasında sadece 800%3APA grubunun mikrobiyolojik olarak bozulma gösterdiği 10. gün ve bozulmadan önceki depolama günü olan 8. gün örnekleri, taze örneklerle karşılaştırılarak duyusal açıdan değerlendirilmiştir.

2.2.5.11. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SAS (SAS Version 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC) paket programı kullanılarak $\alpha=0,05$ önemlilik düzeyinde değerlendirilmiştir. Araştırma sonuçları varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiş ve gruplar arasındaki farklılıkların önemi Tukey testi ile belirlenmiştir (Sokal ve Rohlf, 1987; Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000). Analizler üç tekerrür ve iki paralelli olarak düzenlenmiştir. Araştırmada kullanılan tüm grafiklerin çizimi SigmaPlot 12.0 programıyla gerçekleştirilmiştir (Systat Software Inc., San Jose, CA, Amerika).



3. BULGULAR

3.1. İnokülasyon Çalışması

3.1.1. *Salmonella typhimurium* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Çalışma süresince *S. typhimurium* bakterisi üzerine farklı kaplama solüsyonlarının etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Tablo 2’de verilmiştir. Kanal yayın balıklarına inoküle edilen *S. typhimurium* sayısı 5,53 log kob/g olup bu değer uygulanan kaplama işleminden sonra kontrol, 800%1AA, %1APA, %3APA, 800%1APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 5,40, 4,70, 5,21, 4,89, 4,92 ve 4,71 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolama süresince *S. typhimurium*’e karşı en iyi inhibisyon etkiyi %3’lük kitosan (800%3APA) grubunun sağladığı ve bu etkinin depolama süresine bağlı olarak arttığı gözlenmiştir ($P<0,05$). Depolama başlangıcı ile sonu kıyaslandığında sadece 800%1APA ve 800%3APA gruplarının *S. typhimurium* sayısında meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %1APA, %3APA, 800%1APA ve 800%3APA gruplarında saptanan inhibisyon oranı sırasıyla 0,58, 0,81, 0,51, 0,78, 0,88 ve 1,26 olarak tespit edilmiştir. Kontrol ve %1APA gruplarının *S. typhimurium* sayısı depolama başlangıcında ve sonunda diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuş ve bu iki grup arasındaki istatistiki fark önemsiz olarak tespit edilmiştir ($P>0,05$). Depolama boyunca 800%3APA ile kontrol grubunun *S. typhimurium* sayısında meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Benzer şekilde, 800%3APA ile %1APA grupları arasındaki farklar depolama süresince anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Ancak, %3APA grubu ile 800%1AA grubu arasında önemli fark saptanmamıştır ($P>0,05$). Örneklerin buzdolabı şartlarında (4 °C) sekiz günlük depolanması süresince *S. typhimurium* üzerine en düşük üreme gerçekleşen 800%3APA grubunun hafif bir etkisinin olduğu belirlenmiş ve depolama sonunda bu grupta elde edilen *S. typhimurium* sayısı kontrol grubu ile karşılaştırınca 0,68 log kob/g oranında düşük bulunmuştur.

Tablo 2 Kanal yayın balığı filetoalarının yüzeyine inoküle edilen *Salmonella typhimurium* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (4 °C, log10 kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	5,53	5,40±0,23 _A ^a	5,24±0,16 _A ^a	5,05±0,19 _{AB} ^a	5,21±0,13 _A ^a	4,95±0,42 _A ^a
800% 1AA	5,53	4,70±0,17 _C ^a	5,14±0,21 _{AB} ^a	4,88±0,12 _{AB} ^a	4,75±0,21 _B ^a	4,72±0,46 _{AB} ^a
% 1APA	5,53	5,21±0,27 _{AB} ^a	5,24±0,22 _A ^a	5,20±0,17 _A ^a	5,13±0,18 _A ^a	5,02±0,11 _A ^a
% 3APA	5,53	4,89±0,27 _{BC} ^{ab}	5,06±0,11 _{AB} ^{ab}	5,10±0,16 _{AB} ^a	4,93±0,09 _{AB} ^{ab}	4,75±0,06 _{AB} ^b
800% 1APA	5,53	4,92±0,11 _{BC} ^a	4,93±0,21 _{AB} ^a	4,77±0,08 _B ^a	4,93±0,06 _{AB} ^{ab}	4,65±0,08 _{AB} ^b
800% 3APA	5,53	4,71±0,08 _C ^a	4,68±0,26 _B ^{ab}	4,11±0,13 _C ^c	4,35±0,18 _C ^{bc}	4,27±0,04 _B ^c

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.1.2. *Escherichia coli* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Kanal yayın balığı filetoalarının yüzeyine inoküle edilen *E. coli* popülasyonu üzerine yüksek molekül ağırlığına sahip ve suda çözünebilir kitosanın 8 günlük depolama süresince etkisi araştırılmış ve sonuçları Tablo 3’de verilmiştir. Kanal yayın balıklarına olarak inoküle edilen *E. coli* sayısı (4,34 log kob/g) depolamanın 0. gününde itibaren en düşük 800%3APA grubunda saptanmıştır. 800%3APA grubu *E. coli* popülasyonu üzerinde depolama başlangıcında 0,61 log kob/g azalış sağlarken, bu değer depolama sonunda 1,23 log kob/g olarak tespit edilmiştir. %3APA, 800%1APA ve 800%3APA gruplarında depolama süresine bağlı olarak *E. coli* popülasyonunda gözlenen değişimler önemsiz bulunmuştur (P>0,05). Depolama başlangıcı olan 0. günde kontrol, 800%1AA, %1APA, %3APA, 800%1APA ve 800%3APA gruplarının *E. coli* sayısı sırasıyla 4,23 log kob/g, 4,13 log kob/g, 4,27 log kob/g, 3,98 log kob/g, 4,17 log kob/g ve 3,73 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve kaplama işlemi uygulanmış grupların *E. coli* popülasyonu depolama süresince azalmıştır. Depolamanın 8. gününde *E. coli* sayısı en yüksek kontrol grubunda gözlenirken, en düşük 800%3APA grubunda tespit edilmiştir. Depolamanın 0., 2. ve 6. günde kontrol grubu ile kaplama uygulanan gruplar arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur (P>0,05). 800%3APA grubu 4. günde ve 8. günde kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmuş (P<0,05) ve bu grubun bakteri sayısı depolama süresince kontrol grubundan 0,24-0,50 log kob/g oranında düşük tespit edilmiştir. Depolama sonunda tespit edilen *E. coli* sayısı çoktan aza sırasıyla kontrol (3,54

log kob/g), %3APA (3,47 log kob/g), 800%1APA (3,47 log kob/g), 800%1AA (3,30 log kob/g), %1APA (3,26 log kob/g) ve 800%3APA (3,11 log kob/g) gruplarında belirlenmiştir. Sonuç olarak, 800%3APA grubunun *E. coli* üzerinde azda olsa bir etkisi gözlenmiştir.

Tablo 3.Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen *Escherichia coli* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (4 °C, log kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	4,34	4,23±0,23 _A ^a	4,06±0,24 _A ^{ab}	3,69±0,09 _{AB} ^{bc}	3,57±0,23 _A ^c	3,54±0,24 _A ^c
800%1AA	4,34	4,13±0,24 _A ^a	3,95±0,73 _A ^{ab}	3,47±0,09 _{BC} ^{ab}	3,41±0,29 _A ^b	3,30±0,18 _{AB} ^b
%1APA	4,34	4,27±0,86 _A ^a	3,80±0,25 _A ^{ab}	3,75±0,09 _{AB} ^{ab}	3,32±0,08 _A ^b	3,26±0,12 _{AB} ^b
%3APA	4,34	3,98±0,87 _A ^a	3,83±0,24 _A ^a	3,84±0,19 _A ^a	3,53±0,11 _A ^a	3,47±0,16 _{AB} ^a
800%1APA	4,34	4,17±0,67 _A ^a	4,09±0,16 _A ^a	3,93±0,19 _A ^a	3,46±0,12 _A ^a	3,47±0,11 _{AB} ^a
800%3APA	4,34	3,73±0,83 _A ^a	3,82±0,28 _A ^a	3,33±0,11 _C ^a	3,22±0,03 _A ^a	3,11±0,13 _B ^a

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.1.3. *Vibrio cholerae* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

V. cholerae popülasyonuna kaplama solüsyonlarının etkisi diğer bakteri gruplarında olduğu gibi buzdolabı şartlarında (+4 °C) belirlenmeye çalışılmış, ancak depolamanın 2. gününden itibaren tüm gruplarda bakteri sayısında önemli düşüşler gözlenmiştir. Literatür taramasında da bu bakteri türünün bu sıcaklıklarda yaşayamadığı görülmüştür. Bu amaçla bu bakteri türü için tüm işlemler tekrarlanarak depolama sıcaklığı 10 °C'ye ayarlanmış ve depolama süresince elde edilen sonuçlar Tablo 4'de gösterilmiştir.

Başlangıçta düşük bakteri yükü ile başlayan tüm gruplarda *V. cholerae* sayısı depolamanın 4. gününe kadar artış göstermiş, ancak belirli bir seviye ulaştıktan sonra 6. günde tekrar azalmaya başlamıştır. Depolama sıcaklığının yüksek olması bakteri sayısının hızla yükselmesine ve balığın çabuk bozulmasına sebep olmuştur. Bu nedenle 4. günden itibaren balıklar bozulmaya başlamış ve 6. günde bu bozulma sebebiyle toplam

bakteri yükündeki artış *Vibrio* popülasyonuna baskın gelmiştir. Bu da *Vibrio* sayısında azalmaya neden olmuştur. Ürünlerin bozulması sebebiyle 8 günlük olarak hedeflenen depolama süresi 6. günden sonra analiz edilmemiş ve sonuçlar 6 gün üzerinden değerlendirilmiştir. Başlangıçta inoküle edilen *V. cholerae* sayısı 0. günde 800%1APA ve 800%3APA gruplarında tespit edilebilir limit değerlerinin altında bulunmuştur ($P<0,05$). Bu tespit limitleri tüm bakteri grupları için 25-225 arasında üreme görülen petriyeler dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Ancak bu değerler tüm gruplarda depolamanın 6. gününe kadar artış göstermiştir. Buna rağmen kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA gruplarının *V. cholerae* sayısı başlangıçta inoküle edilen bakteri sayısından daha düşük bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu değer 1,98 log kob/g artış sağlamıştır ($P<0,05$).

Depolamanın ilk gününde kontrol, 800%1AA, %1APA ve %3APA grupları arasında fark gözlenmezken ($P>0,05$), depolamanın 2. gününden itibaren kontrol grubu diğer gruplardan istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). 800%1APA ve 800%3APA grupları ise depolama başlangıcında tespit limitleri altında bulunmuştur. *V. cholerae* üzerine 800%1AA ve 800%3APA gruplarının etkisi depolamanın 2. gününden itibaren gözlenmiş ($P<0,05$) ve depolama sonunda bu grupların bakteri sayısında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 2,32 log kob/g ve 2,15 log kob/g azalış tespit edilmiştir.

Tablo 4.Kanal yayın balığı filetoalarının yüzeyine inoküle edilen *Vibrio cholerae* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (10 °C, log kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	2,90	2,80±0,54 ^A ^b	4,61±0,23 ^A ^a	5,46±0,08 ^A ^a	4,88±0,59 ^A ^a	AY
800%1AA	2,90	2,45±0,71 ^A ^a	2,47±0,63 ^C ^a	2,65±0,32 ^C ^a	2,56±0,43 ^C ^a	AY
%1APA	2,90	2,85±0,35 ^A ^c	3,69±0,46 ^B ^b	4,68±0,16 ^{AB} ^a	3,83±0,36 ^B ^b	AY
%3APA	2,90	2,83±0,24 ^A ^c	3,55±0,06 ^B ^b	4,45±0,29 ^B ^a	3,63±0,42 ^B ^b	AY
800%1APA	2,90	TLA ^B ^b	3,18±0,27 ^{BC} ^a	4,12±0,71 ^B ^a	3,67±0,57 ^B ^a	AY
800%3APA	2,90	TLA ^B ^c	2,48±0,30 ^C ^b	2,78±0,55 ^C ^a	2,73±0,13 ^C ^a	AY

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **AY:** analiz yapılmadı. **TLA:** tespit limitleri altında. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.1.4. *Vibrio parahaemolyticus* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

V. parahaemolyticus ile yüzey inokülasyonu edildikten sonra farklı kaplama solüsyonları ile kaplanarak depolanan kanal yayın balığı filetolarında tespit edilen üreme sonuçları Tablo 5'te gösterilmiştir. Başlangıçta balıklara inoküle edilen *V. parahaemolyticus* sayısı 3,48 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değer depolama başlangıcından itibaren 800%3APA grubunda tespit edilebilir limit değerinin altında saptanmıştır. 800%1AA ve %3APA gruplarının *V. parahaemolyticus* sayısı başlangıç yüküne nazaran sırasıyla 1,54 ve 1,51 log kob/g düşük bulunmuştur. Ancak bu değerler depolama süresince artmış ve depolama sonunda yine sırasıyla 0,91 ve 0,88 log kob/g değerinde *V. parahaemolyticus* popülasyonunda azalma sağlamıştır. Kontrol grubunda ise bu değer bozulmanın gerçekleştiği 4. güne kadar artmış ve depolamanın 4. gününde 0,27 log kob/g daha yüksek bulunmuştur. Depolamanın ilk gününden itibaren gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklar gözlenmiş ($P<0,05$) ve depolama başlangıcında meydana gelen *V. parahaemolyticus* sayısı kontrol grubunda 3,41 log kob/g, 800%1AA grubunda 1,94 log kob/g, %1APA grubunda 2,98 log kob/g, %3APA grubunda 1,97 log kob/g ve 800%1APA grubunda 2,53 log kob/g olarak bulunmuştur. Ancak, 10 °C sıcaklıkta depolanan kanal yayın balığı filetoları özellikle de kontrol grubu örnekleri depolamanın 4. gününden itibaren bozulmaya başlaması *V. parahaemolyticus* üremesini kısıtlamış ve bu bakterinin üremesi bozulma sonrası artan genel bozulma bakterileri tarafından bastırılmıştır. Bu nedenle depolamanın 6. gününde kontrol grubunda tespit edilen *V. parahaemolyticus* sayısı diğer kaplama uygulanan gruplardan elde edilen değerlerin altında bulunmuştur. Buna rağmen, 800%3APA depolama süresince tespit limitleri altında bulunmuş ve bu grubun *V. parahaemolyticus* üremesini önlemek adına başarılı sonuçlar ortaya koyduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince 800%3APA grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında *V. parahaemolyticus* üzerinde 2.28-3.75 log kob/g gibi önemli bir düzeyde azalış gösterdiği belirlenmiştir ($P<0,05$).

Tablo 5.Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen *Vibrio parahaemolyticus* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (10 °C, log kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	3,48	3,41±0,01 _A ^b	3,57±0,09 _A ^{ab}	3,75±0,07 _A ^a	2,28±0,03 _C ^c	AY
800%1AA	3,48	1,94±0,34 _C ^a	2,48±0,12 _C ^a	2,65±0,16 _C ^a	2,57±0,13 _{BC} ^a	AY
%1APA	3,48	2,98±0,05 _{AB} ^b	3,41±0,04 _A ^a	3,53±0,05 _A ^a	3,10±0,04 _A ^b	AY
%3APA	3,48	1,97±0,10 _C ^c	2,75±0,02 _C ^b	3,06±0,07 _B ^a	2,60±0,03 _{BC} ^b	AY
800%1APA	3,48	2,53±0,09 _{BC} ^b	3,07±0,04 _B ^a	3,03±0,11 _{BC} ^a	2,83±0,18 _{AB} ^{ab}	AY
800%3APA	3,48	TLA _D	TLA _D	TLA _D	TLA _D	AY

Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **AY:** analiz yapılmadı. **TLA:** tespit limitleri altında. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.1.5. *Staphylococcus aureus* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Farklı konsantrasyonlar kullanılarak kaplama işlemi uygulanan kanal yayın balığı filetolarında depolama süresince tespit edilen *S. aureus* üremesine ait sonuçlar Tablo 6'da gösterilmiştir. Kanal yayın balıklarına başlangıçta inoküle edilen *S. aureus* sayısı 4,42 log kob/g olarak gerçekleşmiştir. Balıklara uygulanan kaplama işlemlerinden sonra bu değer kitosan kaplama uygulanan gruplarda (800%1AA, 800%1APA ve 800%3APA), kontrol ve diğer kaplama gruplarına (%1APA ve %3APA) kıyasla daha düşük bulunmuştur. En düşük *S. aureus* sayısı ise depolama süresince 800%3AS grubunda belirlenmiş olup, depolama sonunda %3 kitosan uygulamasının *S. aureus* üremesi üzerine 1,62 log kob/g azaltıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Aksine kontrol grubunun *S. aureus* sayısı başlangıçta inoküle edilen bakteri sayısından 0,96 log kob/g daha yüksek bulunmuştur. Depolama süresince grup içi değişimlerin yalnızca kontrol ve 800%1AA gruplarında istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Depolama başlangıcı olan 0. günde çoktan aza bakteri üremesi sırasıyla kontrol (4,47 log kob/g), %3APA (4,29 log kob/g), %1APA (4,23 log kob/g), 800%1AA (3,73 log kob/g), 800%1APA (3,71 log kob/g) ve 800%3APA (3,13 log kob/g) olarak belirlenmiştir. 800%3APA grubu depolama süresince kontrol grubundan ve 4. günden itibaren diğer kaplama uygulanmış gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Ancak, 800%3APA grubunun dışındaki diğer kaplama uygulanmış gruplar ile kaplama uygulanmamış kontrol grubu arasındaki

farklar 6. güne kadar önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama sonunda kontrol grubuna kıyasla 800%3APA grubunun 2,58 log kob/g azalışla *S. aureus* üzerinde en iyi etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 6.Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen *Staphylococcus aureus* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (4 °C, log kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	4,42	4,47±0,14 _A ^b	4,68±0,12 _A ^b	4,69±0,20 _A ^b	5,46±0,14 _A ^a	5,38±0,33 _A ^a
800%1AA	4,42	3,73±0,32 _{AB} ^b	4,28±0,15 _A ^a	4,08±0,27 _A ^{ab}	4,13±0,05 _B ^{ab}	3,68±0,24 _C ^b
%1APA	4,42	4,23±0,07 _A ^a	3,84±0,23 _{AB} ^a	4,29±0,43 _A ^a	4,41±0,26 _B ^a	4,32±0,26 _B ^a
%3APA	4,42	4,29±0,54 _A ^a	3,94±0,27 _{AB} ^a	4,61±0,24 _A ^a	4,32±0,18 _B ^a	4,18±0,32 _{BC} ^a
800%1APA	4,42	3,71±0,62 _{AB} ^a	3,92±0,56 _{AB} ^a	4,21±0,34 _A ^a	3,84±0,35 _B ^a	3,62±0,22 _C ^a
800%3APA	4,42	3,13±0,44 _B ^a	3,14±0,70 _B ^a	3,28±0,07 _B ^a	3,00±0,43 _C ^a	2,80±0,24 _D ^a

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.1.6. *Listeria monocytogenes* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Gram pozitif bakteriler içerisinde önemli bir patojen bakteri olan *L. monocytogenes* üzerinde yüksek molekül ağırlığına sahip suda çözünebilir kitosanın etkisini gösteren sonuçlar Tablo 7’de verilmiştir. Kanal yayın balıklarına inoküle edilen *L. monocytogenes* sayısı 4,61 log kob/g olup, bu değer uygulanan işlemler neticesinde kontrol grubu hariç depolamanın 0. günü diğer gruplarda azalmıştır. Ancak bu değerler depolama süresince artış göstererek tüm gruplarda başlangıç bakteri yükünün üzerine çıkmıştır. Depolama süresince sadece 800%3APA grubundaki değişimler istatistiki olarak önemsiz bulunmuş ($P>0,05$) ve %3 kitosan uygulamasının *L. monocytogenes* üremesine karşı en iyi inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Başlangıçta 4,63 log kob/g bakteri yüküne sahip kontrol grubunun *L. monocytogenes* sayısı 8 günlük depolama süresince artış göstermiş ve depolama sonunda 6,33 log kob/g değerine ulaşmıştır. Depolama sonunda *L. monocytogenes* sayısı 800%1AA grubunda 3,94 log kob/g’den 5,44 log kob/g’a, %1APA grubunda 4,60 log kob/g’den 6,27 log kob/g’a, %3APA grubunda 4,36 log kob/g’den 5,86 log kob/g’a, 800%1APA grubunda 4,25 log kob/g’den 5,68 log kob/g’a ve 800%3APA

grubunda 3,78 log kob/g'dan 4,77 log kob/g'a yükselmiştir. Tüm depolama günlerini ele aldığımızda diğer bakteri gruplarında olduğu gibi 800%3APA grubu *L. monocytogenes*'e karşıda önemli inhibe edici özellik göstererek bakteri üremesini kısıtlamış ve depolama sonunda bu grubun *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubuna kıyasla 1,56 log kob/g azalış gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 7.Kanal yayın balığı filetolarının yüzeyine inoküle edilen *Listeria monocytogenes* popülasyonu üzerine depolama süresince kitosan kaplamanın etkisi

Gruplar	Depolama Günleri (4 °C, log kob/g)					
	B	0	2	4	6	8
Kontrol	4,61	4,63±0,27 ^A ^c	4,72±0,15 ^A ^c	5,45±0,06 ^A ^b	6,06±0,04 ^A ^a	6,33±0,39 ^A ^a
800%1AA	4,61	3,94±0,23 ^B ^c	4,33±0,33 ^{AB} ^c	4,56±0,37 ^B ^{bc}	5,25±0,23 ^{AB} ^{ab}	5,44±0,42 ^{AB} ^a
%1APA	4,61	4,60±0,14 ^A ^c	4,80±0,20 ^A ^c	5,51±0,15 ^A ^b	5,86±0,17 ^A ^{ab}	6,27±0,58 ^A ^a
%3APA	4,61	4,36±0,22 ^{AB} ^b	4,50±0,28 ^{AB} ^b	4,82±0,18 ^B ^b	5,61±0,49 ^A ^a	5,86±0,47 ^A ^a
800%1APA	4,61	4,25±0,05 ^{AB} ^b	4,57±0,33 ^A ^b	5,24±0,05 ^A ^a	5,54±0,35 ^A ^a	5,68±0,40 ^{AB} ^a
800%3APA	4,61	3,78±0,52 ^B ^a	4,00±0,13 ^B ^a	4,08±0,09 ^C ^a	4,60±0,78 ^B ^a	4,77±0,46 ^B ^a

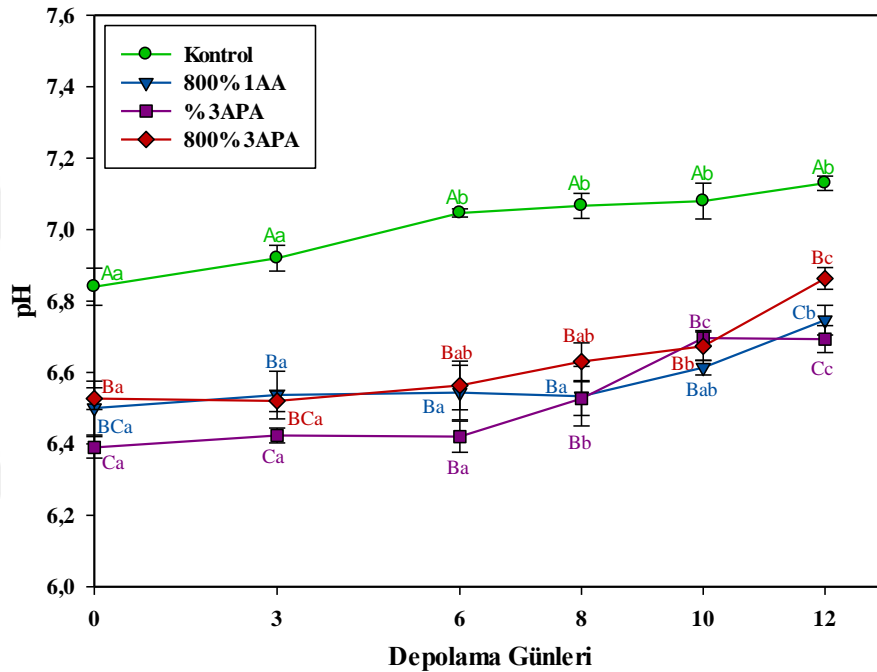
Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%1APA:** %1 aspartik asit içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%1APA:** %1 aspartik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış. **B:** Başlangıçta inoküle edilen bakteri yükü.

3.2. Soğuk Muhafaza Çalışması

3.2.1. pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Farklı kaplama solüsyonları uygulanarak soğuk muhafaza altına alınan kanal yayın balığı filetolarında depolama süresince belirlenen pH değerleri Şekil 9'da verilmiştir. Araştırmada elde edilen analiz sonuçlarına göre kanal yayın balığı filetolarının başlangıçtaki pH değerleri kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 6,84±0,05, 6,50±0,08, 6,39±0,03 ve 6,53±0,03 olarak tespit edilmiştir. Uygulanan kaplama solüsyonlarının etkisiyle 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının pH değeri depolama başlangıcından itibaren kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur (P<0,05). Depolama süresince tüm grupların pH değerlerinde artış meydana gelmiştir. Bu değerler depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grupları için sırasıyla 7,13±0,02, 6,75±0,04, 6,69±0,04 ve 6,86±0,03 olarak bulunmuştur.

Bu sonuçlara göre en yüksek pH değeri kontrol grubunda belirlenirken, en düşük pH değeri %3APA grubunda tespit edilmiştir ($P<0,05$). %3 asetik asit solüsyonu ile kaplanan ürünlerin (%3APA) pH değeri depolamanın 0., 3, ve 12. günlerinde %3 kitosan ve %3 asetik asit ile kaplanan ürünlerin (800%3APA) pH değerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$), ancak kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ile 800%3APA gruplarının pH değerleri arasındaki fark depolamanın son günü hariç önemsiz olarak belirlenmiştir ($P>0,05$).

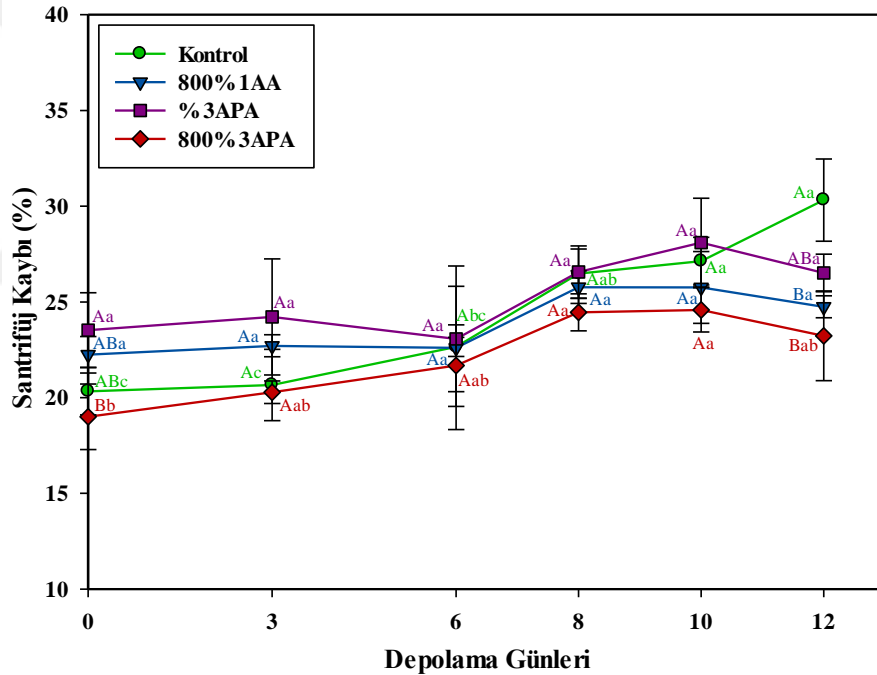


Şekil 9. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince pH değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.2. Santrifüj Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış örneklerin soğuk muhafaza şartlarında (+4 °C) depolanması sırasında santrifüj kaybında meydana gelen değişimler Şekil 10'da gösterilmiştir. Depolama başlangıcında en düşük santrifüj kaybı 800%3APA grubunda gözlenirken, en yüksek kontrol grubunda bulunmuştur ($P<0,05$).

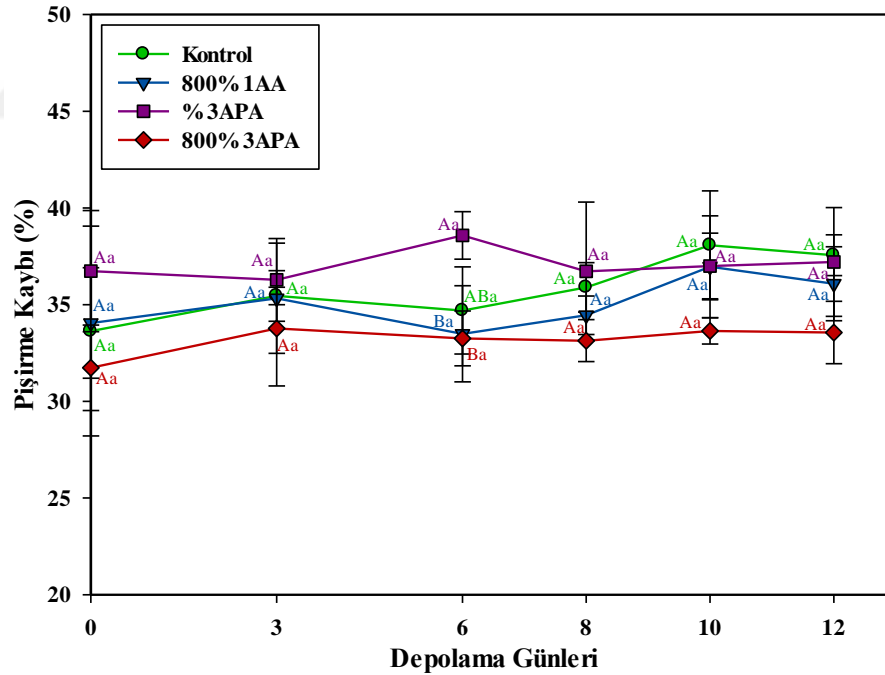
Tüm gruplardan elde edilen santrifüj kaybı analiz sonuçlarına göre depolama süresince artış gözlenmiştir. Bu artışlara göre depolama başlangıcı ile depolama sonu elde edilen veriler kıyaslandığında sadece kontrol grubundaki değişimin önemli olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresince 800%3APA grubundan meydana gelen santrifüj kaybı diğer kaplama uygulanan gruplardan düşük bulunmuş, ancak bu değerler arasındaki farklar depolamanın 0. günü hariç istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Elde edilen verilere göre kitosan kaplama işlemi ürünlerin su tutma kapasitesine olumlu etki göstermiş ve depolama sonunda en düşük santrifüj kaybı 800%1AA ve 800%3APA grubunda tespit edilmiştir. Bu santrifüj kaybı değerleri depolama sonunda çoktan aza; kontrol ($30,32\pm 2,15$), %3APA ($26,51\pm 0,98$), 800%1AA ($24,75\pm 0,57$) ve 800%3APA ($23,23\pm 2,34$) grubunda belirlenmiştir.



Şekil 10. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası süresince santrifüj kaybında meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.3. Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler

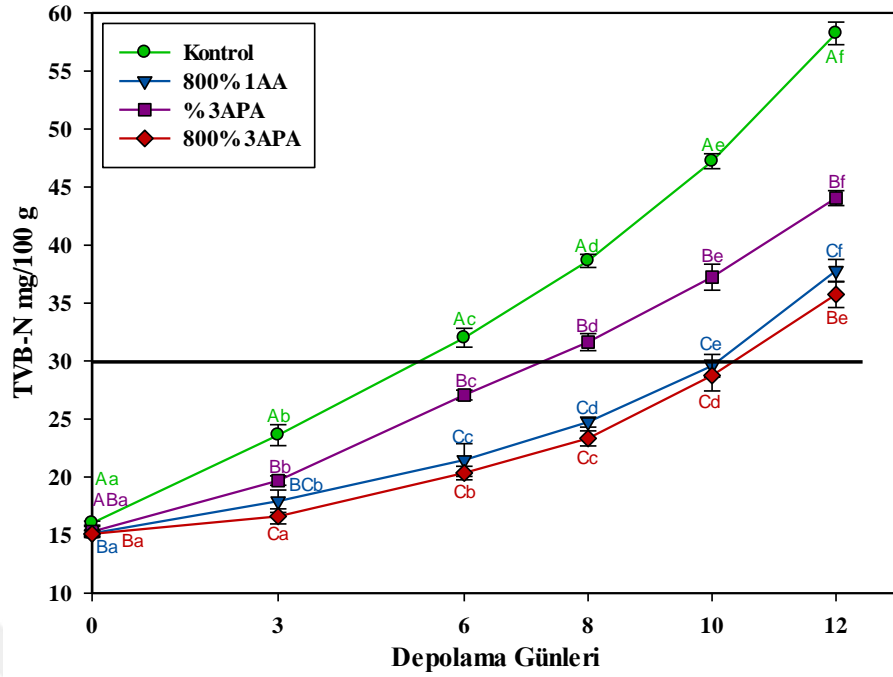
Farklı kaplama solüsyonlarına daldırılarak soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balığının pişirme kaybında meydana gelen değişimleri Şekil 11’de verilmiştir. Depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarından elde edilen pişirme kaybı değerleri sırasıyla %33,64±5,43, %34,05±2,86, %36,74±3,14 ve %31,73±2,22 olarak belirlenmiştir. Ancak depolama başlangıcında tespit edilen bu değerler arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolamaya bağlı olarak pişirme kaybında meydana gelen değişimler tüm gruplar için önemsiz olarak tespit edilmiştir ($P>0,05$). Ayrıca gruplar arasındaki farklar depolamanın 6. günü hariç istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Depolama sonunda ise 800%3APA grubu diğer gruplardan daha düşük bulunmuş ve bu grubun (%33,56±1,62) pişirme kaybı değerleri kontrol grubu (%37,56±1,05) ile karşılaştırılınca %4 oranında daha düşük tespit edilmiştir.



Şekil 11. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası süresince pişirme kaybında meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisinde daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisinde daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisinde daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisinde daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.4. TVB-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kanal yayın balığı filetolarına uygulanan farklı kaplama solüsyonlarının 12 günlük soğuk depolama süresince TVB-N analiz sonuçları üzerindeki etkileri Şekil 12’de verilmiştir. Taze kanal yayın balığı filetolarının TVB-N değeri 15,30 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Bu değer ürünlere uygulanan kaplama işlemlerinden sonra depolamanın başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla $16,03 \pm 0,18$ mg/100 g, $15,14 \pm 0,23$ mg/100 g, $15,30 \pm 0,43$ mg/100 g ve $15,10 \pm 0,31$ mg/100 g olarak bulunmuş ve kontrol grubunun, kitosan kaplama uygulanan gruplardan istatistiki olarak farklı olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). TVB-N değeri tüm gruplar için depolama süresine bağlı olarak artış göstermiştir. TVB-N için kabul edilen limit değeri olan 30 mg/100 g’ı kontrol grubu depolamanın 6. gününde, %3APA grubu 8. günde aşarak bozuldukları tespit edilmiştir. Kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA gruplarının ise depolamanın 12. gününde bu limit değeri aştığı belirlenmiştir. Depolamaya bağlı olarak grup içi değişimler tüm gruplarda önemli olarak bulunmuştur ($P < 0,05$). Depolama sonunda TVB-N değeri en yüksek kontrol grubunda (58,24 mg/100 g) belirlenmiş ve bunu sırasıyla %3APA (44,05 mg/100 g), 800%1AA (37,8 mg/100 g) ve 800%3APA (35,75 mg/100 g) grupları izlemiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kitosan kaplama işleminin TVB-N üzerinde önemli bir etki gösterdiği belirlenmiş ($P < 0,05$) ve kitosan gruplarının TVB-N artışını ertelediği tespit edilmiştir.

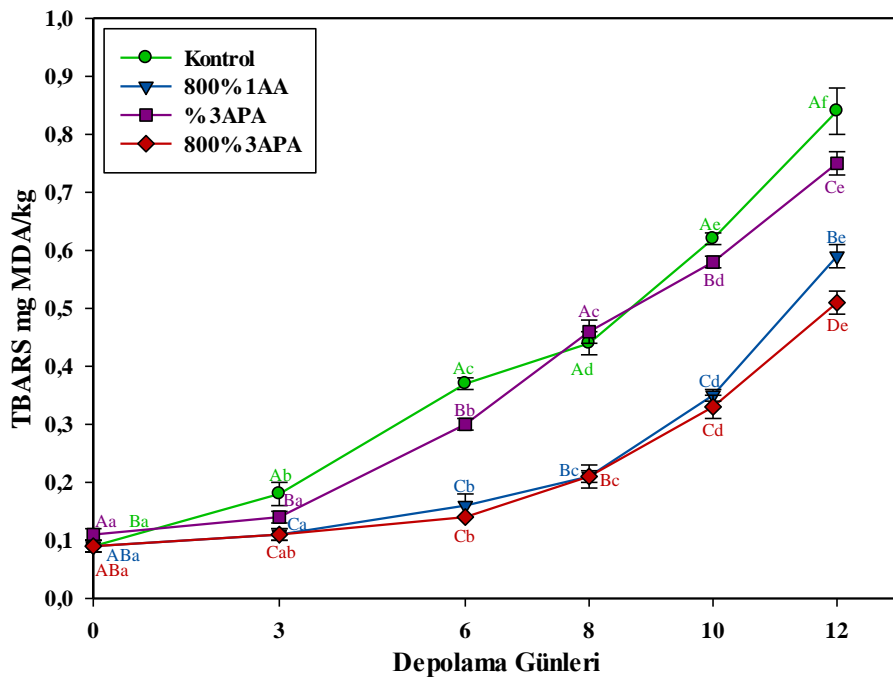


Şekil 12. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası süresince TVB-N değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P < 0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P < 0,05$). Kontrol: distile su içerisinde daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisinde daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisinde daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisinde daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.5. TBARS Miktarında Meydana Gelen Değişimler

Kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafaza şartları altında TBARS değerinde meydana gelen değişimleri Şekil 13’de verilmiştir. Depolama başlangıcında taze kanal yayın balığının TBARS değeri 0,08 mg MDA/kg bulunmuştur. Bu değerler depolama başlangıcında kontrol, 800% 1AA, %3APA ve 800%3APA grupları için sırasıyla 0,09 mg MDA/kg, 0,09 mg MDA/kg, 0,11 mg MDA/kg ve 0,09 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Balıklara uygulanan kitosan kaplama işlemi yağların oksitlenmesini kontrol ederek depolama süresince kanal yayın balığı filetoalarının TBARS değerinin daha yavaş artmasına katkı sağlamıştır. Depolamanın 12. gününde kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük TBARS değerine sahip olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). Buna rağmen %3APA grubu kaplama solüsyonunda kullanılan asidin etkisiyle daha fazla TBARS artışına neden olmuştur. Depolama süresine bağlı

olarak grup içinde meydana gelen değişimler önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Ayrıca, depolamanın ikinci gününden itibaren 800%1AA ve 800%3APA gruplarında tespit edilen TBARS değeri, kontrol ve %3APA gruplarının değerlerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama sonunda tüm grupların TBARS değerleri iyi bir kaliteye sahip ürün için kabul edilen 5 mg MDA/kg limit değerinin çok altında kalmıştır. Bu değerler depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 0,84 mg MDA/kg, 0,59 mg MDA/kg, 0,75 mg MDA/kg ve 0,51 mg MDA/kg olarak bulunmuştur.

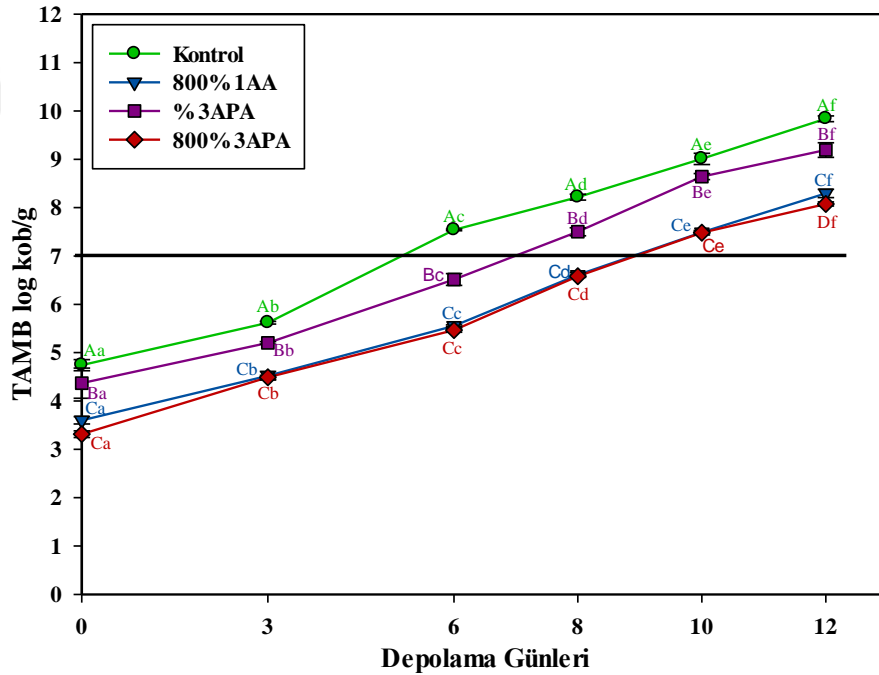


Şekil 13. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası süresince TBARS değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.6. TAMB Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kaplama uygulanarak soğuk muhafazaya alınan kanal yayın balığı filetoalarında meydana gelen bakteri üremelerinin tespit edilmesi amaçlı gerçekleştirilen TAMB sonuçları log kob/g olarak Şekil 14'de verilmiştir. Taze kanal yayın balığı filetoalarının

TAMB sayısı 4,67 log kob/g olarak tespit edilirken, kaplama işleminden sonra kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında bu değerler sırasıyla 4,74, 3,60, 4,37 ve 3,31 log kob/g olarak belirlenmiştir. Depolama başlangıcında tespit edilen TAMB sayısı kitosan kaplama uygulanan gruplar arasında istatistiki açıdan önemsiz bulunurken ($P>0,05$), bu gruplar kontrol ve %3APA gruplarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Depolamanın 0. gününden 12. gününe kadar tüm grupların TAMB sayısının kademeli olarak artış eğiliminde olduğu ve bu değişimlerin tüm gruplarda istatistiki açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Kontrol ve %3APA grupları balıklarda toplam bakteri açısından tüketilebilir sınır değeri olarak kabul edilen 7 log kob/g değerini sırasıyla depolamanın 6. (7,54 log kob/g) ve 8. (7,50 log kob/g) gününde aşmışlardır. Ancak, kitosan kaplama uygulanan 800%1AA (7,49 log kob/g) ve 800%3APA (7,48 log kob/g) gruplarının bu limit değerini depolamanın 10. gününde aştığı saptanmıştır. Depolama sonunda bu değerler kontrol, %3APA, 800%1AA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 9,84, 9,19, 8,30 ve 8,08 log kob/g olarak belirlenmiştir.



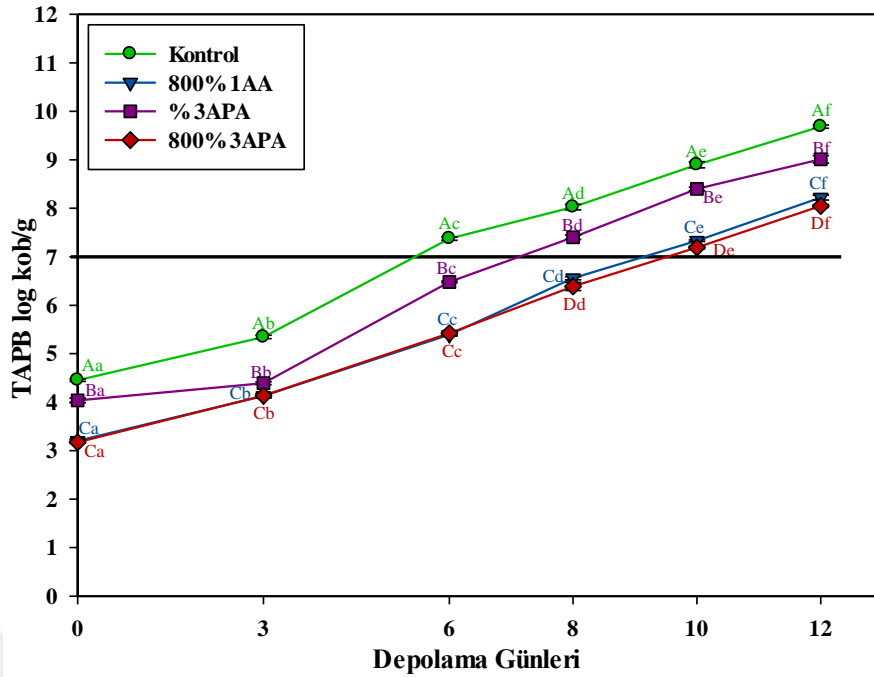
Şekil 14. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası süresince TAMB değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.7. TAPB Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kaplama uygulanarak soğuk muhafazaya alınan kanal yayın balığı filetolarında meydana gelen bakteri üremelerinin tespit edilmesi amaçlı gerçekleştirilen TAPB sonuçları log kob/g olarak Şekil 15’de verilmiştir. Gerçekleştirilen analizlere göre taze kanal yayın balığı filetolarının TAPB sayısı 4,25 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Balıklara uygulanan kaplama işleminden sonra bu değerler depolamanın 0. gününde 4,45 log kob/g (kontrol), 3,20 log kob/g (800%1AA), 4,04 log kob/g (%3APA) ve 3,17 log kob/g (800%3APA) olarak belirlenmiş ve kitosan grupları diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). TAPB sayısında tespit edilen değerler depolama süresine bağlı olarak tüm gruplarda artış göstermiştir ($P<0,05$). TAMB sayısında olduğu gibi kontrol grubu 6. günde, %3APA grubu 8. günde, 800%1AA ve 800%3APA grupları 10. günde TAPB sayısı açısından kabul edilen 7 log kob/g değerinin üzerinde saptanmıştır. Depolama sonunda kontrol, %3APA, 800%1AA ve 800%3APA gruplarının TAPB sayısı sırasıyla 9,69 log kob/g, 9,01 log kob/g, 8,22 log kob/g ve 8,05 log kob/g bulunmuş ve gruplar arasındaki farklar önemli olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$). Elde edilen TAMB ve TAPB sayılarına göre kontrol grubu 6. günde, %3APA grubu 8. günde, 800%1AA ve 800%3APA gruplarının ise 10. günde mikrobiyolojik kalite değerleri açısından bozulduğu tespit edilmiştir.

3.2.8. Toplam Koliform, *E. coli* ve *Salmonella* Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Taze ve farklı kaplama solüsyonları uygulanarak soğuk depolanan kanal yayın balıklarında toplam koliform, *E. coli* ve *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Ancak elde edilen sonuçlara göre toplam koliform sayısı taze örnekte ve depolama süresince tespit edilebilir limit değerlerinin altında bulunmuştur. Ayrıca, taze örneklerde *E. coli* ve *Salmonella* tespit edilmemiştir. Koliform analizi ile depolama süresince yürütülen *E. coli* varlığı analizinde herhangi bir üremeye rastlanılmamıştır.



Şekil 15. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası süresince TAPB değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P < 0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P < 0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.9. L^* , a^* ve b^* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Farklı kaplama solüsyonları uygulanarak soğuk depolama şartlarında depolanan kanal yayın balığına ait L^* , a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 8'de verilmiştir. Taze kanal yayın balıklarında L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 56,47, -2,57 ve -1,77 olarak tespit edilmiştir. Örneklerin L^* (aydınlık) değerleri kaplama işleminden sonra kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla $58,27 \pm 0,75$, $58,8 \pm 0,98$, $62,27 \pm 1,02$ ve $58,03 \pm 1,98$ bulunmuş ve %3APA grubunun istatistiksel olarak diğer gruplardan farklı olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). Depolama süresince kitosan ve asit solüsyonlarının etkisiyle 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının L^* değeri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda depolamaya bağlı olarak L^* değerinde hafif bir düşüş olmasına rağmen, bu eğilim diğer kaplama gruplarında saptanmamıştır. Depolama sonunda ise kontrol, 800%1AA, %3APA ve

800%3APA gruplarının L* değerleri sırasıyla 56,13±0,15, 59,93±0,23, 61,47±0,74, 60,40±0,80 olarak ölçülmüştür.

Örneklerin a* (kırmızılık) değerlerinde meydana gelen değişimlerde depolama süresince dalgalanmalar gözlemlendi, ancak depolama sonunda elde edilen kırmızılık değerleri depolama başlangıcında elde edilen değerlerden daha düşük tespit edilmiştir (Tablo 8). Fakat bu değişimler istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır (P>0,05). Depolama başlangıcında en düşük a* değeri kontrol grubunda (-2,73) gözlenirken, en yüksek 800%3APA grubunda (-2,60) tespit edilmiş, ancak aralarındaki farklar önemsiz bulunmuştur (P<0,05). Depolama sonunda gruplar arasında istatistiksel olarak farklar bulunmasa da (P>0,05), en düşük a* değeri %3APA grubunda en yüksek a* değeri ise yine 800%3APA grubunda belirlenmiştir.

Ürünlerin b* (sarılık) değerleri başlangıçta gruplara göre çok farklılık göstermiştir. Depolama başlangıcında bu değerler kontrol, 800%1AA,%3APA ve800%3APA grupları için sırasıyla -1,83, -3,03, -3,27 ve -0,97 olarak belirlenmiştir (Tablo 8). Bu değerlere göre kontrol grubu 800%3APA grubu ile 800%1AA grubu ise %3APA grubu ile benzer bulunmuştur (P>0,05). Depolamaya bağlı olarak tüm grupların sarılık değerinde artış gözlenmiştir. Depolama sonunda artan b* değerleri kontrol grubu için +0,07, 800%1AA grubu için +0,13, %3APA grubu için -0,07 ve 800%3APA grubu için +0,60 olarak tespit edilmiş olup gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0,05).

Tablo 8. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişimleri

Gruplar	Depolama Günleri						
	0	3	6	8	10	12	
L*	Kontrol	58,27±0,75 ^A ^{ab}	58,80±0,36 ^A ^a	57,30±0,36 ^A ^{bc}	56,57±0,21 ^A ^{cd}	56,87±0,21 ^A ^{cd}	56,13±0,15 ^A ^d
	800%1AA	58,80±0,98 ^A ^a	59,10±1,23 ^A ^a	61,30±1,54 ^B ^a	60,80±1,47 ^B ^a	60,03±0,74 ^B ^a	59,93±0,23 ^B ^a
	%3APA	62,27±1,02 ^B ^a	62,67±0,68 ^B ^a	63,10±1,47 ^B ^a	62,57±0,55 ^B ^a	60,90±0,87 ^B ^a	61,47±0,74 ^C ^a
	800%3APA	58,03±1,98 ^A ^a	59,33±1,21 ^A ^a	60,43±0,67 ^B ^a	60,73±1,14 ^B ^a	60,10±0,96 ^B ^a	60,40±0,80 ^{BC} ^a
a*	Kontrol	-2,73±0,15 ^A ^a	-2,33±0,15 ^{AB} ^{ab}	-2,13±0,12 ^A ^b	-2,30±0,10 ^A ^{ab}	-2,30±0,26 ^A ^{ab}	-2,40±0,10 ^A ^{ab}
	800%1AA	-2,67±0,23 ^A ^c	-2,13±0,12 ^A ^{abc}	-2,00±0,17 ^A ^{ab}	-1,60±0,20 ^B ^a	-2,40±0,44 ^A ^{bc}	-2,37±0,06 ^A ^{bc}
	%3APA	-2,63±0,35 ^A ^a	-2,73±0,12 ^B ^a	-2,70±0,10 ^B ^a	-2,63±0,21 ^A ^a	-2,63±0,25 ^A ^a	-2,57±0,29 ^A ^a
	800%3APA	-2,60±0,17 ^A ^a	-2,33±0,25 ^{AB} ^a	-2,53±0,15 ^B ^a	-2,33±0,06 ^A ^a	-2,57±0,23 ^A ^a	-2,33±0,06 ^A ^a
b*	Kontrol	-1,83±0,12 ^A ^a	-2,20±0,79 ^{AB} ^a	-0,50±0,35 ^A ^b	0,20±0,40 ^A ^{bc}	0,90±0,20 ^A ^c	0,07±0,40 ^A ^{bc}
	800%1AA	-3,03±0,21 ^B ^c	-1,13±0,31 ^A ^b	-0,50±0,36 ^A ^{ab}	-0,53±0,15 ^A ^{ab}	-0,70±0,20 ^C ^{ab}	0,13±0,50 ^A ^a
	%3APA	-3,27±0,65 ^B ^c	-2,47±0,38 ^B ^c	-2,30±0,26 ^B ^c	-0,53±0,42 ^A ^{ab}	-1,10±0,17 ^C ^b	-0,07±0,06 ^A ^a
	800%3APA	-0,97±0,47 ^A ^{cd}	-1,17±0,40 ^{AB} ^d	-0,90±0,10 ^A ^{cd}	-0,03±0,15 ^A ^{ab}	-0,20±0,17 ^B ^{bc}	0,60±0,20 ^A ^a

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.10. Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Soğuk depolama süresince farklı kaplama solüsyonları ile kaplanan kanal yayın balığı filetolarına ait tekstür değerleri incelenmiş ve sertlik, elastikiyet, bağlılık, çiğnenebilirlik ve esneklik değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 9’da verilmiştir. Depolama başlangıcında kanal yayın balıklarının sertlik değerleri kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 3,70 kg, 4,09 kg, 3,50 kg ve 4,04 kg olarak tespit edilmiş ve gruplar arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama süresince sertlik değerleri tüm gruplar için düşüş eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Depolama sonunda en yüksek sertlik değeri 800%3APA (3,63 kg) grubunda tespit edilirken bunu 800%1AA (3,61 kg), %3APA (2,79 kg) ve kontrol (2,41 kg) grupları izlemiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA gruplarının sertlik değerleri arasındaki fark istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Bu sonuçlara göre kitosan kaplama işleminin kanal yayın balığı filetolarının sertlik değerinde önemli etkisi olduğu belirlenmiştir.

Kanal yayın balıklarının elastikiyet değerleri depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 0,43 mm, 0,47 mm, 0,44 ve 0,48 olarak belirlenmiştir (Tablo 9). Farklı gruplardan elde edilen bu elastikiyet değerleri arasında önemli fark tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Elastikiyet değerleri depolama süresince azalış gösterse de bu değişimler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama sonunda en yüksek elastikiyet değeri 800%3APA grubunda tespit edilirken en düşük kontrol grubunda belirlenmiştir.

Bağlılık değerleri incelendiğinde kanal yayın balıklarının başlangıç değerleri 0,21 (kontrol) ile 0,34 (%3APA) arasında tespit edilmiştir (Tablo 9). Kaplama solüsyonu uygulanan örneklerde bağlılık derecesi kontrol grubuna göre yüksek bulursa da bu değerler depolama süresince düşüş göstermiştir. Kontrol grubunun bağlılık deresi ise 0. günden 12. güne kadar önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0,05$). Depolama sonun da gruplar arasında istatistiksel olarak farklar gözlenmemiş ve yüksekte düşüğe bağlılık değerleri 800%3APA (0,27), 800%1AA (0,24), %3APA (0,23) ve kontrol (0,21) grubunda tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Çiğnenebilirlik değeri çalışmada kullanılan kitosan solüsyonlarının etkisiyle 800%1AA ve 800%3APA gruplarında depolamanın 0. gününden itibaren daha yüksek olarak saptanmıştır (Tablo 9). Bu grupların çiğnenebilirlik değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farkların önemli olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Depolama süresince düşüş gösteren çiğnenebilirlik değerleri depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 0,20 kg/mm, 0,45 kg/mm, 0,31 kg/mm ve 0,47 kg/mm olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kitosan kaplama işlemi ile kanal yayın balığı filetolarının elastikiyet değerlerinin korunmasında önemli katkı sağladığı ve bu değişimlerin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Ürünlerin tekstür kriterlerinden birisi olan esneklik değeri depolama süresince tüm gruplarda istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama başlangıcında elastikiyet değeri en yüksek 800%1AA ve 800%3APA gruplarında (0,17) tespit edilirken en düşük kontrol (0,11) grubunda bulunmuştur. On iki günlük depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının esneklik değeri sırasıyla 0,14, 0,14, 0,13 ve 0,15 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 9. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince tekstür değerlerinde meydana gelen değişimleri

	Gruplar	Depolama Günleri					
		0	3	6	8	10	12
Sertlik (kg)	Kontrol	3,70±0,47 ^A ^a	3,31±0,05 ^A ^{ab}	3,17±0,10 ^A ^{abc}	2,89±0,21 ^C ^{bc}	2,43±0,19 ^C ^c	2,41±0,43 ^B ^c
	800%1AA	4,09±0,43 ^A ^a	3,93±0,10 ^A ^a	3,81±0,58 ^A ^a	3,58±0,20 ^{AB} ^a	3,75±0,15 ^A ^a	3,61±0,42 ^A ^a
	%3APA	3,50±0,36 ^A ^a	3,42±0,66 ^A ^a	3,12±0,18 ^A ^a	2,96±0,24 ^{BC} ^a	3,04±0,14 ^B ^a	2,79±0,06 ^{AB} ^a
	800%3APA	4,04±0,67 ^A ^a	3,95±0,09 ^A ^a	3,91±0,46 ^A ^a	4,01±0,34 ^A ^a	3,82±0,14 ^A ^a	3,63±0,44 ^A ^a
Elastikiyet (mm)	Kontrol	0,43±0,02 ^A ^a	0,41±0,03 ^A ^{ab}	0,41±0,01 ^A ^{ab}	0,38±0,01 ^B ^b	0,40±0,01 ^A ^{ab}	0,38±0,02 ^A ^{ab}
	800%1AA	0,47±0,04 ^A ^a	0,47±0,06 ^A ^a	0,45±0,02 ^A ^a	0,42±0,04 ^{AB} ^a	0,41±0,04 ^A ^a	0,39±0,02 ^A ^a
	%3APA	0,44±0,02 ^A ^a	0,46±0,02 ^A ^a	0,44±0,04 ^A ^a	0,44±0,01 ^A ^a	0,45±0,03 ^A ^a	0,42±0,01 ^A ^a
	800%3APA	0,48±0,03 ^A ^a	0,46±0,01 ^A ^a	0,46±0,03 ^A ^a	0,44±0,02 ^{AB} ^a	0,43±0,01 ^A ^a	0,43±0,06 ^A ^a
Bağlılık	Kontrol	0,21±0,01 ^B ^a	0,21±0,01 ^A ^a	0,23±0,01 ^A ^a	0,22±0,02 ^A ^a	0,21±0,01 ^A ^a	0,21±0,04 ^A ^a
	800%1AA	0,30±0,02 ^{AB} ^a	0,28±0,01 ^B ^a	0,27±0,02 ^A ^a	0,24±0,04 ^A ^a	0,25±0,01 ^A ^a	0,24±0,06 ^A ^a
	%3APA	0,34±0,06 ^A ^a	0,30±0,02 ^B ^{ab}	0,27±0,03 ^A ^{ab}	0,24±0,03 ^B ^b	0,25±0,02 ^A ^{ab}	0,23±0,03 ^B ^b
	800%3APA	0,30±0,05 ^{AB} ^a	0,27±0,02 ^B ^a	0,26±0,01 ^A ^a	0,26±0,04 ^A ^a	0,25±0,03 ^A ^a	0,27±0,02 ^A ^a
Çiğnenabilirlik (kg/mm)	Kontrol	0,31±0,05 ^C ^{ab}	0,30±0,08 ^A ^{ab}	0,33±0,01 ^A ^a	0,26±0,00 ^B ^{ab}	0,25±0,04 ^B ^{ab}	0,20±0,04 ^B ^b
	800%1AA	0,63±0,03 ^A ^a	0,47±0,09 ^{AB} ^b	0,47±0,04 ^B ^b	0,41±0,08 ^A ^b	0,37±0,03 ^{AB} ^b	0,45±0,02 ^A ^b
	%3APA	0,36±0,12 ^{Bc} ^a	0,37±0,01 ^{AB} ^a	0,36±0,02 ^A ^a	0,33±0,03 ^{AB} ^a	0,34±0,02 ^{AB} ^a	0,31±0,02 ^{AB} ^a
	800%3APA	0,56±0,13 ^{AB} ^a	0,51±0,04 ^B ^a	0,47±0,06 ^B ^a	0,44±0,02 ^A ^a	0,42±0,08 ^A ^a	0,47±0,12 ^A ^a
Esneklik	Kontrol	0,11±0,01 ^A ^a	0,11±0,00 ^A ^a	0,15±0,01 ^A ^a	0,14±0,01 ^A ^a	0,12±0,00 ^A ^a	0,14±0,03 ^A ^a
	800%1AA	0,17±0,01 ^A ^a	0,16±0,01 ^A ^a	0,15±0,01 ^A ^a	0,12±0,02 ^A ^a	0,15±0,03 ^A ^a	0,14±0,04 ^A ^a
	%3APA	0,16±0,07 ^A ^a	0,14±0,03 ^A ^a	0,13±0,02 ^A ^a	0,14±0,03 ^A ^a	0,14±0,02 ^A ^a	0,13±0,02 ^A ^a
	800%3APA	0,17±0,03 ^A ^a	0,13±0,01 ^A ^a	0,13±0,01 ^A ^a	0,15±0,03 ^A ^a	0,16±0,03 ^A ^a	0,15±0,02 ^A ^a

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.2.11. Duyusal Özelliklerde Meydana Gelen Değişimler

Farklı kaplama solüsyonları ile kaplanarak buzdolabı koşullarında depolanan kanal yayın balıklarının görünüş, koku, doku ve genel beğeni kriterlerine göre elde edilen duyusal değerlendirme sonuçları Tablo 10'da verilmiştir. Çalışmada kullanılan kanal yayın balıklarının duyusal değerlendirilmesi panelistler tarafından 9 puanlık bir hedonik skala üzerinden gerçekleştirmiş ve 4 puan altı tüketilemez olarak değerlendirilmiştir. Depolama sürecine bağlı olarak tüm grupların duyusal değerlendirme puanlarında istatistiki olarak önemli düşüşler gözlenmiştir ($P < 0,05$). Depolama başlangıcında görünüş, doku ve genel beğeni açısından gruplar arasındaki farkların önemsiz olduğu ($P > 0,05$), ancak bu değerler arasındaki değişimlerin depolama süresine bağlı olarak önemli hale geldiği saptanmıştır ($P < 0,05$). Koku kriteri açısından depolama başlangıcında daha düşük değerlere sahip 800%1AA ve %3APA gruplarının kontrol ve 800%3APA gruplarından istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Kontrol grubunun tüm duyusal kriterler açısından depolamanın 6. gününde bozulduğu ve bu grubun 6. günde tespit edilen görünüş, koku, doku ve genel beğeni puanlarının sırasıyla 2,50, 2,43, 2,45, 2,48 olduğu bulunmuştur. %3APA grubunun görünüş değerleri hariç (8. gün) diğer duyusal kriterlerinin depolamanın 6. gününde tüketilebilir limit değerinin altında kaldığı ve bu grubun bozulma gösterdiği 6. gündeki duyusal puanlarının koku için 3,93, doku için 3,98 ve genel beğeni için 3,95 olduğu tespit edilmiştir. 800%1AA grubunun depolamanın 10. gününde tüm duyusal parametreler açısından bozulduğu, ancak aynı gün tüketilebilir sınır değeri altında kalan 800%3APA grubunun ise görünüş kriteri açısından depolamanın 12. gününde bozulduğu tespit edilmiştir. Bozulmanın gerçekleştiği depolamanın 10. gününde kanal yayın balıklarının görünüş, koku, doku ve genel beğeni puanlarının sırasıyla 800%1AA grubunda 3,25, 2,80, 3,43 ve 3,0 iken, 800%3APA grubunda 4,18, 2,98, 3,78 ve 3,13 olduğu bulunmuştur. Tüm duyusal değerlendirme puanları baz alındığında en hızlı bozulmanın kontrol ve %3APA gruplarında (6. gün) olduğu, buna rağmen kitosan kaplama uygulamasının ürünlere duyusal açıdan olumlu katkı sağladığı ve kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA gruplarında duyusal bozulmanın depolamanın 10. gününde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Buzdolabı koşullarında depolanan 800%3APA grubu duyusal açıdan en iyi beğeniye sahip olduğu belirlenmiş, ancak tüketilebilirlik açısından 800%1AA grubu ile bu grubun aynı raf ömrüne (10 gün) sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 10. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının soğuk muhafazası (4 °C) süresince duyuusal parametrelerinde meydana gelen değişimleri

	Gruplar	Depolama Günleri					
		0	3	6	8	10	12
Görünüş	Kontrol	8,80±0,23 ^A ^a	5,25±0,50 ^C ^b	2,50±0,58 ^C ^c	1,60±0,49 ^B ^{cd}	1,15±0,30 ^C ^d	1,00±0,00 ^C ^d
	800%1AA	8,65±0,47 ^A ^a	7,53±0,46 ^A ^b	6,00±0,00 ^A ^c	4,50±0,58 ^A ^d	3,25±0,50 ^B ^e	2,25±0,50 ^B ^e
	%3APA	8,25±0,50 ^A ^a	6,30±0,48 ^B ^b	4,03±0,13 ^B ^c	2,55±0,44 ^B ^d	1,25±0,50 ^C ^e	1,00±0,00 ^C ^e
	800%3APA	8,93±0,15 ^A ^a	7,88±0,25 ^A ^b	6,50±0,58 ^A ^c	5,25±0,50 ^A ^d	4,18±0,21 ^A ^e	3,68±0,47 ^A ^e
Koku	Kontrol	8,90±0,20 ^A ^a	5,18±0,24 ^C ^b	2,43±0,28 ^C ^c	1,38±0,23 ^C ^d	1,08±0,10 ^B ^d	1,00±0,00 ^C ^d
	800%1AA	8,28±0,25 ^B ^a	7,30±0,22 ^A ^b	5,88±0,15 ^A ^c	4,33±0,43 ^A ^d	2,80±0,08 ^A ^e	2,03±0,05 ^B ^f
	%3APA	8,40±0,18 ^B ^a	6,13±0,15 ^B ^b	3,93±0,10 ^B ^c	2,45±0,37 ^B ^d	1,13±0,19 ^B ^e	1,00±0,00 ^C ^e
	800%3APA	8,75±0,19 ^A ^a	7,68±0,15 ^A ^b	6,40±0,49 ^A ^c	4,95±0,10 ^A ^d	2,98±0,33 ^A ^e	2,48±0,21 ^A ^e
Doku	Kontrol	8,98±0,05 ^A ^a	5,08±0,15 ^C ^b	2,45±0,53 ^C ^c	1,68±0,38 ^D ^d	1,10±0,20 ^B ^{de}	1,00±0,00 ^C ^e
	800%1AA	8,90±0,20 ^A ^a	7,60±0,54 ^A ^b	6,18±0,24 ^A ^c	4,68±0,38 ^B ^d	3,43±0,43 ^A ^e	2,38±0,30 ^B ^f
	%3APA	8,73±0,32 ^A ^a	6,25±0,38 ^B ^b	3,98±0,05 ^B ^c	2,50±0,38 ^C ^d	1,20±0,40 ^B ^e	1,00±0,00 ^C ^e
	800%3APA	8,95±0,10 ^A ^a	8,05±0,10 ^A ^b	6,68±0,38 ^A ^c	5,43±0,26 ^A ^d	3,78±0,53 ^A ^e	2,85±0,26 ^A ^f
Genel Beğeni	Kontrol	8,93±0,10 ^A ^a	5,20±0,16 ^C ^b	2,48±0,50 ^C ^c	1,58±0,33 ^D ^d	1,08±0,15 ^B ^d	1,00±0,00 ^C ^d
	800%1AA	8,68±0,47 ^A ^a	7,55±0,44 ^A ^b	6,08±0,10 ^A ^c	4,55±0,42 ^B ^d	3,00±0,08 ^A ^e	2,23±0,22 ^B ^f
	%3APA	8,40±0,43 ^A ^a	6,23±0,17 ^B ^b	3,95±0,10 ^B ^c	2,50±0,24 ^C ^d	1,25±0,50 ^B ^e	1,00±0,00 ^C ^e
	800%3APA	8,90±0,14 ^A ^a	7,85±0,13 ^A ^b	6,58±0,29 ^A ^c	5,28±0,17 ^A ^d	3,13±0,28 ^A ^e	2,90±0,14 ^A ^e

Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

%3 kitosan ile kaplanan kanal yayın balıklarının (800%3APA) soğuk muhafazasının 8. ve 10. günlerinde meydana gelen duyuşal değişimleri taze örnek (kontrol) ile karşılaştırılmış ve duyuşal değişimin belirlenmesi açısından ürünlerin görünüş, koku, doku, genel beğeni ve satın alınabilirlik özellikleri 75 kişilik panelist tarafından değerlendirilerek sonuçları Tablo 11’de verilmiştir. Bu duyuşal analizde değerlendirilen 800%3APA grubunun depolama günleri, 8 kişilik uzman ekip tarafından yürütölen diğer duyuşal değerlendirme sonuçlarını baz alarak seçilmiştir. Diğer duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre 800%3APA grubunun bozulma gösterdiği 10. gün (10%3APA) ve bozulmadan bir önceki depolama günü olan 8. gün (8%3APA) seçilmiş ve bu depolama günlerinde tespit edilen duyuşal değişimler taze örnek ile karşılaştırılmıştır. Görünüş ve doku açısından 3 grubunda istatistiki olarak birbirinden farklı olduğu ($P<0,05$), ancak koku ve genel beğeni açısından kontrol ve 8%3APA grupları arasındaki farkların önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$). Panelistler tarafından en çok beğeni kontrol grubu alırken en az beğeni 10%3APA grubunun ürünleri almıştır. Kanal yayın balıklarının genel beğeni puanları azdan çoğa 10%3APA (4,31), 8%3APA (6,16) ve taze (6,25) olarak belirlenmiştir. Ürünlerin satın alınabilirlik özellikleri sorulduğunda panelistlerin %44,67’si 10%3APA grubu için, %84,00’ü 8%3APA grubu için ve %85,33’ü kontrol grubu için evet seçeneğini işaretlemiştir. Bu sonuçlara göre 800%3APA grubunun 8 gün soğuk muhafaza şartlarında depolanması esnasında ürünlerin bozulmadığı ve panelistler tarafından olumlu sonuçlar aldığı tespit edilmiştir. Ancak, 800%3APA grubunun 10. gün değerleri, kontrol ve 800%3APA grubunun 8. gün değerlerine göre daha düşük bulunmuş ve panelistlerden daha az beğeni almışlardır. Bu sonuçlar hem mikrobiyal hem de diğer duyuşal analiz sonuçları ile de desteklenmiş ve 800%3APA grubu ürünlerinin 8 günlük soğuk depolama süresince duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini koruduğu belirlenmiştir.

Tablo 11. %3 kitosan ile kaplanan 800%3APA grubunun soğuk muhafazası sırasında 8. ve 10. günlerindeki duyuşal değişimlerinin taze kanal yayın balığı ile karşılaştırılması

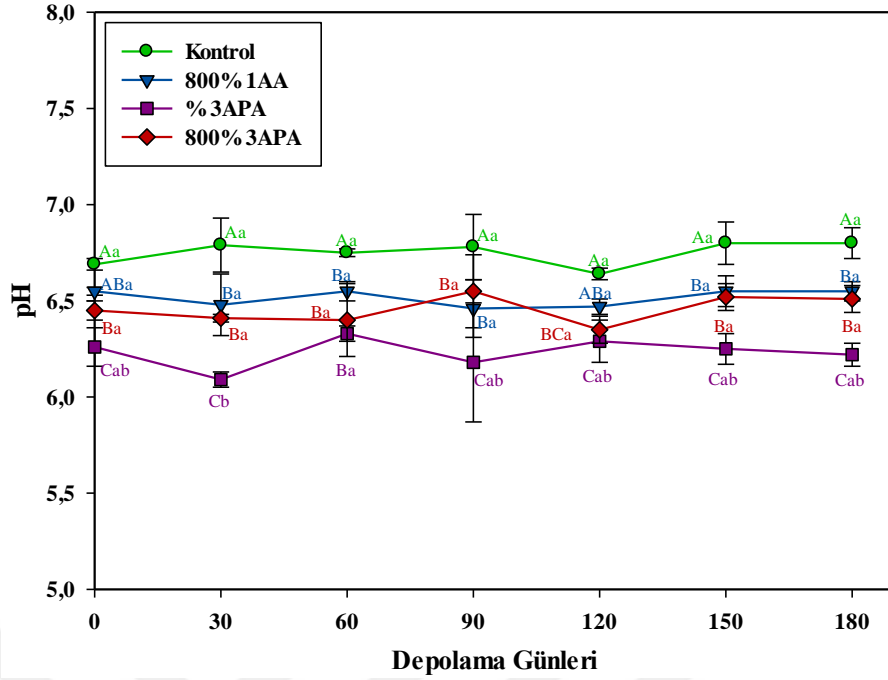
Gruplar	Duyusal Kriterler				
	Görünüş	Koku	Doku	Genel Beğeni	Satın Alınabilirlik (%)
Taze	6,69±1,38 _c	5,89±1,41 _b	6,53±1,64 _c	6,25±1,61 _b	85,33
8%3APA	5,89±1,81 _b	5,61±1,87 _b	5,73±1,88 _b	6,16±1,60 _b	84,00
10%3APA	4,33±1,91 _a	4,73±1,60 _a	4,12±1,90 _a	4,31±1,79 _a	44,67

Aynı sütündeki farklı harfler (a,b,c...) gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Taze: herhangi bir işlem uygulanmamış taze balık, 8AS3%: %3 asetik asit ve %3 kitosan solüsyonu içerisine daldırılmış balıkların 8 günlük depolanması, 10%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan solüsyonu içerisine daldırılmış balıkların 10 günlük depolanması.

3.3. Donmuş Muhafaza Çalışması

3.3.1. pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kitosan kaplama uygulanmış kanal yayın balığı filetoalarının 6 aylık donmuş muhafazası esnasında pH değerinde meydana gelen değişimlere ait sonuçlar Şekil 16’da verilmiştir. Herhangi bir işlem uygulanmamış taze kanal yayın balığının pH’sı 6,71±0,04 bulunmuştur. Bu değer kaplama solüsyonlarında kullanılan asitlerin etkisiyle 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında depolama başlangıcından itibaren kontrol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır. Kaplama solüsyonlarının pH değerleri 800%1AA için 3,00, %3APA için 4,00 ve 800%3APA için 4,16 olarak belirlenmiştir. Depolamanın başlangıcı olan 0. günde kontrol grubunda pH değeri 6,69 tespit edilirken, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 6,55, 6,26 ve 6,45 olarak belirlenmiştir. Donmuş depolama süresince tüm grupların pH değerinde dalgalanmalar gözlenmiştir. Depolama süresine bağlı olarak pH değerinde meydana gelen değişimler genellikle istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (P>0,05). Depolama sonunda kitosan gruplarının pH değerleri arasında önemli fark gözlenmemiş (P>0,05), ancak bu gruplardan tespit edilen pH değerleri kontrol ve %3APA gruplarının pH değerine göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0,05). Donmuş muhafazanın 6. ayı sonunda ise kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında pH değerleri sırasıyla 6,80±0,08, 6,55±0,05, 6,22±0,06 ve 6,51±0,07 olarak belirlenmiştir.

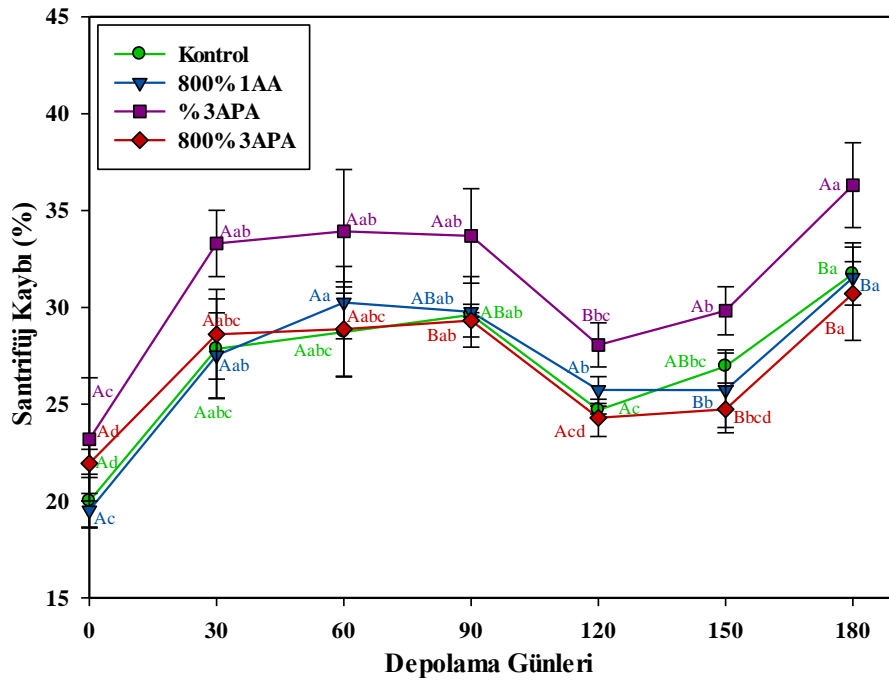


Şekil 16. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince pH değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P < 0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P < 0,05$). Kontrol: distile su içerisinde daldırılmış, 800% 1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisinde daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisinde daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisinde daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.2. Santrifüj Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Donmuş depolama süresince farklı kaplama uygulanmış kanal yayın balıklarının santrifüj kaybına ait sonuçlar Şekil 17’de verilmiştir. Depolama başlangıcında kontrol, 800% 1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının santrifüj kaybı sırasıyla %19,99, %19,52, %23,18 ve %21,94 olarak tespit edilmiş ve gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Kanal yayın balıklarının santrifüj kaybı donmuş depolamanın 30. gününden itibaren artmış ve bu değerler kontrol grubunda %27,86, 800%1AA grubunda %27,52, %3APA grubunda %33,30 ve 800%3APA grubunda %21,94 olarak tespit edilmiştir ($P > 0,05$). Donmuş depolama süresince inişli çıkışlı değerler saptanan santrifüj kaybının grup içi değişimleri depolama süresine bağlı olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). En yüksek santrifüj kaybı depolama süresince %3APA grubunda saptanırken, en düşük santrifüj kaybı depolamanın 90. gününden itibaren 800%3APA grubunda belirlenmiştir. Kanal yayın balıklarının 180 günlük donmuş

muhafazası sonrası santrifüj kaybı kontrol, 800% 1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla %31,73, %31,53, %36,31 ve %30,71 olarak bulunmuştur. Depolama sonunda elde edilen bu değerlere göre %3APA grubunun santrifüj kaybı diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Özetle, %3 kitosan ve %3 aspartik asit ile muamele edilen kanal yayın balıklarının santrifüj kaybı depolama sonunda diğer gruplar ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur.

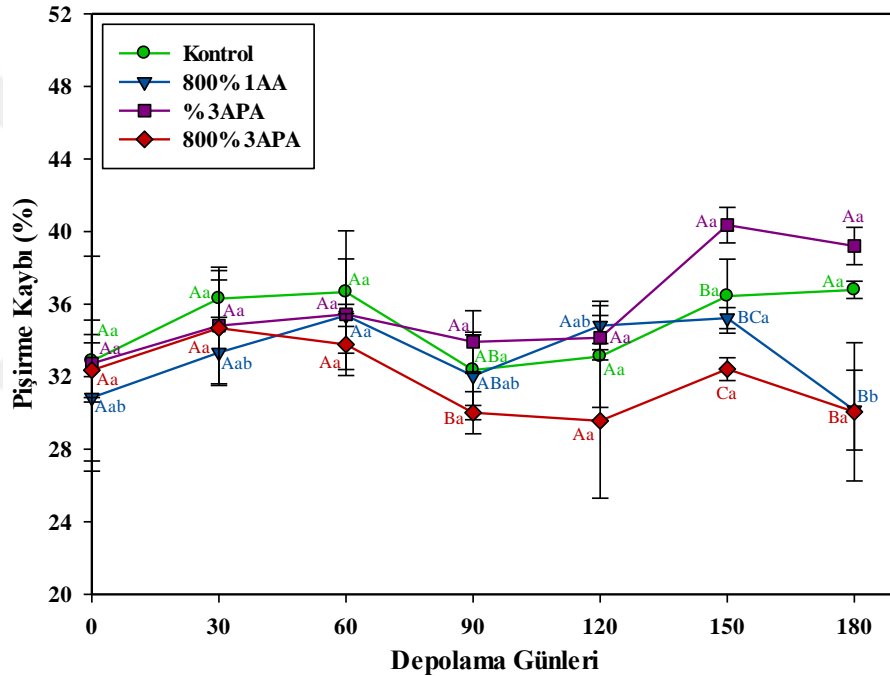


Şekil 17. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince santrifüj kaybında meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisinde daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisinde daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisinde daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisinde daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.3. Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Bu çalışmada farklı kaplama solüsyonları uygulanarak donmuş muhafazaya alınan kanal yayın balıklarının pişirme kaybına ait değerler Şekil 18’de verilmiştir. Başlangıçta %30,84 (800%1AA) ile %32,86 (kontrol) arasında değişim gösteren pişirme kaybı depolamanın 30. gününde artış göstermiş, fakat bu değişimler hem gruplar arasında hem de grup içinde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Gruplar arasındaki

değişimlerin depolamanın 90., 150. ve 180. gününde önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Grup içi değişimler incelendiğinde sadece 800%1AA ve %3APA grubunda depolama süresine bağlı olarak önemli değişimler gözlenmiştir ($P<0,05$). Kanal yayın balıklarının depolama süresince pişirme kaybı değerlerine kitosan kaplama uygulamasının, 800%1AA ve 800%3APA gruplarında önemli bir azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır. Depolama sonunda pişirme kaybı değerleri azdan çoğa sırasıyla 800%3APA (%30,06), 800%1AA (%30,15), kontrol (%36,79) ve %3APA (%39,21) gruplarında belirlenmiş ve kitosan kaplama grupları istatistiksel olarak kontrol ve 800%1AA gruplarından farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

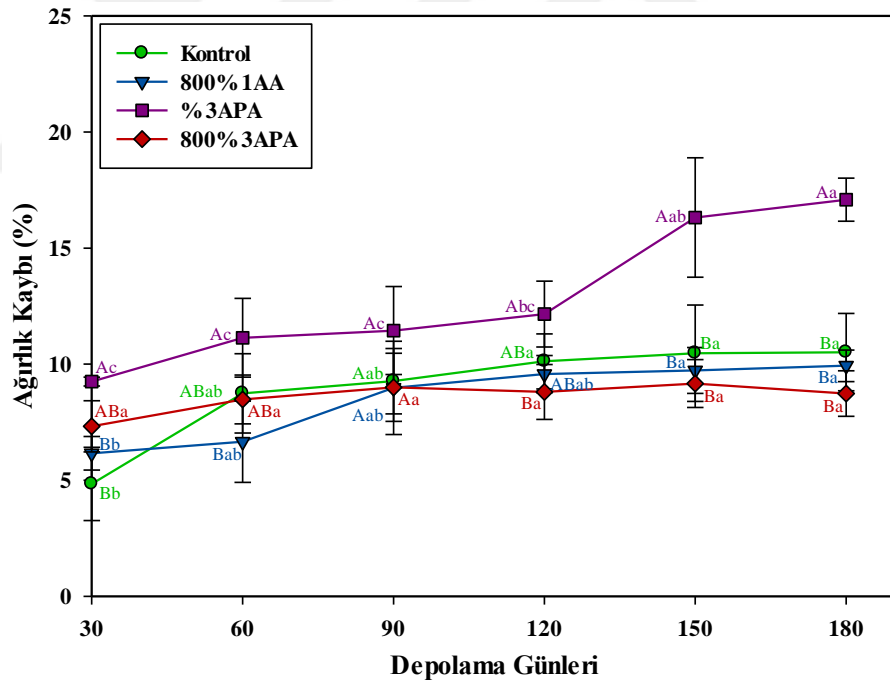


Şekil 18. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince pişirme kaybında meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.4. Ağırlık Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Kanal yayın balıklarının $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması süresince ağırlık kaybında meydana gelen değişimleri Şekil 19'da verilmiştir. Ağırlık kaybı tüm gruplarda depolama

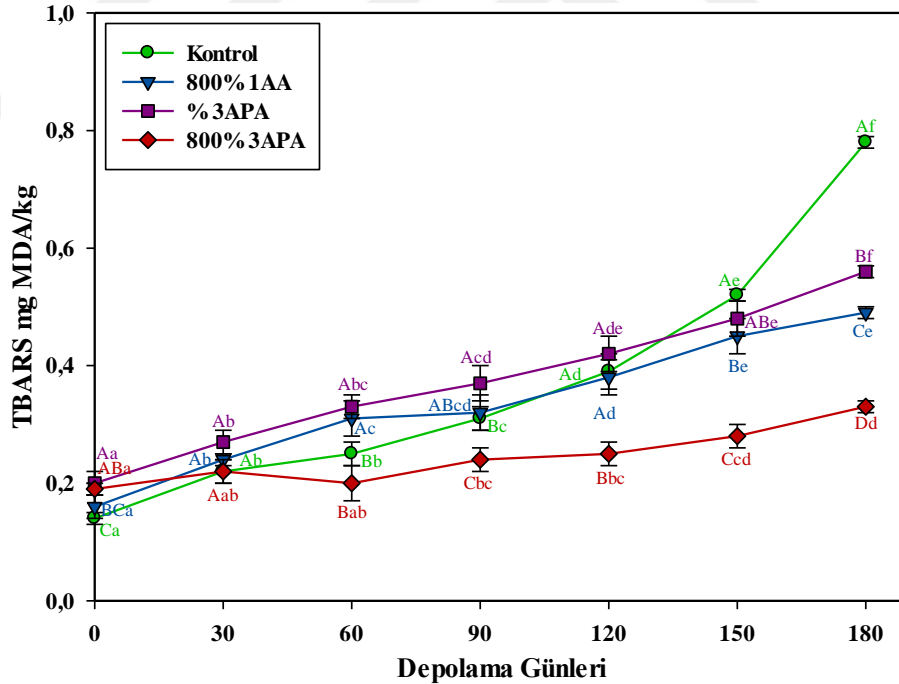
süresine bağlı olarak artan bir eğilim göstermiş ve bu artışın önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Bu değerler depolamanın 30. gününde en düşük kontrol grubunda (%4,84) bulunurken, en yüksek %3APA grubunda (%9,25) tespit edilmiştir. Depolamanın 30. gününde tespit edilen ağırlık kaybı değerlerine göre %3APA grubu diğer gruplardan (800%3APA hariç) istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresince kontrol ve %3APA grubunda meydana gelen ağırlık kaybı değerleri kitosan gruplarına göre daha hızlı bir artış göstermiştir. Depolamanın son günü olan 180. günde kanal yayın balıklarının ağırlık kaybına en önemli azaltıcı etkinin 800%3APA grubunda sağladığı tespit edilmiş ve bu değer %8,73 olarak belirlenmiştir. Ağırlık kaybı açısından en düşük değere sahip 800%3APA grubunu sırasıyla 800%1AA (%9,73), kontrol (%10,52) ve %3APA (17,09) grupları izlemiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar incelendiğinde, %3APA grubunda saptanan ağırlık kaybı değerleri diğer gruplardan istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 19. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince ağırlık kaybında meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.5. TBARS Miktarında Meydana Gelen Değişimler

Kitosanın kanal yayın balıkları üzerine etkilerinin araştırılması amaçlı hazırlanmış farklı kaplama gruplarının donmuş muhafazası esnasında belirlenen TBARS miktarındaki değişimleri Şekil 20’de verilmiştir. Kanal yayın balıklarının depolama süresince yağ oksidasyonunda meydana gelen değişimlerinin belirlenmesi amaçlı yürütülen TBARS analizi sonucu taze örnekte TBARS değeri 0,14 mg olarak bulunmuş ve bu değer depolama süresince tüm gruplarda hafif bir artış göstermiştir. Depolama başlangıcında kanal yayın balıklarının TBARS miktarı kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 0,14 mg MDA/kg, 0,16 mg MDA/kg, 0,20 mg MDA/kg ve 0,19 mg MDA/kg bulunmuştur. İstatistiksel olarak incelendiğinde 800%1AA ve 800%3APA grupları arasındaki farklar önemsiz ($P>0,05$) iken, %3APA ve 800%3APA gruplarında tespit edilen TBARS değerlerinin kontrol grubundan farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

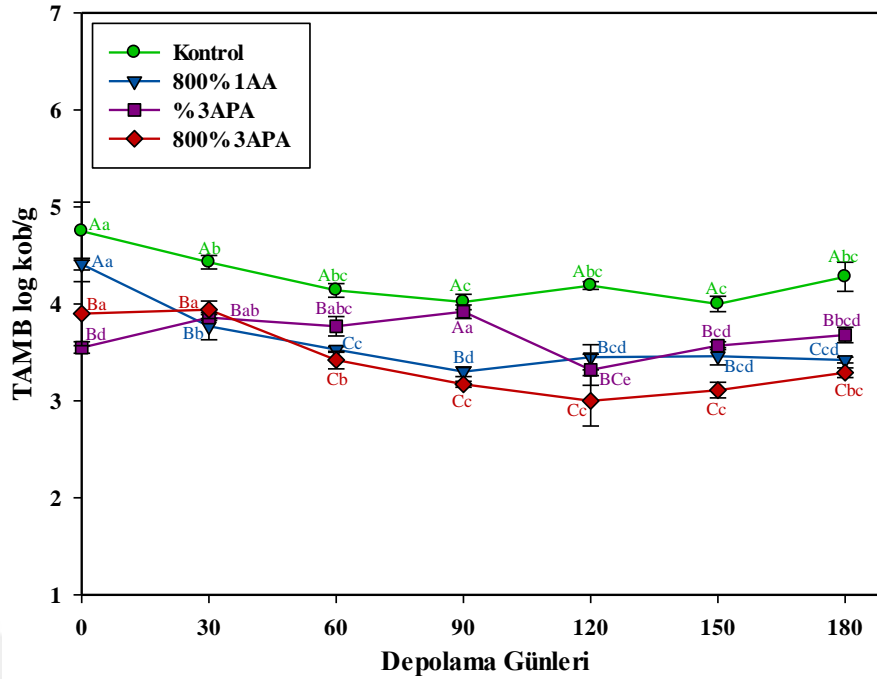


Şekil 20. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince TBARS değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

Depolama sonunda kanal yayın balıklarının TBARS miktarında en yüksek kontrol grubunda (0,78 mg MDA/kg) belirlenmiş ve bunu sırasıyla %3APA (0,56 mg MDA/kg), 800%1AA (0,49 mg MDA/kg) ve 800%3APA (0,33 mg MDA/kg) grubu izlemiştir. Kitosan kaplama uygulanmış grupların TBARS değeri depolama sonunda kontrol ve %3APA gruplarına kıyasla istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Ancak bu artışlar TBARS değeri açısından belirlenen limit değer (5 mg MDA/kg) çok altında kalmış ve yağ oksidasyonu açısından 6 aylık depolama süresince kanal yayın balıklarının kalitelerini önemli derecede koruduğu belirlenmiştir.

3.3.6. TAMB Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Çalışmada yürütülen TAMB sonuçları Şekil 21’de verilmiştir. Taze kanal yayın balığında TAMB sayısı 4,67 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu değer depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 4,75 log kob/g, 4,41 log kob/g, 3,55 log kob/g ve 3,90 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Depolama başlangıcında tespit edilen değerlere göre %3APA grubu 800%3APA grubu ile, kontrol grubu ise 800%1AA grubu ile istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Ürünlerin depolanması esnasında uygulanan sıcaklık nedeniyle depolama süresince tüm gruplarda görülen bakteri üremeleri kısıtlanmış ve depolama sonunda bu değerler su ürünleri için bildirilen 7 log kob/g sınır değerinin altında bulunmuştur. Depolama sıcaklığının yanı sıra kitosan kaplamalarda TAMB sayısı üzerinde azaltıcı etki sağlamış ve depolama sonunda kitosan kaplama uygulanan 800%1AA ve 800%3APA gruplarında TAMB sayısı sırasıyla 3,42 log kob/g ve 3,29 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu değerleri ise sırasıyla %3APA (3,68 log kob/g) ve kontrol (4,28 log kob/g) grupları izlemiştir. TAMB sayısı açısından kitosan gruplarında belirlenen bu düşük değerler, kontrol ve %3APA gruplarının değerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

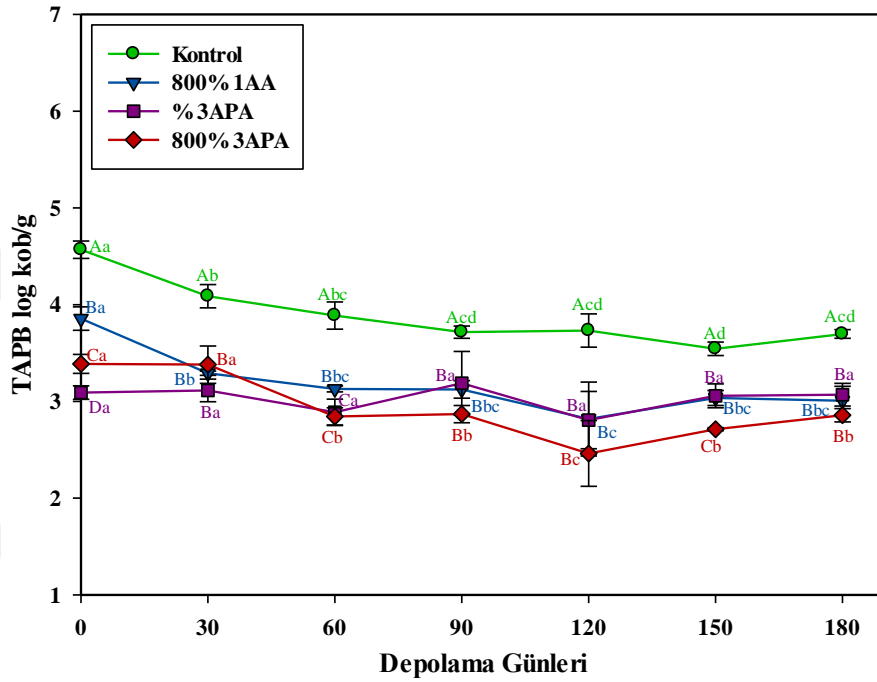


Şekil 21. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince TAMB değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisinde daldırılmış, 800% 1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisinde daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisinde daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisinde daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.7. TAPB Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış kanal yayın balıklarının $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 6 ay depolanması esnasında TAPB sayısında meydana gelen değişimleri log kob/g olarak Şekil 22'de verilmiştir. Taze örnekte TAPB sayısı 4,17 log kob/g olarak tespit edilmiş ve bu değer depolama başlangıcında kontrol, 800% 1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 4,57 log kob/g, 3,86 log kob/g, 3,09 log kob/g ve 3,39 log kob/g bulunmuştur. Depolama başlangıcında tüm grupların TAPB sayıları birbirinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Donmuş muhafazanın düşük sıcaklık şartları, kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış tüm grupların TAPB sayılarında azalışa neden olmuş ve depolama süresince bakteri üremesini kısıtlamıştır. Ayrıca kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balıklarının TAMB yükü üzerinde kitosanın kısıtlayıcı etkisi de belirlenmiş ve özellikle 800%3APA grubun depolamanın 60. gününden 180. gününe kadar TAPB sayısı üzerinde en iyi etkiyi göstermiştir. Muhafaza şartları ve uygulanan

kaplama işlemlerin etkisiyle azalış gösteren TAPB sayısı depolama sonunda çoktan aza sırasıyla kontrol (3,70 log kob/g), %3APA (3,07 log kob/g), 800%1AA (3,01 log kob/g) ve 800%3APA (2,86 log kob/g) grubunda belirlenmiş ve kontrol grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresince tespit edilen TAPB sayısı tüm gruplarda ICMSF (1986) tarafından balıklarda görülen mikrobiyal yük açısından bildirilen 7 log kob/g sınır değerinin oldukça altında kalmıştır.



Şekil 22. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetoalarının donmuş muhafazası süresince TAPB değerinde meydana gelen değişimleri. Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir ($P<0,05$). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir ($P<0,05$). Kontrol: distile su içerisine daldırılmış, 800%1AA: %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, %3APA: %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, 800%3APA: %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.8. Toplam Koliform, *E. coli* ve *Salmonella* Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Taze ve farklı kaplama solüsyonları uygulanan yayın balıklarının donmuş depolama süresince toplam koliform ve *E. coli* varlığı araştırılmıştır. Ayrıca taze örnekte *Salmonella* varlığının tespit edilmesi amaçlı gerekli analizler gerçekleştirilmiştir. Ancak elde edilen sonuçlara göre toplam koliform ve *E. coli* sayısı taze örnekte ve depolama süresince tüm gruplarda tespit edilebilir limit değerlerinin altında bulunmuştur. Ayrıca

taze örneklerde görülen *Salmonella* varlığı, uygulanan işlemlerden sonra 0. gün (kontrol grubu hariç) ve depolama süresince tüm gruplarda tespit edilmemiştir.

3.3.9. L*, a* ve b* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Kanal yayın balıklarının 6 aylık donmuş muhafaza esnasında renginde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amaçlı L*, a* ve b* değerleri incelenmiş ve bu değerlerde depolama süresince meydana gelen değişimler Tablo 12’de verilmiştir. Ürünlerin aydınlık derecesini temsil eden L* değeri depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 56,43, 58,23, 62,17 ve 59,80 olarak bulunmuştur. Uygulanan işlemler neticesinde asit ve kitosanın etkisiyle kaplama gruplarında tespit edilen L* değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, ancak depolama başlangıcındaki bu farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$). %3APA grubunda kullanılan asidin etkisiyle kanal yayın balıklarının L* değeri depolama süresince diğer gruplardan daha yüksek bulunmuş ve bu grubun L* değeri depolamanın 30, 120, 150 ve 180. gününde kontrol grubundan farklı olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca, %3APA grubunun 150. ve 180. günde tespit edilen L* değerlerinin 800%1AA ve 800%3APA gruplarının L* değerlerinden istatistiki olarak farklı olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Depolama süresince kontrol ve 800%1AA grubunda önemli değişimler gözlenmezken ($P>0,05$), %3APA ve 800%3APA gruplarında bazı depolama günlerinde farklılıklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama sonunda grupların L* değeri 56,83 (kontrol), 57,83 (800%1AA), 58,03 (800%3APA) ve 60,60 (%3APA) olarak düşükten yükseğe doğru sıralanmıştır.

Kanal yayın balıklarının kırmızılık derecesini temsil eden a* değeri depolamanın başlangıcında en yüksek kontrol grubunda (-1,73) gözlenmiş ve bunu sırasıyla 800%1AA (-2,30), %3APA (-2,40) ve 800%3APA (-2,47) izlemiştir (Tablo 12). Ancak gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Kanal yayın balıklarının a* değeri depolama süresince düzensiz değişimler göstermiş ve tüm grupların depolama başlangıcı ile depolama sonunda elde edilen a* değerleri arasındaki farkların önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0,05$). Depolamaya bağlı olarak a* değerinde meydana gelen grup içi değişimlerin 800%3APA grubu hariç diğer gruplar açısından önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$). Gruplar arası istatistiksel değerlendirmelere göre ise

sadece depolamanın 150. gününde 800% 1AA grubu ile %3APA grubu, 180. gününde ise 800% 1AA grubu ile 800%3APA grubu arasında tespit edilen farkların önemli olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Genel olarak değerlendirdiğimizde, hiçbir grubun kanal yayın balıklarının a^* değeri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

Kontrol grubunda kullanılan kanal yayın balıklarının b^* (sarılık) değeri depolama başlangıcında diğer kaplama grupları ile istatistiki açıdan benzer bulunmuş ($P>0,05$) ve bu değerler kontrol, 800% 1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla -1,27, -1,37, -1,07 ve -1,73 olarak ölçülmüştür (Tablo 12). Donmuş depolamanın 30. gününden itibaren kaplama uygulanan kanal yayın balıklarının b^* değerinde artış gözlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Depolama süresince kontrol grubunun b^* değeri diğer kaplama uygulanan grupların b^* değerlerinden daha düşük bulunmuş ve sarımsı renge sahip kaplama solüsyonlarının kanal yayın balıklarının rengine etki ettiği gözlenmiştir. Depolama sonunda kontrol grubunun a^* değeri (-0,37) en düşük bulunmuş ve bunu sırasıyla 800% 1AA (+0,33), %3APA (+0,47) ve 800%3APA (+0,50) izlemiştir.

Tablo 12. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince L*, a* ve b* değerlerinde meydana gelen değişimleri

Gruplar	Depolama Günleri							
	0	30	60	90	120	150	180	
L*	Kontrol	56,43±3,41 ^A ^a	58,73±2,37 ^A ^a	55,70±4,61 ^A ^a	54,60±0,78 ^A ^a	57,63±0,51 ^A ^a	57,07±0,25 ^A ^a	56,83±0,15 ^A ^a
	800% 1AA	58,23±2,08 ^A ^a	60,93±0,67 ^{AB} ^a	56,20±5,96 ^A ^a	54,80±0,75 ^A ^a	58,77±1,75 ^{AB} ^a	58,17±1,78 ^A ^a	57,83±0,42 ^A ^a
	%3APA	62,17±0,68 ^A ^a	63,30±2,01 ^B ^a	56,87±3,00 ^C ^a	57,67±0,59 ^A ^{bc}	61,47±1,62 ^B ^{ab}	61,80±0,78 ^B ^{ab}	60,60±0,89 ^B ^{abc}
	800% 3APA	59,80±2,23 ^A ^a	60,63±0,86 ^{AB} ^a	53,93±2,95 ^B ^b	56,00±2,14 ^A ^{ab}	59,40±0,70 ^{AB} ^a	58,30±1,61 ^A ^{ab}	58,03±0,86 ^A ^{ab}
a*	Kontrol	-1,73±0,40 ^A ^a	-2,13±0,15 ^A ^a	-2,43±0,68 ^A ^a	-1,70±0,50 ^A ^a	-2,20±0,20 ^A ^a	-2,33±0,21 ^{AB} ^a	-1,87±0,21 ^A ^a
	800% 1AA	-2,30±0,10 ^A ^a	-1,77±0,59 ^A ^a	-2,50±0,40 ^A ^a	-1,53±0,70 ^A ^a	-2,20±0,56 ^A ^a	-1,90±0,10 ^A ^a	-2,47±0,06 ^B ^a
	%3APA	-2,40±0,60 ^A ^a	-2,17±0,80 ^A ^a	-2,67±0,47 ^A ^a	-1,97±0,29 ^A ^a	-2,70±0,17 ^A ^a	-2,53±0,06 ^B ^a	-2,20±0,17 ^{AB} ^a
	800% 3APA	-2,47±0,32 ^A ^a	-1,97±0,38 ^A ^{ab}	-1,40±0,80 ^A ^b	-2,07±0,06 ^A ^{ab}	-2,30±0,10 ^A ^{ab}	-2,03±0,32 ^{AB} ^{ab}	-1,97±0,06 ^A ^{ab}
b*	Kontrol	-1,40±0,10 ^A ^{ab}	-1,37±0,29 ^A ^{ab}	-1,57±0,59 ^A ^b	-1,13±0,50 ^A ^{ab}	-1,03±0,55 ^A ^{ab}	-1,43±0,31 ^A ^{ab}	-0,37±0,25 ^B ^a
	800% 1AA	-1,37±0,25 ^A ^a	-0,70±0,17 ^A ^a	-1,07±0,38 ^A ^a	-0,70±0,50 ^A ^a	-0,60±0,20 ^{AB} ^a	0,30±0,10 ^B ^b	0,33±0,15 ^A ^b
	%3APA	-1,00±0,20 ^A ^a	-1,00±0,35 ^A ^a	-1,03±0,64 ^A ^a	-0,77±0,32 ^A ^a	-0,33±0,12 ^{AB} ^{ab}	-0,43±0,15 ^C ^{ab}	0,47±0,32 ^A ^b
	800% 3APA	-1,33±0,55 ^A ^d	0,80±0,26 ^B ^a	0,93±0,32 ^B ^a	-0,53±0,23 ^A ^c	-0,17±0,06 ^B ^{bc}	0,30±0,17 ^B ^{ab}	0,50±0,36 ^A ^{ab}

Aynı sütündeki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.10. Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış kanal yayın balıklarının donmuş muhafazası esnasında sertlik, elastikiyet, bağlılık, çiğnenebilirlik ve esneklik değerlerinin incelenmesi amaçlı gerçekleştirilen tekstür analiz sonuçları Tablo 13'de verilmiştir. Kanal yayın balıklarının sertlik değerleri depolamanın 0. gününde kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 6,82 kg, 6,43 kg, 5,51 kg ve 6,43 kg olarak belirlenmiş ve gruplar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama süresince azalan bir eğilim gösteren sertlik değerinin grup içi değişimlerinde istatistiksel açıdan önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ancak, 180 günlük depolama süresince gruplar arasında saptanan farklılıklar önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Kitosan ile kaplanmış kanal yayın balıklarının sertlik değerlerinde meydana gelen azalışların kontrol ve %3APA gruplarına göre daha fazla kısıtlandığı belirlenmiştir. Depolama sonunda kanal yayın balıklarına ait en düşük sertlik değeri kontrol grubunda (4,06 kg) gözlenirken, bunu sırasıyla %3APA (4,21 kg), 800%3APA (4,45 kg) ve 800%1AA (4,66 kg) takip etmiştir.

Çalışma gruplarının depolama süresince kanal yayın balıklarının elastikiyet üzerine etkileri incelenmiş ve depolamanın 0. gününde bu değer kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 0,41 mm, 0,45 mm, 0,49 mm ve 0,51 mm olarak bulunmuştur (Tablo 13). Depolama süresince en düşük elastikiyet değeri kontrol grubunda gözlenirken, en yüksek 800%3APA grubunda belirlenmiş ve bu gruplar arasındaki farklar depolamanın 0., 60. ve 90. gününde istatistiki açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Depolama süresince kontrol grubunun elastikiyet değerinde hafif artış gözlenirken, bu artışın istatistiki açıdan önemsiz olduğu görülmüştür ($P<0,05$). Ayrıca 800%1AA ve %3APA gruplarının depolama süresince elastikiyet değerlerindeki değişimleri önemsiz bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama sonunda elastikiyet değeri kontrol için 0,47 mm, 800%1AA için 0,48 mm, %3APA için 0,47 mm ve 800%3APA için 0,49 mm olarak belirlenmiştir.

Donmuş muhafaza esnasında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında tespit edilen bağlılık değerleri sırasıyla 0,32, 0,29, 0,30 ve 0,32 olarak bulunmuş (Tablo 13) ve gruplar arasındaki farkların önemli düzeyde olmadığı

belirlenmiştir ($P>0,05$). Depolama süresince kontrol grubunun bağıllık değeri kaplama uygulanan diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca, depolama süresince tüm grupların bağıllık değerlerinde meydana gelen değişimlerinin önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0,05$). Kaplama uygulanan grupların bağıllık değerlerinde görülen değişimler ise depolamanın 180. günü hariç önemli bulunmuş ($P<0,05$) ve depolamanın son gününde en yüksek bağıllık değerine sahip %3APA grubu kontrol ve 800%1AA grubundan istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Bu değerler düşükten yükseğe doğru 0,25 (kontrol), 0,29 (800%1AA), 0,32 (800%3APA) ve 0,35 (%3APA) olarak sıralanmıştır.

Çalışma süresince kanal yayın balıklarının çiğnenebilirlik değerleri depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grubunda sırasıyla 0,84 kg/mm, 0,86 kg/mm, 0,82 kg/mm ve 1,05 kg/mm olarak tespit edilmiştir (Tablo 13). Depolama başlangıcında en yüksek çiğnenebilirlik değerine sahip 800%3APA grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresine bağlı olarak azalış gösteren çiğnenebilirlik değerinde meydana gelen değişimlerin tüm gruplar açısından önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Kitosan kaplama işleminin kanal yayın balıklarının çiğnenebilirlik değeri üzerine pozitif etki gösterdiği ve depolama sonunda en yüksek elastikiyet değerinin 800%3APA (0,70 kg/mm) grubunda olduğu tespit edilmiştir. Bu grubu sırasıyla 800%1AA (0,66 kg/mm), %3APA (0,58 kg/mm) ve kontrol (0,51 kg/mm) gruplarının izlediği belirlenmiştir. Depolama sonunda kitosan kaplama uygulanan grupların çiğnenebilirlik değerinin kontrol grubundan farklı ($P>0,05$) olduğu, ancak 800%1AA grubunun %3APA grubu ile istatistiki açıdan farklı olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$).

Tekstür analiz sonucu kanal yayın balıklarında tespit edilen esneklik değeri depolama süresince önemli değişimlere uğramamış ve 180 günlük depolama boyunca grup içi değişimler istatistiki açıdan önemsiz ($P<0,05$) bulunmuştur (Tablo 13). Kanal yayın balıklarının esneklik değeri üzerine kaplama işlemlerinin herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Sadece depolamanın 120. gününde 800%1AA ile %3APA grubu arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Esneklik değeri depolama süresince tüm gruplarda hafif bir düşüş göstermiş ve depolama başlangıcında 0,19

(kontrol), 0,16 (800%1AA), 0,16 (%3APA) ve 0,16 (800%3APA) olarak tespit edilen esneklik değeri, depolama sonunda sırasıyla 0,15, 0,14, 0,14 ve 0,16 olarak bulunmuştur.



Tablo 13. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince tekstür değerlerinde meydana gelen değişimleri

	Gruplar	Depolama Günleri						
		0	30	60	90	120	150	180
Sertlik (kg)	Kontrol	6,82±0,76 ^A ^a	6,17±0,43 ^A ^a	5,63±0,66 ^A ^{ab}	4,21±0,76 ^A ^b	4,10±0,79 ^A ^b	4,09±0,70 ^A ^b	4,06±0,31 ^A ^b
	800%1AA	6,43±0,35 ^A ^a	6,65±0,60 ^A ^a	5,40±0,42 ^{AB} ^{ab}	4,80±0,18 ^A ^b	4,98±0,91 ^A ^b	4,59±0,17 ^A ^b	4,66±0,40 ^A ^b
	%3APA	5,51±0,80 ^A ^{ab}	6,08±0,83 ^A ^a	5,43±0,50 ^A ^{ab}	4,22±0,51 ^A ^b	4,13±0,31 ^A ^b	4,12±0,23 ^A ^b	4,21±0,91 ^A ^b
	800%3APA	6,43±0,67 ^A ^a	6,39±0,59 ^A ^a	6,46±0,26 ^A ^a	5,05±0,18 ^A ^b	4,71±0,35 ^A ^b	4,63±0,48 ^A ^b	4,45±0,31 ^A ^b
Elastikiyet (mm)	Kontrol	0,41±0,01 ^A ^a	0,41±0,02 ^A ^a	0,44±0,04 ^A ^a	0,42±0,06 ^A ^a	0,46±0,05 ^A ^a	0,46±0,03 ^A ^a	0,47±0,09 ^A ^a
	800%1AA	0,45±0,02 ^{AB} ^a	0,45±0,05 ^A ^a	0,46±0,05 ^A ^a	0,45±0,02 ^A ^a	0,48±0,05 ^A ^a	0,46±0,00 ^A ^a	0,48±0,01 ^A ^a
	%3APA	0,49±0,03 ^B ^a	0,43±0,06 ^A ^a	0,52±0,05 ^{AB} ^a	0,50±0,02 ^{AB} ^a	0,49±0,03 ^A ^a	0,49±0,03 ^A ^a	0,47±0,03 ^A ^a
	800%3APA	0,51±0,03 ^B ^{ab}	0,50±0,01 ^A ^{ab}	0,59±0,03 ^B ^a	0,56±0,04 ^B ^{ab}	0,50±0,03 ^A ^b	0,48±0,04 ^A ^b	0,49±0,05 ^A ^b
Bağlılık	Kontrol	0,32±0,06 ^A ^a	0,28±0,02 ^A ^a	0,31±0,01 ^A ^a	0,28±0,03 ^A ^a	0,26±0,02 ^A ^a	0,27±0,01 ^A ^a	0,25±0,04 ^A ^a
	800%1AA	0,29±0,07 ^A ^a	0,36±0,01 ^B ^a	0,39±0,04 ^B ^a	0,36±0,04 ^B ^a	0,34±0,06 ^A ^a	0,32±0,02 ^B ^a	0,29±0,01 ^{AB} ^a
	%3APA	0,30±0,05 ^A ^a	0,34±0,03 ^B ^a	0,34±0,02 ^{AB} ^a	0,34±0,02 ^{AB} ^a	0,36±0,02 ^A ^a	0,35±0,02 ^B ^a	0,35±0,01 ^C ^a
	800%3APA	0,32±0,04 ^A ^a	0,33±0,02 ^B ^a	0,36±0,02 ^{AB} ^a	0,32±0,03 ^{AB} ^a	0,32±0,05 ^A ^a	0,31±0,03 ^{AB} ^a	0,32±0,02 ^{BC} ^a
Çiğnenebilirlik (kg/mm)	Kontrol	0,84±0,06 ^B ^a	0,83±0,07 ^A ^a	0,88±0,07 ^{AB} ^a	0,75±0,03 ^B ^a	0,52±0,05 ^C ^b	0,52±0,04 ^C ^b	0,51±0,03 ^C ^b
	800%1AA	0,86±0,05 ^B ^{ab}	0,94±0,07 ^A ^a	0,79±0,02 ^B ^b	0,76±0,04 ^B ^{bc}	0,65±0,05 ^B ^c	0,65±0,03 ^B ^c	0,66±0,05 ^B ^c
	%3APA	0,82±0,04 ^B ^a	0,86±0,05 ^A ^a	0,76±0,04 ^B ^{ab}	0,68±0,05 ^B ^{bc}	0,69±0,03 ^{AB} ^{bc}	0,62±0,04 ^B ^c	0,58±0,05 ^{BC} ^c
	800%3APA	1,05±0,04 ^A ^a	0,88±0,08 ^A ^b	0,94±0,05 ^{AB} ^{ab}	0,86±0,02 ^A ^{bc}	0,75±0,03 ^A ^{cd}	0,76±0,01 ^A ^{cd}	0,70±0,04 ^A ^d
Esneklik	Kontrol	0,19±0,05 ^A ^a	0,15±0,01 ^A ^a	0,15±0,01 ^A ^a	0,13±0,02 ^A ^a	0,13±0,01 ^{AB} ^a	0,13±0,01 ^A ^a	0,15±0,02 ^A ^a
	800%1AA	0,16±0,05 ^A ^a	0,18±0,00 ^A ^a	0,17±0,00 ^A ^a	0,17±0,02 ^A ^a	0,17±0,02 ^A ^a	0,15±0,02 ^A ^a	0,14±0,01 ^A ^a
	%3APA	0,16±0,03 ^A ^a	0,18±0,05 ^A ^a	0,15±0,02 ^A ^a	0,14±0,03 ^A ^a	0,12±0,01 ^B ^a	0,15±0,03 ^A ^a	0,14±0,01 ^A ^a
	800%3APA	0,19±0,02 ^A ^a	0,15±0,00 ^A ^a	0,17±0,01 ^A ^a	0,15±0,02 ^A ^a	0,15±0,02 ^{AB} ^a	0,15±0,01 ^A ^a	0,16±0,03 ^A ^a

Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

3.3.11. Duyusal Özelliklerde Meydana Gelen Değişimler

Farklı oranlarda asetik asit ve aspartik asit solüsyonları içerisinde çözündürülen kitosan ile kaplanmış kanal yayın balığı filetoalarının muhafazası süresince duyusal açıdan meydana gelen değişimleri 8 panelist tarafından 9 puanlık bir hedonik skala üzerinden değerlendirilerek belirlenmiştir. Duyusal olarak değerlendirilen kanal yayın balığı filetoaları panelistler tarafından görünüş, koku, doku ve genel beğeni kriterlerine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 14’de verilmiştir.

Depolama başlangıcında panelistler tarafından değerlendirilen kanal yayın balıklarına ait görünüş, koku, doku ve genel beğeni puanları sırasıyla 8,10 (%3APA)-8,95 (kontrol), 8,68 (800%1AA)-9,0 (kontrol), 8,11 (%3APA)-8,93 (kontrol) ve 8,14 (%3APA)-8,90 (kontrol) arasında belirlenmiştir. Depolama başlangıcında tespit edilen bu değerlere göre %3APA grubu görünüş, doku ve genel beğeni açısından diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuş ($P<0,05$), ancak koku kriteri açısından 800%1AA ve %3APA grupları kontrol grubundan farklı olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$). Depolama süresine bağlı olarak tüm grupların duyusal puanlarında önemli düşüşler gözlenmiş ($P<0,05$), fakat 180 günlük depolama süresince hiçbir grup tüketilebilir sınır değeri (4,0) altına düşmemiştir. Kanal yayın balıklarının görünüş, doku ve genel beğeni kriteri açısından, depolamanın başlangıcından sonuna kadar en düşük değere sahip %3APA grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Panelistler tarafından değerlendirilen kanal yayın balıklarının koku kriterlerine göre en az beğeniye asetik asit içerisinde çözündürülen kitosan ile hazırlanan 800%1AA grubunun olduğu ve bu grubun depolama süresince kontrol grubundan istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Depolama sonunda kanal yayın balıklarının doku ve genel beğeni özelliklerine göre tüm grupların birbirinden istatistiki olarak farklı olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Görünüş açısından ise %3APA grubu diğer gruplardan farklı bulunmuş ($P<0,05$), ancak panelistler tarafından 800%1APA ile %3APA gruplarının koku puanlamalarındaki değerlendirmeleri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Depolama süresince kanal yayın balığı filetoalarında duyusal olarak herhangi bir bozulma gözlenmese de, 800%3APA grubu tüm duyusal kriterlere göre en çok beğeni alan grup olmuştur.

Tablo 14. Kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balığı filetolarının donmuş muhafazası süresince duyusal parametrelerinde meydana gelen değişimleri

	Gruplar	Depolama Günleri						
		0	30	60	90	120	150	180
Görünüş	Kontrol	8,95±0,10 ^A ^a	8,48±0,15 ^A ^b	8,40±0,14 ^A ^b	8,28±0,13 ^A ^{bc}	8,00±0,18 ^A ^c	7,28±0,17 ^A ^d	6,38±0,10 ^A ^e
	800% 1AA	8,85±0,19 ^A ^a	8,40±0,14 ^A ^b	8,23±0,13 ^A ^{bc}	8,28±0,10 ^A ^b	7,93±0,13 ^A ^c	7,23±0,10 ^A ^d	6,43±0,13 ^A ^e
	%3APA	8,10±0,14 ^B ^a	7,88±0,13 ^B ^{ab}	7,75±0,10 ^B ^{bc}	7,58±0,15 ^B ^c	7,25±0,13 ^B ^d	6,65±0,13 ^B ^e	5,80±0,08 ^B ^f
	800%3APA	8,88±0,15 ^A ^a	8,45±0,13 ^A ^b	8,35±0,13 ^A ^b	8,40±0,12 ^A ^b	8,03±0,15 ^A ^c	7,30±0,08 ^A ^d	6,54±0,08 ^A ^e
Koku	Kontrol	9,00±0,00 ^A ^a	8,43±0,10 ^A ^b	8,30±0,08 ^A ^{bc}	8,18±0,13 ^{AB} ^{cd}	8,03±0,10 ^A ^d	7,63±0,10 ^A ^e	6,71±0,06 ^B ^f
	800% 1AA	8,68±0,10 ^B ^a	8,25±0,06 ^B ^b	7,98±0,10 ^B ^c	7,80±0,08 ^C ^{cd}	7,75±0,17 ^B ^d	7,40±0,02 ^B ^e	6,46±0,09 ^C ^f
	%3APA	8,80±0,08 ^B ^a	8,29±0,05 ^{AB} ^b	8,10±0,14 ^{AB} ^{bc}	7,93±0,17 ^{BC} ^c	7,93±0,10 ^{AB} ^c	7,55±0,07 ^A ^d	6,50±0,08 ^C ^e
	800%3APA	8,83±0,13 ^{AB} ^a	8,40±0,08 ^{AB} ^b	8,30±0,08 ^A ^{bc}	8,23±0,10 ^A ^{bc}	8,08±0,13 ^A ^c	7,66±0,05 ^A ^d	7,03±0,13 ^A ^e
Doku	Kontrol	8,93±0,10 ^A ^a	8,46±0,14 ^A ^b	8,24±0,11 ^A ^b	7,99±0,12 ^B ^c	7,80±0,07 ^B ^c	7,26±0,11 ^C ^d	6,59±0,06 ^C ^e
	800% 1AA	8,90±0,14 ^A ^a	8,59±0,09 ^A ^b	8,39±0,03 ^A ^b	8,13±0,10 ^{AB} ^c	7,81±0,06 ^B ^d	7,59±0,06 ^B ^e	7,00±0,08 ^B ^f
	%3APA	8,11±0,12 ^B ^a	7,86±0,11 ^B ^b	7,69±0,17 ^B ^{bc}	7,48±0,06 ^C ^{cd}	7,28±0,06 ^C ^{de}	7,10±0,07 ^C ^e	6,47±0,02 ^D ^f
	800%3APA	8,91±0,09 ^A ^a	8,61±0,09 ^A ^b	8,43±0,06 ^A ^c	8,29±0,03 ^A ^c	8,11±0,09 ^A ^d	7,76±0,05 ^A ^e	7,15±0,04 ^A ^f
Genel Beğeni	Kontrol	8,90±0,12 ^A ^a	8,45±0,12 ^A ^b	8,34±0,07 ^A ^{bc}	8,22±0,13 ^A ^c	7,89±0,06 ^A ^d	7,28±0,12 ^{AB} ^e	6,68±0,04 ^B ^f
	800% 1AA	8,80±0,04 ^A ^a	8,40±0,11 ^A ^b	8,28±0,10 ^A ^{bc}	8,18±0,04 ^A ^c	7,78±0,05 ^A ^d	7,14±0,03 ^{BC} ^e	6,53±0,05 ^C ^f
	%3APA	8,14±0,05 ^B ^a	7,99±0,02 ^B ^b	7,82±0,04 ^B ^c	7,64±0,09 ^B ^d	7,32±0,07 ^B ^e	6,98±0,02 ^C ^f	6,27±0,02 ^D ^g
	800%3APA	8,84±0,09 ^A ^a	8,44±0,11 ^A ^b	8,40±0,09 ^A ^b	8,36±0,07 ^A ^b	7,92±0,10 ^A ^c	7,32±0,09 ^A ^d	6,92±0,04 ^A ^e

Aynı sütundaki farklı büyük harfler (A,B,C...) aynı depolama günündeki gruplar arasındaki farkı belirtir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a,b,c...) farklı depolama günündeki grup içinde meydana gelen farkı belirtir (P<0,05). **Kontrol:** distile su içerisine daldırılmış, **800%1AA:** %1 asetik asit ve %1 kitosan içerisine daldırılmış, **%3APA:** %3 aspartik asit içerisine daldırılmış, **800%3APA:** %3 asetik asit ve %3 kitosan içerisine daldırılmış kanal yayın balıkları.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

4.1. İnokülasyon Çalışması

Gerçekleştirilen inokülasyon çalışmasında halk sağlığı yönünden önemli bir risk teşkil eden *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilere karşı farklı konsantrasyonlarda aspartik asit ve asetik asit solüsyonlarında çözündürülmüş yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir.

Gıda kaynaklı patojenlere karşı kitosanın inhibitör etkileri genel olarak değerlendirildiğinde, 800%3APA uygulaması test edilen patojen bakterilerin üremesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Ancak kitosanın inhibitör etkisi; bakteri türü, kitosan konsantrasyonu ve kitosanın çözündürülmesinde kullanılan asit solüsyonunun çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bazı çalışmalarda, kitosanın gram-pozitif bakterilere karşı bakterisit etkisinin gram-negatif bakterilere göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Fernandez-Saiz vd., 2009; Jung vd., 2010). No vd. (2002) çeşitli moleküler ağırlıktaki kitosan ve kitosan oligomerlerinin antibakteriyel aktivitesini araştırmışlar ve çalışmamızda kullanılan kitosanın molekül ağırlığına (800%3APA) benzer olan 746 kDa kitosan kullanımının gram pozitif bakterilere karşı inhibitör etkisinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre gram pozitif bakterilerden *L. monocytogenes* ve *S. aureus* üremesi tamamen kısıtlanırken, gram negatif bakterilerden *E. coli* ve *S. typhimurium* üremeleri üzerine sırasıyla 2,76 ve 1,33 log kob/g azaltıcı etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçların aksine, bazı çalışmalarda gram negatif bakterilerin hücre yüzeylerinin sahip olduğu yüksek negatif yük nedeniyle kitosan ile etkileşimlerinin daha güçlü olduğu ileri sürülmüş ve gram negatif bakterilerin kitosana karşı duyarlılığının gram pozitiflere nazaran daha fazla olduğunu bildirilmiştir (Chung vd., 2004; Devlieghere vd., 2004)

Kitosanın antimikrobiyal etkisi, hücre duvarı yapısındaki farklılıklar ile ilişkili olarak bakteri türüne bağlı değişmektedir. Gram-negatif bakterilerin iç zarı peptidoglikan, dış zarı ise lipopolisakkarit, lipoprotein ve fosfolipit tabakasından oluşur. Bu tabakaların tümü kitosanın hücre zarına girmesini engeller (Jung vd., 2010). Bu bağlamda, gram-

negatif bakterilerin kitosana direnci muhtemelen hücre dışı membranı tarafından sağlanır (Zheng ve Zhu, 2003; Jing vd., 2007; Jung vd., 2010; Kong vd., 2010). Diğer taraftan, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı sadece peptidoglikandan oluşur, böylece kitosan gram-pozitif hücrelerin peptidoglikan tabakasına daha kolay nüfuz edebilir ve doğrudan hücre zarına etki edebilir (Jing vd., 2007). Bununla birlikte en çok kabul gören yaklaşım, pozitif yüklü kitosan moleküllerinin negatif yüklü mikrobiyal hücre membranları ile etkileşime girerek geçirgenliklerini değiştirmesidir. Bu etkileşim hücre içeriğinin hücre dışına sızmasına neden olmaktadır. Kitosan ayrıca seçici olarak iz elementler ile şelat oluşturarak toksin oluşumuna ve gelişmeye engel olarak, konak dokulardaki bazı savunma mekanizmalarını aktive ederek, hücre içine girerek DNA'ya tutunma ve mRNA ve protein sentezine engel olarak antimikrobiyal etki göstermektedir (Papineau vd., 1991; Sudarshan vd., 1992; Shahidi vd., 1999; No vd., 2007). Bir diğer etkenin ise, kitosanın nötral pH değerlerine nazaran düşük pH değerlerinde pozitif yüklenmiş aktif gruplarının sayısındaki artış nedeniyle antimikrobiyal aktivitesinin daha güçlü olduğunu ortaya koyulmuştur (Wang, 1992; No vd., 2002). Bu bağlamda düşük pH düzeylerinde bakterilerin hücre yüzeyinde karboksil ve fosfat grupları anyonik hale geçerek, kitosana daha fazla elektrostatik bağlanma noktası sunmaktadır (Halander vd., 2001). Ayrıca, kitosan kaplamalarının antimikrobiyal aktivitesi, kitosan ile mikrobiyal hücre zarlarının amin grupları arasındaki etkileşim, hücre yüzeyindeki polimerik tabaka oluşumu ve mikroorganizmanın sitozölü içine kitosan penetrasyonu gibi mekanizmalara bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Dutta vd., 2009). Ancak, bu çalışmada yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın her iki bakteri grubuna karşı gösterdiği inhibitör etkisinin belirgin bir eğilimi olmadığı saptanmıştır. Bunlara ek olarak, 800%3APA grubunun antimikrobiyal aktivitesinin 800%1AA grubuna benzer veya daha üstün olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, kitosan konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kitosanın antimikrobiyal etkisinin de arttığı tespit edilmiştir.

4.1.1. *Salmonella typhimurium* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Kanal yayın balığının yüzeyine inoküle edilen *S. typhimurium*'e karşı farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kitosanın antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, depolama süresince 800%3APA grubunun kontrol grubuna kıyasla *S. typhimurium* üremesine karşı belirgin ($P<0,05$) bir azalma sağladığı tespit edilmiştir.

Diğer taraftan, kontrol ile diğer kaplama uygulanmış gruplar arasında farklar genellikle önemsiz ($P>0,05$) bulunmuştur. Kitosan konsantrasyonu artışına bağlı olarak *S. typhimurium* sayısında hafif bir azalma eğilimi gözlenmiştir. Depolama süresince *S. typhimurium*'un inhibe edilmesi açısından kontrol ile 800%3APA grubu arasında 0,56-0,94 log kob/g fark gözlenmiş, fakat bu fark *E. coli* açısından 0,24-0,50 log kob/g olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %1APA, %3APA, 800%1APA ve 800%3APA gruplarında saptanan inhibisyon oranı sırasıyla 0,58, 0,81, 0,51, 0,78, 0,88 ve 1,26 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlara göre, *S. typhimurium* bu çalışmada ki test koşulları altında, *E. coli*'den daha fazla kitosana duyarlı olduğu görülmüştür. Bunun nedeni, *S. typhimurium* ve *E. coli*'nin hücre zarı bileşiminin birbirinden farklı olması ve bundan dolayı bakterilerin kitosana karşı farklı hassasiyet göstermesidir (Chung vd., 2004). *S. typhimurium* daha negatif hücre membranı kompozisyonuna sahip olmasından dolayı, *E. coli* ile karşılaştırıldığında kitosana daha duyarlıdır (Paomephan vd., 2018). Bakterilerdeki negatif yükün fazla olması, kitosanın pozitif yükü ile etkileşimi kolaylaştırabilir ve bu durum daha fazla hücre ölümü ile sonuçlanabilmektedir (Chung vd., 2004).

Literatür incelendiğinde *S. typhimurium*'a karşı kitosanların tutarsız antimikrobiyal aktiviteleri bildirilmiştir. Örneğin, 67 kDa kitosan (Jiang vd., 2013) ve 1020 ve 1100 kDa kitosan (Pirak vd., 2012) *S. typhimurium*'e karşı hiçbir inhibitör etki göstermezken, 470 kDa kitosanın (No vd., 2002) bu patojene karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, depolama süresince 800%3APA grubu *S. typhimurium* üremesinde ortalama 0,75 log kob/g azalışa neden olmuştur. No vd. (2002) 746 kDa kitosanın *S. typhimurium*'e karşı 4,34 log kob/g değerlerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Tsai vd. (2002) farklı deasitilasyon derecelerine sahip kitosanlar arasında en iyi antimikrobiyal etkiyi %98 deasitilasyon derecesine sahip kitosanın gösterdiğini ve bu kitosanın *S. typhimurium*'e karşı minimal lethal konsantrasyonunun 1500 ppm olduğunu bildirmişlerdir. Jung vd. (2010) farklı deasitilasyon derecesi ve viskoziteye sahip kitosanların antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, suda çözünebilir 60 ve 80 DD'ye sahip %0,1'lik kitosan gruplarının *S. typhimurium* üzerine sırasıyla 1,22 log kob/g ve 4,05 log kob/g oranlarında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Rodríguez-Núñez vd. (2012) *S. typhimurium*'e karşı kitosan filmlerin antimikrobiyal etkilerini araştırmışlar ve %1 (v/v) asetik asit içerisinde çözüldürülerek

hazırladıkları kitosan film disklerinin petri kutularında üremesi gerçekleşen *S. typhimurium* için %10,6 (%1 kitosan)-%31,3 (%3 kitosan) çapında zon oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, farklı konsantrasyonlarda (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000 ppm) hazırlanan kitosan solüsyonlarında 24 saat süreyle inkübe edilen *S. typhimurium* bakterisinin en az üreme gösterdiği 2000 ppm konsantrasyonundaki kitosan grubunun, bakteriler üzerinde 2,1 log kob/g azalış sağladığını bildirmişlerdir. Rubio vd. (2018) yüksek molekül ağırlığına (789 kDa ve 1017 kDa) sahip suda çözünebilir kitosanın *S. typhimurium* üremesine karşı önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. *S. typhimurium*'a karşı kitosanların antibakteriyel etkilerinin rapor edildiği çalışmalar arasındaki farklılıkların, kullanılan yöntemler, kullanılan antimikrobiyal deneyler, kitosan özellikleri, kullanılan çözücü veya ortamın pH'ı gibi farklı deneysel koşullara bağlı olarak değişmesinden kaynaklanmaktadır (Wang, 1992; No vd., 2002).

4.1.2. *Escherichia coli* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Gıda kaynaklı bir patojen olarak tanımlanan *E. coli*, kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplar için 4 °C'de depolama sırasında zamanla biraz azalmıştır. Bu azalış muhtemelen düşük depolama sıcaklığından kaynaklanmaktadır. Depolamanın 0. gününden 8. gününe kadar 800%3APA grubu *E. coli* üremesine karşı 0,61-1,23 log kob/g azalış sağlamıştır. %1 konsantrasyonlarında hazırlanan 800%1APA ve 800%1AA grupları depolama süresince (4. gün hariç) *E. coli*'ye karşı genellikle benzer inhibitör etki göstermiştir. 800%3APA grubu (3,11 log kob/g) için *E. coli* sayısı 8. günde kontrol grubundan (3,54 log kob/g) daha düşük bulunmuştur ($P < 0,05$).

Kitosanların gram negatif bakterilerin dış zarının bariyer özelliklerini bozduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. *E. coli*'nin hücre zarında meydana gelen hasarın büyük olasılıkla elektrostatik etkileşimden kaynaklandığı ve bunun özellikle de kitosanın $-NH_3^+$ grupları ile hücre zarının fosfolipit bileşenlerinin karbonil ve fosforil grupları arasında gerçekleştiği bildirilmiştir (Goy vd., 2009; Jung vd., 2010; Li vd., 2010). Literatür incelendiğinde, *E. coli*'ye karşı yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan kaplamaların inhibe edici etkilerine dair bilgiler çok azdır. Zheng ve Zhu (2003) kitosanın *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etkisinin konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığını, ancak moleküler ağırlığı artışına bağlı olarak azaldığını tespit etmişler ve %1

konsantrasyonunda hazırlanan kitosanın, *E. coli*'ye karşı %100 inhibisyon oranına ulaştığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Liu vd. (2006) farklı konsantrasyon ve moleküler ağırlığına (55-155 kDa) sahip kitosanın *E. coli* üzerine antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak düşük molekül ağırlığına sahip kitosanın *E. coli* üremesi üzerine olan antimikrobiyal etkisinin, yüksek molekül ağırlığına sahip kitosandan daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, 6 farklı kitosan konsantrasyonu (20, 50, 100, 200, 500 ve 1000 ppm) içerisinde 200 ppm ve üzerinde uygulanan tüm kitosan gruplarının *E. coli* bakterisine karşı iyi bir antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmamızda da, kitosan konsantrasyonunun %1'den %3'e çıkmasına bağlı olarak *E. coli* sayısında hafif bir düşüş gözlenmiş, fakat bu konsantrasyonlar arasındaki farkların istatistiki olarak önemsiz olduğu saptanmıştır ($P>0,05$). Zheng ve Zhu (2003) kitosanın konsantrasyonunun artışına bağlı olarak antimikrobiyal etkisinin de arttığını belirlemişlerdir. Konsantrasyon %1'e ulaştığında ise *E. coli* üzerinde kitosanın antimikrobiyal etkisinin %100'e ulaştığını bildirmişlerdir. Ayrıca, kitosanın moleküler ağırlığı azaldığı zaman, kitosanın *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etkisinin arttığını ifade etmişler ve bunu daha düşük MA'na sahip kitosanların mikrobiyal hücreye daha kolay girip hücre metabolizmasını bozmasından kaynaklanacağını ifade etmişlerdir. Çalışmamızda, 800%3APA grubunun *E. coli* sayısı kontrol grubundan yaklaşık 0,40 log kob/g daha az bulunmuştur. Muhtemelen belirlenen bu düşük etkinin, çalışmada kullanılan kitosanın yüksek molekül ağırlığına (800 kDa) sahip olması ve bu sayede kitosanın *E. coli*'ye karşı inhibisyon etkisini sınırlamış olmasından ileri gelmektedir. Çalışmamızda kullanılan suda çözünebilir kitosanın *E. coli*'ye karşı gösterdiği düşük etkiye benzer şekilde rapor edilen bir çalışmada, Qin vd. (2006) suda çözünebilir farklı molekül ağırlığına sahip (1,3-400 kDa) kitosanın *E. coli*'ye karşı önemli bir antibakteriyel aktivite göstermediğini, ancak suda çözünemez kitosanın bu bakteri üzerinde önemli antibakteriyel etkisinin olduğunu ve en iyi antimikrobiyal etkiyi 50 kDa suda çözünemez kitosan grubunun gösterdiğini saptamışlardır. Jung vd. (2010) suda çözünebilir iki farklı deasitilasyon derecesine sahip %0,1'lik kitosan gruplarının *E. coli* üzerine 4 log kob/g (60DD)-5,39 log kob/g (80DD) oranlarında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Rubio vd. (2018) %4'lük 789 kDa suda çözünebilir kitosanın *E. coli*'ye karşı en etkili grup olduğu ve *E. coli* üremesi üzerinde 2 log kob/g düzeyinde azalış sağladığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan, No vd. (2002) 746 kDa kitosanın *E. coli*'e karşı 4,31 log kob/g oranında antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Tsai vd. (2002) buzdolabı şartlarında (4

°C) 10 gün süreyle depolanan somon filetolarındaki *E. coli* üremesine karşı en iyi antimikrobiyal etkiyi %98 deasitilasyon derecesine sahip kitosanın gösterdiğini ve bu kitosanın *E. coli* karşı minimal lethal konsantrasyonununun 100 ppm olduğunu bildirmişlerdir.

4.1.3. *Vibrio cholerae* ve *Vibrio parahaemolyticus* Popülasyonunda Meydana Gelen Değişimler

Patojen büyümesini sınırlayan koşulların belirtildiği FDA kılavuzuna göre, *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus* için minimum büyüme sıcaklıkları sırasıyla 10 ve 5 °C olarak verilmiştir (Köse, 2010). Bu nedenle çalışmamızda *Vibrio* türleri ile inoküle edilen kanal yayın balıkları için diğer bakteri türlerine göre daha yüksek depolama sıcaklığı (10 °C) kullanılmıştır. Fakat bu sıcaklığın balıkların depolanması açısından yüksek olması nedeniyle kanal yayın balıkları depolamanın 4. gününden itibaren bozulmaya başladığı görülmüştür. Depolamanın 6. gününe kadar tüm grupların *V. cholerae* üremesinde artış gözlenmiş ve 6. günde balıkların bozulmasıyla beraber *V. cholerae* üremesi tekrar azalmıştır. En çok azalış *Vibrio* yükü en fazla olan kontrol grubunda saptanmıştır. *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus* üremelerinde meydana gelen bu azalışın, balıkların bozulmasıyla beraber artan diğer bozulma bakterileri tarafından baskılanması nedeniyle kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolamanın 0. gününde 800%1APA ve 800%3APA gruplarının *V. cholerae* sayısı tespit edilir limit değerlerinin altında tespit edilmiştir. Fakat 800%3APA grubu, *V. cholerae*'ya karşı 800%1APA grubundan daha etkili olduğu gözlenmiştir. Özellikle de depolamanın 4. gününde (1,34 log kob/g) ve 6. gününde (0,94 log kob/g) bu gruplar arasındaki farklar daha fazla bulunmuştur. *V. parahaemolyticus*'e karşı en etkili grubun 800%3APA olduğu ve bu grubun depolama süresince kanal yayın balıklarının yüzeyine inoküle edilen *V. parahaemolyticus* üremesinin tamamen önlediği tespit edilmiştir. 800%1AA ve %3APA gruplarının da depolama başlangıcında *V. parahaemolyticus* üremesi üzerine önemli etkilerin olduğu, ancak bu etkinin depolama süresince azaldığı saptanmıştır.

Çalışma sonuçlarımız ile benzer olarak, Fang vd. (2015) %0,5 (w/v) kitosan (190 kDa) mikropartiküllerinin uygulanmasından 3 saat sonra 37 °C'de inoküle edilen *V. cholerae* ve *V. parahaemolyticus* sayılarını tespit edilemez seviyelerine düşürdüğünü

bildirmişlerdir. Ayrıca, kitosan uygulanmamış kontrol grubuna kıyasla, hem %0,3 hem de %0,5 kitosan mikropartikülleri ile muamele edilen istiridyelerde *V. parahaemolyticus* için önemli azalmalar sağlandığını ve bu azalışın depolamanın 2. gününden sonra sırasıyla 2,2 ve 3,3 log kob/g olduğunu rapor etmişlerdir. Bunlara ek olarak, Fang vd. (2015) istiridyelerde test edilen *V. vulnificus*'un, *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* türlerine nazaran daha fazla kitosan mikropartiküllerine duyarlılık gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Rubio vd. (2018) *V. parahaemolyticus* üzerine yüksek molekül ağırlığına (789 kDa ve 1017 kDa) sahip suda çözünebilir kitosan gruplarının antimikrobiyal etkisinin, *V. vulnificus* ve *V. cholerae* türlerine göre daha yüksek düzeylerde olduğunu ve yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın *Vibrio* türlerinin üremesini tamamen kısıtladığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da, *V. parahaemolyticus* türü 800%3APA grubuna karşı, *V. cholerae*'dan daha duyarlı bulunmuştur. Lee vd. (2009) kitosanın, hücre içi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu baskılamasıyla hücreden hücreye geçiş arasındaki iletişimi kısıtlayarak *Vibrio* hücre ölümünü indüklediğini belirtmiştir. Buna rağmen, *Vibrio* spp.'ye karşı kitosanın antimikrobiyal mekanizması tamamen açıklık kazandırılmamıştır, buda muhtemelen *Vibrio* türlerinin kapsüler polisakkarit, LPS veya dış zar proteinlerinin farklı bileşimlerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bu farklılıklar *Vibrio* türlerinin kitosan için farklı duyarlılık göstermesine katkıda bulunabilir (Lee vd., 2009; Fang vd., 2015). No vd. (2002) 746 kDa kitosanın *V. parahaemolyticus*'e karşı sırasıyla 5,50 log kob/g değerlerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Kitosanın *Vibrio* türleri üzerine yüksek antimikrobiyal etkisinin aksine, Jung vd. (2010) suda çözünebilir 60 ve 80 DD'ye sahip %0,1'lik kitosan gruplarının *V. parahaemolyticus* üzerine sırasıyla 0,59 log kob/g ve 0,48 log kob/g oranlarında düşük bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise, Jiang vd. (2013) suda çözünebilir 43 kDa ve 67 kDa kitosan türevlerinin gram negatif bakterilerden *Vibrio* türlerinin üremesi üzerine ortalama zon büyüklüğünün sırasıyla 11,09 mm ve 11,34 mm olduğunu bulmuşlardır.

4.1.4. *Staphylococcus aureus* popülasyonunda meydana gelen değişimler

Gram pozitif bakterilerden önemli bir patojen olan *S. aureus*'e karşı depolama süresi boyunca 800%3APA grubunun kontrol grubuna nazaran önemli ($P<0,05$)

düzeylelerde antibakteriyel etkisi gözlenmiştir. Depolama süresince en düşük *S. aureus* sayısı saptanan 800%3AS grubunun depolama sonunda *S. aureus* üremesi üzerine 1,62 log kob/g azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise *S. aureus* sayısının başlangıçta inoküle edilen bakteri sayısından 0,96 log kob/g daha yüksek olduğu saptanmıştır. 8 günlük depolama sonunda, kontrol grubunun *S. aureus* sayısı ile karşılaştırıldığında en çok azalma 800%3APA grubunda (2,58 log kob/g), ardından sırasıyla 800%1APA (1,76 log kob/g), 800%1AA (1,70 log kob/g), %3APA (1,20 log kob/g) ve %1APA (1,06 log kob/g) gruplarında gözlemlenmiştir. Farklı asit solüsyonlarının etkisi incelendiğinde, %1 w/v konsantrasyonunda asetik (800%1AA) ve aspartik asit (800%1APA) içerisinde çözündürülerek hazırlanan kitosan grupları arasında depolama boyunca *S. aureus*'e karşı benzer inhibitör etkiler ortaya çıkmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, Rubio vd. (2018) yüksek molekül ağırlığına (789 kDa ve 1017 kDa) sahip suda çözünebilir kitosanın etkisini araştırdıkları çalışmalarında, aspartik asit içerisinde çözündürülen %2 ve %3'lük 1017 kDa kitosanın 96 saatlik inkübasyon süresi sonunda *S. aureus* üzerinde kontrol grubuna göre 3 log kob/g azalış sağladığını tespit etmişlerdir. Bazı araştırma sonuçlarına göre ise kitosanın *S. aureus*'e karşı daha yüksek antimikrobiyal etkisi olduğu rapor edilmiştir. Zheng ve Zhu (2003) farklı moleküler ağırlığındaki (5-305 kDa) %1 konsantrasyonunda hazırlanan kitosanın *S. aureus*'e karşı antimikrobiyal etkisinin %100 inhibisyon oranına ulaştığını tespit etmişlerdir. Ayrıca moleküler ağırlığı arttığı zaman kitosanın antimikrobiyal etkisinin *S. aureus*'e karşı arttığını bildirmişlerdir. Fernandez-Saiz vd. (2010) balık çorbalarında *S. aureus* üremesi üzerine düşük molekül ağırlığına sahip kitosan filmlerin etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlara göre, 40 mg ve 80 mg kitosan film (%1,5'lük) eklenen balık çorbalarında bu bakteri türünün üremesini tamamen durdurduğunu ve 25 günlük depolama süresince herhangi bir bakteri üremesi görülmediğini saptamışlardır. No vd. (2002) 1 ve 2 kDa molekül ağırlığına sahip kitosan oligomerlerinin diğer yüksek molekül ağırlığındaki kitosanlara (28, 224, 470, 746, 1106 ve 1671 kDa) göre *S. aureus*'e karşı daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır. Farklı kitosan grupları içerisinde ise 746 kDa kitosanın *S. aureus*'e karşı 8,11 log kob/g değerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kitosanın *S. aureus*'e karşı gösterdiği önemli antimikrobiyal etkileri rapor edilmesine rağmen, bazı çalışmalarda ise tam tersi olarak kitosanın *S. aureus*'e karşı

düşük veya hiç etkisi gözlenmemiştir. Jung vd. (2010) suda çözünebilir 60 ve 80 DD'ye sahip %0,1'lik kitosan gruplarının, *S. aureus*'e karşı sırasıyla 1,18 log kob/g ve 1,54 log kob/g (80DD) değerinde antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Rodríguez-Núñez vd. (2012) asetik asit içerisinde çözüldürülerek farklı konsantrasyonlarda (0, 250, 500, 1000, 1500, 2000 ppm) hazırladıkları kitosan solüsyonlarından 2000 ppm grubunun, 24 saat süreyle inkübe edilen *S. aureus*'e karşı 1,40 log kob/g azalış sağlayarak en iyi etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. Qin vd. (2006) suda çözünebilir farklı molekül ağırlığına sahip (1,3-400 kDa) kitosanın *S. aureus*'e karşı önemli bir antibakteriyel aktivite göstermediğini, ancak, suda çözünemez asit çözünebilir kitosanın bu bakteri üzerinde önemli antibakteriyel etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Tsai vd. (2002) buzdolabı şartlarında (4 °C) 10 gün süreyle depolanan somon filetolarına uygulanan farklı konsantrasyonlardaki (%0,2, %0,5 ve %1) kitosan kaplamalardan en iyi antimikrobiyal etkiyi %98 deasitilasyon derecesine sahip kitosanın *S. aureus*'e karşı minimal lethal konsantrasyonunun 50 ppm olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmalarda kitosanın *S. aureus*'e karşı inhibitör etkisinde gözlenen farklılıklar, kitosan solüsyonunun konsantrasyonu, kullanılan çözücü ve test edilen *S. aureus* suşlarındaki farklılıklardan kaynaklanabilir (No vd., 2002). Çalışmamızda da, kitosan konsantrasyonu artışına bağlı olarak kitosanın *S. aureus*'e karşı inhibitör etkisinin arttığı ve depolama sonunda %3 konsantrasyona sahip 800%3APA grubunun *S. aureus* sayısının, %1 konsantrasyona sahip 800%1AA ve 800%1APA gruplarına kıyasla ortalama 0,84 log kob/g daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Rodríguez-Núñez vd. (2012), farklı konsantrasyonlarda (250-2000 ppm) hazırlanan kitosanların antimikrobiyal etkisini test etmişler ve artan kitosan konsantrasyonu ile *S. aureus*'e karşı kitosanın antibakteriyel etkisinin de arttırdığını bildirmişlerdir. Literatürde, *S. aureus*'e karşı kitosan ve türevlerinin antimikrobiyal aktivitesi geniş ölçüde çalışılmış, ama kitosanın *S. aureus*'e karşı eylem şekli tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak, Raafat vd. (2017) kitosanın *S. aureus*'e karşı antimikrobiyal etkisinin, bakteriyel hücre yüzey yükü ve membran fosfolipit kompozisyonu gibi hücre zarı yapısında meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığını ortaya atmıştır.

4.1.5. *Listeria monocytogenes* popülasyonunda meydana gelen değişimler

L. monocytogenes, yemeye hazır gıda ürünleri ile ilişkili gıda kaynaklı bir gram-pozitif patojendir (Jiang vd., 2011). Bu yüzden yemeye hazır gıdalarda *L. monocytogenes*'in inhibisyonu önemlidir. Bu çalışmada, kanal yayın balıklarında ki *L. monocytogenes* sayısı depolama başlangıcında (0. gün) 3,78 ila 4,63 log kob/g arasında değişmektedir. 800%1AA ve 800%3APA gruplarının 0. gündeki *L. monocytogenes* sayısı başlangıçta inoküle edilen bakteri sayısından sırasıyla 0,67 ve 0,83 log kob/g daha düşük olduğu saptanmıştır. 800%3APA grubunun depolama periyodu süresince *L. monocytogenes* üremesini önemli ölçüde azalttığı ($P<0,05$) ve 8. günde kontrol grubundan 1,56 log kob/g daha az bakteri yüküne sahip olduğu bulunmuştur.

Literatür incelendiğinde kitosan ve türevlerinin *L. monocytogenes*'e karşı farklı etkilerinin olduğu görülmüştür. Kitosanın *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etki şekli henüz doğrulanmamış olmasına rağmen, Benabbou vd. (2009) elektron mikrografi altında 100 kDa kitosan ile muamele edilen *L. monocytogenes*'in hücre çeperinin yüzeyinde daha kalın bir tabaka olduğunu ve hücre duvarından besin maddelerinin girişini önlediğini, bunun sonucu olarak hücre ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, 2 kDa kitosanın pozitif yüklü $-NH_3^+$ grupları ile *L. monocytogenes*'in hücre duvarında negatif yüklerle etkileşime girerek, hücre duvarında gözeneklere ve dolayısıyla hücre ölümüne neden olduğunu eklemiştir. Fernandez-Saiz vd. (2013) %3 kitosan filmleri ile beraber standart hava ve vakum paket kullanılarak ambalajladıkları barlam balıklarını buzdolabı şartlarında (4 °C) 15 gün süresince depolamışlar ve bu süreçte balıkların *L. monocytogenes* sayısında 1,0-1,7 log kob/g azalış rapor etmişlerdir. Jiang vd. (2011) soğuk dumanlanmış somon balıklarının 30 gün buzdolabı muhafazası süresince kitosanın *L. monocytogenes* üzerinde inhibe edici etkisinin olduğunu ve balıkların yüzeyine tamamen temas etmesini sağlayan kitosan kaplama metodunda bu etkinin, kitosan filmlere göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Jiang vd. (2011) soğuk tütsülenmiş somon balıklarında bulunan *L. monocytogenes* üremesi üzerinde herhangi bir antimikrobiyal ilave edilmemiş kitosan gruplarının 3,2 log kob/g (kitosan kaplama) ve 3,6 log kob/g (kitosan film) oranında bir azalış sağladığını saptamışlardır. Aksine, Ye vd. (2008) soğuk dumanlanmış somon balıklarının yüzeyine inoküle edilen *L. monocytogenes*'e karşı kitosan filmlerin inhibitör etki göstermediğini

bildirmişlerdir. Çalışmamızda ve diğer çalışmalarda kullanılan kitosanların *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri arasındaki farklılıkların muhtemelen kitosanın moleküler ağırlığı, kitosan uygulama metodu (film veya kaplama) ve araştırılan örnek tipinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalarda kitosanın antimikrobiyal etkisinin kitosanın moleküler ağırlığı ve kitosan solüsyonunun pH'sına bağlı etkisini rapor etmişlerdir. No vd. (2002), pH 5,5 ve altında hazırlanan 746 ve 1671 kDa kitosanın *L. monocytogenes* üremesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Benabbou vd. (2009) kitosan solüsyonunun pH'sı 4,5-5,0 olduğu zaman kitosanın *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkisinin daha fazla olduğunu açıklamışlardır. Bizim çalışmamızda 800%1AA ve 800%3APA gruplarının pH'larının benzer olduğu, ancak 800%3APA grubunun depolama süresince *L. monocytogenes*' e karşı daha etkili olduğu tespit edilmiştir. No vd. (2002) 746 kDa kitosanın *L. monocytogenes*'e karşı 8,31 kob/g değerlerinde antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Rubio vd. (2018) yüksek molekül ağırlığına (789 kDa ve 1017 kDa) sahip suda çözünebilir kitosan gruplarının *L. monocytogenes* üremesi üzerine önemli bir kısıtlayıcı etkisinin olduğunu, 96 saatlik inkübasyon sonunda bu gruplarda üreme tespit edilemez iken kontrol grubunda 8,24 log kob/g olduğunu bildirmişlerdir. Jung vd. (2010) suda çözünebilir iki farklı deasetilasyon derecesine sahip %0,1'lik kitosan gruplarının *L. monocytogenes* üzerine 0,39 log kob/g (60DD)-0,77 log kob/g oranlarında antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Jiang vd. (2013) suda çözünebilir kitosan türevlerinin *L. monocytogenes* üremesi üzerine ise 43 kDa ve 67 kDa kitosan türevlerinin sırasıyla 10,39 mm ve 11,49 mm düzeylerinde zon etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Tsai vd. (2002) %98 DD'ye sahip kitosanın *L. monocytogenes*'e karşı minimal lethal konsantrasyonunun 150 ppm olduğunu bildirmişlerdir.

Genel olarak değerlendirdiğimizde, bu patojenik bakterilere karşı yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan kaplamalarının antimikrobiyal etkisinin, kitosan içermeyen kontrol ve diğer kaplama gruplarına (%1APA ve A3%) kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışma grupları arasında, %3 kitosan hazırlanan 800%3APA grubunun, kanal yayın balığı filetolarının yüzeyinde inoküle edilen patojenleri inhibe etmede en etkili kaplama grubu olduğu ve bu grubun *V. parahaemolyticus* üremesini tamamen baskıladığı saptanmıştır. Kitosan ve aspartik asit kombinasyonunun kanal yayın balıklarının yüzeyine inoküle edilen patojenik bakterileri etkili bir şekilde inhibe ettiği

belirlenmiş ve bu sonuçlar kitosan kaplamanın hazırlanmasında literatürde daha yaygın olarak kullanılan asetik asit yerine bir gıda koruyucu olarak aspartik asidin uygulanabileceğini göstermiştir.

4.2. Soğuk ve Donmuş Muhafaza Şartlarında Kanal Yayın Balığında Meydana Gelen Değişimler

Sentetik filmlerin aksine, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri sayesinde su ürünlerinin depolanmasında kitosan bir kaplama malzemesi olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (Raafat ve Sahl, 2009; Jung vd., 2010; Wu, 2014). Su ürünlerinin etkili kullanımı, artan tüketici taleplerini karşılamak için önemlidir (Özyurt vd., 2018). Dondurulmuş ve soğutulmuş depolama sırasında su ürünlerinin kalitesini ve raf ömrünü arttırmak için kitosan kaplamalar kullanılarak birçok çalışma yapılmıştır (Sathivel vd., 2007; Duan vd., 2010; Mohan vd., 2012; Chouljenko vd., 2017; Bonilla vd., 2018). Bu çalışmalarda, çözücü olarak asetik asidin yanı sıra düşük ve orta moleküler ağırlıkta kitosanlar kullanılmıştır. Ancak, yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın su ürünlerinin raf ömrü ve kalite kriterleri üzerindeki etkisi incelenmemiştir. Ayrıca, yüksek konsantrasyonda (%3'e kadar) ve çözücü olarak aspartik asitle hazırlanan yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan kaplamalar ile ilgili herhangi bir sonuç bildirilmemiştir. Bu amaçla çalışmamızda, soğuk (+4 °C) ve donmuş muhafaza sırasında (-20 °C) kanal yayın balığı filetolarının kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine yüksek moleküler ağırlıklı suda çözünür kitosan kaplamaların etkisi araştırılmıştır.

4.2.1. pH Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Balıklarda bozulma ve kokuşmanın belirlenmesinde kullanılan kimyasal faktörlerden biriside pH değerinde meydana gelen değişimlerdir. Taze balığın pH'sı nötre yakın olup (6,0-6,5), tüketilebilirlik değeri 6,8-7,0 arasında değişmektedir (Varlık vd., 1993). Fakat ölüm sonrasında kaslarda biriken laktik asidin etkisiyle pH değeri bir miktar düşmekte ve balıkların bozulmaya başlaması ile birlikte pH değerinde tekrar bir artış gerçekleşmektedir (Bilgin, 2003). Çalışmamızda, soğuk ve donmuş depolamada kullanılan taze kanal yayın balıklarının pH değeri sırasıyla 6,84 ve 6,71 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarımızla benzer olarak taze kanal yayın balıklarının pH'sı 6,85

(Bonilla vd., 2018) ve 6,94 (Li vd., 2017a) olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan her iki depolama başlangıcında kaplama uygulanan grupların pH değerlerinde önemli derecede düşüş gözlenmiştir. Depolama süresi boyunca her iki depolama şartlarında da depolanan, 800%1AA, %1APA ve 800%3APA gruplarının pH değerleri, kontrol grubunun pH değerlerinden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0,05$). Kapsama uygulanmış balıklarda pH'nın azalması, büyük olasılıkla balıkların yüzeyine uygulanan kaplamaların asidik formda olmasından dolayı kaynaklanmaktadır. 180 günlük donmuş depolama süresince tüm grupların pH değerlerinde dalgalanmalar gözlenmiştir ($P>0,05$) ve depolama süresi sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının pH değerleri sırasıyla 6,80, 6,55, 6,22 ve 6,51 olarak bulunmuştur. Soğuk depolama süresince ise tüm grupların pH değerlerinde artış meydana gelmiştir. Bu değerler depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grupları için sırasıyla 7,13, 6,75, 6,69 ve 6,86 olarak bulunmuştur.

pH, balıklarda kaliteyi tek başına belirleyici kesin bir kriter olmayıp, mutlaka diğer analizlerle beraber değerlendirilmelidir (Varlık vd., 1993). Su ürünlerinde pH değeri 7'nin üzerinde olduğunda ürün bozulmuş kabul edilmektedir (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999). Çalışmamızda sadece kontrol grubunun pH değeri, mikrobiyal bozulmanın da gerçekleştiği soğuk depolamanın 6. gününde, bu kabul edilen 7 sınır değerini aştığı görülmüştür. Bu bağlamda pH ile mikrobiyolojik değerlerin bir biri ile örtüştüğü görülmektedir.

Depolama sırasında pH değişimleri, endojen enzim ve bozulma bakterilerinin aktivitesinden kaynaklanan amonyak ve trimetilamin gibi bazik uçucu ürünlerin oluşmasıyla açıklanabilir (Bonilla vd., 2018). Donmuş depolama sırasında, mikroorganizmaların büyümesi düşük sıcaklık uygulamasından dolayı engellenmiştir. Bu nedenle donmuş depolama süresi boyunca kontrol ve kitosan kaplama uygulanmış kanal yayın balığı örneklerinde tespit edilen düşük pH değerleri, muhtemelen balıklara uygulanan kitosan ve düşük depolama sıcaklığının mikrobiyal büyümeyi engellemesine bağlıdır. Benzer şekilde, Sathivel vd. (2007) glazelenmemiş pembe somon filetolarının başlangıçta 6,6 pH değerine sahip olduklarını ve 8 aylık donmuş depolama sonrasında kontrol ve %1 w/v kitosan ile kaplanan örneklerde pH değerinin sırasıyla 6,6 ve 6,4 olduğunu bildirmişlerdir. Bonilla vd. (2018) kanal yayın balıklarının başlangıç pH

değerlerinin, balıklara uygulanan kitosan kaplamalar vasıtasıyla düştüğünü ve buzdolabı şartlarında 16 gün depolama süresince kontrol grubu da dahil tüm grupların pH değerlerinde dalgalanmalar gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Souza vd. (2010) 0 °C'de 18 gün boyunca muhafaza ettikleri somon filetolarının pH değerindeki artışı kitosan kaplama işleminin kısıtladığını bildirmişlerdir. Ayrıca, benzer sonuçlar farklı balıklar üzerine uygulanan kitosan kaplama çalışmalarında da rastlanmıştır (Duan vd., 2010; Soares vd., 2015). Bunlara ek olarak, Juneja vd. (2006) 6'dan daha düşük pH'larda kitosanın antimikrobiyal etkisinin daha kuvvetli olduğunu ve pH'ya bağlı olarak kitosanın farklı gıdalarda farklı mekanizmalarının rol oynadığını bildirmişlerdir.

4.2.2. Ağırlık Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Ağırlık kaybı dondurulmuş gıda ürünlerinin depolanması sırasında ürünün ekonomik kayıplarını tahmin etmek için kullanılacak çok önemli bir kalite parametresidir. Donmuş depolamada muhafaza edilen su ürünleri zamanla yüzey su kaybına maruz kalır ve bu da dokuların su tutma kapasitesinin azalmasına neden olur (Shenouda, 1980). Etin su tutma kapasitesi kas pH'sına bağlıdır. Miyofibriler proteinlerin (aktin ve miyozin) izoelektrik noktası, pH 5,1 civarındadır. Kasın pH değeri bu değere yaklaştıkça, su tutma kapasitesinde daha düşük sonuçlar doğurur. İzoelektrik noktada, protein üzerinde su bağlanması için filamentler arasındaki boşluğu azaltacak minimum net yük olacaktır (Alvarado ve McKee, 2007). Kitosan solüsyonları, nem bariyerlerinin yerine nemden koruyucu maddeler olarak kullanılabilirdiği bildirilmiştir. Bu çözeltilerin uygulanması, bir gıda ürünündeki nem kaybını, kitosan içerisindeki nem süblimasyona uğrayıncaya kadar geciktirebilir (Kester ve Fennema, 1986).

Çalışmamızda, -20 °C'de depolama sırasında kanal yayın balığı filetolarının ağırlık kaybında artan bir eğilim gözlenmiştir. Başlangıçta kontrolün ağırlık kaybı kaplama uygulanmış çalışma gruplarından daha düşük iken, bu değer en yüksek %3APA grubunda tespit edilmiştir. Ancak, 180 günlük donmuş depolama sonunda kontrol grubunun ağırlık kaybı, 800%1AA ve 800%3APA gruplarından daha yüksek bulunmuştur. %3APA grubunda meydana gelen yüksek ağırlık kaybı muhtemelen kitosan içermeyen bu kaplama solüsyonunun asitliliğinden kaynaklanmaktadır. Depolamanın 20. gününden itibaren kitosan kaplama uygulanan kanal yayın balıklarının ağırlık kaybı kontrol grubuna

nazaran daha yavaş artış gösterdiği belirlenmiş olup aralarındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Bu yavaş artış muhtemelen balıklara uygulanan kitosan kaplama işlemiyle balıkların nem kaybının önlenmesi ile ilişkilendirilebilir. Dondurulmuş gıdalar, gıda ürününün yüzeyinde gözenekli ve susuz bir tabaka oluşturan ve substratın fiziksel ve organoleptik özelliklerini değiştiren suyun süblimasyonu nedeniyle, donmuş depolama sırasında ağırlık kaybına eğilimlidir (Campanone vd., 2001). Dondurulmuş balıkların ağırlık kaybı, donmuş depolama sırasında proteinlerin denatürasyonuna ve buz kristallerinin tekrar kristallendirilmesine bağlıdır (Londahl, 1997). Bu nedenle, çalışmamızda kaplama gruplarında tespit edilen daha düşük ağırlık kayıplarının, kitosanın depolama boyunca balıkların yüzey dokularındaki protein denatürasyonunu en aza indirmesi ve suyun süblimasyonunu azaltması ile açıklanabilir. Benzer şekilde, Farajzadeh vd. (2016) kitosan-jelatin ile kaplanmış karideslerin ağırlık kaybının, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yavaş arttığını ve kaplamanın, su ürünlerinin nem kaybını azaltmak için uygun bir seçenek olabileceğini belirtmişlerdir. Donmuş depolama sırasındaki dehidrasyon ile ağırlık kaybı, bir ambalaj malzemesi ile yüzeyin kaplanması veya ürünün ince bir buz tabakası ile çevrelenmesi ile azaltılabilir (Goncalves ve Junior, 2009). Mohan vd (2012), kitosan kaplamalarının nem koruyucu maddeler olarak işlev görebildiğini ve ürünün nem kaybının kitosan kaplamasının içindeki nemin buharlaşınca kadar ertelenebileceğini bildirmiştir. Ayrıca, çalışma sonuçlarımızla benzer olarak, su ürünlerinin depolanması süresince ağırlık kayıplarına kitosan uygulamalarının azaltıcı etkisi bazı çalışmalarda da bildirilmiştir (No vd., 2005; Solval vd., 2014; Guohua vd., 2016; Chouljenko vd., 2017).

4.2.3. Santrifüj Kaybında (Su Tutma Kapasitesi) Meydana Gelen Değişimler

Kastaki suyun yaklaşık %95'i, genellikle "serbest su" olarak adlandırılan mekanik olarak hareketsiz sudur. Bu su, kas yapısı boyunca göç etmekte özgürdür ve kaslarda su tutma kapasitesi ölçülürken kullanılmaktadır. Gıda ürünlerinin su tutma kapasitesi, sadece ekonomik olarak değil, aynı zamanda gıdaların kalitelerini de etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Çünkü su tutma kapasitesi; taşıma ve depolama esnasında ağırlık değişimini, çözdürme esnasında damlama kaybını, pişirme esnasında damlama kaybını ve büzülme, ayrıca etin sıkılığını ve hassasiyetini etkilemektedir (Kaale vd., 2014). Su tutma kapasitesi, dokusal özellikler ile yakından ilişkilidir ve düşük su tutma kapasitesi

genelde kastaki post mortem değişikliklerin bir etkisi olarak tanımlanmıştır. Bu değişiklikler, miyoflamentlerde büzülme, miyozin denatürasyonu ve ekstraselüler boşlukta artış olabilir (Duun, 2008). Su tutma kapasitesi (STK), gıda endüstrisinde duyusal niteliklerin yanı sıra ürünün saklanması ve işlenmesi, suyun ete bağlanması ve etkilendiğinden dolayı önemli bir kalitatif parametredir (Mohan vd., 2012).

Santrifüj kaybı analizi, kanal yayın balıklarının su tutma kapasitesini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Su tutma kapasitesi, etin su kaybını belli bir dereceye kadar gösterebilir ve dondurulmuş depolama altındaki su ürünleri yüzey dehidrasyonuna maruz kalmaları nedeniyle, dokuların su tutma kapasitesi düşer (Chouljenko vd., 2017). Kanal yayın balığı filetolarının su tutma kapasitesi donmuş depolama sırasında tüm gruplarda azalmış ve depolama günleri arasında önemli farklar görülmüştür ($P<0,05$). Tüm donmuş depolama süresince en düşük su tutma kapasitesi %3APA grubunda belirlenmiş ve bu grup, 800%3APA grubu ile kıyaslandığında, depolamanın 60. gününden sonra anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Özetlemek gerekirse, %3 kitosan (800%3APA) ile muamele edilen kanal yayın balığı filetolarındaki santrifüj kaybı, diğer gruplardan biraz daha düşük bulunmuştur. Ancak, donmuş depolama sonunda kontrol ile kaplama grupları arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$). Bunun nedeni olarak, Duan vd. (2010) kitosan kaplamalarının, balıkların sadece balık yüzeyini kapladığından, donmuş depolama sırasında balık kasının su tutma kapasitesindeki kayıpları engellemeyeceğini bildirmişlerdir. Buna rağmen, kitosan zdrme sırasında balık kasından atılan suyu geri absorbe edebilir ve tutabilir, bu da ürünlerde meydana gelen damlama kaybında azalmaya neden olabilir (Jeon vd., 2002).

Soğuk depolama başlangıcında en düşük santrifüj kaybı 800%3APA grubunda gözlenirken, en yüksek kontrol grubunda bulunmuştur ($P<0,05$). Tüm gruplardan elde edilen santrifüj kaybı donmuş depolama örneklerinde olduğu gibi soğuk depolama süresince artış göstermiş ve depolama süresince 800%3APA grubundan meydana gelen santrifüj kaybı diğer kaplama uygulanan gruplardan düşük bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama süresince benzer artış bazı çalışmalarda da gözlenmiştir (Olsson vd., 2003; Bao vd., 2007; Kaale vd., 2014). Soğuk depolama süresince elde edilen verilere göre kitosan kaplama işlemi, ürünlerin su tutma kapasitesine olumlu etki göstermiş ve depolama sonunda kontrol grubundan istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ($P<0,05$).

Buzdolabı şartlarında depolanan sardalya filetolarına kitosanın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da, sonuçlarımızla benzer olarak kitosanla kaplanmış ürünlerin su tutma kapasitesinde artış gözlemlenmiştir (Mohan vd., 2012). Kitosanların yüksek su tutma kapasitesi ve düşük damlama kaybı, bu karbonhidrat polimerin nispi polaritesine bağlanabilir (Jeon vd., 2002).

4.2.4. Pişirme Kaybında Meydana Gelen Değişimler

Güvenli ve lezzetli bir ürüne sahip olmak için etin pişirilme işlemi oldukça önemlidir. Pişirme sırasında et ürünlerinin fizikokimyasal davranışlarının belirlenmesinde pişirme kaybı en önemli parametredir ve genellikle proteinlerin su ve lipit bağlama kabiliyeti ile ilişkilidir (Sayas-Barberá vd., 2011). Pişirme, balığın besin değeri üzerinde olumsuz etki gösterebilir ve ayrıca pişirme yöntemine göre kayıpların miktarı değişebilir (Ersoy ve Ozeren, 2009). Soğuk ve donmuş depolama başlangıcında, grupların pişirme kaybı değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$), ancak depolama sonunda 800%3APA grubunun pişirme kaybı, diğer gruplardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0,05$). Depolama sonunda 800%3APA grubunun pişirme kaybı kontrol grubu ile kıyaslandığında, soğuk ve donmuş depolama şartlarında sırasıyla %4 ve %18,3 oranında daha düşük tespit edilmiştir. Özetlemek gerekirse, kanal yayın balıklarına %3 kitosan uygulamasının pişirme süresince su kaybını azalttığı belirlenmiştir. Aslında, pişirme kaybı; nem kaybını ve etteki suda çözünür maddeleri içermektedir. Pişirme kaybında gözlenen sonuçlar, bu çalışmada belirlenen su tutma kapasitesi sonuçları ile de uyumlu bulunmuştur. Ayrıca, her bir grubun soğuk ve donmuş depolama süresince pişirme kaybında meydana gelen değişimleri istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde, Sathivel (2005) kitosan ile kaplanmış pembe somon balıklarının 3 aylık donmuş muhafazası sonrasında tespit edilen pişirme kayıplarının kontrol grubundan daha düşük olduğunu, ancak bu farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğunu bildirmiştir. Feng vd. (2016) altın pomfret filetolarının pişirme kaybına kitosan kaplamanın önemli bir etkisi olmadığını ve kaplamanın, fileto içindeki kas proteini ile etkileşime giremeyeceğini ve kas proteininin su tutma kapasitesini değiştiremeyeceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, yüksek derecede miyozin denatürasyonunun, daha yüksek pişirme kaybında önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir (Xia vd., 2012).

Yüksek pişirme kaybı, myofibrillar proteinlerin denatürasyonu ile ilişkilendirilmekte ve böylece bu tür bir protein, su tutabilen ağlar oluşturamayacak hale getirilmektedir. Antioksidanların eklenmesi, donma-çözülme döngüleri sırasında oksidasyonun neden olduğu protein denatürasyonunu kısıtlama yeteneğine sahiptir. Bazı hidrojen bağları veya diğer hidrofilik protein grupları da oksidasyonun neden olduğu yapısal değişiklikler ile parçalanabilir (Wang vd., 2017). Bu nedenle, kitosan gibi antioksidanlar balık etlerinin ısı işlemleri sırasında pişirme kaybını azaltabilir. Ayrıca, pişirme kaybındaki bu çelişkiler balık eti yapısındaki farklılıklardan ve çalışmalarda kullanılan pişirme yöntemlerinden de kaynaklanmış olabilir.

4.2.5. TVB-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler

TVB-N, balık tazeliğini ölçmek, bozulmayı izlemek ve kalitesini değerlendirmek için kullanılan parametrelerden biri olup, karakteristik uçucu bileşiklerin ölçümleri ile belirlenebilir (Olafsdóttir vd., 1997). Amonyak, dimetilamin ve trimetilamini temsil eden TVB-N, su ürünleri tazeliği değerlendirmesi için yararlı bir göstergedir. Balıkta meydana gelen mikrobiyal ve enzimatik faaliyetler sonucu TVB-N miktarı artmakta olup, artış miktarı bakteriyel faaliyetlerle ve endojen enzimlerle bağlantılı değişmektedir (Kyranas vd., 1997). Balık kasındaki amino asitler bakteriler tarafından metabolize edilebilir veya endojen enzim tarafından parçalanabilir, bu da amonyak, monoetilamin, dimetilamin, trimetilamin ve diğer uçucu bazların üretimine ve bozulmuş balıkların hoş olmayan kokusuna yol açar (Duan vd., 2010).

Bu çalışmada taze kanal yayın balığı filetolarında 15,30 mg/100 g olarak tespit edilen TVB-N değeri, ürünlere uygulanan kaplama işlemlerinden sonra depolamanın başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 16,03 mg/100 g, 15,14 mg/100 g, 15,30 mg/100 g ve 15,10 mg/100 g olarak bulunmuştur. Soğuk depolama süresince kaplama uygulanmış ve uygulanmamış tüm çalışma gruplarının TVB-N değeri depolama süresine bağlı olarak önemli ölçüde artış göstermiştir ($P < 0,05$). Su ürünlerinde TVB-N değeri kalite sınıflandırılması farklı kaynaklara göre değişiklik göstermekte ve genelde bu değer 25-35 mg/100 g arasında değiştiği bildirilmiştir (Connell, 1990; Gimenez vd., 2002; Varlık vd., 2004). Sikorski (1990) ve Chomnawang vd. (2007) ise balıkların tüketime uygun TVB-N sınır değerini 30 mg/100 g olarak rapor

etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen TVB-N sonuçlarına göre, tüketilebilirlik açısından kabul edilen 30 mg/100 g limit değerini kontrol, %3APA, 800%1AA ve 800%3APA gruplarının sırasıyla depolamanın 6., 8., 12. ve 12. günlerinde aşarak bozuldukları tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kitosan kaplama işlemi TVB-N üzerinde önemli bir azaltıcı etki göstermiş ($P<0,05$) ve kitosan gruplarının TVB-N artışını ertelediği tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Bonilla vd. (2018) buzdolabı şartlarında ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 16 gün süreyle depoladıkları kanal yayın balıklarında TVB-N miktarının, limit olarak kabul edilen 30 mg N/100 g değerini; kontrol grubunda 8. günde aşıldığını, ancak bu değer daldırma yöntemi ile kitosan kaplanan kanal yayın balıklarında 12. günde aşıldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen TVB-N değeri, kanal yayın balıklarına kitosan uygulanan bu araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Qiu vd. (2014) kitosanın antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle TVB-N üretimini azalttığı bildirmişlerdir. Çalışmamızda da toplam bakteri üzerine kitosanın önemli etkisinin olduğu ve bu etkinin elde edilen TVB-N değeri sonuçları ile bir uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Bu da, toplam uçucu azot bileşiklerinin oluşumunda aerobik bakterilerin ilişkisini göstermektedir. Benzer bulgulara farklı araştırmacıların farklı balıklar ve farklı kitosan uygulaması üzerine yaptıkları çalışmalarda da rastlanmaktadır.

Jeon vd. (2002), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 gün süreyle depoladıkları morina ve ringa balıklarının TVB-N içeriğini inceledikleri çalışmalarında, TVB-N için bildirilen limit değerini (30 mg N/100 g); kontrol ve 600 kDa kitosan grubunun morina balığı için depolamanın 8. gününde, ringa balığının için ise 10. gününde aşıldığını tespit etmişlerdir. Ancak, 900 kDa ve 1800 kDa kitosan gruplarının TVB-N içeriğinin 12 günlük depolama süresince bu sınır değerini aşmadığını bildirmişlerdir. Vatavali vd. (2013) bir buzdolabında buz içerisinde 20-22 gün süreyle muhafaza ettikleri kırmızı mercan (*Pagrus pagrus*) balığının TVB-N değerinin depolama süresince arttığını ve sınır değeri kabul edilen 30 mg N/100 g'ı kontrol grubunun 14. günde, %0,1 kekik esansiyel yağı katkılı grubun 16. günde, %2 kitosan katkılı grubun 20. günde aştığı, ancak kitosan ve kekik yağı kombinasyonu katkılı grubun 20 gün süresince bu değer altında kaldığını bildirmişlerdir. Souza vd. (2010) kitosan kaplama işleminin somon balıklarının TVB-N değerindeki artışı kısıtladığını ve TVB-N için belirtilen sınır değerinin kontrol grubunda depolamanın 15. gününde aşılırken, kitosan kaplama uygulanan grupta 18. günde aşıldığını tespit etmişlerdir. Nowzari vd. (2013) buzdolabı şartlarında ($4\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 16 gün boyunca depoladıkları

gökkuşuğu alabalığı filetoalarının TVB-N içeriğinin, tüm gruplarda depolama süresince 25 mg N/100 g olarak kabul edilen sınır değeri altında kaldığını, fakat en yüksek TVB-N değerinin kontrol grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Ramezani vd. (2015), kontrol ile karşılaştırıldığında, kitosan kaplı gümüş sazan balığı filetoalarında önemli ölçüde daha düşük bir TVB-N miktarı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Qiu vd. (2014) 12 günlük soğuk hava deposunda Japon levreklerinin muhafazası süresince kitosan kaplı grubun TVB-N değerinin, kontrol gruplarına göre %39,62 azaldığını bildirmişlerdir.

4.2.6. TBARS Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Lipit oksidasyonu gıdalarda acılaşıma, renk bozulması ve istenmeyen tat oluşumuna neden olmaktadır (Rahman, 2007). TBA, ikincil lipit oksidasyon ürünlerinin derecesini değerlendirmek için önemli kriterlerden biridir ve su ürünlerinin kalitesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir gösterge olup, malonaldehit miktarını vermektedir (Fan vd., 2009). Lipit oksidasyonun neden olduğu dondurulmuş gıdalardaki lezzetlerin büyük bir kısmı, hidroperoksitlerin keton ve aldehitlere ayrışmasından kaynaklanmaktadır (Erickson ve Hung, 1997). Depolama süresince su ürünlerinde meydana gelen lipit oksidasyonundaki artış, depolama sıcaklığının düşürülmesi, antioksidanların ve farklı paketlenme materyallerinin kullanımıyla önlenmektedir (Soyer, 1995). Taze balık etlerinde TBA değerinin tüketilebilirlik limit değeri Connel (1990) tarafından 1–2 mg MDA/kg, Sallam (2007) tarafından 5 mg MDA/kg ve Varlık vd. (1993) tarafından da 7-8 mg MDA/kg olduğu bildirilmiştir.

Soğuk ve donmuş muhafazada kullanılan taze yayın balıklarının TBARS değeri sırasıyla 0,08 mg MDA/kg ve 0,14 mg MDA/kg olarak bulunmuş ve bu değerlerin depolama süresince hafif bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Donmuş muhafazanın başlangıcında (0. gün) 0,14 mg MDA/kg olan kontrol grubunun TBARS değeri, depolama sonunda 0,78 mg MDA/kg'a yükselmiş ve bu grubu artış oranına göre sırasıyla %3APA (0,56 mg MDA/kg), 800%1AA (0,49 mg MDA/kg) ve 800%3APA (0,33 mg MDA/kg) grupları takip etmiştir. Kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış kanal yayın balığı filetoalarının soğuk muhafaza şartları altında TBARS değeri kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grupları için sırasıyla 0,09 mg MDA/kg, 0,09 mg MDA/kg, 0,11 mg MDA/kg ve 0,09 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Soğuk depolamanın 2. gününden

itibaren kitosan kaplama grupları diğer gruplardan önemli derecede düşük bulunmuştur ($P < 0,05$). Soğuk depolama periyodu sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının TBARS değeri sırasıyla 0,84 mg MDA/kg, 0,59 mg MDA/kg, 0,75 mg MDA/kg ve 0,51 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. Oksidasyon hızı balıktaki yağ oranı, yüksek sıcaklık, nem ve ışık gibi farklı faktörlere bağlıdır (Gökoglu, 2002). Yayın balığı filetolarındaki düşük lipit oksidasyon değerleri, sardalya ve kefal gibi yağlı balıklarla kıyaslandığında, daha düşük TBA değerine sahip yayın balığı lipitlerinin stabilitesi ile açıklanabilir (Simeonidou vd., 1998). Bu soğuk ve donmuş muhafaza çalışmalarındaki tüm gruplarda tespit edilen TBA değerleri, kaliteli balıklar için tavsiye edilen TBA limit değerlerine ulaşmadığı, ancak kitosan gruplarında bu değerler daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar kitosan kaplamanın, kontrol ve %3APA gruplarına kıyasla soğuk ve donmuş depolama sırasında kanal yayın balığı filetolarında lipit oksidasyonunu kısıtladığını göstermektedir. Kitosanın lipit üzerine antioksidan mekanizması, sahip olduğu amino gruplarının oksidasyonla meydana gelen malonaldehit gibi uçucu aldehitlerle stabil bileşikler oluşturmasına bağlanmaktadır (Weist ve Karel, 1992). Ayrıca, kitosanın ürün yüzeyinde oluşturduğu tabaka, oksijen geçirgenliğine karşı iyi bir bariyer görevi görmektedir ve bu sayede oksijenin oksidasyon reaksiyonlarına katılması engellenmektedir (Sathivel vd., 2007). %3APA grubunda tespit edilen yüksek TBARS artışının ise kaplama solüsyonunda kullanılan asidin etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışma sonucumuzu destekleyici olarak, Solval vd. (2014) çalışmalarında asetik asit kullanımının depolama süresince karideslerin lipit oksidasyonunu hızlandırabileceğini ifade etmişlerdir. Bonilla vd. (2018), taze kanal yayın balıklarında TBARS değerini 0,2 mg MDA/kg altında tespit etmişler ve 16 gün boyunca 4 °C'de muhafaza edilen kitosan kaplama uygulanmış kanal yayın balıklarının, kontrol grubuna kıyasla daha düşük TBARS içeriğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, en çok artışın gözlemlendiği kontrol grubunun dahi 0,6 mg MDA/kg değeri altında kaldığı eklemiştir. Fan vd. (2009) donmuş depolama esnasında kitosan kaplama işlemiyle sazan balıklarının lipit oksidasyonunu önemli derecede kısıtladığını, kontrol grubunun TBA değerinin depolamanın 15. gününde sınır değerini (2 mg MDA/kg) aştığını, buna rağmen kitosan grubunun 30 günlük donmuş depolama sonunda bile 0,83 mg MDA/kg düzeylerinde olduğunu bildirmişlerdir. Souza vd. (2010) kitosan kaplama işleminin somon balıklarının 0 °C'de 18 gün muhafazası süresince TBA değerindeki artışı kısıtladığını ve kontrol ve kitosan kaplama uygulanmış somon balığının TBA içeriğinin

sırasıyla depolamanın 12. ve 18. günlerde sınır değeri aştığı bildirmişlerdir. Balık yüzeyine uygulanan kitosan kaplamalar, fileto ve çevresi arasında bir bariyer görevi görebilir ve kitosan kaplamanın antioksidan aktivitesi ve oksijen bariyer özelliği, balık etinde lipit oksidasyonunun engellenmesi için olası bir mekanizma rolü alabilir (Sathivel, 2005; Duan vd., 2010). Farklı balık türlerinin kitosan kaplaması ile lipit oksidasyonunun önlenmesi hakkında benzer sonuçlar daha önce bazı araştırmalarda da rapor edilmiştir (Jeon vd., 2002; Sathivel, 2005; Duan vd., 2010; Turan, 2011; Mohan vd., 2012; Qiu vd., 2014; Chouljenko vd., 2017).

Kitosanın lipit oksidasyonu üzerine olumlu etkisinin aksine ayrıca önemsiz sonuçları da rapor edilmiştir. Alak vd. (2010) palamut filetolarının TBARS içeriklerinin, kitosan kaplama uygulamasıyla yavaşladığını, ancak bunun önemli oranlarda olmadığını rapor etmişlerdir. Alak (2012) kontrol grubunun TBARS miktarının diğer kitosan kaplama gruplarından beklenmedik şekilde düşük olduğu rapor etmişlerdir. Chhabra (2004) farklı konsantrasyonlar da hazırlanan farklı kitosan kaplama uygulanan istiridyelerin TBARS içeriğinde depolama süresince artış gözlenmediği ve gruplar arasında önemli farkların olmadığı tespit edilmiştir. Ancak, kitosanın antioksidan özelliğinin TBARS dışında farklı metotlarla da denemesi gerektiğini bildirmişlerdir.

4.2.7. Mikrobiyolojik Değerlerde Meydana Gelen Değişimler

Balıkların bozulmasına neden olan en yaygın sebeplerden biriside mikrobiyal bozulmadır. Balıkların bünyesinde bulundurduğu bakteri yükü; yaşadığı ortam, avlama metodu, avlama sonrası taşıma ve işleme sırasındaki prosedürlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Koral, 2012). Mikroorganizmalar normalde balığın solungaçlarında, bağırsağında ve derisinde bulunur. Balık derisinde mikroorganizma sayısı 10^2 ile 10^6 log kob/g arasında iken, solungaç ve bağırsaklarda 10^3 ile 10^9 log kob/g arasında bulunmaktadır (Gram ve Huss, 1996; Gram ve Huss, 2000). Bu nedenle avlanma sonrasında balıklardaki bakteriyel gelişimin yavaşlatılması veya engellenmesi için balıklar hızlı bir şekilde soğutulmalı ve tüketime ya da uygulanacak işleme adımlarına kadar soğuk muhafaza şartlarında depolanmalıdır.

Bu çalışmada soğuk ve donmuş depolama süresince kanal yayın balıklarının mikrobiyal yükünü belirlemek üzere TAMB, TAPB, TK ve *E. coli* sayımlarının yanı sıra *Salmonella* varlığı da araştırılmıştır. Taze kanal yayın balıklarının TAMB sayısı 4,67 log kob/g tespit edilmiştir. Ancak bu değer donmuş depolama süresince azalmasına rağmen, soğuk depolama süresince artış göstermiştir. Taze kanal yayın balıklarının TAMB sayısı açısından benzer sonuçlar, Bonilla vd. (2018) tarafından da verilmiştir. Çalışmamızda taze kanal yayın balıklarının TAPB sayısı ise 4,17-4,25 log kob/g arasında tespit edilmiş ve bu değerlerde TAMB sayısında olduğu gibi soğuk depolama süresince artış, donmuş depolama süresince ise düşüş göstermiştir. Soğuk ve donmuş depolamanın ilk gününden itibaren kaplama uygulanmış gruplarının TAMB ve TAPB sayısı kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulunmuştur. Soğuk depolama süresince kitosan kaplamaların TAMB ve TAPB sayısı üzerinde önemli düzeylerde antimikrobiyal etkisi gözlenmiş ve bu grupların TAMB ve TAPB sayısı kontrol ve %3APA gruplarından istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Soğuk depolama süresince artan TAMB ve TAPB sayısı, ICMSF (1986) tarafından taze ve dondurulmuş balıklar için önerilen 7 log kob/g mikrobiyolojik limit değerini, kontrol grubu depolamanın 6. gününde aşmış ve bunu sırasıyla %3APA (8. gün), 800%1AA (10. gün) ve 800%3APA (10. gün) grupları izlemiştir. Ayrıca bu sonuçlar, duyuşal yönden tüm gruplar için bozulmanın gerçekleştiği depolama günleri ile birbirini destekleyici nitelikte olduğu görülmüştür. Dondurulmuş depolama süresince ise hiçbir grubun TAMB ve TAPB sayısı için izin verilen tüketilebilir limit değerini aşmadığı belirlenmiştir. Dondurulmuş kanal yayın balıklarının TAMB sayısı depolama sonunda ise kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 4,28, 3,68, 3,42 ve 3,29 log kob/g olarak tespit edilmiş ve kitosan kaplama gruplarının TAMB sayısı, kontrol grubuna kıyasla istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0,05$). Donmuş depolama sonunda kanal yayın balıklarının TAPB sayısı, kontrol grubunda 3,70 log kob/g, %3APA grubunda 3,07 log kob/g, 800%1AA grubunda 3,01 log kob/g ve 800%3APA grubunda 2,86 log kob/g olarak bulunmuştur. Buna göre, kitosan ile kaplanmış 800%3APA grubunun 180 günlük donmuş depolama periyodu sonunda kontrol grubuna kıyasla TAMB ve TAPB sayıları üzerinde sırasıyla 0,99 log kob/g ve 0,84 log kob/g düzeyinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda kullanılan taze kanal yayın balığında ve depolama (soğuk ve donmuş) süresince tüm gruplarda toplam koliform ve *E. coli* sayısı tespit edilebilir limit değerlerinin altında bulunmuştur. Donmuş depolama için kullanılan taze kanal yayın balıklarında görülen *Salmonella* varlığı,

depolama süresince gerçekleştirilen analizler neticesinde tespit edilememiştir. Soğuk depolama için kullanılan hem taze örneklerde hem de bu örneklerin depolanması süresince gerçekleştirilen analizlerde *Salmonella* varlığına rastlanılmamıştır. Sonuçlara göre ürünlerin toplam koliform, *E. coli* ve *Salmonella* açısından güvenli olduğu belirlenmiştir.

Dondurma işlemi, balıkların tazelik özelliklerini ve kalitelerini korumak için fiziksel bir koruma metodudur. Donma olayında balıkların bünyelerindeki serbest su, buz kristallerine dönüşerek su aktivitesinin ve sıcaklığın azalmasına neden olur. Bu buz kristalleri, bakterilerin dış ve sitoplazmik zarlarında geri dönüşümsüz hasara neden olabilir (Uljas ve Ingham, 1999). Dondurma yönteminin başlıca hedeflerinden biriside sıcaklığın azalmasıyla mikroorganizmaların üremesi ve moleküler aktivitesinin inhibe edilmesidir. Balıkların dondurulması sırasında mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu mevcut su azalır ve dondurulmuş balıklarda mikrobiyal aktivite ihmal edilebilir derecede düşük veya tamamen durdurulur (Gökoğlu ve Yerlikaya, 2015). Çalışmamızda donmuş depolama süresince kanal yayın balıklarında belirlenen düşük mikrobiyal sonuçların nedeninin de düşük depolama sıcaklığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hem donmuş depolama hem de soğuk depolama şartlarında kitosan gruplarının kontrol grubuna kıyasla daha düşük bakteri sayısına sahip olması da, kitosan kaplamalarının gıda yüzeylerindeki mikroorganizmaları azaltma kabiliyetini doğrulamaktadır. Kitosanın, mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisi 6 adımda açıklanabilir: (1) bakteriyel hücre yüzeyine adsorpsiyon, (2) hücre duvarı boyunca difüzyon, (3) sitoplazmik membran üzerine adsorpsiyon, (4) sitoplazmik membranın bozulması, (5) sitoplazmik yapıların sızması ve (6) hücrenin ölümü (Kong vd., 2010). Kitosanın antimikrobiyal mekanizması, pozitif yüklü amin grubunun, hücresel proteinlerin ve diğer hücre içi bileşenlerin sızmasını indükleyen negatif yüklü mikrobiyal hücre duvarı ve membran bileşenlerinin etkileşimi ile açıklanabilir. Ayrıca, kitosan; su bağlama kapasitesi ve çeşitli enzimleri inhibe etmesi sayesinde veya gıdalarda bir oksijen bariyeri etkisiyle aerobik bakterilerin büyümesinin engellenmesine de katkıda bulunabilir (Shahidi vd., 1999; Duan vd., 2010). Benzer şekilde, bazı araştırmacılar kitosan kaplamalarının su ürünleri yüzeylerindeki mikroorganizmaları azaltma kabiliyetlerini bildirmişlerdir (Tsai vd., 2002; Raafat ve Sahl, 2009; Alak vd., 2010; Küçükgülmez vd., 2013; Feng vd., 2016; Chouljenko vd., 2017; Soares vd., 2017).

Bonilla vd. (2018), buzdolabı şartlarında (4 °C) 16 gün süreyle depolanan kanal yayın balıklarında mikrobiyolojik sınır değeri olarak kabul edilen 6 log kob/g değerinin kontrol grubunda 4. gün, sprey ve daldırma yöntemi ile kitosan kaplama uygulanmış gruplarda 8. gün ve vakum tambur grubunda ise 12. gün aştığını rapor etmişlerdir. Yu vd. (2017), %2 (w/v) kitosan (300-400 kDa, %85 DD) kaplamanın, ot sazanlarının toplam bakteri sayısı üzerine 1,27 log kob/g azalma sağladığını belirlemiştir. Jeon vd. (2002), 4 °C'de 12 gün süreyle depoladıkları Atlantik morina ve ringa balıklarında tespit edilen toplam bakteri sayısının, kontrol grubunda depolamanın 6. gününde 6 log kob/g sınır değerini aştığı, ancak kitosan kaplama uygulanan grupların depolama süresince bu sınır değerinin altında kaldığını belirlemiştir. Chhabra (2004), mikrobiyolojik sonuçlara göre farklı konsantrasyonlar da hazırlanan kitosan grupları arasında bakteriler üzerine en yüksek etkiyi %2 kitosan solüsyonu ile muamele edilen grubun gösterdiğini ve bu grubu sırasıyla %0,5 ve %1 kitosan içeren grupların izlediğini ifade etmiştir. Hammond (2004), farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları kitosanı Atlantik somon balığı üzerine uygulamış ve balıkların buzdolabı şartlarında (4 °C) muhafazası esnasında kitosan ile muamele edilen balıklarda mikrobiyal üremenin kısıtlandığı ve bu kısıtlamanın konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği ifade edilmiştir. Bu çalışma verileri incelendiğinde de benzer şekilde kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak kitosanın antimikrobiyal etkisinin arttığı görülmektedir. Nowzari vd. (2013), gökkuşuğu alabalığındaki toplam bakteri sayısının depolama süresince artış gösterdiğini, kontrol grubunun depolamanın 8. gününde sınır değeri olarak kabul edilen 7 log kob/g'ı aştığını, ancak kaplama uygulanan diğer gruplarda bu değerin buzdolabı şartlarında (4 °C) 16 günlük depolama sonunda dahi sınır değeri altında kaldığını bildirmişlerdir. Vatavali vd. (2013), bir buzdolabında buz içerisinde 20-22 gün süreyle muhafaza ettikleri kırmızı mercan balıklarında toplam bakteri sayısı için bildirilen 7 log kob/g sınır değerinin kontrol grubunda 14. gün, kekik yağı grubunda 16. gün, kitosan grubunda 20. gün aşıldığını, fakat kitosan ve kekik yağı kombinasyonu grubunun depolama sonunda bu limit değerin altında kaldığını tespit etmişlerdir.

Ayrıca, donmuş depolama sıcaklıklarında da çalışma verilerimiz ile benzer olarak kitosanın farklı balık türleri üzerinde antimikrobiyal etkileri rapor edilmiştir. Duan vd. (2010), 3 aylık donmuş muhafaza süresince morina balıklarının toplam mezofilik ve psikrofilik bakteri üremesini kitosan kaplama işleminin sınırladığını ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kitosan kaplama uygulanan grupların bakteri sayısının önemli

düzyeyde düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Buna göre, kitosan kaplamalarının TAMB sayısında 0,27-1,55 log kob/g ve TAPB sayısında ise 0,50-1,31 log kob/g azalma sağladığını bildirmişlerdir. Souza vd. (2010), 0 °C’de 18 gün boyunca muhafaza ettikleri kitosan ile kaplanan somon balıklarının toplam bakteri sayısının kontrol grubuna göre daha az olduğu ve mikrobiyolojik olarak tüketilebilir limit değerini, depolamanın 12. gününde kontrol grubunun ve 18. gününde kitosan kaplama uygulanmış grubun aştığı belirtilmiştir. Elde edilen kimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar incelendiğinde, kitosan kaplama işleminin kontrol grubuna göre somon balıklarının raf ömrünü 3 gün artırdığı ifade edilmiştir. Fan vd. (2009), -3 °C’de 30 gün süreyle depolanan sazan balıklarında başlangıçta toplam bakteri sayının 2,9 log kob/g olduğunu ve bu değerın depolamaya bağılı olarak arttığını bildirmişlerdir. Kontrol grubunun toplam bakteri sayısının limit değeri olarak kabul edilen 7 log kob/g’ı donmuş depolamanın 25. gününde aştığını, buna rağmen kitosan kaplama grubunun depolamanın 30. gününde (6,9 log kob/g) dahi sınır değeri altında olduğunu tespit etmişlerdir. Soares vd. (2015), somon balıklarının toplam bakteri üremesi üzerine kitosan kaplama işleminin kısıtlayıcı bir etkisinin olduğunu ve depolamanın 181. gününde kontrol ve glaze uygulanmış grupların toplam bakteri sayısının sırasıyla 4,42 log kob/g ve 3,65 log kob/g olduğunu belirlemişlerdir. Buna rağmen %0,5 ve %1,5 kitosan uygulanmış gruplarda toplama bakteri sayısının tespit edilebilir limit değerlerin altında olduğunu bildirmişlerdir.

4.2.8. L*, a* ve b* Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Biyobozunur filmlerde ve kaplamalarda renk, tüketici satın alma kararlarını etkileyebileceğinden dolayı önemli bir özelliktir (Bourtoom vd., 2008). Diğer gıda ürünleri gibi su ürünlerinin görünümü de hem kabul edilebilirlik ve hem de tüketici tercihi açısından önemli bir parametredir. Yüzey rengi hem kas yapısının özellikleri hem de pigment konsantrasyonları tarafından etkilenir. Çoğu balıkta renk indeksi, protein oksidasyonunun pigment birikimi ile yakından ilişkilidir (Cai vd., 2014; Gines vd., 2004). Lutein ve zeaksantin gibi karotenoidlerin birikmesinin, yayın balığının sarı rengine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Li vd., 2007). Donmuş depolama sırasında, balık etinin sararması, karotenoidlerin deri altı yağ tabakasına göçü, lipit oksidasyonu ve karbonil-amin reaksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (Chouljenko vd., 2017). Donma işlemi, ayrıca balıkların kas kasılmasını ve dokusunu da değiştirmektedir. Bu nedenle donma sırasında

kasın ışık yansıtma özelliklerinin değişmesi muhtemeldir. Buda, ürün renginin görsel izlenimini etkilemektedir (Einen, vd., 2002). Kitosan antioksidan özelliklere sahiptir ve oksidatif reaksiyonları (yani miyoglobinin oksidasyonu) katalize eden geçiş metali iyonları üzerinde bir şelatör olarak hareket etme kabiliyeti nedeniyle kaslarda kırmızılığı koruyabilmektedir (Yen vd., 2008).

Çalışmamızda kanal yayın balıklarının L* değeri donmuş depolama başlangıcında kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 56,43, 58,23, 62,17 ve 59,80 olarak bulunmuştur. Donmuş depolama başlangıcı ve sonu kıyaslandığında tüm grupların L* değerinde meydana gelen değişimlerin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Dondurulmuş depolama boyunca, en düşük L* değeri kontrol grubunda belirlenirken, en yüksek %3APA grubunda tespit edilmiştir. Soğuk depolama çalışmasında ise, kontrol grubunun L* değerinde depolamaya bağlı olarak hafif bir düşüş olmasına rağmen, bu eğilim diğer kaplama gruplarında saptanmamıştır. Depolama sonunda ise kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarının L* değerleri sırasıyla 56,13, 59,93, 61,47, 60,40 olarak ölçülmüştür. Donmuş çalışmada olduğu gibi soğuk depolama süresince de kaplama uygulanmış çalışma gruplarının L* değeri kontrol grubuna nazaran daha yüksek bulunmuş ve en yüksek L* değeri %3APA grubunda saptanmıştır. Kontrol grubuna kıyasla kaplama gruplarında belirlenen daha yüksek L* değeri, balıklara uygulanan asit ve kitosan kaplamaların düşük pH'sı nedeniyle ürünler üzerinde ağartıcı bir etki göstermesiyle açıklanabilir (Asik ve Candogan, 2014). Benzer şekilde aynı artış, kitosan ile kaplama uygulanmış sardalya (Mohan vd., 2012) ve kanal yayın balığında da (Bonilla vd., 2018) gözlenmiştir.

Kanal yayın balıklarının a* değeri donmuş depolamanın başlangıcında en yüksek kontrol grubunda (-1,73) gözlenmiş ve bunu sırasıyla 800%1AA (-2,30), %3APA (-2,40) ve 800%3APA (-2,47) izlemiştir. Donmuş depolama sırasında a* değerlerinin değişimi incelendiğinde, tüm gruplar için a* değerlerinin değişmediği gözlenmiş ($P>0,05$) ve kitosanın a* değeri üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Soğuk depolanmış kanal yayın balıklarının a* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar gözlenmiş ve depolama sonunda tüm gruplarda tespit edilen a* değerleri depolama başlangıcında elde edilen değerlerden daha düşük tespit edilmiştir. Fakat bu değişimler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Soğuk depolama sonunda gruplar arasında istatistiksel

olarak farklar bulunmasa da ($P>0,05$), en düşük a^* değeri %3APA grubunda en yüksek a^* değeri ise yine 800%3APA grubunda belirlenmiştir. Benzer şekilde, Suvanich vd. (2000) -20 °C, 0 °C ve 5 °C'de depolanan yayın balığı kıymalarının a^* değerlerinin depolama sırasında değişmediğini belirtmişlerdir. Bonilla vd. (2018), kontrol ve kitosan kaplanmış kanal yayın balıklarının a^* değerleri arasındaki farkın, başlangıçtan soğutulmuş depolamanın son gününe kadar önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Donmuş depolama başlangıcında kontrol ve kaplama gruplarının b^* değeri benzer bulunmuş ($P>0,05$) ve bu değerler -1,73 ile -1,07 arasında belirlenmiştir. Donmuş depolama süresince tüm grupların b^* değerinde dalgalanmalar gözlenmiş ve depolama sonunda 800%3APA grubunun b^* değeri, kontrol ve diğer kaplama gruplarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Soğuk depolama başlangıcında b^* değeri kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA grupları için sırasıyla -1,83, -3,03, -3,27 ve -0,97 olarak belirlenmiş ve depolamaya bağlı olarak tüm grupların b^* değerinde artış gözlenmiştir. Soğuk depolama sonunda en yüksek b^* değeri 800%3APA (+0,60) grubunda gözlenirken, bunu sırasıyla 800%1AA (+0,13), kontrol (+0,07) ve %3APA (-0,07) grupları izlemiş, ancak gruplar arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Bonilla vd. (2018), bu çalışmada elde edilen sonuçlara kıyasla depolamanın 0. gününde kontrol ve kitosan kaplanmış kanal yayın balıklarında daha yüksek b^* değerleri (3,23-4,35) saptamışlardır.

Genel olarak değerlendirdiğimizde kitosanın L^* değeri üzerinde hafif koruyucu bir etkisi saptanmış, ancak bu etki a^* ve b^* değeri üzerinde gözlenmemiştir. Benzer şekilde, Sathivel (2005) somon balıklarının 3 aylık donmuş depolama sonunda L^* , a^* ve b^* değerlerine kitosan kaplamaların önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Mantilla vd. (2008), dondurulmuş depolama esnasında balığın sarılık (b^*) değerindeki artışın lipid ve protein oksidasyonu ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Duan vd. (2010) kitosan kaplamaların, morina balığı renginde herhangi bir olumsuz değişime neden olmadığını ve tüketici açısından kabul edilebilirliğini etkilemediğini bildirmişlerdir. Dondurularak depolanmış olan balıkların a^* ve b^* değerlerinde depolama süresince bir değişiklik olmadığı, ancak L^* değerinde bir düşüş gözlemlendiği ve buna bağlı olarak balık renginde koyulaşmanın arttığını belirlemişlerdir. Renkteki bu değişimin, donmuş depolama sırasında hücre zarına mekanik olarak zarar veren ve tıpkı protein oksidasyonu gibi

hücresel bozulmalara yol açan buz kristallerden ileri gelebileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca, donmuş depolama sırasında gerçekleşen nem kaybı, sarı ve kırmızı renk pigment konsantrasyonundaki artışı açıklayabilir (Choubert vd., 1992). Kin vd. (2011) taze kanal yayın balıklarının L^* , a^* ve b^* değerlerini sırasıyla 59,9, -0,53 ve -1,94 olduğunu bildirmişlerdir. Bu değerler çalışmamızda taze balıklarda elde edilen L^* ve b^* değerleri ile benzer, a^* değerlerine göre ise daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılıklar balık türü, büyüklüğü, yaşı, cinsiyeti, avlanma mevsimi ve beslenme şekline göre değişiklik göstermektedir. Mohan vd. (2012) depolama süresince kitosan kaplama uygulanmış ve uygulanmamış tüm gruplarda a^* ve b^* değerlerinin oldukça benzer olduğunu, ancak zamanla L^* değerinde düşüşün olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, L^* değerinde en yüksek düşüşün kontrol grubunda olduğu bildirmişlerdir. Kitosan ve asit ile muamele edilen balıklarının depolama başlangıcındaki bu yüksek L^* değeri, daldırma işlemi için kullanılan kitosan solüsyonunun düşük pH değerine atfedilebilir ki bu da uygulama sırasında kas pigmentlerinin ağarmasına neden olmuştur.

4.2.9. Tekstür Değerinde Meydana Gelen Değişimler

Tekstür tüketici kabul edilebilirliği için önemli duyu parametrelerinden biri olup, balık türleri, kas konumu, koruma derecesi, işleme tipi, enzimatik reaksiyonlar ve kimyasal reaksiyonlar gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak değişebilmektedir (Yang vd., 2015). Tüm canlılarda olduğu gibi balık dokusundaki hayati faaliyet sona erdiğinde proteolitik doku enzimleri hızla hücreleri tahrip ederek etin yumuşamasına neden olmaktadır (Şengör vd., 2000). Ayrıca, bozulmanın ilerleyen evrelerinde bununla birlikte bakteriyel enzimler de devreye girmektedir.

Bu çalışmada, soğuk ve donmuş depolama sırasında kanal yayın balıklarının sertlik, elastikiyet, bağlılık, çignenebilirlik ve esneklik gibi dokusal özellikleri incelenmiştir. Sertlik (hardness), gıda maddesinin yapısında belirli bir deformasyonu sağlamak için uygulanması gereken kuvvet olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 1978). Tüm grupların sertlik değeri hem soğuk depolama hem de donmuş depolama sırasında azalmıştır ($P < 0,05$). En hızlı yumuşama kontrol grubunda saptanmış ve bu kayıp kontrol grubunda 180 günlük donmuş depolama sonunda %28, 12 günlük soğuk depolama sonunda ise %35 oranında gerçekleşmiştir. Kitosan (800%1AA ve 800%3APA) ile kaplanmış örnekler her

iki depolama sonunda da kontrol ve %3APA gruplarına nazaran sertlik değerini daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Ancak, soğuk depolama süresince gruplar arasında önemli farklar gözlenirken ($P<0,05$), donmuş depolama süresince gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Sertlikteki azalmalar, depolama sırasında balık kasının bağ dokusunun zayıflamasına bağlanabilir.

Elastikiyet (springiness), gıda maddesinin üzerindeki deforme edici kuvvet kaldırıldıktan sonra kendini toparlayarak deformasyondan önceki haline dönme hızı olarak tanımlanmaktadır. Tekstür profili analizinde ilk sıkıştırmanın bitimi ve bunu takiben ikinci sıkıştırmanın başlangıcı arasında geçen zaman aralığına karşılık gelmektedir. Bağlılık (cohesiveness, iç yapışkanlık), gıda maddesinin yapısını oluşturan iç bağların gücünü göstermektedir. Bu sonuç, kullanılan ürünün viskoelastisitesinin bir göstergesi olup, 1 değeri toplam esnekliği ve 0 değeri numunenin hiç esnemediğini ifade etmektedir (Bourne, 1978). Soğuk depolama sonunda kaplama gruplarının elastikiyet ve bağlılık değerleri kontrol grubuna kıyasa daha yüksek bulunmuş, ancak kontrol ve kaplama grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Ayrıca, soğuk depolama süresince elastikiyet ve bağlılık değerleri açısından tüm grupların kendi içinde gösterdiği değişimler de istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Çalışmamızda donmuş depolama sonunda ise kaplama gruplarının elastikiyet ve bağlılık değerleri kontrol grubuna nazaran daha yüksek bulunmuş, ancak elastikiyet açısından gruplar arasında önemli farklar saptanmamıştır ($P>0,05$). Bağlılık değerlerinde ise 800%3APA ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak önemli farklar tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çiğnenebilirlik (chewiness), katı özellikte bir gıda maddesinin yutmaya hazır hale gelene kadar parçalanması için gerekli enerji olarak tanımlanmaktadır (Bourne, 1978). Bu çalışmada, soğuk ve donmuş depolama süresi sonunda kontrol grubunun çiğnenebilirlik değeri, 800%1AA ve 800%3APA grubunun ki ile karşılaştırıldığında, kontrol grubunun çiğnenebilirlik değerinde önemli ölçüde daha yüksek düşüş olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Her iki depolama şartlarında da 800%3APA grubunun çiğnenebilirlik değerlerine olumlu bir etkisi gözlenmiş ve depolama süresince en yüksek çiğnenebilirlik değeri bu grupta bulunmuştur.

Esneklik (resilience), ürünlerin kopmaya karşı gösterdikleri dirençtir (Bourne, 1978). Depolama başlangıcından sonuna kadar hem gruplar arasında hem de grup içinde gerçekleşen esneklik değişimleri istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$) ve her iki depolama şartlarında da kitosan kaplamanın esneklik değeri üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir.

Genel olarak değerlendirdiğimizde kitosan kaplanmış kanal yayın balıklarının kontrol grubuna kıyasla her iki depolama şartlarında da daha yüksek tekstürel değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak soğuk ve donmuş depolama şartlarında muhafaza edilen kanal yayın balıklarının tekstürel değerlerinde görülen kitosanın koruyucu etkisinin; soğuk depolama şartlarında sertlik ve çiğnenebilirlik, donmuş depolama şartlarında ise bağlılık ve çiğnenebilirlik değerlerinde istatistiki açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Protein denatürasyonu, kas dokusunda kalite kaybına neden olan değişikliklere sebep olabilir (Zaritzky, 2000). Deniz ürünlerinin yavaş dondurulması, büyük buz kristalleri tarafından kasın delinmesi nedeniyle nem kaybına yol açarak, dokuda istenmeyen değişikliklere neden olabilir (Shenouda, 1980). Bunlardan birisi de özellikle de donmuş depolama süresince balıklarda meydana gelen su (damlama) kayıplarıdır. Damlama kaybı, ürünlerin görünümünü, dokusunu, sululuğunu değiştirebilir ve besin kayıplarına neden olabilir (Zaritzky, 2000). Bu açıdan, her iki depolama şartlarında da kitosan kaplama uygulanmış balıkların ağırlık kaybında daha az değişimlerin olması, duyuşal açıdan tüketici beğenisinin ve su tutma kapasitesinin daha yüksek olması ve ayrıca pişirme kayıplarının az olması nedeniyle bu sonuçlar ile tekstürel sonuçların uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir.

Kitosanın tekstür özellikleri üzerinde etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalarda da çalışma sonuçlarımızla benzer sonuçlar gözlenmiştir. Yang vd. (2015), soğutulmuş depolama sırasında *Channa argus* balığına uygulanan kitosan kaplamanın, tekstür sonuçları ile ilgili olarak kas dokularındaki değişiklikleri en aza indirmede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Dey ve Dora (2011), $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen dondurulmuş mavruşgil balığı surimi örneklerinin 6 aylık depolama sonunda doku özelliklerinin (sertlik, bağlılık, elastikiyet ve çiğnenebilirlik) başlangıca göre biraz daha yumuşak bir yapıya sahip olduğunu ve kitosan grubunun tekstür değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda ve bizim çalışmamızda gözlenen

sonuçlar, enzim aktivitesini kontrol ederek et ürünlerinin doku özellikleri üzerine kitosanın iyileştirici yeteneğinin ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir (Xu vd., 2014). Mohan vd. (2012) kitosan kaplama uygulanan balıkların su tutma kapasitesi, damla kaybı ve tekstürel özelliklerinin herhangi bir işlem uygulanmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farkların önemli olduğunu belirlemişlerdir. Chouljenko vd. (2017) kitosan ve kitosan-sodyum tripolifosfat ile muamele edilmiş karideslerin depolama süresince renk, doku ve nem içeriğini koruduğunu tespit etmişleridir. Chamanara vd. (2012) buzdolabı koşullarında muhafaza ettikleri gökkuşağı alabalığına farklı molekl ağırlığına sahip kitosanların etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sertlik ve bağlılık açısından 15 günlük depolama süresince gruplar arasında önemsiz farklar tespit etmişlerdir ($P>0,05$). Esneklik açısından ise kontrol grubu ile %2'lik kitosan grubu arasında önemli farklar bulmuşlardır ($P<0,01$). Ayrıca, sertlik ile su tutma kapasitesi arasında ters bir ilişki olduğunu, kitosan kaplanmış örneklerin su tutma kapasitesinin diğer gruplardan yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçların aksine, Soares vd. (2017) somon balığının tekstür (sertlik, çiğnenebilirlik, bağlılık ve elastikiyet) değerinde meydana gelen değişimlerin önemsiz olduğunu, ayrıca farklı kaplama uygulamaları arasında ki farkların da istatistiki olarak önemli olmadığını belirlemişlerdir.

4.2.10. Duyusal Değerlerde Meydana Gelen Değişimler

Su rnleri endüstrisinde balıkların kalitesi ve tazeliğinin belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan metotlardan biri olan duyusal değerlendirmelerin önemli bir rolü vardır (ağlak vd., 2015). Herhangi bir gıda ürünü satın alırken en basit ve en hızlı yöntem olarak duyusal değerlendirme yöntemi kullanılır. Bu yöntem, balıkların raf ömrünün belirlenmesinde kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik analizler ile ilişkilendirilir. Ancak, duyusal değerlendirme, diğer analiz yöntemlerine kıyasla tüketimde çok daha önemli bir role sahiptir. Çünkü insanlar bir gıdayı satın alırken veya tketerken, laboratuvar şartlarında tespit edilen kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerin yerine duyusal değerlendirmelerden faydalanmaktadırlar (Kuzgun, 2014).

Soğuk ve donmuş depolama süresi boyunca yayın balığı filetoalarının görünüş, koku, doku ve genel beğeni kriterlerindeki değişimleri araştırılmıştır. Ayrıca, soğuk depolama şartlarında 800%3APA grubunun mikrobiyolojik olarak ve duyusal yönden

bozulma gösterdiği depolama günü (10. gün) ile kontrol grubu ve 800%3APA grubunun bozulmadan önceki günü (8. gün) karşılaştırılmış, bunlara ek olarak panelistlerin satın alma kararları da belirlenmiştir. Çalışmamızda panelistler tarafından 9 puanlık bir hedonik skala kullanılarak gerçekleştirilen duyuşal değerlendirmeler sonucunda hem soğuk hem de donmuş depolama süresince kanal yayın balıklarının duyuşal parametrelerinde azalış gözlenmiştir. Ancak, daha düşük depolama sıcaklığının etkisiyle, donmuş depolama şartlarında muhafaza edilen ürünlerin duyuşal değerlendirme puanları, soğuk muhafaza yönteminde depolanan ürünlere kıyasla çok daha yüksek bulunmuştur. Bu açıdan donmuş depolama süresince tüm grupların duyuşal puanları, tüketilebilir limit değerinin (4 puan) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda donmuş muhafaza sonunda görünüş, doku ve genel beğeni açısından en düşük duyuşal puan %3APA grubunda gözlenirken, koku açısından en düşük puan 800%1AA grubunda saptanmıştır. Donmuş depolama, balıkların hücresel ve duyuşal özelliklerinin giderek azalmasına yol açabilir (Vanhaecke vd., 2010). Donmuş depolama süresince kanal yayın balıklarının azalan genel beğeni puanları depolama sonunda kontrol, 800%1AA, %3APA ve 800%3APA gruplarında sırasıyla 6,68, 6,53, 6,27 ve 6,92 olarak tespit edilmiştir. %3APA grubunda görülen düşük puanların, bu grupta yüksek miktarlarda (%3) kullanılan aspartik asit solüsyonunun kanal yayın balığı örneklerinin organoleptik kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Kitosan ilavesiz hazırlanan bu yüksek asit solüsyonunun, ürünlerin renklerinde ağartıcı bir etki sağladığı ve ayrıca ürünlerin dokusunda yumuşamaya neden olduğu gözlenmiş ve bu sonuçların tekstür, renk, su tutma kapasitesi ve pişirme kaybı sonuçlarımız ile de uyumlu olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, %2 laktik asit ve %2-4 asetik asit solüsyonlarının, kanal yayın balığı filetolarındaki aerobik bozulma bakterilerini baskılamakta etkili olduğu, ancak bu asit muamelesinin, asidik koku nedeniyle balıkların renk ve koku gibi duyuşal nitelikleri üzerinde olumsuz etkileri rapor edilmiştir (Marshall ve Kim, 1996). Çalışmamızda 800%1AA grubu ürünlerin en düşük koku puanına sahip olması ise kaplama solüsyonunda kullanılan asetik asitten kaynakladığı ve %1 oranında kullanılan asetik asidin, %3'lük aspartik asit solüsyonundan dahi daha ağır bir kokuya sahip olduğu saptanmıştır. Bu açıdan, kitosanın çözündürülmesi için kullanılan asetik asit ve bunun gibi yoğun asitlerin ürünler üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu ve bunun yerine aspartik asit gibi asitlerin kullanımının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Soğuk muhafaza şartlarında kanal yayın balıklarının duyuşal kalite kriterlerindeki düşüş, donmuş muhafaza şartlarına nazaran daha hızlı gerçekleşmiştir. Soğuk depolama başlangıcında görünüş, koku, doku ve genel beğeni açısından duyuşal puanlamalar sırasıyla 8,25-8,93, 8,28-8,90, 8,73-8,98 ve 8,40-8,90 değerleri arasında belirlenmiştir. Depolama başlangıcında kontrol grubu en beğenilen ürün olmasına rağmen, depolama süresince duyuşal açıdan en hızlı bozulan grup olmuş ve depolamanın 6. gününde tüketilebilir limit değerinin altında kalmıştır. Duyusal analiz sonuçlarına göre kanal yayın balıklarının duyuşal puanları; %3APA grubunda 6. gün, 800%1AA ve 800%3APA gruplarında ise 10. gün tüketilebilir limit değerinin altına düşerek duyuşal açıdan bozulmuşlardır. Donmuş muhafaza şartlarında olduğu gibi soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarının duyuşal kriterlerine %3 oranında kitosan kaplamanın (800%3APA) en iyi katkıyı sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarının hem duyuşal hem de mikrobiyolojik olarak bozulma gösterdiği depolama günleri benzer bulunmuştur.

Çalışmada farklı muhafaza koşullarında depolanan kanal yayın balıklarının duyuşal analiz sonuçlarına benzer olarak, kitosanın farklı balık türlerinin duyuşal kabul edilebilirliği üzerindeki olumlu etkisi bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Cai vd. (2014), Japon levreğinin duyuşal olarak kabul edilebilirliğine kitosan kaplamaların önemli etkisinin olduğunu ve kontrol grubunun depolamanın 8. günde kabul edilemez nitelikte olmasına rağmen, 16 günlük depolama sonunda dahi kitosan gruplarının bozulmadığını bildirmişlerdir. Can ve Patır (2012), yapmış oldukları çalışmada kitosan solüsyonu ile kaplanmış gökkuşaağı alabalığı filetoalarının, panelistler tarafından kontrol grubuna göre duyuşal yönden daha çok beğeni aldığını açıklamışlardır. Hammond (2004), buzdolabı şartlarında 7 gün süreyle depolanan yüksek moleköl ağırlığına sahip kitosan ile muamele edilen grupların duyuşal özelliklerinin, kontrol ve düşük moleköl ağırlığına sahip gruplara göre panelistler tarafından daha çok beğeni aldığını belirlemişlerdir. Chamanara vd. (2012), duyuşal değerlendirmeler neticesinde depolamanın 9. gününde kontrol grubunun istenmeyen tat, koku ve renk değişimine sahip olduğunu, buna rağmen gökkuşaağı alabalıklarının bu 8-9 günlük raf ömürlerinin kitosan ile kaplanan gruplarda en az 14 gün olduğunu bildirmişlerdir. Vatavali vd. (2013), buzdolabı şartlarında muhafaza edilen mercan balıklarının duyuşal puanlamalarının kontrol grubunda 10. gün (tat açısından), %0,1'lik kekik esansiyel yağı katkılu grupta 18. gün (tat açısından), %2'lik

kitosan katkılı grupta 20. gün (hem tat hem koku açısından) ve kekik yağı ile kombine edilmiş kitosan katkılı grupta 20. gün (tat açısından) tüketilebilir sınır değeri altında kaldığını bildirmişlerdir. Fan vd. (2009), donmuş depolama süresince gümüş sazanlarının duyuşal değerlendirmeler sonucuna göre kitosan kaplama grubunun duyuşal puanlarının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu ve bu grubun depolama süresince tüketilebilir sınır değerleri içerisinde kaldığını, ancak kontrol grubunun depolamanın 25. gününde tüketilebilir sınır değerin altında kaldığını tespit etmişlerdir. Dey ve Dora (2011), 180 günlük donmuş depolama (-20 °C) süresince duyuşal olarak değerlendirilen *Johnius gangeticus* balığının genel kabul edilebilirliği üzerine kitosan uygulamanın herhangi bir olumsuz etkisinin gözlenmediğini, hatta depolama sonunda genel kabul edilebilirlik açısından kitosan grubunun, kontrol grubuna nazaran daha yüksek puan aldığını belirtmişlerdir. Soares vd. (2017), donmuş muhafaza (-18 °C) süresince somon balıklarının duyuşal kalite kriterlerine kitosan kaplamanın negatif yönde bir etkisi olmadığını, hatta görünüş ve renk gibi duyuşal kriterler açısından kitosan kaplamanın olumlu katkılar sağladığını ifade etmişlerdir.

Ayrıca, soğuk muhafaza şartlarında depolanan %3 kitosan ile muamele edilmiş kanal yayın balıklarının duyuşal değerlendirmeleri 75 kişilik panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda belirlenen hem mikrobiyolojik hem de diğer duyuşal analiz sonuçları baz alınarak yürütölen analiz sonuçlarına göre 800%3APA grubunun bozulduğu 10. gün (10%3APA) ile 800%3APA grubunun bozulmadan bir önceki günü olan 8. gün (8%3APA) grubu taze (kontrol) balıklarla karşılaştırılmıştır. Duyuşal kalite parametreleri (görünüş, koku, doku, genel beğeni, satın alınabilirlik) açısından kontrol grubu diğer gruplara kıyasla panelistler tarafından daha yüksek puanlar almışlardır. En düşük duyuşal puanlar ise 10%3APA grubunda görölmüşür. Kontrol ve 8%3APA gruplarının koku ve genel beğeni puanlarının istatistiki olarak 10%3APA grubundan farklı olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). Satın alınabilirlik açısından kontrol, 8%3APA ve 10%3APA grupları sırasıyla %85,33, %84,00 ve %44,67 oranlarında evet oyu almışlardır. Çalışmamızda 800%3APA grubunun depolamanın 10. gününde bozularak panelistler tarafından da beğenisini yitirdiği ve bu sonuçların diğer duyuşal analiz sonuçlarını da doğruladığı tespit edilmiştir.

Genel olarak değerlendirdiğimizde kitosan kaplamaların soğuk ve donmuş muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarının kalite parametrelerinde olumlu etkilerinin olduğu ve en iyi etkiyi %3 kitosan uygulamasının (800%3APA) sağladığı tespit edilmiştir. Kimyasal, mikrobiyoloji ve duyuşal analiz sonuçlarına gore soğuk muhafaza şartlarında depolanan kanal yayın balıklarının raf omrunun kontrol ve %3APA grubunda 3-6 gun olduğu ve bunu 8-10 gun ile 800%1AA ve 800%3APA gruplarının izlediği belirlenmiştir.



5. ÖNERİLER

Gıda kalitesi üzerine asitte çözünebilir kitosanların etkisi literatürde yaygın bir şekilde çalışılmış ve rapor edilmiştir. Ancak farklı konsantrasyonlar da hazırlanan yüksek molekül ağırlıklı suda çözünebilir kitosanın, balıkların kalite kriterlerine ve raf ömrüne etkisi ilk kez bu çalışmada araştırılmıştır. Bu yönden araştırma verileri hem-su ürünlerinde hem de diğer gıdalarda kullanımına yönelik ilerdeki çalışmalara ışık tutmaktadır.

Çalışma sonuçlarına göre, su ürünleri gibi çabuk bozulabilir gıdaların kalitelerinin korunması ve raf ömürlerinin yüksek molekül ağırlığına sahip suda çözünebilir kitosanın kullanımıyla geliştirilebileceği ve bu teknolojinin su ürünleri dışında diğer gıdalarda uygulanabileceği düşünülmektedir.

Literatürde kitosan çözündürme işlemi için yaygın olarak asetik asit kullanılmaktadır. Ancak asetik asit ve bunun gibi kuvvetli asitlerin kullanımı çeşitli gıda uygulamalarında istenmeyen tat ve koku (keskin) sorununu ortaya çıkılmaktadır. Çalışmamızda da asetik asit kullanımının ürünlerin duyuşal açıdan koku problemine neden olduğu gözlenmiştir. Bu açıdan araştırma sonuçlarımız, asetik asit gibi kuvvetli asitlerin yerine çalışmada kullanılan aspartik asidin bir gıda koruyucu olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Dahası, aspartik asitle birlikte daha düşük molekül ağırlıklı kitosan kullanımının bakterilerin dış membranını nedeniyle bakteriler üzerinde daha etkili olabileceği ve bu önerilerin daha ileriki çalışmalara konu olacağı düşünülmektedir.

Kitosan ile aspartik asit kombinasyonu, kanal yayın balığı üzerinde inoküle edilen gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı inhibitör etki göstermiştir. Çalışma grupları arasında en iyi antimikrobiyal etkiye sahip %3 kitosan uygulamasının bu bakterilerden özellikle *V. cholerae*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes*'e karşı önemli etkisinin olduğu, ayrıca *V. parahaemolyticus* üremesinin tamamen kısıtladığı tespit edilmiştir. Bununla beraber, çalışmada kullanılan gıda kaynaklı patojen bakterilerin dışında diğer patojen bakterilere karşı kitosanın etkisi de araştırılabilir. Aspartik asitle birlikte düşük veya orta molekül ağırlığına sahip kitosan, bakterilerin dış zarından hücrelere penetrasyonu kolaylaştırabilir ve böylece daha büyük antimikrobiyal potansiyel sağlayabilir. Bu açıdan

farklı moleköl ağırlığına sahip suda çözünebilir kitosanın farklı patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkisi daha ileriki çalışmaların konusu olabilir.

Çalışmada kullanılan kanal yayın balıklarına kitosanın antimikrobiyal ve antioksidan etkisinin olduğu belirlenmiş, ancak kanal yayın balığının düşük yağ içeriğinden dolayı lipit oksidasyonun da önemli artışlar gözlenmemiştir. Bu nedenle kitosanın antioksidan özelliğinin tam olarak belirlenebilmesi açısından yağlı balık türleri kullanılarak bir araştırmanın yürütülmesi gerekmektedir. Ayrıca, su ürünlerinin kalite parametrelerine kitosanın olumlu etkisinin artırılması amaçlı kitosan kaplamalar antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip bitki ekstraktlarıyla kombine edilerek araştırılabilir.

Su ürünlerinin işlenmesi sırasında açığa çıkan atık kabuk miktarı yıllık yaklaşık beş milyon ton civarındadır. Bu nedenle yengeç ve karides gibi hayvanların atık kabuklarından kitin, kitosan ve onların türevleri gibi farklı endüstriyel alanlarda kullanım imkanı olan biyopolimerlerin üretilmesi hem çevresel hem de ekonomik açıdan oldukça büyük yararlar sağlayacaktır.

Kitosan, biyolojik yolla parçalanabilir nitelikte olması ve toksik olmayışı nedeniyle gelecek vaat eden yenilebilir bir polimerik materyaldir. Kitosanın bu şekilde kullanım olanaklarının genişletilmesiyle, doğada büyük miktarda atık yükü oluşturan deniz kabuklularının önüne geçilmesinin yanı sıra, gıda ve gıda dışı uygulamalarda bu biyopolimerin kullanımıyla, başta insan sağlığı olmak üzere herhangi bir yan etki göstermeyen ürünlerin kullanım avantajından da yararlanılmış olacaktır.

Sonuç olarak; daha önce kitosan konusunda yapılan araştırmalar ve bu çalışmada elde edilen çıktılar, kitosanın su ürünleri işleme endüstrisinin farklı alanlarında kullanılabilecek, güvenli, etkili ve çok yönlü bir biyopolimer olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Alak, G., Arashisar, Ş., Hisar, O., Kaban, G. and Kaya, M., 2010.** Microbiological and chemical properties of bonito fish (*Sarda sarda*) fillets packaged with chitosan film, modified atmosphere and vacuum. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16, 73-80. DOI:10.9775/kvfd.2009.1475.
- Alak, G., 2012.** Effect of chitosan prepared in different solvent on quality parameters of mackerel fillets. Journal of Animal and Veterinary Advances, 11, 2813-2816. DOI: 10.3923/javaa.2012.2813.2816.
- Alpbaz, A., 2009.** Su ürünleri yetiştiriciliği. Alp yayınları, ISBN: 975-97056-1-3, 549 s., 310-320.
- Alvarado, C. and McKee, S., 2007.** Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. Journal of Applied Poultry Research, 16, 113-120. DOI: 10.1093/japr/16.1.113.
- Amagliani, G., Brandi, G. and Schiavano, G.F., 2012.** Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. Food Research International, 45, 780-788. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.06.022.
- Amerine, M.A., Pongborn, R.H. and Roesler, E.B., 1965.** Principles of sensory evaluation of food. Academic Press, ISBN: 978-1-4832-0018-7, 612 s., 398-436.
- Angiş, S., Oğuzhan, P. ve Atamanalp, M., 2006.** Soğuk tütsülenmiş ve mangalda pişirilmiş gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda duyu kalite kriterlerinin karşılaştırılması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23, 337-338.
- Anitha, A., Rani, V.V.D., Krishna, R., Sreeja, V., Selvamurugan, N., Nair, S.V., Tamura, H. and Jayakumar, R., 2009.** Synthesis, characterization, cytotoxicity and antibacterial studies of chitosan, *O*-carboxymethyl and *N*, *O*-carboxymethyl chitosan nanoparticles. Carbohydrate Polymers, 78, 672-677. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.05.028.
- AOAC Official Method 990.12, 1994.** Aerobic plate count in foods. Dry rehydratable film method (Petrifilm™ aerobic count plate), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- AOAC Official Method 998.02, 2002.** Confirmed *Escherichia coli* counts in poultry, meats, and seafood. Dry rehydratable film method (Petrifilm™ *E. coli*/coliform count plate), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Ashie, N.A., Smith J.P. and Simpson, B.K., 1996.** Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 36, 121-127. DOI: 10.1080/10408399609527720.

- Asik, E. and Candogan, K., 2014.** Effects of chitosan coatings incorporated with garlic oil on quality characteristics of shrimp. *Journal of Food Quality*, 37, 237-246. DOI: 10.1111/jfq.12088.
- Baker-Austin, C., Oliver, J.D., Alam, M., Ali, A., Waldor, M.K., Qadri, F. and Martinez-Urtaza, J., 2018.** *Vibrio* spp. infections. *Nature Reviews Disease Primers* volume, 4, 1-19. DOI: 10.1038/s41572-018-0005-8.
- Bao, H.N.D., Arason, S. and Thorarinsdottir, K.A., 2007.** Effects of dry ice and superchilling on quality and shelf life of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) fillets. *International Journal of Food Engineering*, 3, 1-27. DOI: 10.2202/1556-3758.1093.
- Benabbou, R., Zihler, A., Desbiens, M., Kheadr, E., Subirade, M. and Fliss, I., 2009.** Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a combination of chitosan and divergicin M35. *Canadian Journal of Microbiology*, 55, 347–355. DOI: 10.1139/w08-154.
- Bera, D., Lahiri, D. and Nag, A., 2006.** Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of Food Engineering*, 74, 542-545. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.03.042.
- Bilgin, Ş., 2003.** Farklı İşleme Yöntemlerine Göre Dağ Alabalığı (*Salmo trutta macrostigma*, DUMERIL 1858)'nın Kimyasal Yapısındaki Değişimler. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye, 130 s., 22.
- Bonilla, F., Chouljenko, A., Reyes, V., Bechtel, P.J., King, J.M. and Sathivel, S., 2018.** Impact of chitosan application technique on refrigerated catfish fillet quality. *LWT-Food Science and Technology*, 90, 277–282. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.12.010.
- Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T. and Takai, R., 2007.** Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 80, 292-299. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.04.059.
- Bourne, M.C., 1978.** Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62-66.
- Bourtoom, T., 2008.** Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15, 237-248.
- Cai, L., Wu, X., Li, X., Zhong, K., Li, Y. and Li, J., 2014.** Effects of different freezing treatments on physicochemical responses and microbial characteristics of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 59, 122–129. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.04.062.
- Campanone, L., Salvadori, V. and Mascheroni, R., 2001.** Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. *Journal of Food Engineering*, 47, 69-79. DOI: 10.1016/S0260-8774(00)00101-1.

- Can, Ö.P. ve Patır, B., 2012.** Kitosan kaplamanın gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) filetolarının raf ömrü üzerine etkisi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 42, 148-154. DOI:10.5222/TMCD.2012.148.
- Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S. and Khomeiri, M., 2012.** An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. International Journal of Biological Macromolecules, 50, 540-544. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.01.016.
- Chatakondi, N.G., Yant, R.D. and Dunham, R.A., 2016.** Effect of paternal blue catfish strain effects on hatchery fry production and performance of channel catfish × blue catfish f₁ hybrid fry production and fingerling performance under commercial conditions. North American Journal of Aquaculture, 78, 301-306. DOI: 0.1080/15222055.2016.1185065.
- Chhabra, P., 2004.** Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan. Master of Science Thesis. The University of Georgia, Graduate Faculty of The University of Georgia, Athens, Georgia, 71 s., 63.
- Chomnawang, C., Nantachai, K., Yongsawatdigul, J., Thawornchinsombut, S. and Tungkawachara, S., 2007.** Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4 °C and its gel properties. Food Chemistry, 103, 420-427. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.039.
- Choubert, G., Blanc, J.M. and Courvalin, C., 1992.** Muscle carotenoid content and color of farmed rainbow trout fed astaxanthin and canthaxanthin as affected by cooking and smoke-curing procedures. International Journal of Food Science and Technology, 27, 277–284. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1992.tb02029.x.
- Chouljenko, A., Chotiko, A., Bonilla, F., Moncada, M., Reyes, V. and Sathivel, S., 2017.** Effects of vacuum tumbling with chitosan nanoparticles on the quality characteristics of cryogenically frozen shrimp. LWT-Food Science and Technology, 75, 114-123. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.08.029.
- Chung, Y.C., Su, Y.P., Chen, C.C., Jia, G., Wang, H.L., Wu, J.C. and Lin, J.G., 2004.** Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. Acta Pharmacologica Sinica, 25, 932-936.
- Ciccio, P.D., Meloni, D., Festino, A.R., Conter, M., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., Mazzette, R. and Ianieri, A., 2012.** Longitudinal study on the sources of *Listeria monocytogenes* contamination in cold-smoked salmon and its processing environment in Italy. International Journal Food Microbiology, 158, 79-84. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.016.
- Coia, J.E., 1998.** Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157: H7 infections. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 20, 1-9. DOI: 10.1111/j.1574-695X.1998.tb01105.x.

- Connell, J.J., 1990.** Methods of Assessing and Selecting for Quality. Control of Fish Quality. Fishing News Books, University Press, 3. Baskı, ISBN: 0-8523-8169-7, 240 s., 122-150.
- Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M. and Finlay, B.B., 2013.** Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews, 26, 822-880. DOI: 10.1128/CMR.00022-13.
- Cutter, C.N., 2006.** Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. Meat Science, 74, 131–142. DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.04.023.
- Çağlak, E., Karsli, B. and Koral, S., 2015.** Effects of different processing techniques on the carpet shell (*Ruditapes decussatus* Linnaeus, 1758). Archiv für Lebensmittelhygiene, 66, 141-148. DOI: 10.2376/0003-925X-66-141.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A. and Voilley, A., 1998.** Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. Critical Reviews in Food Science, 38, 299-313. DOI: 10.1080/10408699891274219.
- Dehghani, S., Hosseini, S.V. and Regenstein, J.M., 2018.** Edible films and coatings in seafood preservation: A review. Food Chemistry, 240, 505-513. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.034.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J., 2004.** Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology, 21, 703-714. DOI: 10.1016/j.fm.2004.02.008.
- Dey, S.S. and Dora, K.C., 2011.** Suitability of chitosan as cryoprotectant on croaker fish (*Johnius gangeticus*) surimi during frozen storage. Journal of Food Science and Technology, 48, 699-705. DOI: 10.1007/s13197-010-0197-8.
- Duan, J., Cherian, G. and Zhao, Y., 2010.** Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chemistry, 119, 524–532. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.06.055.
- Duran, M., 2013.** Doğal Antimikrobiyal Katkılı Kitosan ile Çileğin Raf Ömrünün Arttırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, Türkiye, 98 s., 2.
- Dursun, S. and Erkan, N., 2009.** Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. Journal of FisheriesSciences, 3, 352–373. DOI: 10.3153/jfscm.2009040.
- Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K. and Dutta, J., 2009.** Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. Food Chemistry, 114, 1173–1182. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.047.

- Duun, A.S., 2008.** Superchilling of muscle food storage stability and quality aspects of salmon (*Salmo salar*), cod (*Gadus morhua*) and pork. Doctoral thesis, Norwegian University of Science and Technology, Department of Biotechnology, NTNU. Trondheim, Norway, 131 s., 6.
- Einen, O., Guerin, T., Fjaera, S.O. and Skjervold, P.O., 2002.** Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 212, 129-140. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00874-2.
- Erickson, M. and Hung, Y.C., 1997.** *Quality in Frozen Food*. Springer Science & Business Media, 1. Baskı, ISBN: 978-1-4615-5975-7, 484 s., 141-154.
- Ersoy, B. and Ozeren, A., 2009.** The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chemistry*, 115, 419-422. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.12.018.
- Ertaş, H., 1978.** Balıkların soğutma, dondurma ve salamura ile muhafazası. *Gıda Dergisi*, 6, 237-246.
- Ertaş, A.H., 1981.** Balık mikroflorası ve kutu konserve balıklarda bozulmaya neden olan bakteriler. *Gıda*, 6, 7-9.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jimenez, A., Munoz, J.A. and Ibarz, A., 2011.** Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 292-303. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.02.004.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009.** Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115, 66-70. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.060.
- Fang, L., Wolmarans, B., Kang, M., Jeong, K.C. and Wright, A.C., 2015.** Application of chitosan microparticles for reduction of vibrio species in seawater and live oysters (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 640–647. DOI: 10.1128/AEM.02856-14.
- FAO, 1979.** *Manuals of Food Quality Control. 4. Microbiological Analysis*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Washington, USA, 338 s.
- FAO, 2017.** *Fishery and Aquaculture Statistics. 2015/FAO annuaria*. Rome, Italy, 81 s.
- Farajzadeh, F., Motamedzadegan, A., Shahidi, S.A. and Hamzeh, S., 2016.** The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under refrigerated condition. *Food Control*, 67, 163-170. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.02.040.
- Farmer, J.J., Janda, J.M., Brenner, F.W., Cameron, D.N. and Birkhead, K.M., 2005.** *The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer US, 2. Baskı, ISBN: 978-0-387-24144-9, 1106 s., Brenner, D.J., Krieg, N.R. and Staley, J.T. (B. Ed.), 494-546.

- FDA, 2003.** Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Food and Drug Administration. Food Safety and Inspection Service U.S. Department of Agriculture, USA, 541 s.
- Feldhusen, F., 2000.** The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection*, 2, 1651-1660. DOI: 10.1016/S1286-4579(00)01321-6.
- Fellows, P.J., 2009.** Food Processing Technology. Principles and Practice: Elsevier, 4. Baskı, ISBN: 978-0-08-101907-8, 1129 s., 929-945.
- Feng, X., Bansal, N. and Yang, H., 2016.** Fish gelatin combined with chitosan coating inhibits myofibril degradation of golden pomfret (*Trachinotus blochii*) fillet during cold storage. *Food Chemistry*, 200, 283-292. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.030.
- Fernandes, S.C.M., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Gandini, A., Berglund, L.A. and Salmén, L., 2010.** Transparent chitosan films reinforced with a high content of nanofibrillated cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 81, 394-401. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.02.037.
- Fernandez-Saiz, P., Lagaron, J.M. and Ocio, M.J., 2009.** Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. *Food Hydrocolloids*, 23, 913-921. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.06.001.
- Fernandez-Saiz, P., Soler, C., Lagaron, J.M. and Ocio, M.J., 2010.** Effects of chitosan films on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. in laboratory media and in fish soup. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 287-294. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.016.
- Fernandez-Saiz, P., Sanchez, G., Soler, C., Lagaron, J. M. and Ocio, M.J. 2013.** Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillet. *Food Control*, 34, 61-68. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.03.047.
- Gal-Mor, O., Boyle, E.C. and Grassl, G.A., 2014.** Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Frontiers in Microbiology*, 5, 391-400. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00391.
- Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A., 2002.** Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1154-1159. DOI: 10.1002/jsfa.1136.
- Gines, R., Afonso, J.M., Arguello, A., Zamorano, M.J. and Lopez, J.L., 2004.** The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 35, 1207-1212. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2004.01126.x.

- Goncalves, A.A. and Ribeiro, J.L.D., 2008.** Optimization of the freezing process of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) previously treated with phosphates. International Journal of Refrigeration, 31, 1134-1144. DOI: 10.1016/j.ijrefrig.2008.03.005.
- Goncalves, A.A. and Junior, C.S.G.G., 2009.** The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. Journal of Food Engineering, 90, 285-290. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2008.06.038.
- Goy, R.C., Britto, D.D. and Assis, O.B.G., 2009.** A review of the antimicrobial activity of chitosan. Polimeros, 19, 241-247. DOI: 10.1590/S0104-14282009000300013.
- Gökoğlu, N., 2002.** Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Su Vakfı Yayınları, 1. Baskı, ISBN: 975-9703-48-3, 157 s., 1-150.
- Gökoğlu, N. ve Yerlikaya, P., 2015.** Seafood Chilling, Refrigeration and Freezing. Freezing and Frozen Storage of Fish. First edition, Wiley Blackwell, ISBN: 978-1-118-51218-0, 233 s., 191-193.
- Gram, L. and Huss, H.H., 1996.** Microbial spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology, 33, 121-137. DOI: 10.1016/0168-1605(96)01134-8.
- Gram, L. and Huss, H.H., 2000.** Fresh and Processed Fish and Shellfish. The Microbiological Safety and Quality of Food. Aspen Publisher, 1. Baskı, ISBN: 0-8342-1323-4, 2024 s., Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. and Gould, G.W. (Ç. Ed.), 472-506.
- Guohua, H., Wei, L., Hailin, F., Jian, L. and Yuanyuan, G., 2016.** Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Food Chemistry, 203, 276-282. DOI: 0.1016/j.foodchem.2016.01.122.
- Gülyavuz, H. ve Ünlüsayın, M., 1999.** Su ürünleri işleme teknolojisi. Şahin Matbaa, Ankara, 366 s.
- Halkman, A.K., Noveir, M.R. ve Doğan, H.B., 2001.** *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 43 s., 5-8.
- Halkman, A.K., 2005.** Merck gıda mikrobiyoloji uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., 1. Baskı, ISBN: 975-00373-0-8, 358 s., 187-192.
- Hammond, M.D., 2004.** The Use of Chitosan to Preserve and Extend Atlantic Salmon Quality. Master of Science Thesis. University of Maine, Department of Food Science and Human Nutrition, Orono, Unites States, 132 s., 45-60.
- Harris, L.G., Foster, S.J. and Richards, R.G., 2002.** An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. European Cells and Materials, 4, 39-60. DOI: 10.22203/eCM.v004a04.

- Halander, I.M., Nurmiäho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. and Roller, S., 2001.** Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 235-244. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00609-2.
- Hsin-Yi, C. and Chou, C.C., 2001.** Acid adaptation and temperature effect on the survival of *Escherichia coli* O157: H7 in acidic fruit juice and lactic fermented milk product. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 189-195. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00538-4.
- Hui, Y.H., Legarretta, I.G., Lim, M.H., Murrell, K.D. and Nip, W.K., 2004.** *Handbook of Frozen Foods*. CRC Press, 133. Baskı, ISBN: 978-0824747-12-1, 1293 s., 25-55.
- ICMSF, 1986.** International commission on microbiological specifications for foods. Sampling plans for fish and shellfish. *Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications*, 2. Baskı, Blackwell Scientific Publications, 278 s., 181-196.
- Iwamoto, M., Ayers, T., Mahon, B.E. and Swerdlow, D.L., 2010.** Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 399-411. DOI: 10.1128/CMR.00059-09.
- İnal, T., 1992.** *Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü*. Final Ofset. Genişletilmiş 2. Baskı, İstanbul, 783 s.
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F., 2002.** Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5167-5178. DOI: 10.1021/jf011693l.
- Jiang, Z., Neetoo, H. and Chen, H., 2011.** Control of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon using chitosan-based antimicrobial coatings and films. *Journal of Food Science*, 76, 22-26. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01925.x.
- Jiang, L., Wang, F., Han, F., Prinyawiwatkul, W., No, H.K. and Ge, B., 2013.** Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives. *Journal of Applied Microbiology*, 114, 956-963. DOI: 10.1111/jam.12111.
- Jing, Y.J., Hao, Y.J., Qu, H., Shan, Y., Li, D.S. and Du, R.Q., 2007.** Studies on the antibacterial activities and mechanisms of chitosan obtained from cuticles of housefly larvae. *Acta Biologica Hungarica*, 58, 75-86. DOI: 10.1556/ABiol.57.2007.1.7.
- Juneja, V.K., Thippareddi, H., Bari, L., Inatsu, Y., Kawamoto, S. and Friedman, M., 2006.** Chitosan protects cooked ground beef and turkey against *Clostridium perfringens* spores during chilling. *Journal of Food Science*, 71, 236-240. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2006.00109.x.

- Jung, E.J., Youn, D.K., Lee, S.H., No, H.K., Ha, J.G. and Prinyawiwatkul, W., 2010.** Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 676-682. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02186.x.
- Kaale, L.D., Eikevik, T.M., Rustad, T. and Nordtvedt, T.S., 2014.** Changes in water holding capacity and drip loss of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle during superchilled storage. *LWT-Food Science and Technology*, 55, 528-535. DOI: 10.1016/j.lwt.2013.10.021.
- Karsli, B., Caglak, E., Li, D., Rubio, N.K., Janes, M. and Prinyawiwatkul, W., 2018.** Inhibition of selected pathogens inoculated on the surface of catfish fillets by high molecular weight chitosan coating. *International Journal of Food Science & Technology*, 54, 25-33. DOI: 10.1111/ijfs.13897.
- Kester, J.J. and Fennema, O.R., 1986.** Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40, 47-59.
- Kin, S., Schilling, M.W., Smith, B.S., Silva, J.L., Kim, T., Pham, A.J. and Campano, S.G., 2011.** Potassium acetate and potassium lactate enhance the microbiological and physical properties of marinated catfish fillets. *Journal of Food Science*, 76, 242-250. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02122.x.
- Kloos, W.E. and Bannerman, T.L., 1994.** Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 7, 117-140. DOI: 10.1128/CMR.7.1.117.
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K. and Park, H.J., 2010.** Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 51-63. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012.
- Koral, S., 2012.** Türkiye’de Geleneksel Yöntemlerle İşlenmiş Balık Ürünlerinde Biyojenik Amin Miktarlarının Tespiti ve Oluşumuna Neden Olan Faktörlerin İncelenmesi. Doktora Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 205 s., 1.
- Köse, S., 2010.** Evaluation of seafood safety health hazards for traditional fish products: preventive measures and monitoring issues. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10, 139-160. DOI: 10.4194/trjfas.2010.0120.
- Krochta, J.M., 2002.** Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. *Protein-Based Films and Coatings*. CRC Press, 1. Baskı, ISBN 978-1-4200-3198-0, 672 s., Gennadios, A. (B. Ed), 1-25.
- Kundakçı, A. ve Ergönül, B., 2009.** Su ürünlerinde soğuk zincir etkinliğinin önemi ve ürün kalitesi ile olan ilişkisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 1, 21-28.

- Kuzgun, N.K., 2014.** Farklı Esansiyel Yağlar ve Kitosan ile Hazırlanan Filmlerle Ambalajlanmış *Luciobarbus esocinus* Filetolarının $2\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de Raf Ömrünün Araştırılması. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye, 130 s., 95.
- Küçükçetin, A. ve Milci, S., 2008.** *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri. Gıda, 33, 129-135.
- Küçükgülmez, A., Yanar, Y., Gerçek, G., Gülnaz, O. and Celik, M., 2013.** Effects of chitosan on color, sensory and microbiological properties of European eel (*Anguilla anguilla*) fillets during refrigerated storage. Journal of Food Processing and Preservation, 37, 766-771. DOI: 10.1111/j.1745-4549.2012.00701.x.
- Kyranas, W.R., Laugovois, V.P. and Valsamis, D.S., 1997.** Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. International Journal of Food Science and Technology, 32, 339-347. DOI: 10.1046/j.1365-2621.1997.00408.x.
- Labuza, T., and Contreras-Medellin, R., 1981.** Prediction of moisture protection requirements for foods. Cereal Foods World, 26, 335-343.
- Lakicevic, B., Nastasijevic, I. and Rasetta, M., 2015.** Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in retail establishments. Italian Oral Surgery, 5, 160-163, DOI: 10.1016/j.profoo. 2015.09.046.
- Lee, B.C., Kim, M.S., Choi, S.H., Kim, K.Y. and Kim, T.S., 2009.** In vitro and in vivo antimicrobial activity of water-soluble chitosan oligosaccharides against *Vibrio vulnificus*. International Journal of Molecular Medicine, 24, 327-333. DOI: 10.3892/ijmm_00000236.
- Leenanon, B. and Drake, M.A., 2001.** Acid stress, starvation and cold stress affect post stress behavior of *Escherichia coli* O157: H7 and non-pathogenic *Escherichia coli*. Journal of Food Protection, 64, 970-974. DOI: 10.4315/0362-028X-64.7.970.
- Lemon, D.W., 1975.** An improved TBA test for rancidity. New Series Circular No. 51 Halifax, NS: Environment Canada. Fisheries and Marine Service.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W. and Goosen, M.F.A., 1992.** Applications and properties of chitosan. Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 7, 370-397. DOI: 10.1177/088391159200700406.
- Li, M.H., Robinson, E.H., Oberle, D.F. and Zimba, P.V., 2007.** Effects of various dietary carotenoid pigments on fillet appearance and pigment absorption in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of the World Aquaculture Society, 38, 557-563. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2007.00130.x.
- Li, X.F., Feng, X.Q., Yang, S., Fu, G.Q., Wang, T.P. and Su, Z.X., 2010.** Chitosan kills *Escherichia coli* through damage to be of cell membrane mechanism. Carbohydrate Polymers, 79, 493-499. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.07.011.

- Li, C.H., Bland, J.M. and Bechtel, P.J., 2017a.** Effect of precooking and polyphosphate treatment on the quality of catfish fillets cooked in pouch in boiling water. *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 1844-1851. DOI: 10.1111/ijfs.13459.
- Li, D., Jia, S., Zhang, L., Wang, Z., Pan, J., Zhu, B. and Luo, Y., 2017b.** Effect of using a high voltage electrostatic field on microbial communities, degradation of adenosine triphosphate, and water loss when thawing lightly-salted, frozen common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Food Engineering*, 212, 226-233. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.06.003.
- Liu, N., Chen, X.G., Park, H.J., Liu, C.G., Liu, C.S., Meng, X.H. and Yu, L.J., 2006.** Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. *Carbohydrate Polymers*, 64, 60-65. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.10.028.
- Londahl, G., 1997.** Technological aspects of freezing and glazing shrimp. *Infofish International*, 3, 49-56.
- Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M. and Montero, P., 2005.** A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19, 303-311. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2004.06.006.
- Luksiene, Z. and Paskeviciute, E., 2011.** Microbial control of food-related surfaces: N-chlorophyllin-based photosensitization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 105, 69-74. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2011.06.011.
- Luo, L., Zhang, Z., Wang, H., Wang, P., Lan, R., Deng, J., Miao, Y., Wang, Y., Wang, Y, Xu, J., Zhang, L., Sun, S., Liu, X., Zhou, Y., Chen, X., Li, Q. and Ye, C., 2017.** A 12-month longitudinal study of *Listeria monocytogenes* contamination and persistence in pork retail markets in China. *Food Control*, 76, 66-73, DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.12.037.
- Ma, G., Yang, D., Zhou, Y., Xiao, M., Kennedy, J.F. and Nie, J., 2008.** Preparation and characterization of water-soluble N-alkylated chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 74, 121-126. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.01.028.
- Mantilla, D., Kristinsson, H.G., Balaban, M.O., Otwell, W.S., Chapman, F.A. and Raghavan, S., 2008.** Color stability of frozen whole tilapia exposed to pre-mortem treatment with carbon monoxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1394-1399. DOI: 10.1002/jsfa.3230.
- Marsh, K. and Bugusu, B., 2017.** Food packaging-roles, materials, and environmental issues. *Journal of Food Science*, 72, 39-55. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x.
- Marshall, D.L. and Kim, C.R., 1996.** Microbiological and sensory analyses of refrigerated catfish fillets treated with acetic and lactic acids. *Journal of Food Quality*, 19, 317-329. DOI: 10.1111/j.1745-4557.1996.tb00426.x.

- McHugh, T.H., 2000.** Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*, 44, 148-151. DOI: 10.1002/1521-3803.
- Mohamed, C., Clementine, K.A., Didier, M., Gérard, L. and Noëlle, D.C.M., 2013.** Antimicrobial and physical properties of edible chitosan films enhanced by lactoperoxidase system. *Food Hydrocolloids*, 30, 576-580. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.07.018.
- Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V. and Gopal, T.K.S., 2012.** Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 26, 167-174. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.05.005.
- Mutluer, B., Erol, İ., Kaymaz, Ş. ve Akgün, S., 1993.** Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* suşlarının beyaz peynirde üretim ve olgunlaşma sırasındaki üreme ve enterotoksin oluşturma yetenekleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 40, 413-426.
- Nakashima, T., Matsuo, M., Bin, Y., Nakano, Y., Kobayashi, T., Komemushi, S. and Sakagami Y., 2006.** Mechanical properties and antibacterial efficacy of chitosan films. *Biocontrol Science*, 11, 27-36. DOI: 10.4265/bio.11.27.
- Nilsen-Nygaard, J., Strand, S.P., Varum, K.M., Draget, K.I. and Nordgard, C.T., 2015.** Chitosan: gels and interfacial properties. *Polymers*, 7, 552-579. DOI: 10.3390/polym7030552.
- No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H. and Meyers, S.P., 2002.** Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 65-72. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00717-6.
- No, H.K., Prinyawiwatkul, W. and Meyers, S.P., 2005.** Comparison of shelf life of eggs coated with chitosans prepared under various deproteinization and demineralization times. *Journal of Food Science*, 70, 377-382. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb11459.x.
- No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z., 2007.** Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of Food Science*, 72, 87-100. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x.
- Norhana, M.N., Poole, S.E., Deeth, H.C. and Dykes, G.A., 2010.** Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. *Food Control*, 21, 343-361. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.06.020.
- Nowzari, F., Shábanpour, B. and Ojagh, S.M., 2013.** Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141, 1667-1672. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.03.022.

- Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I.M., Henehan, G., Nielsen, J. and Nilsen, H., 1997.** Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 258-265. DOI: 10.1016/S0924-2244(97)01049-2.
- Olsson, G.B., Ofstad, R., Lodemel, J.B. and Olsen, R.L., 2003.** Changes in water holding capacity of halibut muscle during cold storage. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 771-778. DOI: 10.1016/S0023-6438(03)00098-7.
- Özyurt, G., Özkütük, A.S., Uçar, Y., Durmus, M. and Özoğul, Y., 2018.** Fatty acid composition and oxidative stability of oils recovered from acid silage and bacterial fermentation of fish (Sea bass–*Dicentrarchus labrax*) by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 1255-1261. DOI: 10.1111/ijfs.13705.
- Pala, M. ve Saygi, Y.B., 1993.** Türkiye'de Soğuk Zincir Uygulamaları ve Geliştirilmesi. İstanbul Ticaret Odası Yayınları, No: 6, 122 s., 3-10.
- Paomephan, P., Assavanig, A., Chaturongakul, S., Cady, N.C., Bergkvist, M. and Niamsiri, N., 2018.** Insight into the antibacterial property of chitosan nanoparticles against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* and their application as vegetable wash disinfectant. *Food Control*, 86, 294-301. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.09.021.
- Papineau, A.M., Hoover, D.G., Dnorr, D. and Farkas, D.F., 1991.** Antimicrobial effect of water-soluble chitosans with high hydro-static pressure. *Food Biotechnology*, 5, 45–57. DOI: 10.1080/08905439109549790.
- Patr, B. and Duman, M., 2006.** Determination of physicochemical and microbiological changes in smoked mirror carp (*Cyprinus carpio* L.) fillets during storage. *Science and Engineering Journal of Fırat University*, 18, 189-195.
- Pinto, R.J.B., Fernandes, S.C.M., Freire, C.S.R., Sadocco, P., Causio, J., Neto, C.P. and Trindade, T., 2012.** Antibacterial activity of optically transparent nanocomposite films based on chitosan or its derivatives and silver nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 348, 77-83. DOI: 10.1016/j.carres.2011.11.009.
- Pirak, T., Jangchud, A. and Jantawat, P., 2012.** Characterisation of physical, chemical and antimicrobial properties of allicin–chitosan complexes. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1339-1347. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.02978.x.
- Qin, C., Li, H., Xiao, Q., Liu, Y., Zhu, J. and Du, Y., 2006.** Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 63, 367-374. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.09.023.
- Qiu, X., Chen, S., Liu, G. and Yang, Q., 2014.** Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. *Food Chemistry*, 162, 156–160. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.04.037.

- Ramezani, Z., Zarei, M. and Raminnejad, N., 2015.** Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control*, 51, 43–48. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.11.015.
- Raafat, D. and Sahl, H.G., 2009.** Chitosan and its antimicrobial potentials -a critical literature survey. *Microbial Biotechnology*, 2, 186-201. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x.
- Raafat, D., Leib, N., Wilmes, M., Francois, P., Schrenzel, J. and Sahl, H.G., 2017.** Development of in vitro resistance to chitosan is related to changes in cell envelope structure of *Staphylococcus aureus*. *Carbohydrate Polymers*, 157, 146–155. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.075.
- Rahman, M.S., 2007.** Handbook of Food Preservation. CRC press, 2. Baskı, ISBN: 1-57444-606-1, 1068 s, Kadim, I.S. and Mahgoub, O. (B. Ed.), 173-191.
- Rodrigues, C.S., Sa, C.V.G.C. and Melo, C.B., 2017.** An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. *Ciencia Rural*. 47, 1–8, DOI: 10.1590/0103-8478cr20160721.
- Rodríguez-Núñez, J.R., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D.I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chavez, P. and Cortez-Rocha, M.O., 2012.** Antimicrobial activity of chitosan-based films against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 2127-2133. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.03079.x.
- Rubio, N.K., Quintero, R., Fuentes, J., Brandao, J., Janes, M. and Prinyawiwatkul, W., 2018.** Antimicrobial activities of high molecular weight water-soluble chitosans against selected gram-negative and gram-positive foodborne pathogens. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 2349-2356. DOI: 10.1111/ijfs.13827.
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J.A. and Fernández-López, J., 2013.** In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30, 386–392. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.07.052.
- Runfeng, W. and Li, Z., 2011.** Effect of chitosan on fresh-keeping refrigerated fillets of fresh *Ctenopharyngodon idellus*. *International Conference on New Technology of Agricultural*, China, 27-29 May, 1061-1064.
- Sallam, K.I., 2007.** Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566-575. DOI: 10.1016/j.foodcont.2006.02.002.
- Sathivel, S., 2005.** Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Science*, 70, 455-459. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb11514.x.

- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J. and Prinyawiwatkul, W., 2007.** The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83, 366-373. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.03.009.
- Sayas-Barberá, E., Quesada, J., Sánchez-Zapata, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, F., Pérez-Alvarez, J.A. and Sendra, E., 2011.** Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Science*, 88, 740-749. DOI: 10.1016/j.meatsci.2011.03.007.
- Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L. and Griffin, P.M., 2011.** Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 7-15. DOI: 10.3201/eid1701.P11101.
- Seo, S.W., 2006.** Depolymerization and Decolorization of Chitosan by Ozone Treatment. Master of Thesis. Louisiana State University, School of Nutrition and Food Sciences, Baton Rouge, USA, 77 s., 1-6.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and Jeon, Y.J., 1999.** Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 37-51. DOI: 10.1016/S0924-2244(99)00017-5.
- Shahidi, F. and Abuzaytoun, R. 2005.** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 49, 93-135. DOI: 10.1016/S1043-4526(05)49003-8.
- Shenouda, S.Y., 1980.** Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in food research*, 26, 275-311. DOI: 10.1016/S0065-2628(08)60320-1.
- Shockman, G.D. and Barrett, J.F., 1983.** Structure, function, and assembly of cell walls of gram-positive bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 37, 501-527. DOI: 10.1146/annurev.mi.37.100183.002441.
- Sikorski, Z.E., 1990.** *Seafood: Resources, Nutritional composition and preservation.* CRC Press, 1. Baskı, ISBN: 0-8493-5985-9, 256 s., 55-75.
- Simeonidou, S., Govaris, A. and Vareltzis, K., 1998.** Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Research International*, 30, 479-484. DOI: 10.1016/S0963-9969(98)00008-8.
- Siriphap, A., Leekitcharoenphon, P., Kaas, R.S., Theethakaew, C., Aarestrup, F.M., Suthieinkul, O. and Hendriksen, R.S., 2017.** Characterization and genetic variation of *Vibrio cholerae* isolated from clinical and environmental sources in Thailand. *Plos One*, 12, 1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0169324.

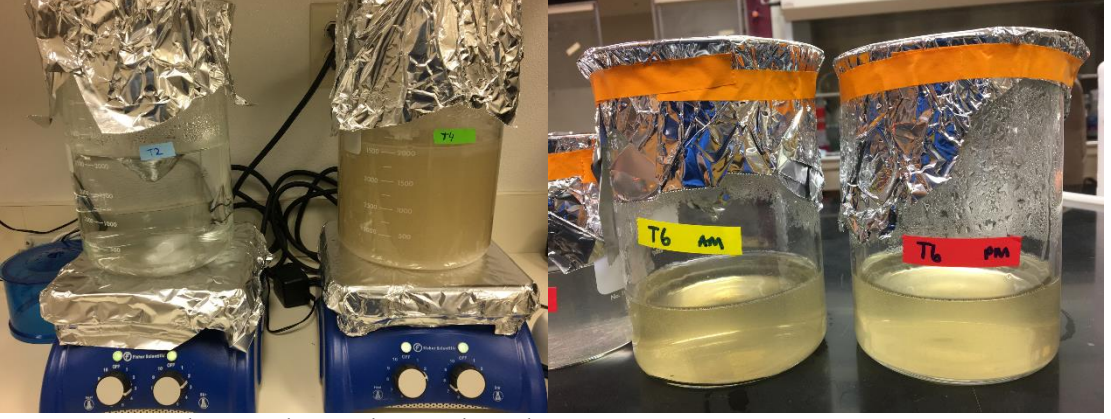
- Soares, N., Oliveira, M.S.G. and Vicente, A.A., 2015.** Effects of glazing and chitosan-based coating application on frozen salmon preservation during six-month storage in industrial freezing chambers. *LWT-Food Science and Technology*, 61, 524-531. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.12.009.
- Soares, N., Silva, P., Barbosa, C., Pinheiro, R. and Vicente, A.A., 2017.** Comparing the effects of glazing and chitosan-based coating applied on frozen salmon on its organoleptic and physicochemical characteristics over six-months storage. *Journal of Food Engineering*, 194, 79-86. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2016.07.021.
- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J., 1987.** *Introduction to Biostatistics*, 2nd ed., W.H. Freeman and Company, New York, USA, 363 s.
- Solval, K.M., Rodezno, L.A.E., Moncada, M., Bankston, J. D. and Sathivel, S., 2014.** Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. *LWT-Food Science and Technology*, 57, 172-180. DOI: 10.1016/j.lwt.2013.12.033.
- Souza, B.W.S., Cerqueria, M.A., Ruiz, H.A., Martins, J.T., Casariego, A., Teixeira, J.A. and Vicente, A.A., 2010.** Effect of chitosan-based coatings on the shelf life of salmon (*Salmo salar*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 11456-11462. DOI: 10.1021/jf102366k.
- Soyer, A., 1995.** Dondurulmuş Kolyoz Balıklarında Lipit Oksidasyonu Üzerine Bazı Antioksidanların ve Vakum Paketlemenin Etkisi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 91 s., 57.
- Stammen, K., Gerdes, D., Caporosa, F. and Martin, R.E., 1990.** Modified atmosphere packaging of seafood. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29, 301-331. DOI: 10.1080/10408399009527530.
- Sudarshan, N.R., Hoover, D.G. and Knorr, D., 1992.** Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*, 6, 257-272. DOI: 10.1080/08905439209549838.
- Suvanich, V., Marshall, D.L. and Jahncke, M.L., 2000.** Microbiological and color quality changes of channel catfish frame mince during chilled and frozen storage. *Journal of Food Science*, 65, 151-154. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15971.x.
- Sümbüloğlu, K. ve Sümbüloğlu, V., 2000.** Biyoistatistik. Habiboğlu yayınları, yayın no: 53, 10. Baskı, ISBN: 975-7527-12-2, 269 s., Karataş, M. (Ed.), 211-214.
- Synowiecki, J., Al-khatteb, A. and Nadia, A. 2003.** Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 145-171. DOI: 10.1080/10408690390826473.
- Şengör, G., Çelik, U. ve Akkuş, S., 2000.** Buzdolabı koşullarında depolanan istavrit balığı (*Trachurus trachurus*, L. 1758)'nın tazeliğinin ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 187-193.

- Tharanathan, R.N. and Kittur, F.S., 2003.** Chitin–the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 61–87. DOI: 10.1080/10408690390826455.
- Theed, S.T., Erickson, M.C. and Shewfelt, R.L., 1993.** Ascorbate absorption by live channel catfish as a function of concentration, pH, and duration of exposure. *Journal of Food Science*, 58, 75-78. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb03215.x.
- Thompson, F.L., Auistin, B. and Swings, J., 2006.** *The Biology of Vibrios*. ASM Press, 7. Baskı, ISBN: 978-1-555-81365-9, 423 s., 383-385.
- Todd, E.C.D. and Notermans, S., 2011.** Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 22, 1484-1490. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.07.021.
- Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C. and Pan, C.L., 2002.** Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68, 170-177.
- TUİK, 2014.** Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistikleri. Ankara, Türkiye, 62 s.
- Turan, M., 2011.** Dondurularak Depolanan Fileto Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Kalitesine Kitosan ile Glazelemenin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 111 s., 12-79.
- Uljas, H.E. and Ingham, S.C., 1999.** Combination of intervention treatments resulting in 5-log₁₀-unit reductions in numbers of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 organisms in apple cider. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1924-1929.
- URL-1, 2018.** https://en.wikipedia.org/wiki/Channel_catfish (30.10.2018).
- URL-2, 2018.** https://www.in.gov/dnr/fishwild/files/fw-channel_catfish.pdf (30.10.2018).
- URL-3, 2018.** <https://fw.ky.gov/Fish/Pages/Channel-Catfish.aspx> (01.02.2019).
- URL-4, 2018.** <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/yonlendir.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EFB8315D7176B53606> (29 Ekim 2018).
- URL-5, 2018.** [http://docs.neu.edu.tr/staff/serdar.susever/20Vibrio%20\[Uyumluluk%20Modu\]_86.pdf](http://docs.neu.edu.tr/staff/serdar.susever/20Vibrio%20[Uyumluluk%20Modu]_86.pdf) (29 Ekim 2018).
- Vanhaecke, L., Verbeke, W. and De Brabander, H.F., 2010.** Glazing of frozen fish: analytical and economic challenges. *Analytica Chimica Acta*, 672, 40-44. DOI: 10.1016/j.aca.2010.03.045.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N. ve Gün, H., 1993.** Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 17, İstanbul, 174 s.

- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S. ve Baygar, T., 2004.** Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Yayın No: 7, ISBN: 975-404-715-4, 491 s., 50-127.
- Vatavali, K., Karakosta, L., Nathanailides, C., Georgantelis, D. and Kontominas, M.G., 2013.** Combined effect of chitosan and oregano essential oil dip on the microbiological, chemical, and sensory attributes of red porgy (*Pagrus pagrus*) stored in ice. *Food Bioprocess Technology*, 6, 3510–3521. DOI: 10.1007/s11947-012-1034-z.
- Waimaleongora-Ek, P., Corredor, A.J.H., No, H.K., Prinyawiwatkul, W., King, J.M., Janes, M.E. and Sathivel, S., 2008.** Selected quality characteristics of fresh-cut sweet potatoes coated with chitosan during 17-day refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 73, 418-423. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00921.x.
- Wang, G.H., 1992.** Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *Journal of Food Protection*, 55, 916-919. DOI: 10.4315/0362-028X-55.11.916.
- Wang, T., Li, Z., Mi, N., Yuan, F., Zou, L., Lin, H. and Pavase, T., 2017.** Effects of brown algal phlorotannins and ascorbic acid on the physicochemical properties of minced fish (*Pagrosomus major*) during freeze–thaw cycles. *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 706–713. DOI: 10.1111/ijfs.13325.
- Singh, P., Wani, A.A. and Langowski, H.C., 2017.** *Food Packaging Materials: Testing & Quality Assurance*. CRC Press, 1. Baskı, ISBN: 9-781-4665-5994-3, 344 s., Wani, A.A., Singh, P. and Langowski, H.C., (B. Ed.), 9-10.
- Weist, J.L. and Karel, M., 1992.** Development of a fluorescence sensor to monitor lipid oxidation. 1. Fluorescence spectra of chitosan powder and polyamide powder after exposure to volatile lipid oxidation products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 40, 1158–1162. DOI: 10.1021/jf00019a014.
- Weller, D., Andrus, A., Wiedmann, M. and den Bakker, H.C., 2015.** *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 286-292. DOI: 10.1099/ijms.0.070839-0.
- Wu, S., 2014.** Effect of chitosan-based edible coating on preservation of white shrimp during partially frozen storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 325-328. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.01.056.
- Xia, X., Kong, B., Liu, J., Diao, X. and Liu, Q., 2012.** Influence of different thawing methods on physicochemical changes and protein oxidation of porcine longissimus muscle. *LWT–Food Science and Technology*, 46, 280–286. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.09.018.

- Xie, Y., Liu, X. and Chen, Q., 2007.** Synthesis and characterization of water-soluble chitosan derivate and its antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, 69, 142-147. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.09.010.
- Xu, G.C., Tang, X., Tang, S., You, H., Shi, H. and Gu, R., 2014.** Combined effect of electrolyzed oxidizing water and chitosan on the microbiological, physicochemical, and sensory attributes of American shad (*Alosa sapidissima*) during refrigerated storage. *Food Control*, 46, 397-402. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.06.010.
- Yağın, C., 2015.** Sıcak Dumanlanmış ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşığı Alabalık Filetolarına Uygulanan Kitosan, Sodyum Laktat ve Sodyum Diasetat'ın Raf Ömrüne Olan Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye, 39 s., 1.
- Yang, F., Hu, S., Lu, Y., Yang, H., Zhao, Y. and Li, L., 2015.** Effects of coatings of polyethyleneimine and thyme essential oil combined with chitosan on sliced fresh *Channa argus* during refrigerated Storage. *Journal of Food Process Engineering*, 38, 225-233. DOI: 10.1111/jfpe.12155.
- Ye, M., Neetoo, H. and Chen, H., 2008.** Effectiveness of chitosan-coated plastic films incorporating antimicrobials in inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 127, 235-240. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.012.
- Yen, M.T., Yang, J.H. and Mau, J.L., 2008.** Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 74, 840-844. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.05.003.
- Yu, S.H., Hsieh, H.Y., Pang, J.C., Tang, D.W., Shih, C.M., Tsai, M.L., Tsai, Y.C. and Mi, F.L., 2013.** Active films from water-soluble chitosan/cellulose composites incorporating releasable caffeic acid for inhibition of lipid oxidation in fish oil emulsions. *Food Hydrocolloids*, 32, 9-19. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.11.036.
- Yu, D., Xu, Y., Jiang, Q. and Xia, W., 2017.** Effects of chitosan coating combined with essential oils on quality and antioxidant enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets stored at 4 °C. *International Journal of Food Science and Technology*, 52, 404-412. DOI: 10.1111/ijfs.13295.
- Zaritzky, N., 2000.** Factors affecting the stability of frozen foods. *Managing Frozen Foods*, 7, 111-135. DOI: 10.1533/9781855736528.111.
- Zheng, L.Y. and Zhu, J.F., 2003.** Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, 54, 527-530. DOI: 10.1016/j.carbpol.2003.07.009.
- Zivanovic, S., Chi, S. and Draughon, A.F., 2005.** Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, 70, 45-51. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09045.x.

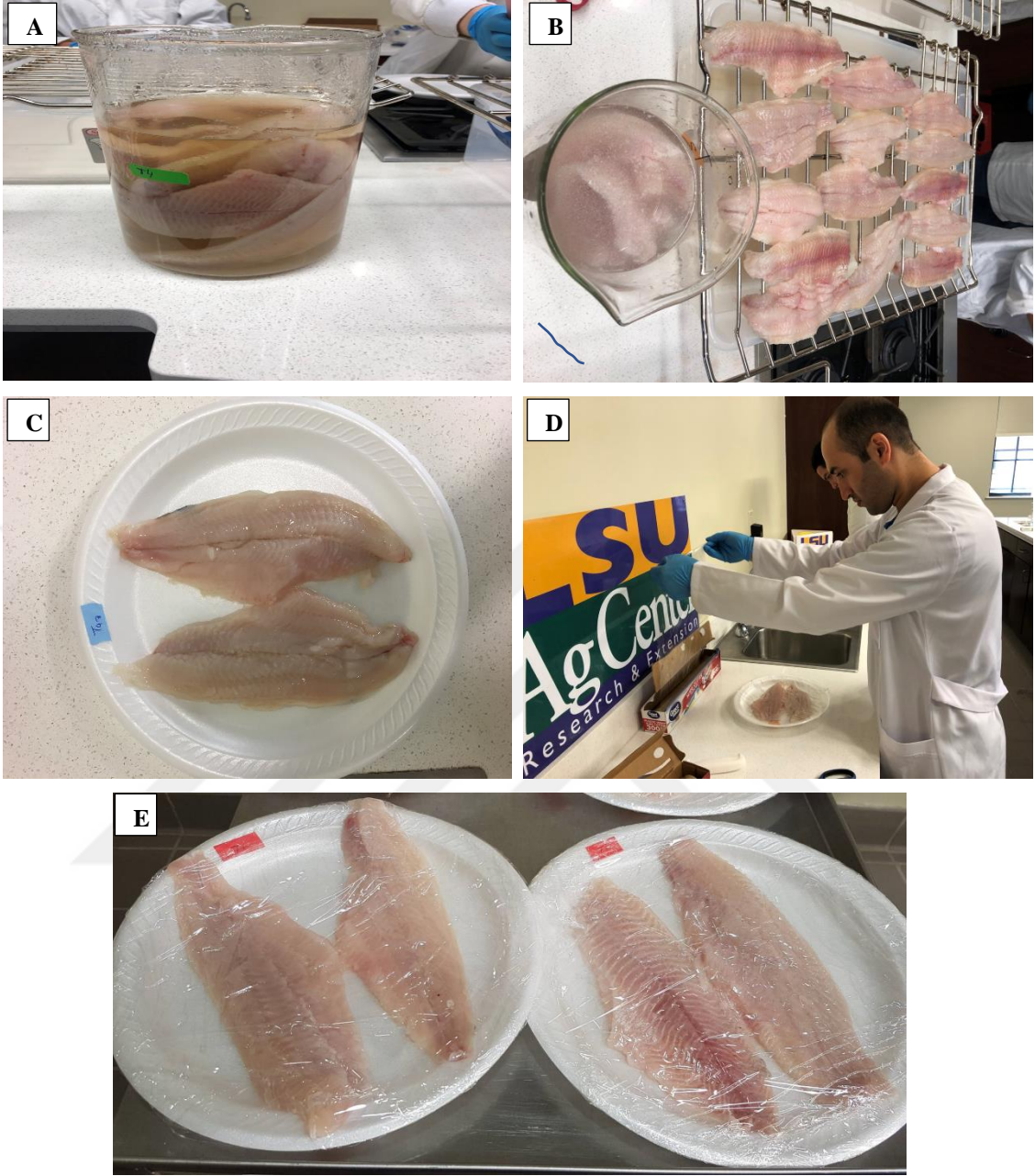
EKLER



Ek Şekil 1. Kaplama solüsyonlarının hazırlanması



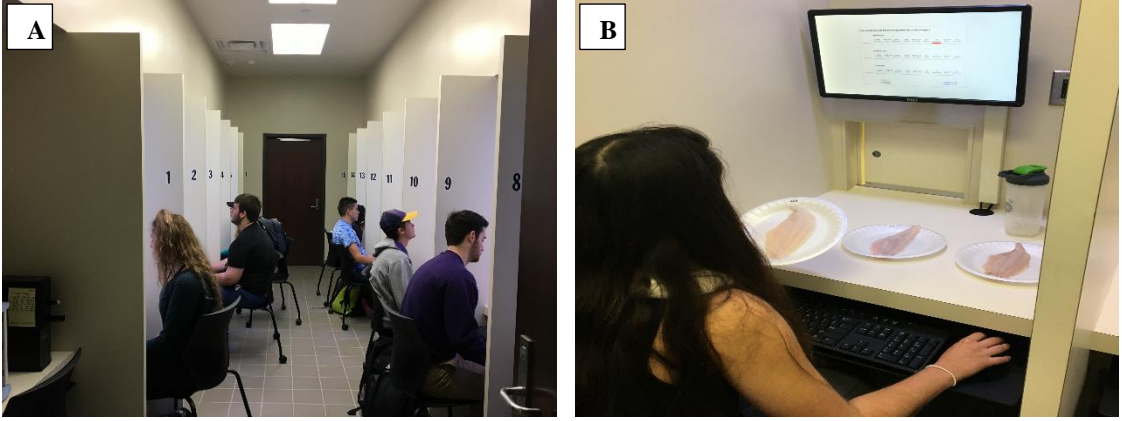
Ek Şekil 2. Bakteri inokülasyon işlem basamakları (A: küçük parçalara kesilmiş balık örnekleri, B: *L. monocytogenes* grubunda kullanılan balıkların kızartılması, C: bakterilerin balık yüzeyine inokülasyonu, D: örneklerin steril kabin içerisinde kurutulması, E: balıkların kaplama solüsyonlarına daldırılması, F: örneklerin paketlenmesi).



Ek Şekil 3. Soğuk ve donmuş muhafaza örneklerinin işlem basamakları (A: balıkların kaplama solüsyonlarına daldırılması, B: oda sıcaklığında kurutma işlemi, C: balık filetolarının tabaklara yerleştirilmesi, D: ürünlerin paketlenmesi, E: paketlenmiş balık filetoları).

Ürün Kodu	Kriterler	Puanlama			
		1-3 Çok kötü (Kabul edilemez)	4-5 Orta	6-7 İyi	8-9 Çok iyi
A	Görünüş				
	Koku				
	Doku				
	Genel beğeni				
B	Görünüş				
	Koku				
	Doku				
	Genel beğeni				
C	Görünüş				
	Koku				
	Doku				
	Genel beğeni				
D	Görünüş				
	Koku				
	Doku				
	Genel beğeni				
Bu ürünü satın almak ister misiniz?		A : _____ Evet _____ Hayır B : _____ Evet _____ Hayır C : _____ Evet _____ Hayır D : _____ Evet _____ Hayır			

Ek Şekil 4. Duyusal değerlendirme formu



Ek Şekil 5. Duyusal analiz laboratuvarı (A) ve ürünlerin değerlendirilmesi (B)



ÖZGEÇMİŞ

Barış KARSLI 1986 yılında Samsun'da doğdu. İlköğrenimini Samsun'da, ortaöğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2005 yılında KTÜ Rize Su Ürünleri Fakültesi'nde başlamış olduğu lisans eğitimini tamamlayarak 2009 yılında Su Ürünleri Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. 2009 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda başladığı yüksek lisans öğrenimini 2013 yılında tamamladı. 2014 yılında aynı enstitünün Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda başladığı doktora öğremine halen devam etmektedir. 2017-2018 yılları arasında TUBİTAK-BİDEP tarafından sağlanan burs ile Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Louisiana State Üniversitesi'nde doktora çalışmaları ile ilgili araştırmalarda bulundu. 2010 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nde Araştırma Görevlisi olarak göreve başlamış olup halen bu görevinde devam etmektedir. İyi derecede İngilizce bilen Barış KARSLI, evli ve 1 çocuk babasıdır.

Bilimsel Çalışmaları ve Yayınları;

Karsli, B., Çağlak, E., Li, D., Rubio, N.K., Janes, M. and Prinyawiwatkul W., 2018. Inhibition of selected pathogens inoculated on the surface of catfish fillets by high molecular weight chitosan coating. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 25-33. DOI: 10.1111/ijfs.13897.

Li, D., Karsli, B., Rubio, N.K., Janes, M. and Prinyawiwatkul W., 2018. Antimicrobial effects of high and middle molecular weight water-soluble chitosan based coatings against six foodborne pathogens on the surface of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillets. *IFT18, Chicago*, 15-18 Temmuz, 86.