

**YUMUŞAKÇA ve EKLEM BACAĞILILARIN ATIK
KABUKLARININ KİTİN, KİTOSAN ve
KAROTENOİD İÇERİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TESLİME ÖZBAY

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANA BİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

**MERSİN
KASIM - 2012**

**YUMUŞAKÇA ve EKLEM BACAĞILARIN ATIK
KABUKLARININ KİTİN, KİTOSAN ve
KAROTENOİD İÇERİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

TESLİME ÖZBAY

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ
ANA BİLİM DALI**

DOKTORA TEZİ

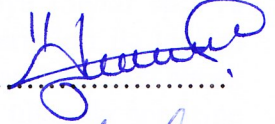
**Danışman
Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK**

**MERSİN
KASIM – 2012**


Teslime ÖZBAY tarafından Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK danışmanlığında hazırlanan “Yumuşakça ve Eklem Bacaklıların Atık Kabuklarının Kitin, Kitosan ve Karotenoid İçeriklerinin Karşılaştırılması” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK



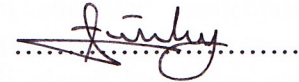
Prof. Dr. Abdurrahman POLAT



Doç. Dr. Özcan AY



Yrd. Doç. Dr. Fahri KARAYAKAR



Yrd. Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ



Yukarıdaki jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 14/12/2012 tarih ve 2012.23./..752 .sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

YUMUŞAKÇA ve EKLEM BACAĞILARIN ATIK KABUKLARININ KİTİN, KİTOSAN ve KAROTENOİD İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Teslime ÖZBAY

ÖZ

Bu çalışmada, mavi yengeç (*Callinectes sapidus*), sübye (*Sepia* sp.) ve manta karidesi (*Squilla* sp.) atık kabuklarının kitin ve kitosan verimleri ile toplam karotenoid miktarları tespit edilmiştir. Bu sayede kullanılmayan ancak değerlendirilebilir bir kaynak olan su ürünleri atık kabukları ile ülke ekonomisine katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmanın bir diğer amacı, atık kabuklardan elde edilen kitosanın doğal bir koruyucu madde olarak uygulanması durumunda balık filetolarının raf ömrü üzerine etkisini belirleyebilmektir. Balık türü olarak ülkemizde deniz balıkları avcılığında ekonomik öneme sahip olan sardalya (*Sardinella aurita*) kullanılmıştır. %1 kitosan ve %1 asetik asit çözeltileri uygulanan sardalya filetoları buzdolabı koşullarında 21 gün muhafaza edilerek belirli periyotlarla kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, kitosanın depolama süresince filetoların kalite kayıplarını yavaşlattığı tespit edilmiştir. Tez çalışmasının son amacı ise, deney materyali olarak kullanılan atık kabuklardan ekstrakte edilen kitin ve kitosanın sulardan metal iyonlarının uzaklaştırılmasındaki etkinliğinin tespit edilmesidir. Bu aşamada, Cr^{+6} and Cd^{+2} çözeltilerinde kitin ve kitosanın metal iyonlarını adsorpsiyon kapasiteleri oda sıcaklığı koşullarında üç saat süresince karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kitin, Kitosan, Sardalya, Raf Ömrü, Adsorpsiyon

Danışman: Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK, Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Ana Bilim Dalı

COMPARISON of CHITIN, CHITOSAN and CAROTENOID CONTENTS of WASTE SHELLS of MOLLUSC and ARTHROPODS

Teslime ÖZBAY

ABSTRACT

In this study, chitin and chitosan yields and total caretenoid levels of waste shells of blue crab, squid and squilla mantis were investigated. The primary aim of this study was to contribute to the economy of Turkey by converting the waste shells of common marine crustaceans into valuable by products. Another aim of this study is to determine the antibacterial action of chitosan, obtained from processed waste shells, on the shelf life of fish fillets. Sardines (*Sardinella aurita*) as a fish which has an economic value in the fisheries economy were used in the study. Sardines fillets which %1chitosan and %1 acetic acid solutions were applied and stored under refrigerator conditions for 21 days were periodically analysed for chemical, sensory and microbiological changes. Analysis implied that application of chitosan was retarded the quality changes of sardine fillets. The last aim of this study is to determine the effectiveness of chitin and chitosan on the removal toxic metal from waste waters. For this purpose, Cr⁺⁶ and Cd⁺² were kept in chitin and chitosan solutions for three hours at room temperature in order to determine their adsorption capaties.

Key Words: Chitin, Chitosan, Sardine, Shelf Life, Adsorption

Advisor: Prof. Dr. Özden BAŞTÜRK, Department of Aquacultural Sciences, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın planlanması ve yürütülmesi süresince sağlamış olduğu bilimsel yardım ve destekleri nedeni ile danışman hocam Sayın Prof.Dr. Özden BAŞTÜRK'e, çalışmalarında imkan ve kolaylık sağlayan MEÜ. Su Ürünleri Dekanı Sayın Prof.Dr. Bedii CİCİK'e, tezimin analiz aşamasında laboratuvar imkanlarının kullanımında verdiği büyük destekten dolayı MEÜ. İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma Uygulama Merkezi (MEİTAM) Müdürü Prof.Dr. Ali DÖNDAŞ'a, tezimin incelenmesi ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Abdurrahman POLAT'a, Doç.Dr. Özcan AY'a, Yrd.Doç.Dr. Fahri KARAYAKAR'a ve Yrd.Doç.Dr. Sahire KARAYTUĞ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Analizlerin okunması ve değerlendirilmesinde sağladıkları yardımlar nedeni ile Uzman Dr. Mehmet Ali KURT'a, Arş. Gör. Dr. Mehmet Ali SUNGUR'a ve Kimyager Bilal ÜSTÜNEL'e, tezimi proje olarak destekleyen MEÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne [BAP-FBE-SUF-(TÖ)-2008-3DR], atık kabukların temin edilmesinde yardımını esirgemeyen Arş.Gör. A.Sezai BOZAOĞLU'na ve bazı analizlerimin yürütülmesinde destek olan tüm öğrenci arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, hayatıma girdiği günden bu yana her türlü desteği ile yanımda olan sevgili eşim Özgür ÖZBAY'a, tezimin yoğun dönemlerinde zamanından çaldığım canım oğluma, desteklerini, yardımlarını ve sevgilerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
2.1. KİTİN ve KİTOSANIN TARİHSEL GELİŞİMİ	5
2.2. KİTİNİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ	5
2.3. KİTOSANIN YAPISAL ÖZELLİKLERİ	7
2.4. KİTİN ve KİTOSANIN ÜRETİM AŞAMALARI	8
2.5. KİTİN ve KİTOSANIN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	9
2.5.1. Hacim Yoğunluğu	9
2.5.2. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)	9
2.5.3. Su Bağlama Kapasitesi (SBK)	9
2.5.4. Deasetilasyon Derecesi (%DD).....	10
2.5.5. Nitrojen İçeriği	10
2.5.6. Moleküler Ağırlık.....	10
2.5.7. Verim	11
2.6. KİTİN VE KİTOSAN ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR	11
2.6.1. Ağır Metalleri Bağlama Kapasitelerinin Araştırılması	11
2.6.2. Kitosanın Antimikrobiyal Özelliğinin Araştırılması	14
2.6.3. Kitosan Uygulamanın Balıkların Raf Ömrü Üzerine Etkisinin Araştırılması	16
2.7. SU ÜRÜNLERİ ATIK KABUKLARININ KAROTENOİD İÇERİĞİ	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR ve KİMYASAL MADDELER	21
3.2. DENEY MATERYALLERİ	22

3.3. KİTİN ve KİTOSAN ÜRETİM AŞAMALARI	25
3.4. FİZİKOKİMYASAL ANALİZLER	28
3.4.1. Nem Analizi	28
3.4.2. %Nitrojen İçeriği (%N) ve Ham Protein Analizi (%HP).....	29
3.4.3. Ham Kül Analizi	29
3.4.4. Ham Yağ Analizi.....	30
3.4.5. Karotenoid Analizi	30
3.4.6. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)	31
3.4.7. Su Bağlama Kapasitesi (SBK)	32
3.4.8. Kalsiyum ve Magnezyum İyon Analizi	32
3.4.9. Hacim Yoğunluğu Analizi	33
3.4.10. Potansiyometrik Analiz.....	33
3.5. AĞIR METAL UYGULAMASI	34
3.6. BALIKLARIN RAF ÖMRÜNE YÖNELİK UYGULAMA	35
3.6.1. Kullanılan Besiyerleri	35
3.6.1.1. Jela byyon besiyeri.....	35
3.6.1.2. MDCLS besiyeri	35
3.6.1.3. N1 besiyeri	36
3.6.2. Deney Materyali.....	36
3.6.3. Taze Sardalya Balıklarında Bulunan Enterobacteriaceae Türü Mikroorganizmaların Tespiti	37
3.6.4. Depolama Öncesinde Uygulanan İşlemler.....	37
3.6.5. Uygulanan Analizler	39
3.6.5.1. Verim/Fire miktarı	39
3.6.5.2. Trimetil amin analizi (TMA)	39
3.6.5.3. Toplam uçucu bazik azot analizi (TVB-N).....	40
3.6.5.4. Tiyobarbitürik asit analizi (TBA)	40
3.6.5.5. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı.....	41
3.6.5.6. Duyusal analiz.....	41
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	42
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	43
4.1. ATIK KABUKLARIN KİTİN ve KİTOSAN VERİMİ	43
4.2. FİZİKOKİMYASAL ANALİZLERE AİT ARAŞTIRMA BULGULARI	45
4.2.1. Atık Kabukların Analiz Bulguları	45
4.2.2. Kitin Grubunun Analiz Bulguları.....	47
4.2.3. Kitosan Grubunun Analiz Bulguları	49
4.2.4. Karotenoid Analizine Ait Araştırma Bulguları	50
4.2.5. Kalsiyum ve Magnezyum İyonlarının Miktarına Ait Analiz Bulguları.....	52

4.2.6. Hacim Yoğunluğuna Ait Araştırma Bulguları	53
4.2.7. Yağ Bağlama Kapasitesine (YBK) Ait Araştırma Bulguları	54
4.2.8. Su Bağlama Kapasitesine (SBK) Ait Araştırma Bulguları	57
4.2.9. Potansiyometrik Analize Ait Araştırma Bulguları	58
4.3. BALIKLARIN RAF ÖMRÜNÜN BELİRLENMESİNE YÖNELİK ANALİZ BULGULARI.....	60
4.3.1. Taze Sardalya Balıklarında Bulunan Enterobacteriaceae Türü Mikroorganizmaların Tespitine Yönelik Araştırma Bulguları.....	60
4.3.2. Taze Sardalya Filetolarının Temel Besin Madde Bileşenleri	62
4.3.3. Taze Sardalya Filetolarının Kimyasal ve Duyusal Kalite Analiz Sonuçları	63
4.3.4. Depolama Süresince Kalite Kontrol Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler	64
4.3.4.1. TMA-N (Trimetil amin) değerinde meydana gelen değişimler	64
4.3.4.2. TVB-N (toplam uçucu bazik azot) değerinde meydana gelen değişimler	67
4.3.4.3. TBA (tiyobarbitürik asit) değerinde meydana gelen değişimler.....	71
4.3.4.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında meydana gelen değişimler ..	74
4.3.4.5. Duyusal analiz parametrelerinde meydana gelen değişimler	76
4.4. AĞIR METAL UYGULAMASINA AİT ARAŞTIRMA BULGULARI	80
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	87
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ.....	105

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	22
Çizelge 3.2. Atık Kabuk, Kitin ve Kitosana Uygulanan Analizler	28
Çizelge 4.1. Türlerle Göre Atık Kabuklarda Kitin ve Kitosan Verimi, (%)	43
Çizelge 4.2. Atık Kabukların Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%).....	45
Çizelge 4.3. Kitin Grubunun Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%)	47
Çizelge 4.4. Kitosan Grubunun Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%)	49
Çizelge 4.5. Atık Kabukların Toplam Karotenoid Miktarları, (µg/g kabuk).....	51
Çizelge 4.6. Atık Kabuklardan Ortama Geçen Kalsiyum ve Magnezyum İyon Miktarı, (g/100 g kabuk).....	52
Çizelge 4.7. Kitinin Hacim Yoğunluğu, (g/ml)	53
Çizelge 4.8. Kitosanın Hacim Yoğunluğu, (g/ml)	54
Çizelge 4.9. Kitinin Yağ Bağlama Kapasitesi, (%).....	55
Çizelge 4.10. Kitosanın Yağ Bağlama Kapasitesi, (%)	55
Çizelge 4.11. Kitin Grubunun Su Bağlama Kapasitesi, (%).....	57
Çizelge 4.12. Kitosan Grubunun Su Bağlama Kapasitesi, (%).....	57
Çizelge 4.13. Kitosan Grubunun Deasetilasyon Dereceleri, (%).....	59
Çizelge 4.14. Sardalya Balığının Temel Besin Madde Bileşenleri, (%).....	62
Çizelge 4.15. Sardalya Filetolarının Depolama Öncesi Kimyasal ve Duyusal Kalite Değerleri	63
Çizelge 4.16. Depolama Süresince TMA-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg TMA-N/100 g).....	65
Çizelge 4.17. Depolama Süresince TVB-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg TVB-N/100 g).....	68
Çizelge 4.18. Depolaması Süresince TBA Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg MA/kg)	71
Çizelge 4.19. Depolama Süresince Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısında Meydana Gelen Değişimler, (log kob/g)	74
Çizelge 4.20. Depolama Süresince Renk Parametresinde Meydana Gelen Değişimler	76
Çizelge 4.21. Depolama Süresince Koku Parametresinde Meydana Gelen Değişimler.....	77
Çizelge 4.22. Depolama Süresince Görünüm Parametresinde Meydana Gelen Değişimler.....	78
Çizelge 4.23. Depolama Süresince Doku Parametresinde Meydana Gelen Değişimler.....	78
Çizelge 4.24. Depolama Süresince Tüketilebilirlik Parametresinde Meydana Gelen Değişimler	79
Çizelge 4.25. Adsorbentlerin Cd ⁺² İyonunu Adsorpsiyon Yetenekleri.....	81
Çizelge 4.26. Adsorbentlerin Cr ⁺⁶ İyonunu Adsorpsiyon Yetenekleri	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Kitinin Yapısal Formülü	6
Şekil 2.2. Kitosanın Yapısal Formülü	7
Şekil 3.1. Tez Materyalleri.....	23
Şekil 3.2. Atık Kabuklardan Kitin ve Kitosan Üretim Basamakları	26
Şekil 3.3. Karotenoid Ölçümünde Kullanılan Regresyon Eğrisi	31
Şekil 3.4. Depolama Akış Diyagramı	38
Şekil 3.5. Sardalya Filetolarına Depolama Süresince Uygulanan Analizler.....	39
Şekil 3.6. Duyusal Değerlendirme Formu.....	41
Şekil 4.1. Kitin Grubunun Fotoğrafları (a-manta karidesi, b-sübye, c-mavi yengeç ve d-ticari form).....	44
Şekil 4.2. Kitosan Grubunun Fotoğrafları (a-manta karidesi, b-sübye, c-mavi yengeç ve d-ticari form).....	45
Şekil 4.3. Besiyerlerinde Çoğalan Mikroorganizmaların Görünümü	61
Şekil 4.4. Depolama Süresince TMA-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg/100 g)	65
Şekil 4.5. Depolama Süresince TVB-N Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg/100 g)	68
Şekil 4.6. Depolama Süresince TBA Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg MA/kg)	71
Şekil 4.7. Adsorbentlerin Cd ⁺² ve Cr ⁺⁶ İyonlarını Tutma Etkinlikleri	83
Şekil 4.8. Adsorbentlerin Cd ⁺² ve Cr ⁺⁶ İyonlarını Adsorpsiyon Kapasiteleri	84

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DD:	Deasetilasyon Derecesi
DP:	Deproteinizasyon, Proteinlerin Uzaklaştırılması
DM:	Deminerlizasyon, Minerallerin Uzaklaştırılması
DC:	Decolorization, Renksizleştirme
DA:	Deasetilasyon, Asetil Gruplarının Çıkarılması
EDTA:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
MA:	Malonaldehit
nm:	Nano metre
rpm:	Dakikada Devir Sayısı
SBK:	Su Bağlama Kapasitesi
TMA:	Trimetil amin
TBA:	Tiyobarbutirik asit
TVB-N:	Toplam Uçucu Bazik Azot, (Total Volatile Base Nitrojen)
YBK:	Yağ Bağlama Kapasitesi
%N:	%Nitrojen
%HP:	%Ham Protein

1. GİRİŞ

Hayvansal protein kaynaklarına kıyasla daha ucuz olan su ürünleri, deniz ve iç sularımızda fazla miktarda ya da istenmeyen boy ve türde avlama baskısı ile karşı karşıya kalmaktadır. İstenmeyen türlerin avlanmasının yanı sıra, işleme fabrikalarının faaliyetleri sonucunda çoğu geri dönüşümlü olan ve yeniden kullanılabilir biyolojik atıklar birikmektedir [Pap, 2004; Issa vd., 2005].

Özellikle kabuklu su ürünlerinde atık oranı diğer türlere kıyasla daha fazladır. Türler göre atık oranları (%vücut ağırlığı üzerinden) incelendiğinde tarakta %88-86, istiridye ve midyede %86, deniz salyangozunda %77, yengeçte %68, karideste %60-65, kabuklularda %61 ve ıstakozda %56 dolaylarındadır [Archer, 2004]. Yengeç, ıstakoz ve karides türlerinde bu atıkların yapısal bileşenlerini (kuru ağırlık üzerinden) ortalama %20-40 kitin, %30-40 geri kazanılabilir protein ve %20-30 kalsiyum karbonat oluşturmaktadır [Khor, 2001]. Ekosistemde bu biyolojik atıkların geri dönüşümü oldukça uzun süreç isterken, gelişen teknolojik yaklaşımlar bu sürecin kısalmasına ve farklı kullanım alanına sahip yeni materyallerin üretimine imkân sağlamaktadır. Bu atıklardan elde edilen ve kullanım alanı her geçen gün yaygınlaşan ürünlerden en önemlisini kitin, kitosan ve türevleri oluşturmaktadır.

Adını Yunanca “chiton” kelimesinden alan kitin, “zırhlı örtü” anlamındadır. Her yıl biyosferde yaklaşık olarak 10 gigaton (1×10^{13} kg) kitin parçalandığı tahmin edilmektedir. Kitin tek başına hafif ve ince yapılı olmasına rağmen diğer yapısal bileşenlerle (protein, magnezyum-kalsiyum karbonat, yağ, su, karotenoid) bir araya geldiğinde yengeç, ıstakoz, karides, böcek ve salyangoz gibi canlıların kabuğuna sağlamlık ve sertlik sağlayarak canlının tehlikelerden korunmasını sağlamaktadır. Kitosanın hammaddesi kitin olup, doğada tek ve bağımsız olarak bulunmamaktadır. Ticari amaçlar için kimyasal metotlarla kitinin alkali ortamda deasetilasyonu (DA, asetil gruplarının çıkarılması) ile üretilmektedir. Kitin ve kitosan moleküler yapı bakımından birbirine benzese de arasındaki en büyük farklılık deasetilasyon dereceleridir (DD) [Khor, 2001]. DD serbest amin gruplarının varlığını ifade etmekte kullanılmaktadır. Kitinin yapısında asetil amin ünitesi bulunurken, kitosan da amin ünitesi yer almaktadır. Bu nedenle kitosan içerdiği fonksiyonel gruplar bakımından endüstriyel alanda daha fazla önem taşımaktadır.

Atık kabuklardan kitin ve kitosan ekstraksiyonu birbirini izleyen birkaç işlem basamağından meydana gelmektedir. Bunlar: demineralizasyon (DM, minerallerden uzaklaştırma), deproteinizasyon (DP, proteinlerden uzaklaştırma), renksizleştirme (DC, decoloration) ve deasetilasyon işlemleridir [Fernandez-Kim, 2004].

1970'li yıllardan sonra endüstriyel alanda kitin, kitosan ve türevlerinin kullanımının hızla artış göstermesi üretimlerinin artmasına neden olmuştur. Kullanım alanları önceleri suların arıtılması (boya, protein, metal iyonları ve süzme) ve gıda sanayi (kilo kontrolü, besin takviyesi, kaplama materyali, antioksidan) üzerine yoğunlaşmış iken, günümüzde medikal (diş tedavisi, ilaç uygulaması), kozmetik (kişisel bakım ürünleri), kâğıt ve tekstil sanayinde de tercih edilmektedir [Goosen, 1997].

Kitin, kitosan ve türevlerinin dünya genelinde en yaygın kullanıldığı alanlar su arıtımı ve gıda sanayidir. Sanayileşme ve kentleşmenin önemli derecede artması, yaşam standartlarının yükselmesi, popülasyonun büyümesi ve tarımcılık aktivitelerinin artması özellikle mevcut su kaynaklarının kullanımı ve kalitesi üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Kitosanın amin grupları oldukça aktif olduğundan, azot üzerindeki serbest elektron bulutları metal katyonlarının bağlanmasında etkili olmaktadır. Bu sayede şelat oluşmakta ve işlemlerin ardından ürünler geri kazanılabilmektedir. Kullanımları hem ucuz hem de kolay olduğundan, uygulamalarında harcanan enerjide daha az olmaktadır [Goosen, 1997].

Kitin ve kitosan dışında su ürünleri atık kabuklarından karotenoid ve diğer pigmentlerin ekstraksiyonları da gerçekleştirilmektedir. Doğada 600'ü aşkın farklı karotenoid türü bulunmaktadır. Bu bileşikler mikroorganizmalar, algler ve yüksek bitkiler, ayrıca hayvanlar, balık eti ve kabuklu canlıların kabuklarına açık sarı, parlak turuncu ya da kırmızıya kadar değişen rengi veren pigmentlerdir. Hayvanlar karotenoidleri sentezleyemediğinden besin yolu ile bünyelerine alırlar. Karotenoidlerin bağışıklık sistemini güçlendirmesi serbest radikalleri etkisiz hale getirmesi gibi önemli fizyolojik rollerinden dolayı güncel araştırma konuları arasında yer almaktadır [Ausich, 1997].

Bir gıdanın kalitesini, içerdiği protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineralleri insan tüketiminde yeterli ve dengeli miktarlarda içermesi belirlemektedir.

Bu bakımdan, su ürünleri önemli bir besin kaynağıdır. Balıkların diğer gıdalara kıyasla yüksek besin içeriğine sahip olması bozulmaya daha yatkın olmasına da neden olmaktadır. Balıklar avlama sonrasında enzimatik, mikrobiyal ve oksidatif olayların etkisi ile bir takım değişikliğe uğrarlar. Bu değişimler balık etinde bozulma olarak tanımlanmaktadır. Bozulmanın derecesi ya da miktarının belirlenmesi gıdanın tüketime uygunluğu olarak bilinen raf ömrünün tespiti amacı ile yapılmaktadır. Gıda endüstrisinde ürünlerin depolama koşullarında kalite kayıplarına uğramadan daha uzun raf ömrüne sahip olması istenmektedir. Bu bağlamda son yıllarda su ürünlerinin tüketim aşamasına kadar pahalı olmayan hem de çevre dostu bir madde olan kitosan uygulamasına dayalı araştırmalar hız kazanmıştır. Kitosan, ürünlerin renk ve duyuşal özelliklerinin kaybolmasını önlemekte ayrıca, antimikrobiyal özelliğe sahip olması nedeniyle gıda maddelerini bozulma etkenlerine karşı koruyarak ürünlerin raf ömrünün uzatılmasına yardımcı olmaktadır [Srinivasa ve Tharanathan, 2007].

Doktora tezi kapsamında yürütölen çalışmalar üç ana amaç altında gerçekleştirilmiştir.

Birincisi: Avlanmaları ya da tüketilmeleri sonucunda biyolojik atık oluşturan mavi yengeç (*Callinectes sapidus*), sübye iç kabuğu (*Sepia* sp.) ve manta karidesi (*Squilla* sp.) atık kabuklarının kitin, kitosan ve karotenoid içeriklerinin tespit edilmesidir. Ayrıca çalışmada kullanılan türlerin atık kabukları ile bunlardan elde edilen kitin ve kitosan örneklerinin fizikokimyasal analizler ile tanımlanmasıdır. Bu sayede kullanılmayan ancak değerlendirilebilir bir kaynak olan su ürünleri atık kabukları ile ülke ekonomisine katkı sağlamak hem de atık kabukların çevreye verdiği zararı biraz olsun önlemek tezin ana konusunu oluşturmaktadır.

Çalışmanın ikinci amacı: Atık kabuklardan elde edilen kitosanın, sardalya (*Sardinella aurita*) filetolarının buzdolabı koşullarında muhafazası süresince, kalite parametrelerine olan etkisinin araştırılmasıdır. Bu noktada ölkemizde deniz balıkları avcılığında ekonomik öneme sahip olan sardalyanın kitosan çözeltisi ile işleme tabi tutulması, ardından buzdolabı koşullarında depolanması süresince filetoların raf ömrü üzerine oluşan etkinin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal analizleri ile araştırılması amaçlanmıştır.

Mevcut çalışmanın diğer bir amacı ise, kitin ve kitosanın en yaygın kullanım alanlarından biri olan sulardan metal iyonlarının uzaklaştırılmasındaki

etkinliğinin belirlenmesidir. Tez materyallerinden yüksek kitin ve kitosan verimine sahip manta karidesi atık kabuklarından ekstrakte edilen kitin ve kitosan ile ticari kitin ve kitosan adsorbent olarak kullanılmıştır. Seçilen adsorbentlerin metal iyonlarını [Kromun (+6) değerlikli bileşiği olan $K_2Cr_2O_7$ 'ın sulu çözeltisi ve Kadmiyumun (+2) değerlikli bileşiği olan $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ 'ün sulu çözeltisi kullanılarak] adsorpsiyonu tespit edilmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. KİTİN ve KİTOSANIN TARİHSEL GELİŞİMİ

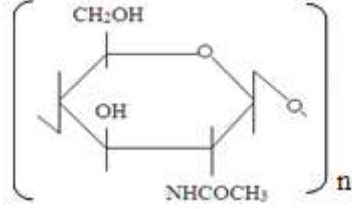
Kitin ilk olarak “Braconnot” tarafından 1811 yılında mantarın yapısında, “Odier” tarafından 1823’te böceklerin kabuklarında keşfedilmiştir. Kitosan ise, “Rauget” tarafından 1859 yılında kitinin potasyum hidroksitte kaynatılması esnasında keşfedilmiş olup, bu materyal 1894 yılında “Hoppe-Seyler” tarafından kitosan olarak tanımlanmıştır.

Kitinin yapısındaki nitrojenin varlığını 1843 yılında “Payen”, kitinin hidroliz ürünü olan glukozamin ve asetik asiti ise “Ledderhose” 1876 yılında tanımlamıştır. 20. yüzyılın ilk yarısından itibaren araştırmalara konu olarak kitin ve kitosan seçilmeye başlanmış, 1950’lerde ise bu materyallerin X-ışınları ile analiz çalışmaları hız kazanmıştır. Kitosan hakkındaki ilk kitap kitinin bulunmasından tam 140 yıl sonra, 1951 yılında yayınlanmıştır. 1960’lı yılların başlarında kitosanın kırmızı kan hücrelerine bağlanma yeteneği ve kan durdurmadaki etkinlikleri araştırılmıştır. Son otuz yılda kitosan su arıtma/saflaştırma sistemlerinde suların toksik maddelerden özellikle yağ, boya ve diğer potansiyel kirlilik yaratan maddelerin uzaklaştırılması amacıyla kullanılmaktadır. Günümüzde ise, diyet desteği, kilo kontrolü, fotoğrafçılık, kozmetik, medikal ve tıbbi alanda yaygın olarak tercih edilmektedir [Jollès ve Muzzarelli, 1999; Khor, 2001].

2.2. KİTİNİN YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Hayvanlar âleminde özellikle omurgasız canlıların kabuklarında yer alan kitin, selülozdan sonra doğada en yaygın bulunan ikinci polimerdir (Şekil 2.1). Kabuklu canlılardan krill, yengeç, karides ve ıstakoz kabukları yüksek kitin içeriğinden dolayı kitin ve kitosan üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Kabuklu su ürünlerinin atık kabukları mevsime ve türe bağlı olarak %30-40 protein, %30-50 mineral madde ve %20-30 kitin içermektedir [Khor, 2001]. Akuatik biyosferde tek başına yıllık üretimi 10^{11} metre ton olmasına rağmen her yıl

biyosferde 10 gigaton (1×10^{13} kg) kitin sentezlenip parçalandığı tahmin edilmektedir [Fernandez-Kim, 2004; Suginta, 2007].



Şekil 2.1. Kitinin Yapısal Formülü

Kitinin moleküler ağırlığı kullanılan hammadde ve uygulanan metoda bağlı olarak 1.000.000 Dalton ve üzerinde bir değere sahip olmaktadır. Kararlı bir yapıya sahip olması kitinin su, alkol, seyreltik asit ve bazik çözeltilerde erimemesine neden olmaktadır [Khor, 2001].

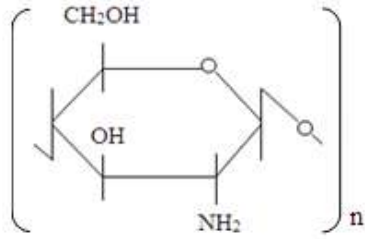
Kitin α , β ve γ olmak üzere üç farklı formda bulunmaktadır. α -kitin doğada en yaygın rastlanılan formu olmasından dolayı sıradan/adi kitin olarak da adlandırılmaktadır. Anti-paralel moleküler dizilişi ile genellikle yengeç ve karides kabuklarında, hydrazoa'ların kalikslerinde (calyces, havuz/kase şekilli organ), nematod ve rotiferlerin yumurta kabuklarında ve molluskların radulalarında (ağızda bulunun şerit şeklinde boynuzsu organ) bulunmaktadır. Paralel moleküler dizilişe sahip olan β -kitinin su ve organik çözücülere karşı ilgisi yüksektir. α -kitinle kıyaslandığında daha fazla suyu tutmakta ve deastilasyonu daha kolay olmaktadır. Kolsu ayaklıların kabuklarında (brachiopod), molluskların kabuklarında, kalamar iğnesi, sübye iç kabuğu ve pogonophora tüplerinde bulunan β -kitin, ticari açıdan daha değerlidir [Goosen, 1997; Jollés ve Muzzarelli, 1999; Khor, 2001]. γ -kitin paralel ve antiparalel moleküler diziliminin karışımına sahiptir. Doğada böceklerin kozalarında [Aytekin, 2007] ve Lucainadae (geyik böcekleri) üyelerinin kabuklarında bulunmaktadır [Jang vd., 2004].

Kabuklu canlıların kabukları iki tabakalı matriksin yapraklar halinde sıralanması ile sertlik/sağlamlık kazanmaktadır. Kitinoproteik matriks olarak adlandırılan birinci tabakada kitin ve protein birlikte sıkı bir yapı oluşturmaktadır. Matriksin ikinci tabakası mineralizasyon matriksi olup, özellikle CaCO₃ ve benzeri

bileşikler ile kitinoproteik matriksle birlikte kabuğa sağlamlık vermektedir. Son olarak pigment maddeleri kabuğun yapısına girmektedir [Peker vd., 2006].

2.3. KİTOSANIN YAPISAL ÖZELLİKLERİ

β -(1 \rightarrow 4)-N-asetil-D-Glukozamin ünitesine sahip olan kitosan, hammaddesi olan kitinin yapısındaki asetil grubunun çoğunun çıkarılarak bu bölgelerde serbest amin gruplarının (NH_2) oluşturulması amacı ile kitinin kuvvetli alkali çözeltilerde deasetilasyonu ile elde edilmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Kitosanın Yapısal Formülü

Kitosan formik asit, asetik asit, tartarik asit ve sitrik asit gibi çoğu organik asitlerde ($2 < \text{pH} < 6$) çözünürken, pH'ı 6,5'tan yukarı olan ortamlarda, suda, alkali çözeltilerde ve organik çözücülerde çözünmemektedir [Goosen, 1997; Muzzarelli ve Jollés, 1999].

Kitosan ticari olarak film, toz, fiber, boncuk vb. şekilde bulunmaktadır. Kitosanın moleküler ağırlığı 50.000-1.200.000 Dalton arasında değişim göstermektedir [Goosen, 1997].

Kitosan C-2 pozisyonunda bir amin grubu, C-3 pozisyonunda birincil ve C-6 pozisyonunda ise ikincil hidroksil grubu olmak üzere üç fonksiyonel gruba sahiptir. Bu grupların kimyasal modifikasyonları ile farklı alanlarda çok sayıda kullanışlı türevleri oluşturulmaktadır. Bu sayede kullanım alanları genişletilmekte ve çok yönlü bir biyomateryal olarak dünya genelinde kullanılmaktadır [Goosen, 1997; Jollés ve Muzzarelli, 1999].

2.4. KİTİN ve KİTOSANIN ÜRETİM AŞAMALARI

Kabuklu canlıların atık kabuklarından kitin üretiminde öncelikle kabuktan mineral maddelerin uzaklaştırılması amacı ile DM, proteinlerin uzaklaştırılması için DP ve pigment maddelerinin uzaklaştırılması için ise DC işlemleri uygulanmaktadır. Bu işlem basamaklarının yer değiştirilerek uygulanması durumunda son ürün verimi (%) [Tajik vd., 2008] ile ürünün fizikokimyasal özelliklerinin (yağ bağlama, viskozite vb) farklılık göstereceği bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004; Peker vd., 2006].

Kabuklardan proteinlerin uzaklaştırılmasında düşük derişimli sodyum hidroksit (NaOH) yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak %0.5-2 NaOH çözeltisi, 25-100°C sıcaklık ve 0,5-72 saat temas süresi seçilmektedir [Nemtsev vd., 2002].

Mineral maddelerin uzaklaştırılması atık kabuklardan kitinin saflaştırılması için kullanılan en önemli işlem basamaklarından biridir. DM işlemi için %2.5–8 HCl çözeltisi, 15–30°C sıcaklık ve 0.5–48 saat temas süresi kullanılmaktadır. Bu amaçla geleneksel metotlarda yaygın kullanılan kuvvetli asit hidroklorik asittir (HCl) [Nemtsev vd., 2002].

DM ve DP işlemi sonrasında elde edilen kitin pembe-kahverengi bir renge sahip olup ürünün kabul edilebilirliği için kitinin ağartılması ya da beyazlatılması gerekmektedir. Bu amaçla uygulanan DC işlemi güneş ışınları ile doğal olarak yapılabileceği gibi kimyasal maddeler kullanılarak da yapılabilmektedir. Yaygın kullanılan kimyasallar arasında etanol, soğuk sodyum hipoklorit, saf aseton ve hidrojen peroksit çözeltisi sıralanabilir [Fernandez-Kim, 2004].

Kitinin kitosana dönüştürüldüğü basamak olan DA aşamasında kullanılan prosedür kuvvetli alkali çözeltinin (%40-50) yanı sıra yüksek sıcaklığa (100-150°C) sahip reaksiyon koşullarıdır. Kullanılan alkali çözeltilerden bazıları NaOH, KOH ve LiOH'tir [Fernandez-Kim, 2004].

2.5. KİTİN ve KİTOSANIN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

2.5.1. Hacim Yoğunluğu

Kitin ya da kitosanın hacim yoğunluğunu etkileyen en önemli etken por yapısı olup, kitin ve kitosan üretiminde kullanılan atık kabuğun türüne, deasetilasyon derecesine ve kitin-kitosan üretiminde kullanılan metotlara bağlı olarak değeri değişim göstermektedir. Yengeç kitininin karides ve kril kitinine kıyasla daha az porlu yapıya sahip olduğu ve hacim yoğunluklarının $0,06-0,17 \text{ g/cm}^3$ arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004; Peker vd., 2006].

2.5.2. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)

Kitosanın bir yağ avcısı olduğu bilinen bir gerçektir. YBK'ni DP ve DM işlem basamaklarının uygulanma sırası, DC işlemi, deasetilasyon derecesi, ürünün kristal yapısı, tuz oluşturan grup miktarı, üründe atık olarak bulunan protein miktarı ve örneğin elde edildiği hammadde etkilemektedir. DC işleminde kullanılan kimyasal ağartıcılar kitosanın YBK'ni önemli derecede düşürmektedir. Kitosanın kitine kıyasla daha iyi yağ bağlama yeteneğine sahip olduğu [Anonim, 2006], bunun yanı sıra farklı deneysel yöntemlerle saflaştırılan kitosanın yağ bağlama özelliklerinin farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Bitkisel yağ türü ne olursa olsun (mısır, kanola, ayçiçeği, mısır, zeytin) farklı kerevit kitosanının yağ bağlama kapasitesinin %445.3 (kanola)-578.1 (mısır) arasında değişim gösterdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [Fernandez-Kim, 2004; Peker vd., 2006].

2.5.3. Su Bağlama Kapasitesi (SBK)

Su bağlama kapasitesi özellikle gıda ve tekstil sanayinde kullanılan bir parametredir. SBK, kitinde %423-648, kitosanda ise %581-1150 aralığında değişim göstermektedir. SBK üzerine etki eden faktörlerin YBK'de sözü edilenlerle aynı olduğu bildirilmiştir. [Fernandez-Kim, 2004; Peker vd., 2006].

2.5.4. Deasetilasyon Derecesi (%DD)

Kitin ve kitosanın tanımlanmasında kullanılan diğer bir parametredir [Goosen, 1997]. D-glikozamin ünitelerinin ortalama sayısı olarak tanımlanan DD, her 100 monomeri bir yüzde olarak ifade etmektedir [Peker vd., 2006]. Kullanılan yöntemle bağlı olarak kitosanın DD %50-95 arasında değişim göstermektedir [Goosen, 1997]. DD derecesinin artması kitosan üzerinde amin gruplarının artışı vurgulamaktadır. Bu nedenle DD'ndeki artış kitosanın antimikrobiyal aktivitesini de arttırdığı anlamına gelmektedir. Kerevit kitosanının ortalama DD %71 olarak bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004].

2.5.5. Nitrojen İçeriği (%N)

Kitin ve protein arasındaki kuvvetli kovalent bağ olması nedeni ile üretim basamakları sonrasında protein içermeyen saf bir kitin elde etmek oldukça zordur. Bu amaçla kitin ya da kitosanda nitrojen içeriğinin belirlenmesi ürünün kalitesi açısından önem taşımaktadır. Kitinin nitrojen içeriği %7'den az, kitosanda ise %7'den fazla olmaktadır [Khor, 2001]. Kitin ya da kitosanın azot içeriğinin bu değerlerin üzerinde olması durumunda DA ya da DP işleminin tam olarak yapılamadığını, çok düşük olması durumunda ise hidrolitik deaminasyonuna ya da ürün kontaminasyonuna işaret etmektedir. Kerevit kabuğundan elde edilen kitosanın nitrojen içeriğinin %6.91-8.23 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004].

2.5.6. Moleküler Ağırlık

Kitin ve kitosanın moleküler ağırlığı türe ve uygulanan metoda bağlı olarak değişim göstermektedir. Bunun yanı sıra yüksek sıcaklık ve oksijen miktarı kitosanın parçalanmasına neden olmaktadır. Kitinin moleküler ağırlığı genelde bir milyon Dalton'dan fazla iken, ticari kitosanda bu değer 100,000-1,200,000 Dalton arasındadır. Yapılan bir çalışmada, kerevit kitosanının moleküler ağırlığının 674.49-10,596.62 Da değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir [Fernandez-Kim, 2004].

2.5.7. Verim

Verim, atık kabuklardan ekstrakte edilen kitin ve kitosan ağırlığının başlangıç kabuk ağırlığına oranı ile ifade edilen bir parametredir. Türler gere göre atık kabuklardan elde edilen kitin ve kitosan verimi değışmekte olup, kitin verimi karides atık kabuğunda %9-10 [Richcore, 2005] iken, kitosan veriminin krillde %14, karideste %18.6 [Brzeski, 1982] ve kerevitte %16.7-18.8 olduğu bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004]. Verimi etkileyen en önemli parametre ekstraksiyon basamaklarının sırasıdır. Örneğın, kerevit atık kabuklarından normal proses sırası uygulanarak üretilen kitosanın verimi %16.7-18.8 iken, DA basamağı ile prosese başlanması durumunda verimin oldukça düşük (%0.34) olduğu vurgulanmıştır [Fernandez-Kim, 2004].

2.6. KİTİN ve KİTOSAN ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.6.1. Ağır Metalleri Bağlama Kapasitelerinin Araştırılması

Kadmiyum, kurşun, krom, civa, çınko ve bakır başta olmak üzere “ağır metaller” olarak bilinen elementler periyodik cetvelde bakır ile civa arasında yer alıp, özgül ağırlığı 4 g/cm³’ün üzerindedir. Bu elementler yer kabuğunda genellikle karbonat, oksit, silikat ya da sülfür bileşikleri halinde bulunmaktadır [Usta Dikmen, 2008]. Metal kaplama, döküm sanayi, boya, pigment, plastik, pil, fotoğrafçılık gibi birçok sanayi alanında kullanılan ağır metallerin kaza ya da benzeri yolla doğal ortama deşarjı fauna ve flora kadar insanları da olumsuz yönde (toksik, kanserojen) etkilemektedir. Bu nedenle, endüstriyel atık suların doğal ortama deşarj edilmeden önce ağır metal yüklerinin çıkarılması gerekmektedir. Birçok araştırmacı doğa dostu, ekonomik ve geri dönüşüm özelliğinden dolayı adsorbent olarak kitosanı kullanarak sulardan metal iyonlarının ya da boya atıklarının uzaklaştırılmasını incelemiştir [Benguella ve Benaissa, 2002; Zhoua vd., 2004].

Kitosanın amin grubunda bulunan azot atomları metal iyonları ile reaksiyon veren serbest elektron çiftlerine sahiptir. Özellikle asidik pH’ta amin grupları protonlanarak metal iyonlarını adsorbe etme yeteneğı göstermektedir. Kitosanın

metal iyonlarını şelat yapma yeteneği kitine kıyasla 5-6 kat daha fazladır [Qin vd., 2003].

Kitin ya da kitosanın adsorbent özelliğini etkileyen faktörler şu şekilde sıralanabilir; adsorbentin özelliği (türü, moleküler ağırlığı, parça büyüklüğü, DD, amin gruplarının dağılımı, zincir uzunluğu) ve kullanılan derişimin yanı sıra temas süresi, ortamın pH değeri, metal iyonunun türü ve derişimi, karıştırma hızı ve sıcaklık etkilemektedir [Schmuhl vd., 2001; Anoop-Krishnan ve Anirudhan, 2003; Alyüz ve Veli, 2005; Zhou vd., 2005; Anonim, 2006; Nicholson, 2007; Shafaei vd., 2007].

Molekül ağırlığı: Kitosanın molekül ağırlığına bağlı olarak adsorpsiyon yeteneği farklılık göstermektedir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip olan kitosanın bulanıklık ve askıda katı maddenin çıkarılmasında, düşük moleküler ağırlığa sahip olan kitosanın ise NH_3 ve PO_4^{-3} 'ün atık suların çıkarılmasında üstün başarı gösterdiği saptanmıştır. Atık su kalitesini standartlara uygun hale getirilmesi için yüksek moleküler ağırlığa sahip kitosanın 12 mg/L olarak kullanılması önerilmiştir [Chung vd., 2005].

Parça büyüklüğü: Adsorbentin parça boyu küçüldükçe daha fazla Cr (III) tutmaktadır [Maruca vd., 1982]. Endüstriyel atık suların Hg (II) iyonunu çıkarmada en iyi kitosan büyüklüğü 0.177 mm ve en fazla adsorpsiyon 1127.1 mg Hg (II)/g kitosan'dır [Shafaei vd., 2007]. Toz kitinin maksimum adsorpsiyon kapasitesi (4.37 mg Ag/g) parça kitininkine (3.61 mg Ag/g) kıyasla daha fazla olduğu yapılan bir çalışmada bildirilmiştir [Songkroah vd., 2004].

Adsorbentin türü ve derişimi: Kitosanın ağır metalleri tutma kapasitesi kitine göre oldukça fazladır. Ancak Cu^{2+} ve Pb^{2+} iyonları kitine daha hızlı tutunmaktadır [Keleşoğlu, 2007]. Cr (III)'ün kitosanla olan etkileşimi kitine kıyasla daha fazladır [Maruca vd., 1982]. Kitin ve kitosanın adsorpsiyon kapasitesi kullanılan adsorbent miktarına göre değişim göstermektedir. Kitosan 154 mg/g kromu adsorbe etmekte buna karşın adsorbent dozunun artan oranlarda (1.5-30 g/l aralığında) kullanılması durumunda kromun ortamdaki çıkarılmasını bir dereceye kadar arttırdığı sonra sabit kaldığı bildirilmiştir [Nomanbhay ve Palanisamy, 2005]. %35-40 oranında endüstriyel atık suların karıştığı içme sularından bakırın %100 eliminasyonu 40 mg kitosan/L ile sağlanmıştır [Gidas vd., 1999].

Hammaddenin etkisi: Farklı kabuklu su ürünleri türlerinden elde edilen kitosanın (istakoz, yengeç ve karides) sudaki metal iyonlarını adsorpsiyon yetenekleri kitosan türlerine bağlı olarak da değişim göstermektedir [Anonim, 2006].

Temas süresi: Adsorpsiyon kapasitesi üzerine etki yapan en önemli etkenlerden biri temas süresidir. Nomanbhay ve Palanisamy (2005), 30-180 dakikalık çalışma süresinde en iyi temas süresinin 180 dakika olduğunu ayrıca kitosanla kaplanmış adsorbent örneklerinin kontrol grubuna (kitosan) kıyasla daha kısa temas süresine ihtiyaç duyduğunu bildirmiştir.

Ortamin pH derecesi: Cr (VI) iyonunun maksimum adsorpsiyonu için optimum pH değeri 4'ün altında iken, metal katyonlarının maksimum adsorpsiyonu pH 5'te gerçekleşmektedir [Qin vd., 2003]. Ortamin pH derecesi arttıkça Cr (III) [Maruca vd., 1982] ve Hg (II) iyonunun kitosan parçaları tarafından adsorpsiyonu da artış göstermektedir (optimal pH 6) [Shafaei vd., 2007]. Kitosan ile kaplanmış palmiye tohum kabuk kömürünün endüstriyel atık sulardaki krom iyonlarını çıkarma verimliliği en iyi pH 5'te gerçekleşirken pH'ın 8.5'ten yukarı olması krom hidroksitin çözünmesini engelleyerek çözeltinin dibine doğru çökmesine neden olduğu belirtilmiştir [Nomanbhay ve Palanisamy, 2005]. Selüloz-kitin boncukları tarafından Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} iyonlarının en fazla adsorpsiyonu sırası ile pH 4'de (0.33 mmol/g), pH 5'te (0.32 mmol/g) ve pH 4'de (0.30 mmol/g) gerçekleşmiştir [Zhoua vd., 2004]. Çoklu metal iyonu [Hg (II), Fe (II), Ni (II), Pb (II), Cu (II) ve Zn (II)] içeren endüstriyel atık suların kitosanın metal iyonlarını adsorpsiyon performansının en iyi pH 7'de olduğu gözlenmiştir [Gamage ve Shahidi, 2007].

Metal iyonunun etkisi: Adsorbentin adsorpsiyon yeteneği metal iyonlarına göre seçicilik göstermektedir. Cu^{2+} iyonunun Cd^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarına kıyasla daha küçük olmasından dolayı selüloz kitin boncukları üzerine daha hızlı adsorbe ve deadsorbe olmaktadır [Zhoua vd., 2004].

Karıştırma hızının etkisi: Karıştırma hızı farklı metal iyonları üzerinde farklı etkiler yaratmaktadır [Schmuhl vd., 2001; Benguella ve Benaissa, 2002]. Örneğin; krom iyonlarının adsorpsiyonunda istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmazken bakır iyonları üzerinde istatistiksel ayrıma rastlanmıştır [Schmuhl vd., 2001]. Çok düşük (0 rpm) ya da çok yüksek karıştırma hızı (1250 rpm) kitinin kadmiyum sorpsiyon kapasitesini azaltırken, en fazla kadmiyum çıkarma (12.5 mg/g)

hızının 400 rpm'de gerçekleştiği bildirilmiştir [Benguella ve Benaissa, 2002]. Kitosan ile kaplanmış palmye tohum kabuğu kömürünün kromun iyonlarını çıkarmadaki etkinliği 0-200 rpm'lik karıştırma hızı ile sağlanırken optimal karıştırma hızının 150 rpm'de gerçekleştiği saptanmıştır [Nomanbhay ve Palanisamy, 2005].

Sıcaklığın etkisi: Sorpsiyon kapasitesi üzerine sıcaklığın etkisi farklılık göstermektedir. Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} iyonlarının kitin ve kitosan tarafından adsorpsiyonları sıcaklıktan önemli derecede etkilenmektedir [Keleşoğlu, 2007]. Kadmiyum iyonunun kitin tarafından adsorpsiyonunda sıcaklığın belirli oranlarda artması adsorpsiyon kapasitesini bir dereceye kadar arttırmakta sonrasında ise düşüş göstermektedir (10°C'de 5.54 mg/g, 20-30°C'de 12.5 mg/g, 40°C'de 10.48 mg/g, 50°C'de ise 8.87 mg kadmiyum/g kitin) [Benguella ve Benaissa, 2002].

2.6.2. Kitosanın Antimikrobiyal Özelliğinin Araştırılması

Gıdalara eklenen antimikrobiyal maddeler; gıdalarda istenmeyen, ancak herhangi bir nedenle bulunma olasılığı olan bakteri, küf, maya, patojen ve patojen olmayan zararlı her türlü mikroorganizmayı yok ederek, gelişmelerini durdurarak veya öldürücü etki yaparak, gıdalar üzerinde koruyucu etki yaratmaktadır [Mahan, 2007]. Yenilebilir paketleme materyali ve katkı maddesi olması nedeni ile gıda sektöründe tercih edilen kitosan ve türevlerinin antimikrobiyal etki mekanizması şu şekilde açıklanmaktadır: Kitosan moleküllerinin (+) yüklü olması, mikrobiyal hücrelerin ise (-) yüklü olması bunlar arasında etkileşimin oluşmasına, hücre duvarının geçirgenliğinin değişmesine ve intraselüler içeriğin hücre dışına sızmasına neden olmaktadır [Fernandez-Kim, 2004; Peker vd., 2006; Mahan, 2007]. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesini; kitosanın fizikokimyasal özelliği (deasetilasyon derecesi, moleküler ağırlığı, elde edildiği ham madde, viskozite vb), uygulanan derişimi, gıdanın bileşimi, kullanılan işlem basamakları, pH, depolama sıcaklığı ve bakteri türü etkilemektedir. Nişastalı gıdaların kitosanın antimikrobiyal özelliğini olumsuz etkilediği, ortamın pH'ı düşüktü ve kitosan derişimi arttıkça proteinlerle kitosan etkileşiminin arttığı ve yağlar üzerinde ise herhangi bir koruyucu etki yaratmadığı bildirilmiştir [Shahidi vd., 1999; Mahan, 2007].

Gıda maddelerinin dayanıklılığını ve güvenilirliğini sağlamak için kullanılan doğal koruyucu maddelerden biri olan kitosanın antimikrobiyal özelliğinin belirlenmesine yönelik birçok çalışma mevcuttur. *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine kitosan filmleri önemli düzeyde inhibe edici etki yapmaktadır [Torlak ve Nizamlioğlu, 2011]. Kitosan koliform ve *Pseudomonas spp.* gibi mikroorganizmaların büyümesini engellemesine karşın laktik asit bakterileri üzerine böyle bir etki yaratmamıştır [Alteri vd., 2005]. *Bacillus cereus*'un bakterisidal etkiye maruz kalması için besi yerlerine eklenecek yeterli kitosan derişimi %0.02, *S.epidermis* için %0.1, *S.aeruginosa* ve *P.aeruginosa* için %1, *S. aureus* için %1–1,5, *E.coli* ve *Proteus vulgaris*'in için ise %0,0075 ve üzerinde olması gerekmektedir [Shahidi vd., 1999]. *B. cereus*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *S.s aureus*, *Vibrio cholerae* ve *V. parahaemolyticus* türleri için yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanın en düşük letal dozunun 50–200 ppm olduğu bildirilmiştir [Coma vd., 2003]. *Listeria monocytogenes* türü bakterilere farklı derişimlerde (%1 ve %2) uygulanan kitosan filmlerinin antimikrobiyal etki yarattığı, bununla birlikte kitosanın deasetilasyon derecesinin (%80-90) önemli olmadığı vurgulanmıştır [Cooksey, 2005]. Mozzarella peynirine imalat esnasında eklenen kitosanın koliformlar ve *Pseudomonas spp.* gibi bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini engellemesine karşın laktik asit bakterileri üzerine etki yaratmadığı gözlenmiştir [Altieri vd., 2005].

Gr(-) bakteriler taze balığın aerobik koşullarda buzdolabında depolanması süresince bozulmasından birincil olarak sorumlu bakterilerdir [Ojagh vd., 2010]. Kitosan film kullanarak $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün muhafaza edilen palamut balığı filetolarında aerobik bakteri büyümesi, *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* bakteri sayıları kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu belirlenmiştir [Hisar vd., 2008].

Cao vd. (2009), *Crassostrea gigas* türü istiridye etinden izole edilen 13 bakteri türleri katı besi yerine ekilerek üzerlerine farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltileri emdirilmiş kağıt diskler (kitosan, saf su emdirilmiş ve kontrol grubu diskler) yerleştirilmiştir. 25°C 'de 48 saat inkübasyon süresi sonunda disklerin etrafında oluşan zon çaplarının ölçülmesi ile kitosanın konsantrasyonu arttıkça inhibisyon özelliği de artış gösterdiği saptanmıştır. Araştırmacılar 5 ve 10 g/l

konsantrasyonun etkisini benzer bulurken, en iyi etkiyi 5 g/l kitosan çözeltisinin gösterdiğini belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada, farklı deasetilasyon derecesine sahip kitosan çözeltilerine batırılarak buzdolabı koşullarında depolanan somon balığı parçalarının raf ömrünün kitosanın deasetilasyon derecesindeki artışa paralel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir [Tasai vd., 2002]. Balık köftelerine eklenen %1'lik kitosan çözeltisinin buzdolabında depolama süresince mikroorganizmaların gelişimini önlemede başarılı olduğu gözlenmiştir [Kok ve Park, 2007].

2.6.3. Kitosan Uygulamanın Balıkların Raf Ömrü Üzerine Etkisinin Araştırılması

Bozulma gıdanın yapısı, koku, tat ve görünümünde meydana gelen olumsuz değişimler olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, ürünün kimyasal ve mikrobiyolojik olarak bozulması kalitede dolayısı ile ekonomik anlamda kayıplara yol açmaktadır. Gıda maddesinin raf ömrü üzerinde tür, mikrobiyolojik yük, sıcaklık, işleme teknolojisi, paketleme türü, ürünün kimyasal kompozisyonu, personel hijyeni vb faktörler etkili olmaktadır. Ürünlerin kalite düzeyleri hem mikrobiyolojik hem de kimyasal analizlerle belirlenmektedir. Kimyasal analizlerden Trimetil amin (TMA), Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N, toplam uçucu bazik azot) ve Tiyobarbiturik asit (TBA) analizleri ürün kalitesinin kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Doymamış yağ asitleri içeren balık yağı ışık, ısı ve bazı ağır metallerin katalitik etkisiyle atmosferik oksijenle birleşerek kolayca oksitlenmekte ve bozulmaktadır. Oksidasyon sonucunda duyusal olarak acılaştıran yağlar renk ve aromada olumsuz değişimler ile fark edilmektedir [Korkut vd., 2007]. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu belirlemek amacıyla uygulanan TBA analizi ile bozulma ürünü olarak oluşan malonaldehit bileşiğinin miktarı hesaplanmaktadır. TBA reaktifi ve malonaldehit reaksiyona girerek oluşan pembe rengin şiddeti spektrofotometrik yöntemle ölçülmektedir. TBA değerinin "tüketilebilirlik sınır değeri" 7-8 mg malonaldehit/kg olup, "çok iyi" bir örnekte 3'ten az, "iyi" örnekte ise 5'ten az olması istenmektedir [Tarladgis, 1960]. Balıkların lipid içeriği arttıkça TBA değeri de artış göstermektedir [Tokur vd., 2006].

Depolama çalışmalarında yaygın kullanılan parametrelerden biri olan TVB-N analizi ürün kalitesinin belirlenmesine yöneliktir. Miktarı, işleme yöntemi,

depolama sıcaklığı, balık türü, mevsim, cinsiyet ve yaşa bağlı olarak değişim göstermektedir. Taze balık etinde dahi bir miktar bulunmaktadır. Balık türlerine bağlı olarak miktarı depolama süresince düzensizlik gösterebilmektedir. TVB-N değerinin belirlenmesinde farklı yöntemler kullanılmakta olup aynı balık örneğinde farklı sonuçlar tespit edilebilmektedir. TVB-N tüketim sınır değeri 25-35 mg TVB-N/100 g aralığındadır [Çaklı vd., 2003].

TMAO (Trimetil aminoksit), su ürünlerinde protein olmayan azot fraksiyonu bileşiklerden biridir ve enzimatik ya da mikrobiyal bozulmaya bağlı olarak TMA'ye indirgenmektedir. TMA-N miktarı balık türü, sıcaklık, kas türü, işleme türü ve balığın yakalandığı mevsime göre değişim göstermektedir. Tek başına amonyak benzeri bir kokuya sahipken, balık dokusundaki yağlarla reaksiyonu sonucunda bozulmuş balık kokusundan sorumlu olmaktadır. TMA miktarı bakımından sardalya balıkları 4 mg/100 g'a kadar "iyi", 10 mg/100 g'a kadar "pazarlanabilir", 12 mg/100 g'dan sonra "bozulmuş" olarak sınıflandırılmaktadır [Ababouch vd., 1996; Serdaroğlu ve Deniz, 2001].

Herhangi bir koruyucu madde eklenmeden depolanan balıkların raf ömrünün belirlenmesine yönelik birçok araştırma mevcuttur. Özden ve Gököğlu (1997), baş ve iç organları temizlenmiş *S. pilchardus*'un $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 11 gün muhafazası süresince TBA değerinin artış göstererek tüketim sınır değerini aştığını ve bu koşullardaki balıkların raf ömrünün 6 gün olduğunu tespit etmişlerdir. *S. pilchardus*'un buzdolabında muhafazası süresince kimyasal ve mikrobiyolojik değerleri artış göstererek raf ömrünü 6 gün [Erkan vd., 2006], başka bir çalışmada ise 3 gün olarak belirlenmiştir [Özoğul vd., 2004; Özoğul ve Özoğul 2006].

Şimat vd. (2009), taze *S. pilchardus*'un TVB-N ve TMA-N değerini sırasıyla 13.5 ve 3.0 mg/100 g olarak belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar -18°C 'de 12 ay depolama süresi sonrasında balıkların bu değerlerini 21.5 ve 14.7 mg/100 g'a ulaştığını, ayrıca TMA sonuçlarından filetoaların tüketim sınırını aştığını tespit edilmişlerdir.

Erkan ve Özden (2008), bütün olarak ve iç organları çıkarılan *S. pilchardus*'un $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 9 gün muhafazası süresince mikrobiyal, TMA ve TVB-N değerleri bakımından tüketim sınırları içinde olduğunu buna karşın, TBA ve duyu analizi değerlerinin 7. günden sonra tüketim sınırını aştığını saptamışlardır. Ayrıca

bütün olarak muhafaza edilen sardalyaların iç organları temizlenen örnek grubuna kıyasla depolama süresince daha yüksek TVB-N ve TMA değerlerine sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Çaklı vd. (2003), no-frost koşullarda 140 gün süresince depolanan *S. pilchardus*'un TBA, TVB-N ve duyusal değerlerinin tüketim sınırına ulaşmadığını, bunun yanı sıra depolama süresince filetoların duyusal değerlerinin kimyasal analiz değerlerine kıyasla daha hızlı bir ilerleme gösterdiğini gözlemişlerdir.

Balıkların muhafazasında yaygın olarak kullanılan dondurarak depolama yöntemi, balık etindeki biyokimyasal değişimleri yavaşlatmasına karşın sardalya gibi yüksek yağ içeren balıklarda bazı problemlere (lipit oksidasyonu gibi) neden olmaktadır. Koruyucu madde kullanımı ile bu problemlerin önüne geçilebilmekte, aynı zamanda bu maddelerin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle balığın raf ömrünün uzamasına yardımcı olabilmektedir. Birçok araştırmacı tarafından koruyucu madde olarak kitosan kullanımı ile yapılan depolama çalışmalarında balık filetolarına kitosan uygulamanın mikrobiyal gelişimi [Jeon vd., 2002; Alak vd., 2010; Duan vd., 2010], duyusal kalite kayıplarını [Fan vd., 2009] ve kimyasal kalite kontrol parametrelerinin (TVB-N, TBA ve TMA) gelişimini yavaşlattığı bildirilmiştir [Muşabak, 2008; Duan vd., 2010]. Hisar vd. (2008), $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 15 gün muhafaza edilen palamut balığı filetoları üzerine kitosan film kullanımının TVB-N, TMA ve TBA değerleri üzerinde önemli bir etki yaratmadığı gözlemişlerdir.

Fan vd. (2009), iç organları çıkarılarak ve kitosan ile kaplanarak (%1 asetik asit çözeltisi ve %2 kitosan çözeltisi) 3°C 'de 30 gün depolanan *Hypophthalmichthys molitrix* filetolarının kimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarından filetoların iyi kalitelerini devam ettirdiklerini, kontrol grubu örneklerin ise depolamanın 25. gününde tüketim sınır değerini aştığını belirlemişlerdir.

Muşabak (2008), %2'lik kitosan uygulanan palamut balığı (*Sarda sarda*) filetolarının $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 12 gün depolama süresince filetoların TBA değerlerinin üçüncü gününden sonra hızla artış gösterdiğini, TVB-N değerinin ise diğer gruplara kıyasla (modifiye atmosfer paketleme, vakum paket ve kontrol grubu) daha yavaş artış gösterdiğini bildirmiştir. Araştırmada ayrıca, örneklerin TVB-N ve TBA değeri üzerine depolama süresinin önemli etki yarattığı ve kitosanla kaplamanın filetoların

bozulmasını önlediği saptanmıştır. Kitosanla kaplanan örneklerin depolama süresince yüksek TBA değerine sahip olması, kitosan çözeltisinde kullanılan asitin filetoların oksidasyonunu hızlandırdığı ve bu nedenle kitosanın antioksidant değil prooksidant olarak etki göstermesi ile açıklanmıştır.

Ojagh vd. (2010), farklı konsantrasyonlarda kitosan ve tarçın yağı karışımı uygulanan gökkuşağı alabalığı filetolarının $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16 gün depolanması süresince iyi kalitelerini sürdürdüklerini gözlemişlerdir.

Jeon vd. (2002), *Gadus morhua* ve *Clupea harengus* filetolarına farklı viskoziteye sahip kitosan çözeltisi (%1) uygulayarak $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 12 gün depolanmışlardır. Çalışma sonuçlarından yenilebilir film materyali olarak balık filetolarına kitosan çözeltisi uygulamanın nem kaybını, lipit oksidasyonunu ve mikrobiyal büyüme üzerine koruyucu ya da indirgeyici etki yarattığını, ayrıca kitosanın viskozitesi arttıkça koruyucu etkinin arttığını belirlemişlerdir.

Cao vd. (2009), *Crassostrea gigas* türü istiridye etinin $+5\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması süresince TVB-N değerinin kontrol grubunda sürekli artış gösterdiğini, ancak kitosan uygulanan gruptaki artışın ilk birkaç gün daha yavaş olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, kontrol grubu örneklerin 8. günde ulaştığı değere kitosan uygulanan grubun 14. günde ulaştığı saptanmıştır. Duyusal analiz sonuçlarından depolamanın ilk birkaç günü gruplar arası farklılık gözlenmediği, 4. günden sonra kontrol grubunun değerlerinin hızla artarak 10. günde tüketim sınırını aştığı, kitosan uygulanan grubun ise 15. güne kadar tüketilebilirlik değerini koruduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Kaplama materyali olarak kitosan filmi kullanımının plastik materyallere benzer etki yarattığı yapılan bir çalışmada bildirilmiştir [Kittur vd., 1998]. Farklı derişimlerde kitosan (50, 100 ve 200 ppm) uygulanmış pişmiş morina balığı filetolarının depolama süresince (4°C 'de 12 gün) ölçülen bozulma değerlerinin kitosan derişimi arttıkça azaldığı gözlenmiştir [Shadi vd., 2002].

2.7. SU ÜRÜNLERİ ATIK KABUKLARININ KAROTENOİD İÇERİĞİ

Su ürünleri atık kabuklarının yapısal bileşenlerinden biride karotenoidlerdir. Doğada 600'ü aşkın farklı karotenoid türü mevcuttur. Bu bileşikler mikroorganizmalar, algler ve yüksek bitkilerde, ayrıca hayvanlarda balık etinde ve kabuklu canlıların kabuklarında yer almaktadır [Ausich, 1997]. Kabuklu canlıların kabuklarında bulunan pigmentler kitin ile kompleks halde (4-keto ve 3,4,4'-diketo- β -karoten türevleri) bulunmaktadır. Atık kabuklardan elde edilen astaksantin ticari öneme sahip olup özellikle somon balığı yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Atık kabuklardan saflaştırılmış pigment elde etmenin maliyeti 100 €/g'dır. Kabuklardan pigmentleri uzaklaştırmak için özellikle aseton en yaygın kullanılan kimyasal maddedir [Fernandez-Kim, 2004].

Xiphopenaeus kroyeri atık kabuklarından astaksantin kazanımı (atığın kuru ağırlığı üzerinden) 4.7-5.7 mg/100 g olup, bu değer uygulanan metoda göre farklılık göstermektedir [Hollanda ve Netto, 2006].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Doktora tez çalışmasında izlenen program şu şekilde gerçekleşmiştir:

- Tezin Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince Desteklenmesi
- Deneysel Kullanılacak Kimyasal ve Ekipmanların Temin Edilmesi
- Deneysel Kullanılacak Ham Materyallerin Temin Edilmesi
- Yumuşakça ve Eklem Bacaklı Atık Kabuklarından Kitin ve Kitosan Üretimi
- Atık Kabuk, Kitin ve Kitosan Örneklerinin Kimyasal ve Fiziksel Analizleri
- Atık Kabuklarda Karotenoid Analizi
- Sardalya Filetolarının Raf Ömrü Üzerine Kitosanın Etkisinin Belirlenmesi
- Kitin ve Kitosanın Metal Çözeltilerden Metal İyonu iyonlarını [Kromun (+6) değerlikli bileşiği olan $K_2Cr_2O_7$ 'ın sulu çözeltisi ve Kadmiyumun (+2) değerlikli bileşiği olan $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ 'ün sulu çözeltisi kullanılarak] Tutma Kapasitelerinin (%) Belirlenmesi

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR ve KİMYASAL MADDELER

Çalışmada kullanılan kimyasallar Merck, Sigma, Fluka, Aldrich, J.T. Baker, Acros, Riedel-de Haën markalarından birine sahip olup, tümü analitik saflıktadır. Doktora deney materyallerinden elde edilen kitin ve kitosanın fiziksel ve kimyasal analizlerinde kontrol grubu olarak ticari formları [Sigma-C7170-100G, Chitin from shrimp shells ($C_8H_{13}NO_5$)_n; Sigma-28191-25G, chitosan from crab shells $C_{12}H_{24}N_2O_9$] kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan cihazlar ise marka-model olarak Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Marka Model
Çeker Ocak	-
Etüv	Nüve FN-400
Su Banyosu	P-Selecta-Precisdig
Santrifüj	Sigma 2-5
Kül Fırını	Protherm
Kjeldahl Ünitesi	VELP Makro /DK6esi
Sonic Homojenizatör	IKA-WERKE Ultra Turrax T-25 Basic
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1208I
İnkübatör	Nüve Cooled Incubator ES-250
Buzdolabı	Beko-BK-7701 T
Dondurucu	Ariston DEBO37
Otoklav	HMC Hirayama
Desikatör	-
Hassas Terazi	Scaltec SPB31
Araştırma Mikroskopu	Nikon Eclipse 80i
Saf Su Cihazı	Comecta Destilation
Manyetik Karıştırıcı ve Isıtıcı	Velp Scientifica ARE Heating Magnetic Stirrer
Analitik Kaba Terazi	Shimadzu LIBROR EB-620SU
Vorteks	Velp Scientifica Rx ³
Parçalayıcı	Waring Commercial Blender
Fotoğraf Makinesi	Nikon Coolpix L3
ICP-MS	Agilent 7500ce

3.2. DENEY MATERYALLERİ

Deneysel materyal olarak mavi yengeç, sübye iç kabuğu ve manta karidesi atık kabukları seçilmiştir (Şekil 3.1).



Mavi Yengeç



Manta Karidesi



Sübye İç Kabuğu

Şekil 3.1. Tez Materyalleri

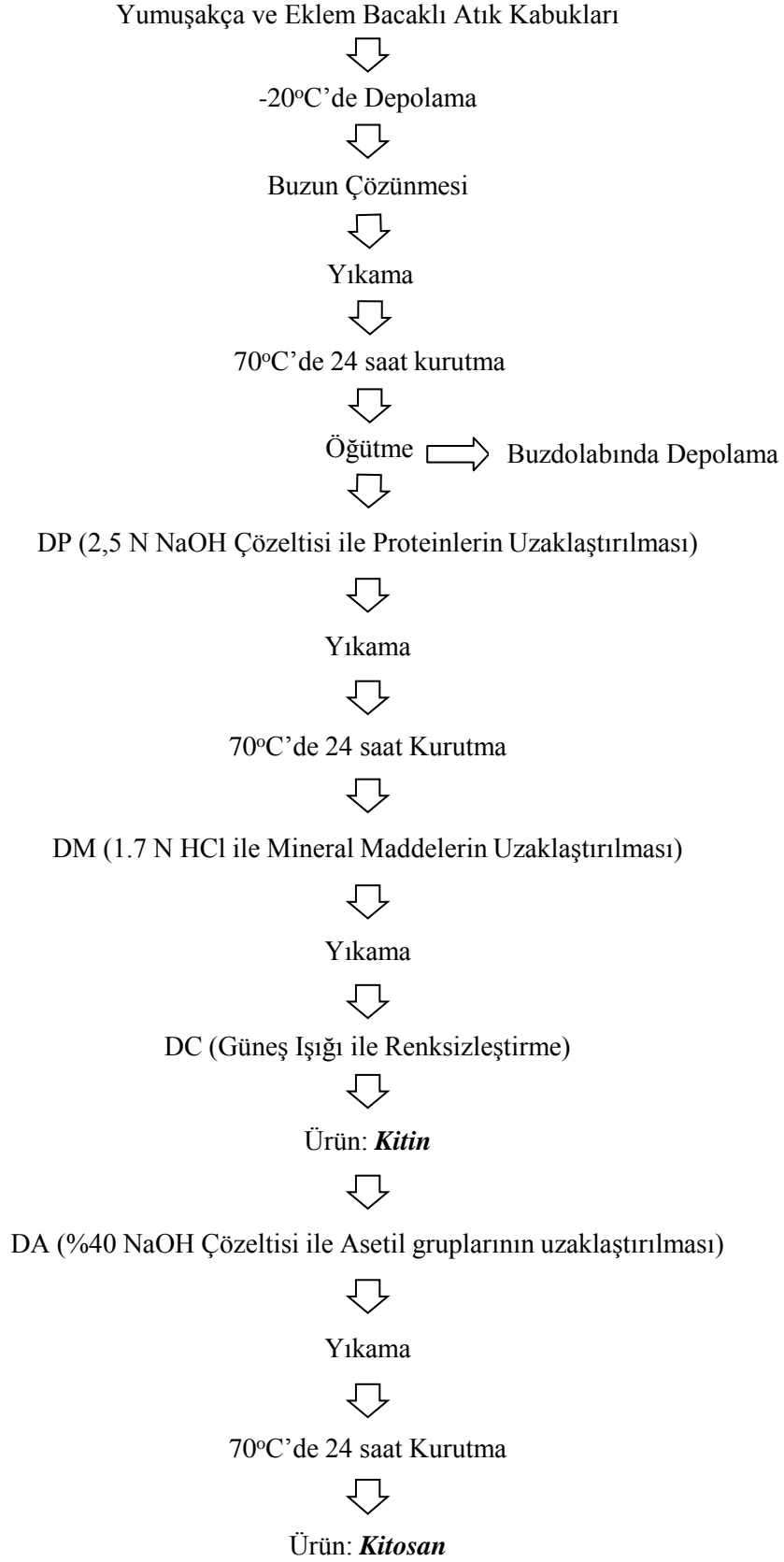
Yengeçler dünya genelinde avlanan eklem bacaklıların %20'sini oluşturup 1,5 milyon tonun üzerinde pazar miktarına sahiptir. Mavi yengeç, eti tüketilen popüler bir yengeç türüdür. Karapaks olarak adlandırılan ve canlının vücudunu koruyan kalın dış iskeletin genişliği yetişkin erkek bireyde ortalama 20,9 cm, dişide ise 20,4 cm'dir. Vücudun alt kısmında toplam beş çift bacak bulunup bunların ilk çifti kıskaç şeklini almıştır. Bacaklar ve karapaks kitin hammaddesi olarak araştırmalarda ve ticari üretimde kullanılmaktadır. Sistematikteki yeri ise şu şekildedir: Alem: Animalia, Şube: Arthropoda, Alt şube: Crustacea, Sınıf: Malacostraca, Takım: Decapoda, Familya: Portunidae, Cins: Callinectes, Tür: *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) [Zinski, 2006; FAO, 2012].

Balıkçılar tarafından ıskarta ürün olarak değerlendirilen ve yüksek kitin içeriğine sahip Stomatopodların dünya çapında bilinen 450 türü mevcuttur. Akdeniz'de yıllık 7000 t avlandığı, avlanan miktarın %85'ini İtalya'nın kıyı sularında olduğu bilinmektedir. Genellikle 300 m'ye kadar derin denizel sularda yaşayan Stomatopodların boyları ortalama 27 cm olup bazı türlerde 55 cm'i bulabilmektedir [Anonim, 2008]. Vücut yapısı karidese benzetilmekte olup bu nedenle mantis shrimp, katil karides ya da deniz çekirgesi olarak isimlendirmektedir. Sistematikteki yeri ise şu şekildedir: Sınıf: Malacostraca, Subclass: Hoplocarida, Order: Stomatopoda, Suborder: Unipeltata, Superfamily: Squilloidea, Family: Squillidae [Cunningham vd., 2008].

Sübye ya da bilinen adıyla mürekkep balıkları sırt derilerinin altında küçük gözenekli bir kabuğa sahiptir. İç kabuk büyük oranda kalsiyum-magnezyum karbonat, az miktarda ise kitinden oluşmuştur. Sefalopodların (Cephalopod) bu iç kabukları β -kitin yapısında olmasından dolayı oldukça değerlidir. Sübye kafadan bacaklılar sınıfının onkollular grubundandır. Sistematikteki yeri ise Alem: Animalia, Şube: Mollusca, sınıf: Cephalopoda şeklindedir. Canlının ağız bölgesinden çıkan on adet kolları vardır. Ağız bölgesinde papağan gagasına benzeyen sert bir yapı mevcuttur. Boyları türlere göre değişmekle birlikte ortalama 50-60 cm'dir [Anonim, 2012].

3.3. KİTİN ve KİTOSAN ÜRETİM AŞAMALARI

Deneme materyalleri MEÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalında Doktora yapan Arş.Gör. A.Sezai BOZAOĞLU'nun ıskarta ürün olarak değerlendirdiği tez materyallerinden ve Mersin Balık Pazarından temin edilmiştir. Örnekler avlanmalarının hemen sonrasında MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi İşleme Laboratuvarına getirilerek yeterli miktarda toplanıncaya kadar dondurucuda depolanmıştır. Atık kabuklardan saflaştırılan kitin ve kitosan üretim basamakları Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Atık Kabuklardan Kitin ve Kitosan Üretim Basamakları

Atık kabuklardan kitin ve kitosan üretimi öncesinde kabuklar donduruldukları ortamdaki sıcaklığında çözünmeleri sağlanmıştır. Karotenoid analizinde kullanılacak örnekler ise analiz gününe kadar depolandıkları ortamda bırakılmıştır. Çözünen kabuklar yıkanarak üzerindeki suda çözünebilir maddeler uzaklaştırılmıştır. Sonra 70°C’de 24 saat kuruması için bekletilmiştir. Kuruyan kabuklar öğütücüde öğütüldükten sonra, plastik saklama kaplarına aktararak buzdolabı koşullarında depolanmıştır. Örneklerin bir kısmı kitin ve kitosan ekstraksiyonunda, bir kısmı ise biyokimyasal analizlerde kullanılmıştır. Kabuklardan kitin ve kitosan ekstraksiyonunda Chang vd. (1997)’nin kullandığı yöntem uygulanmıştır.

DP işleminde atık kabuklar 2.5 N’lik NaOH çözeltisi içinde 6 saat bekletilmiştir. Bu işlemin ardından örnekler süzülerek bol su ile yıkanmış ve 70°C’ye ayarlanmış kurutma fırınında 24 saat bekletilmiştir.

DM işlemi için DP aşamasından geçen kabuklar 1.7 M HCl çözeltisinde 6 saat bekletilmiştir. Bu işlemin ardından örnekler süzülerek bol su ile yıkanmıştır.

DC amacı ile DM aşamasından geçen örnekler güneşte bekletilerek "renksizleştirme" işlemine tabi tutulmuştur. Bu aşamanın ardından “kitin” olarak sınıflandırılan örneklerin bir kısmı biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere ayrılırken, bir kısmı da kitosan üretimi için kullanılmıştır.

DA basamağında, kitin örneği %40’lık NaOH çözeltisinde yaklaşık 100-130°C’de bekletilmiştir. Bu işlemin ardından örnekler süzülerek bol su ile yıkanmıştır. 70°C’ye ayarlanmış kurutma fırınında 24 saat bekletildikten sonra elde edilen ve “kitosan” olarak adlandırılan ürün biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere saklama kaplarına aktarılmıştır.

Yukarıda anılan işlem basamaklarının öncesi ve sonrasında örnek ağırlıkları kaydedilmiştir. Sonra, bu miktarlarından atık kabuğun kitine dönüşüm oranı (%), atık kabuğun kitosana dönüşüm oranı (%) ve kitinin kitosana dönüşüm oranı (%) materyal türüne göre orantı kurularak hesaplanmıştır.

3.4. FİZİKOKİMYASAL ANALİZLER

Deney materyallerine (atık kabuk, kitin ve kitosan) uygulanan fizikokimyasal analizler Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Atık Kabuk, Kitin ve Kitosana Uygulanan Analizler

Analiz Adı	Örnek Grubu		
	Kabuk	Kitin	Kitosan
Nem Analizi	X	X	X
%Nitrojen İçeriği (%N)	X	X	X
Ham Protein Analizi	X	-	-
Ham Kül Analizi	X	X	X
Ham Yağ Analizi	X	X	X
Karotenoid Analizi	X	X	X
Yağ Bağlama Kapasitesi	-	X	X
Su Bağlama Kapasitesi	-	X	X
Kalsiyum ve Magnezyum İyon Analizi	X	-	-
Hacim Yoğunluğu	-	X	X
Potansiyometrik Analiz	-	-	X

X işareti, belirtilen analizin örnek grubuna uygulandığını göstermektedir.

3.4.1. Nem Analizi

Analiz öncesinde 103°C’deki etüvde kurutularak darası alınan petri kapları içerisine 10 g örnek alınarak 70°C’deki etüvde yaklaşık 14 saat kurumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda petri kapları desikatöre alınarak soğutulmuştur. Örnekler sabit ağırlığa gelince 0.01 mg’a duyarlı terazide tartılmıştır. Örnekteki %Nem miktarı aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır [AOAC, 1995].

$$\% \text{ Nem} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A= Yaş örnek ağırlığı (g)

B= Kuru örneğin ağırlığı (g)

3.4.2. %Nitrojen İçeriği (%N) ve Ham Protein Analizi (%HP)

Kjeldahl metodu ile protein analizi için yaklaşık 1 g örnek alınarak Kjeldahl yakma tüpleri içerisine aktarılmıştır. Örneklerin üzerine 1 adet Kjeldahl katalizör tableti ve 10 ml derişik H₂SO₄ eklendikten sonra tüpler 420°C'deki Kjeldahl yakma ünitesine yerleştirilmiştir. Yakma işleminden sonra üniteden çıkarılan örnekler oda sıcaklığına gelinceye kadar soğuması için bekletilmiştir. Daha sonra, 25 ml saf su eklenen tüpler distilasyon ünitesine yerleştirilerek üzerine 50 ml %35'lik NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından 25 ml %4'lük borik asit içeren dereceli bir erlen distilasyon ünitesinin çıkışına yerleştirilmiş ve erlen içerisindeki toplam hacim 150 ml oluncaya kadar distilasyon işlemi uygulanmıştır. Toplanan distilata 10 damla indikatör çözelti damlatılarak distilatın rengi yeşil renkten kırmızı-pembe rengini alıncaya kadar 0.2 N HCl çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyonda harcanan HCl miktarı aşağıdaki formülde yerine konularak örneğin %N ve %Ham protein miktarı hesaplanmıştır [AOAC, 1995].

$$\% N = \frac{1,401 \times V \times N}{M}$$

$$\% \text{ Ham Protein} = \% N \times 6,25$$

V = Titrasyonda harcanan HCl miktarı (ml)

N = Kullanılan HCl'in Normalitesi

M = Kullanılan örnek miktarı (g)

%N= NH₃-N

3.4.3. Ham Kül Analizi

Numaralandırılarak darası alınan porselen krozeler içerisine homojenize edilen örneklerden 3-5 gram tartılarak konulmuştur. Krozeler kül fırınına yerleştirilerek 550°C'de beyaz kül oluşuncaya kadar yakma işlemi uygulanmıştır. Bu süre sonunda kül fırınından çıkarılan örnekler desikatöre yerleştirilmiştir. Sabit tartıma gelen örnekler tartılmış ve elde edilen değer aşağıdaki formülde yerleştirilerek örneğin ham kül içeriği hesaplanmıştır [AOAC, 1995].

$$\% \text{ Ham Kül} = \frac{A - B}{C - B} \times 100$$

A= Kroze + kül ağırlığı (g)

B= Kroze ağırlığı (g)

C= Kroze + örnek ağırlığı (g)

3.4.4. Ham Yağ Analizi

Bligh ve Dyer kloroform metanol (2:1) lipid ekstraksiyon metoduna göre yaklaşık 0.3 g örnek alınarak 100 ml hacimli cam tüpe aktarılmıştır. Üzerine sıra ile 8 ml kloroform, 16 ml metanol ve 6.4 ml saf su eklenmiştir. Homojenizatör (Ultraturax) ile yaklaşık 3 dakika homojenize edilmiştir. Üzerine 8 ml kloroform eklenerek 30 saniye tekrar homojenize edilmiştir. Sonra 8 ml saf su eklenerek 30 saniye homojenizasyona devam edilmiştir. Tüpler santrifüje yerleştirilerek 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Tüpün dip kısmındaki kloroform tabakasından 4 ml alınarak önceden darası alınmış 10 ml'lik hacimli cam tüplere aktarılmıştır. Çeker ocak içerisine yerleştirilen tüpler 6 saat oda sıcaklığında kurutulmuştur. Bu süre sonunda tüpler tartılarak örneğin içerdiği yağ miktarı aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır [Bligh ve Dyer, 1959].

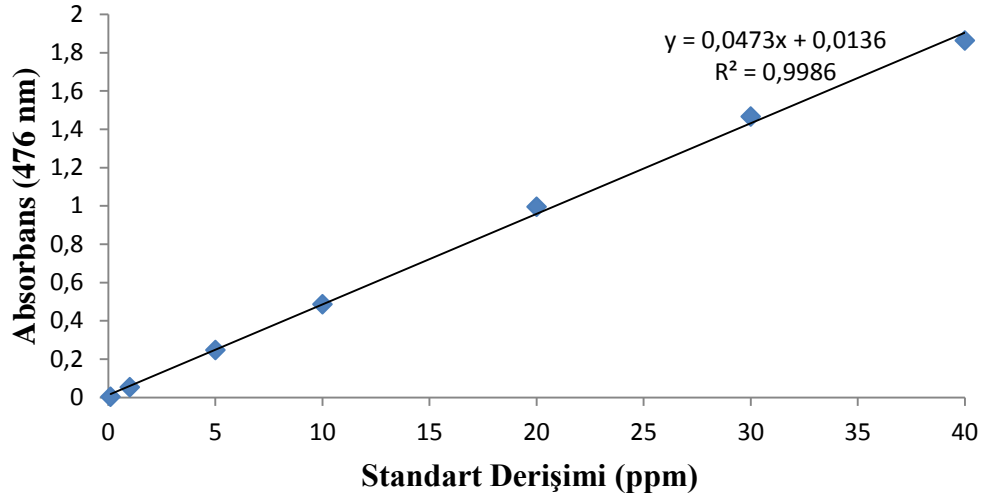
$$\text{Ham yağ (g)} = \frac{16}{4} \times \text{Toplanan yağ miktarı (g)}$$

$$\% \text{ Ham Yağ} = \frac{100 \times \text{Ham yağ (g)}}{\text{örnek miktarı (g)}}$$

3.4.5. Karotenoid Analizi

Karotenoid analizi için deney materyallerinin ham atık kabukları kullanılmıştır. Blender ile homojen hale getirilen örnekten 1 g alınarak 10 ml'lik cam tüpe aktarılmıştır. İçerisine 0.5 g susuz sodyum sülfat (NaSO₄) ve 5 ml aseton ilave edilerek cam bir baget ile iyice ezilmiştir. Tüpler çalkalayıcıda karıştırıldıktan sonra +4±1°C'lik buzdolabı koşullarında 3 gün bekletilmiştir. Bekleme süresi boyunca örnekler sabah-akşam çalkalanmıştır. Bu süre sonunda tüpler içerisindeki çözelti 10

ml'lik başka deney tüplerine aktarılmıştır. Kalan örnek üzerine ikinci kez 5 ml aseton daha eklenerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon için çözeltiler 10 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Buzdolabından çıkarılan çözeltiler 4000 devirde 15 dakika santrifüjlendikten sonra, aseton fazı ikinci bir deney tüpüne alınarak işlem tekrarlanmıştır. Örneklerin 476 nm'de absorpsiyon değerleri asetona karşı okunduktan sonra Şekil 3.3'de verilen regresyon eğrisinden yararlanarak karotenoid içerikleri hesaplanmıştır [Torrissen, 1984].



Şekil 3.3. Karotenoid Ölçümünde Kullanılan Regresyon Eğrisi

3.4.6. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)

Deney öncesinde 10-15 ml hacimli temiz cam santrifüj tüplerinin darası alınmıştır. İçerisine 0.5 g kitin ya da kitosan tartılarak eklenmiştir. Üzerine 10 ml yağ ilave edilmiştir. YBK üzerine yağ türünün etkisini belirleyebilmek amacı ile zeytin yağı, mısır özü ve ayçiçeği yağı kullanılmıştır. Vortekste 1 dakika karıştırılarak örneğin yağ içinde dağılması sağlanmıştır. Tüpler oda sıcaklığında 30 dakika süresince her 10 dakikada 5 sn süreyle kesikli karıştırılarak bekletilmiştir. Örnek çözeltiler 3500 rpm'de 25 dakika santrifüjlendikten sonra, süpernatant kısım süzülerek tüpler tekrar tartılmıştır. Elde edilen değer aşağıdaki formülde yerleştirilerek %YBK hesaplanmıştır [Fernandez-Kim, 2004].

$$\%YBK = \frac{\text{Tutulan Yağ Miktarı (g)}}{\text{Başlangıçtaki Örnek Ağırlığı (g)}} \times 100$$

3.4.7. Su Bağlama Kapasitesi (SBK)

Deney öncesinde 10-15 ml hacimli temiz cam santrifüj tüplerinin darası alınmıştır. İçerisine 0,5 g kitin ya da kitosan tartılarak eklenmiştir. Üzerine 10 ml su ilave edilmiştir. Vortekste 1 dakika karıştırılarak örneğin dağılması sağlanmıştır. Tüpler oda sıcaklığında 30 dakikalık periyotta her 10 dakikada 5 sn kesikli karıştırılarak bekletilmiştir. Ardından tüpler santrifüje yerleştirilerek 3500 rpm'de 25 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısım süzülerek tüpler tekrar tartılmıştır. Elde edilen değer aşağıdaki formülde yerleştirilerek %SBK hesaplanmıştır [Fernandez-Kim, 2004].

$$\%SBK = \frac{\text{Tutulan Su Miktarı (g)}}{\text{Başlangıçtaki Örnek Ağırlığı (g)}} \times 100$$

3.4.8. Kalsiyum ve Magnezyum İyon Analizi

Bu analiz ile atık kabuklardan kitin üretimi esnasında (DM işlem basamağında) ortama geçen kalsiyum ve magnezyum iyon miktarının hesaplanması amaçlanmıştır. Analiz şu şekilde gerçekleştirilmiştir: DM işlem basamağının bitiminde kabuklardan ayrılan karışım NaOH çözeltisi ile nötrleştirilmiştir. Nötrleştirme işleminde indikatör çözelti olarak metil kırmızısı kullanılmıştır. Bu çözeltinin 50 ml'si bir erlene aktarılmıştır.

Kalsiyum analizi için aynı erlen içerisine yaklaşık 2 ml pH-10 tampon çözeltisi, 1 ml Magnezyum şelat çözeltisi ve 2-4 damla Eriochrome black-T indikatör çözeltisi eklenmiştir.

Magnezyum analizi için ise erlen içerisine yaklaşık 1 ml pH-10 tampon çözeltisi ve 2-4 damla Eriochrome Black-T indikatör çözeltisi eklenmiştir.

Her iki analizde erlen içerisindeki örneğin rengi şarap kırmızısından saf mavi oluncaya kadar 0,01 F EDTA çözeltisi ile titre edilmiştir. Harcanan sarfiyat

aşğıdaki formülde yerine konularak çözeltinin içerdiği kalsiyum ve magnezyum iyon miktarı hesaplanmıştır [Baştürk, 2001]

$$[Mg^{+2}] \text{ (mg/L)} = \frac{(24,31/2) \times N \times V_{EDTA}}{0,025}$$

$$[Ca^{+2}] \text{ (mg/L)} = \frac{(40,00/2) \times N \times V_{EDTA}}{0,025}$$

V_{EDTA} : Titrasyonda sarf edilen EDTA çözeltisi miktarı, (ml)
N: EDTA çözeltisinin Normalitesi

3.4.9. Hacim Yoğunluğu Analizi

Daha önceden darası alınan 25 ml hacimli silindir bir tüp içerisine kitin ya da kitosan örneği aktarılmıştır (25 ml çizgisine kadar). Örnek aktarımında iki ayrı işlem uygulanmıştır. Birinci işlemde örnek tüpe aktarılırken tüpün dip kısmı zemine yavaşça vurularak örneğin tüp içersine iyice yerleşmesi sağlanmış, diğer işlemde ise bu kısım uygulanmamıştır. Ardından tüp ve örneğin ağırlığı alınarak kaydedilmiştir. Hesaplama mililitrede bulunan örnek gram cinsinden ifade edilmiştir [Fernandez-Kim, 2004].

$$\text{Hacim yoğunluğu (g/ml)} = \frac{\text{Örnek Miktarı (g)}}{25 \text{ (ml)}}$$

3.4.10. Potansiyometrik Analiz

Kitosanın deasetilasyon derecesini (DD) belirleyebilmek için potansiyometrik metot kullanılmıştır. Bu metotta 0,5 gram kitosan 0,1 M HCl çözeltisi ile çözülmüştür. Ardından çözeltiliye fenolftalein indikatörü damlatılarak 0,1 M'lık NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Hesaplama ise aşğıdaki formül kullanılmıştır [Jia ve Shen, 2002].

$$\% \text{NH}_2 = \frac{0,0,16 \times (C1 \times V1 - C2 \times V2)}{G \times (100 - W)} \times 100$$

$$\% \text{DD} = \frac{\% \text{NH}_2}{\% 9,94} \times 100$$

C1: HCl Konsantrasyonu (M)

C2: NaOH Konsantrasyonu (M)

V1: HCl Hacmi (ml)

V2: NaOH Hacmi (ml)

G: Örnek Miktarı (g)

W: Örnekteki Su Yüzdesi (%)

0,016: 1 ml 0,1 M HCl'e eşit NH₂ Miktarı (g)

%9,94: Teorik NH₂ Yüzdesi

3.5. AĞIR METAL UYGULAMASI

Çalışmada adsorbent olarak ticari kitin ve kitosan ile manta karidesi atık kabuklarından elde edilen kitin ve kitosan kullanılmıştır. Adsorbentlerin metal iyonlarını tutma kapasitelerini (%) belirleyebilmek amacıyla önce Cd⁺² ve Cr⁺⁶ ağır metallerinin 1000 ppm'lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu amaçla, analitik saflıkta bulunan CdCl₂.2.5H₂O ve K₂Cr₂O₇ formundaki bileşikler kullanılmıştır. Stok çözeltilerden belirlenen konsantrasyonlarda (0, 10, 25, 50, 75 ve 100 ppm) çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışma çözeltilerinin 50 ml'si 250 ml'lik erlene aktarılarak üzerine 0,1 gram adsorbent eklenmiştir. Ortamın pH derecesi 6.5'a ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 saat sabit karıştırma hızında gerçekleştirilen çalışma sonunda adsorbent 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan süpernatant kısım 1 N HNO₃ çözeltisi ile asitlendirilmiştir. Sulu çözeltinin içerdiği ağır metal iyon konsantrasyonları Mersin Üniversitesi MEİTAM'da (Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi) bulunan ICP-MS cihazı ile ölçülmüştür [Gamage ve Shahidi, 2007]. Adsorbent örneklerinin %metal iyonu tutma kapasitesi (%inhibisyon, %şelatlama aktivitesi/kapasitesi) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Adsorpsiyon (metal iyonu tutma kapasitesi) } = \frac{C_b - C_s}{C_b} \times 100$$

$$q = \frac{(C_b - C_s) \times V}{m}$$

C_b: Çözeltinin başlangıç metal iyon konsantrasyonu (mg/l)

C_s: Çözeltinin son metal iyon konsantrasyonu (mg/l)

q: Adsorbent tarafından tutulan metal iyon miktarı (mg metal iyon/ g adsorbent)

V: Çözelti hacmi (l)

m: Adsorbent ağırlığı (g)

3.6. BALIKLARIN RAF ÖMRÜNE YÖNELİK UYGULAMA

3.6.1. Kullanılan Besiyerleri

3.6.1.1. Jela byyon besiyeri

Bu besiyeri, deney materyali olarak kullanılan balıklarda koliform grubu bakterilerin üremelerini arttırmak, gram (+) bakterilerin üremelerini inhibe etmek amacıyla kullanılmıştır [Anonim, 1978].

İçeriği

Pepton	10 g
Laktoz	10 g
Safra Tuzu	5 g
Jansiyonmoru	0.04 g
Saf Su	1000 ml

3.6.1.2. MDCLS besiyeri

Enterobacteriaceae üyelerinin ayırt edilip izolasyonunda kullanılan MDCLS besiyeri Çolak ve Arıkan, (1990) tarafından önerilen şekilde ve aşağıdaki formülasyon kullanılarak hazırlanmıştır.

İçeriği

Pepton	10 g
Laktoz	10 g
Glukoz	1 g
Na-dezoksikolat	0.5 g
Na-tiyosülfat	0.5 g
Amonyum Fe (III) Sitrat	0.5 g
NaCl	3 g
Nötral kırmızısı	0.04 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

3.6.1.3. N1 besiyeri

İzole edilen bakterilerin çoğaltılması amacıyla kullanılan N1 besiyeri aşağıda verilen formülasyona göre hazırlanmıştır [Anonim, 1978].

İçeriği

Pepton	10 g
Glukoz	1 g
Maya Özütü	3 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

3.6.2. Deney Materyali

Kitosanın sardalya filetoları üzerinde koruyucu etkisinin araştırılması amacıyla materyal olarak sardalya balığı seçilmiştir. Mersin Balık pazarından satın alınan balıklar MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilmiştir. Denemede ortalama $13,01 \pm 2,08$ cm boy ve $22,21 \pm 2,64$ gram ağırlığındaki balıklar kullanılmıştır.

3.6.3. Taze Sardalya Balıklarında Bulunan Enterobacteriaceae Türü Mikroorganizmaların Tespiti

Mersin Balık Pazarından satın alınarak MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi Laboratuvarına getirilen sardalya balıklarında Enterobacteriaceae türü mikroorganizmaların olası tespiti için balıkların yüzeyinden steril eküvyon ile alınan örnekler önceden hazırlanmış olan jela-byon besiyerinde inoküle edilerek 37°C sıcaklığa ayarlanmış etüvde 4 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

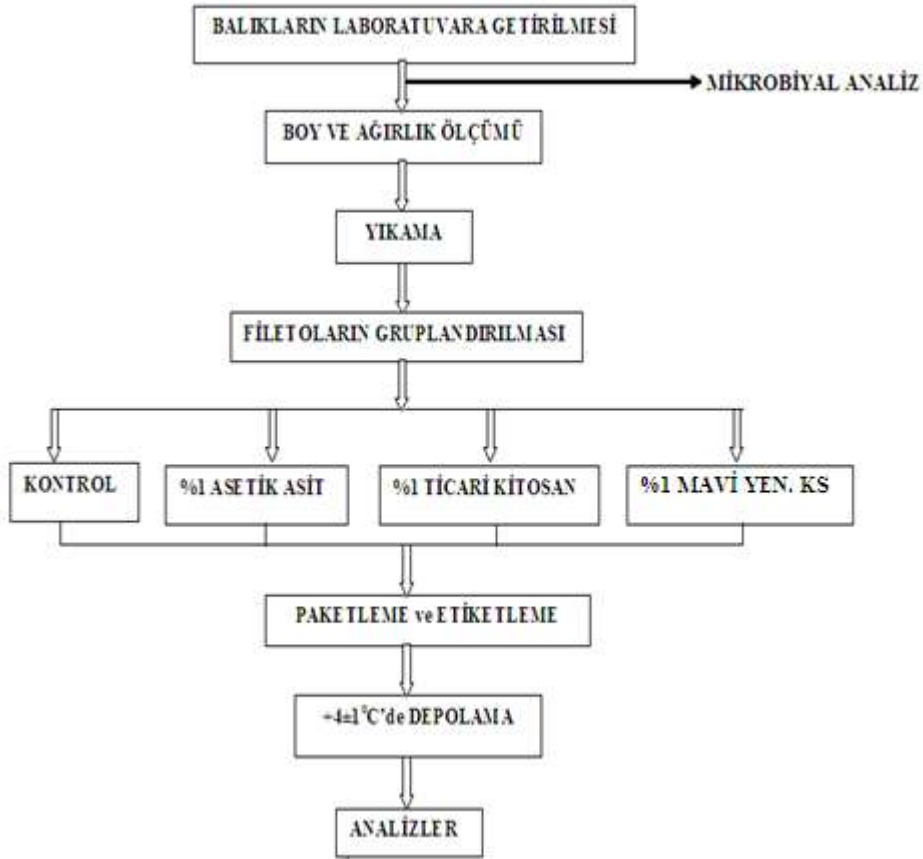
Bu süre sonunda bakteri örnekleri MDCLS-Agar besiyerine 10^{-6} - 10^{-7} oranında sulandırılarak yayılmış ve yeniden 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde üreyen kolonilerden koloni morfolojileri dikkate alınarak 50'şer adet seçilmiştir. Seçilen bu bakteriler Costin'in (1969) Enterobacteriaceae tanım anahtarına göre yapılmıştır. Biyokimyasal testlerle tanımı yapılan bakteriler N1 besiyerine alınıp çoğaltılmıştır. İdentifikasyonu yapılan saf kültürlerin gram boyamaları yapılarak elde edilen preparatlar 40-100 büyütme Nikon Eclipse 80i marka araştırma mikroskobu ile fotoğraflanmıştır.

3.6.4. Depolama Öncesinde Uygulanan İşlemler

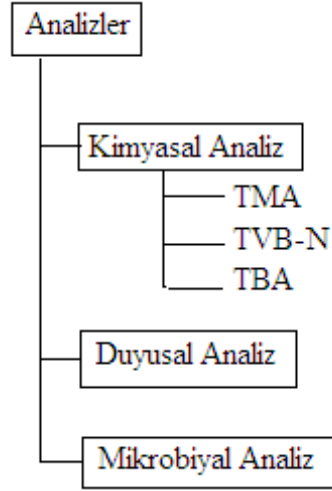
Mersin Balık Pazarından satın alınarak MEÜ. Su Ürünleri Fakültesi İşleme Laboratuvarına getirilen sardalya balıklarına uygulanan işlemler sırası ile Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Öncelikle balıkların yüzeyinde bulunan organik ve inorganik maddeler musluk suyu altında yıkanarak temizlenmiştir. Ardından el yardımı ile filetoları çıkarılmıştır. Kan ve benzeri atıkların temizlenmesi amacı ile musluk suyu altında yıkanan filetolar fazla sularını bırakması için yaklaşık 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Filetolar; kontrol, %1'lik asetik asit çözeltisi, %1'lik ticari kitosan çözeltisi ve mavi yengeç atık kabuklarından elde edilen kitosandan hazırlanmış %1'lik kitosan çözeltisini uygulamak amacı ile dört gruba ayrılmıştır. Asetik asit çözeltisi uygulamanın amacı kitosan çözeltisinin asetik asit çözeltisi kullanılarak hazırlanmasından dolayı filetolar üzerindeki koruyucu etkinin tek başına asetik asitten mi yoksa kitosandan mı kaynaklandığının tespit edilmesine yöneliktir.

%1'lik asetik asit (v/v) ile %1'lik asetik asit çözeltisinde çözülerek hazırlanan %1'lik (w/v) kitosan çözeltileri yaklaşık 3 dakika süren daldırma yöntemi ile balık filetolarına uygulanmıştır. Çözeltiden steril pens yardımı ile çıkarılan filetolar eğimli olarak yerleştirilmiş küvetler içerisine konularak üzerinde bulunan fazla çözeltileri sızdırması için 2 dakika bekletilmiştir. Ardından filetolar buzdolabı poşetlerine yerleştirilmiştir. Kontrol grubu filetolara hiçbir işlem uygulanmadan buzdolabı poşetleri içerisine konulmuştur. Sonrasında $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ortam koşullarına sahip buzdolabına yerleştirilmiştir. Depolamanın 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 ve 21. gününde TMA, TVB-N, TBA, duyusal ve mikrobiyal analizleri yürütülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Depolama Akış Diyagramı



Şekil 3.5. Sardalya Filetolarına Depolama Süresince Uygulanan Analizler

3.6.5. Uygulanan Analizler

3.6.5.1. Verim/İrme miktarı

Çalışmada kullanılan balıkların toplam ağırlığı ile fileto ağırlıkları terazi kullanılarak ölçülmüş ve aşağıda verilen formül yardımı ile %verim miktarları hesaplanmıştır [Günlü, 2007].

$$\% \text{ verim} = \frac{\text{Toplam ağırlık (g)} - \text{fileto ağırlığı (g)}}{\text{Toplam ağırlık (g)}} \times 100$$

3.6.5.2. Trimetil amin analizi (TMA)

AOAC (2000)'de önerilen metot kullanılmıştır. Bu amaçla bir beher içerisine 10 g fileto ve 90 ml TCA (trikloro asetik asit) çözeltisi eklenmiş, ardından ultratüraks ile iyice homojenize edildikten sonra içerik filtre kâğıdından süzölmüştür. Süzöntüden 4 ml alınarak kapaklı cam tüpe aktarılmıştır. Üzerine 1 ml %20'lik formaldehit, 10 ml toluen ve 3 ml potasyum hidroksit çözeltisi eklenerek tüpün kapağı kapatılmış ve 80 defa el yardımı ile alt-üst edilerek hızla karıştırılmıştır. 15 dakika bekleme süresi sonrasında toluen fazından 5 ml alınarak cam test tüpüne aktarılmıştır. Üzerine %0,2'lik pikrik asitten 5 ml eklenmiştir. Örneklerin

absorbansları 410 nm dalga boyunda okunmuştur. Kör ve standartların hazırlanmasında aynı işlemler uygulanmıştır. TMA miktarı kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.6.5.3. Toplam uçucu bazik azot analizi (TVB-N)

Kjeldahal tüpü içerisine 10 gram fileto, 100 ml saf su ve 1 gram magnezyum oksit eklenerek distilasyon ünitesine yerleştirilmiştir. Distilasyon ünitesinin çıkış kısmına, ise içerisinde 10 ml %3 lük borik asit, 100 ml su ve 6-8 damla metil kırmızısı bulunan erlen yerleştirilmiştir. Distilasyon işlemi ile erlen içerisine 200 ml distilat toplanmıştır. Elde edilen distilat, 0,1 N HCl çözeltisi ile titre edilmiştir. Hesaplama aşağıdaki formül kullanılmıştır [Antonocopoulos, 1973].

$$\text{mg TVB - N/100 g} = \frac{(\text{Harcanan asit miktarı (ml)} \times 1,4 \times 100)}{\text{Örnek ağırlığı (g)}}$$

3.6.5.4. Tiyobarbitürik asit analizi (TBA)

10 gram balık filetosu ve 97,5 ml saf su blender ile homojenize edilmiştir. Homojenat üzerine 2,5 ml 1:2 (v:v) HCl çözeltisi ilave edilmiştir. Bu işlem sonrasında geri soğutucuya yerleştirilen karışımdan 25 ml distilat toplanmıştır. Kapaklı cam deney tüpleri içerisine önce 5 ml distilat, ardından %90'lık glacial asetik asit ile hazırlanan 0,02 M TBA asit ayıracından 5 ml eklenmiştir. Tüpler su banyosuna yerleştirilerek 35 dakika kaynatılmıştır. Bu süre sonunda örneklerde oluşan renk değişimi 538 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Hesaplama aşağıdaki formül kullanılmıştır [Tarladgis vd., 1960].

$$\text{TBA değeri mg malonaldehit/kg} = \text{Örneğin Absorbans Değeri} \times 7,8$$

3.6.5.5. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Bu analiz için 10 gram fileto 90 gram steril peptonlu su ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında örneklerin 10^{-1} 'lik dilüsyondan başlayarak diğer desimal dilüsyonları hazırlanmıştır. Plate Count Agar besiyerlerine çift paralelli ekimleri yapılmıştır. Petriler 35-37°C'de 2 gün inkübe edilerek koloni sayımları yapılmış ve sonuçlar "koloni oluşturan birim (kob/g)" olarak değerlendirilmiştir.

3.6.5.6. Duyusal analiz

Sardalya balığı filetolarına ait tüm örnek gruplarının duyusal analizleri seçilen panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Duyusal analiz öncesinde örneklerin sıcaklığının oda sıcaklığına gelmesi için bekletilmiştir. Panelistler tarafından balık gurubu örneklerin görünümü, kokusu, rengi, dokusu (kıvamı) ve tüketilebilirliği 5 puan üzerinden Şekil 3.6'da verilen duyusal değerlendirme formu yardımıyla değerlendirilmiştir. Puanlamada 5: "çok iyi", 4: "iyi", 3: "kabul edilebilir", 2: "kötü" ve 1: "çok kötü" olarak kullanılmıştır.

DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Tarih: .../.../20..

Kriterler:	Örnek Grupları			
	A	B	C	D
Görünüm				
Koku				
Renk				
Doku (kıvam)				
Tüketilebilirliği				

Puanlama: 5: Çok İyi

4: İyi

3: Kabul edilebilir

2: Kötü

1: Çok Kötü

Şekil 3.6. Duyusal Değerlendirme Formu

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Doktora tez çalışmasına ait tüm verilerin değerlendirilmesi MEÜ. Tıp Fakültesi/Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalının İstatistik Danışmanlığında yürütülmüştür. İstatistiksel analizler SPSS v.11.5 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistik analizlerde $p < 0,05$ ise sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

Kabuk, kitosan ve kitinin kimyasal ve fiziksel analizlerinde Tek Yönlü Varyans Analizi; böcek ve ticari grupların kitin ve kitosan ağır metal analizlerine ilişkin verilerin değerlendirilmesinde ise Üç Faktörlü Faktöriyel Varyans Analizinden yararlanılmıştır. Varyans analizi sonucunda anlamlı farklılık bulunan grupların belirlenmesi amacıyla Tukey HSD post hoc test istatistiğinden yararlanılmıştır.

Depolama çalışmasına ait analiz verilerinin değerlendirilmesinde ise Tekrarlanan Ölçümlü Varyans Analizinden yararlanılmıştır. Anlamlı farklılık bulunan grupların belirlenmesi amacıyla ise Duncan post hoc test istatistiği kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. ATIK KABUKLARIN KİTİN ve KİTOSAN VERİMİ

Doktora tez çalışması kapsamında, materyal olarak seçilen *C. sapidus*, *Sepia* sp. ve *Squilla* sp. atık kabuklardan kitin ve kitosan ekstraksiyonu işlemlerinden sonra elde edilen veriler doğrultusunda hesaplanan kabuktan-kitin, kabuktan-kitosan ve kitinden-kitosan verimleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Verim hesaplamasında başlangıçtaki ürün miktarının son ürün miktarına oranından yararlanılmıştır.

Çizelge 4.1. Atık Kabukların Kitin ve Kitosan Verimleri, (%)

Örnek Grubu	Kabuktan-Kitin $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Kabuktan-Kitosan $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Kitinden-Kitosan $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	14.89±1.47 ^a	12.52±1.24 ^a	75.47±4.58 ^a
Sübye	2.87±0.08 ^b	1.69±0.02 ^b	56.64±1.57 ^b
Mavi yengeç	10.21±0.83 ^c	7.55±1.13 ^c	71.03±5.15 ^a

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Kabuktan-kitin ve kabuktan-kitosan veriminin türler arasında istatistiksel olarak farklılık gösterdiği ($p < 0.05$), bu farklılığın tüm gruplar arasında ortaya çıktığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Kitinden kitosan veriminde sübyeden kaynaklı bir farklılığın olduğu gözlenmiştir. Sübye, hem manta karidesi hem de mavi yengeçten anlamlı şekilde farklıyken ($p < 0.05$), manta karidesi ve mavi yengecin birbirine benzer olduğu bulunmuştur ($p > 0.05$). Kitin ve kitosan veriminin en düşük sübyede, en yüksek ise manta karidesinde olduğu saptanmıştır.

Verim oranı, türlere göre farklılık göstermektedir. Büyüklük, cinsiyet ile ekstraksiyon basamakları verimi etkileyen diğer önemli etkenlerdir. Atık kabuklardan üretilen kitin verimi *Pandalus borealis*’te %11.4-16.5 [Kjartansson vd., 2006], *Artemia urmiana* (kist kabuğunda) %29.3-34.5 [Tajik vd. 2008], krillde %34-49 [Naczki vd., 1981], *Podophthalmus vigil*’de %20.15-22.6 [Das ve Ganesh, 2010], karideste %11.4-13.1 [Cira vd., 2002] ve *Chionoecetes opilio*’da %17.35-20.62 [Youn vd., 2009] olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda atık kabuklardan kitin verimi; manta karidesinde %14.89, sübyede %2.87 ve mavi yengeç kabuğunda %10.21

olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Manta karidesi ve mavi yengeç kabuklarından kitin verimi yukarıda anılan çalışmalarla uyum içerisinde iken, sübye iç kabuğunda kitin veriminin düşük çıkması, kabuğun yüksek kalsiyum karbonat içeriğinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Tez çalışmasında, atık kabuklardan kitosan verimi en düşük sübye kabuğunda (%1.69) iken, en yüksek manta karidesinde (%12.52) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bazı araştırmacılar, atık kabuklardan kitosan verimini *Potamon potamios*'da %4.65 [Bolat vd., 2010], *A. urmiana*'da %19.2-22.9 [Tajik vd., 2008] ve kerevitte %16.4-18.8 [Fernandez-Kim, 2004] değerleri aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen bu bulgular, yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, sübyenin kitosan veriminin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Sübye kabuğunun yüksek kalsiyum karbonat içeriği, ekstraksiyon işlemi sonrasında kitosan veriminin düşük çıkmasına neden olmuştur. Manta karidesi ve mavi yengeç kabuklarının kitosan verimlerinin ise, adı geçen çalışmalarla uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 4.1'de *C. sapidus*, *Sepia* sp. ve *Squilla* sp. atık kabuklarından ekstrakte edilen kitin grubuna ve ticari kitine ait görsel fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 4.1. Kitin Grubunun Fotoğrafları (a-manta karidesi, b-sübye, c-mavi yengeç ve d-ticari form)

Şekil 4.2’de ise *C. sapidus*, *Sepia* sp. ve *Squilla* sp. atık kabuklarından ekstrakte edilen kitosan grubuna ve ticari kitosana ait fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 4.2. Kitosan Grubunun Fotoğrafları (a-manta karidesi, b-sübye, c-mavi yengeç ve d-ticari form)

4.2. FİZİKOKİMYASAL ANALİZLERE AİT ARAŞTIRMA BULGULARI

4.2.1. Atık Kabukların Analiz Bulguları

C. sapidus, *Sepia* sp. ve *Squilla* sp. atık kabuklarına ait fizikokimyasal [%N (azot), %ham protein, %nem, %kül ve %ham yağ] analiz sonuçları (kuru ağırlık üzerinden) Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Atık Kabukların Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%)

Örnek Grubu	N $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ham Protein $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Nem $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ham Kül $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ham Yağ $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	7.26±0.39 ^a	45.35±2.45 ^a	68.07±1.35 ^a	27.93±1.02 ^a	5.90±0.75 ^a
Sübye	1.04±0.03 ^b	6.52±0.20 ^b	1.61±0.15 ^b	86.69±1.29 ^b	0.65±0.03 ^b
Mavi yengeç	5.04±0.57 ^c	31.49±3.57 ^c	66.93±1.56 ^a	46.42±1.57 ^c	0.71±0.11 ^b

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a, b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistikî bir ayrım vardır.

Naczki vd. (1981) %n içeriğini krill atık kabuğunda %8-9.4, Healy vd. (2003) ise karides atık kabuğunda %4.44 olarak tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmamızda atık kabukların ortalama %n değerleri %1.04-7.26 arasında olup tüm türler arasında farklılık gösterdiği ($p < 0.05$) belirlenirken (Çizelge 4.2), kabukların %n içeriğinin protein bazlı kalıntı miktarı ile bağlantılı olarak farklılık göstereceği düşünülmektedir.

Su ürünleri atık kabuklarının %nem içeriği, *Penaeus indicus*'da %12.3 [Ravichandran vd., 2009], *P. borealis*'te %22 [Einbu, 2007], *P. borealis*'te %75.61, *Crangon crangon*'da %71.12 [Synowiecki ve Al-Khateeb, 2000] ve karideste %70.4-74.3 [Cira vd., 2002] olarak belirlemişlerdir. Cira vd. (2002), yüksek nem değerinin atık kabukların baş kısmında bulunan ve çıkarılamayan içeriğinden kaynaklandığını vurgulamışlardır. Çalışmamızda atık kabukların nem içeriği manta karidesinde (%68.07) ve mavi yengeçte (%66.93) yüksek bulunurken, sübye kabuğunda oldukça düşük bulunmuştur (%1.61) (Çizelge 4.2). Yüksek nem değerinin, Cira vd. (2002)'nin bildirdiği gibi kabuk ve kısıktan uzaklaştırılamayan et içeriğinden kaynaklandığı olasıdır. Sübye atık kabuğunun diğer türlerin kabuklara kıyasla bir iç kabuk olması ve az miktarda organik madde içermesi nem değerinin düşük bulunmasına neden olmaktadır.

Kabuklu su ürünlerinin mineral madde içeriği genel olarak %30-50 aralığında değişmekte olup, mineral madde miktarının belirlenmesinde yaygın olarak ham kül analizi kullanılmaktadır [Einbu, 2007]. %Ham kül içeriği, krill kabuğunda %28.2 [Naczki vd., 1981], *C. opilio* türünün atık kabuğunda %49.47-51.07 [Youn vd., 2009], *P. borealis* türünün atık kabuğunda %34 [Einbu., 2007], *C. crangon* türü kabuğunda %27.5 ve *P. Borealis* türünün atık kabuğunda %29.2 [Synowiecki ve Al-Khateeb, 2000] olduğu bildirilmiştir. Üç farklı su ürünleri türünün atık kabukları ile yürütülen bu çalışmada, %ham kül değerleri tüm kabuk türleri arasında istatistiksel olarak farklılık göstermiş olup ($p < 0.05$), kabukların kül içeriği %27.93-86.69 aralığında değişmektedir (Çizelge 4.2). Sübye kabuğunda inorganik madde içeriğinin yüksek bulunması, canlıya destek görevi yapan bu materyalin bir iç kabuk olması ile açıklanabilir.

Besin madde bileşenlerinden biri olan ham yağ miktarı; tür, cinsiyet, göç ve benzeri faktörlerin etkisi ile değişim gösterebilir. Yapılan bazı çalışmalarda türlerin

atık kabuklarının %ham yağ içeriği krillde %4.8-6.7 [Naczek vd., 1981], *C. opilio*'da %0.01'den az [Youn vd., 2009], *P. borealis*'te %0.3-0.5 [Einbu, 2007], *P. indicus*'ta %9.8 [Ravichandran vd., 2009], *P. borealis*'te %10.23, *C. crangon*'da %9.95 [Synowiecki ve Al-Khateeb, 2000] ve kerevitte ise %9.1 [No vd., 1989] olarak bildirilmiştir. Çizelge 4.2'deki %ham yağ değerleri incelendiğinde, kabuk örnekleri arasında istatistiksel bir farklılık olduğu ve gruplar arasında en yüksek değeri manta karidesinin aldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Manta karidesi, sübye ve mavi yengeç atık kabuklarının ham yağ içeriklerinin %0.65-5.90 arasında bulunması ham yağ miktarının türlere göre değişim göstermesi ve örneklerin atık kabuk olması ile açıklanmaya çalışılmıştır (Çizelge 4.2).

4.2.2. Kitin Grubunun Analiz Bulguları

Bu çalışmada deney materyali olarak seçilen türlerin atık kabuklardan ekstrakte edilen kitinin fizikokimyasal analiz sonuçları (kuru madde üzerinden) Çizelge 4.3'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Kitin Grubunun Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%)

Örnek Grubu	N $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Nem $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ham Kül $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ham Yağ $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	6.01±0.14 ^a	1.71±0.08 ^a	1.47±0.25 ^a	0.65±0.04 ^a
Sübye	5.50±0.14 ^b	1.56±0.02 ^a	1.54±0.02 ^a	0.14±0.02 ^b
Mavi yengeç	5.79±0.39 ^{ab}	1.52±0.14 ^a	1.45±0.26 ^a	0.47±0.10 ^c
Ticari Kitin	6.66±0.08 ^c	1.66±0.17 ^a	2.58±0.28 ^b	0.40±0.01 ^c

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Analiz sonuçlarına göre kitin grubunun %n içeriği %5.50-6.66 arasında değişim gösterirken, en yüksek değer ticari kitinde, en düşük değerin ise sübye kitininde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Manta karidesi, sübye ve ticari kitin örnekleri arasında istatistiksel farklılığın olduğu ($p < 0.05$), sübye ile mavi yengecin ve manta karidesi ile mavi yengecin birbirine benzerlik gösterdiği ($p > 0.05$) tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda %n değerleri beş farklı ticari kitinde (yengeç ve karides kabuklarına ait Sigma, Keumho, Pronova, DuPont ve Chungmu markalı) %5.97-7.01 [Cho vd., 1998], kerevit kitininde %7.01 [No vd., 1989], karides

kabuğundan elde edilen kitinde ise %6.31 [Healy vd., 2003] olarak bildirilmiştir. Çalışma bulgularımız diğer çalışma sonuçlarına benzerlik gösterirken, Khor, (2001)'in belirttiği gibi kitinin %n değeri genel olarak %7'nin altında çıkmıştır.

Atık kabuklardan elde edilen kitinin nem içeriği *P. borealis*'te %3, *C. crangon*'da %4.92-6.17 [Synowiecki ve Al-Khateeb, 2000] ve ticari marka yengeç kitininde (Fluka Biochemika) %5.8 [Lavall vd., 2006] olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda kitin grubunun nem değeri ise %1,52-1,71 aralığında olup, benzer çalışma sonuçlarına göre düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin, kitin ekstraksiyonu esnasında atık kabuklardaki organik materyalin yeterince uzaklaştırılmasının olduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.3).

Kitin örneklerine uygulanan ham kül analizi, minerallerin ham materyalden uzaklaştırılma işlem basamağının etkinliğini belirlemek amacıyla yapılmaktadır [Fernandez-Kim, 2004]. Bu nedenle yapılan bazı çalışmalarda *P. borealis* türü kabuğundan minerallerin uzaklaştırılması işlem basamağı sonrasında %2.5-3.5 ve proteinlerin uzaklaştırılması işlemi sonrasında %2.5-4.4 [Kjartansson vd., 2006], kerevit kitininde %0.1 [No vd., 1989], *C. crangon* kitininde %0.31-1.56, *P. borealis* kitininde ise %0.09 olarak bildirmiştir [Synowiecki ve Al-Khateeb, 2000]. Bu çalışmada ise, atık kabuklardan elde edilen kitin örneklerinin ham kül içeriğinin (%1.45-1.54) ticari kitine (%2.58) kıyasla daha düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.3). Kitin örnekleri arasındaki farklılığın ticari kitinden kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diğer kitin örneklerinin ham kül içeriği ise birbirine benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Bu araştırmanın bulguları, atık kabuklardan minerallerin uzaklaştırılmasında kullanılan yöntemin yeterli olduğunu göstermektedir.

Kitin örneklerinde, ham yağ değerlerinin tüm gruplarda birbirinden farklı olduğu ($p<0.05$) gözlenmiş, örneklerin ham yağ değerlerinin %0.14-0.65 aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Naczek vd. (1981) krill kitininin ham yağ değerini %4.8-6.7, Diaz-Rojas vd. (2006) ise karides türünden elde edilen kitininin ham yağ değerini %0.2-1.3 olarak tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçları, kabuklardan kitin ekstraksiyonu sonrasında ham yağ miktarının düşüş gösterdiğini ancak, değerlerin literatür verileri ile uyum içerisinde olduğunu göstermektedir.

4.2.3. Kitosan Grubunun Analiz Bulguları

Atık kabuklardan ekstrakte edilen kitosanın temel fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular (kuru madde üzerinden) istatistiksel olarak değerlendirilmiş olup, sonuçlar Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Kitosan Grubunun Fizikokimyasal Analiz Sonuçları, (%)

Örnek Grubu	N	Nem	Ham Kül	Ham Yağ
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	7.12±0.19 ^{ab}	1.56±0.27 ^a	0.47±0.17 ^a	0.45±0.02 ^a
Sübye	7.24±0.09 ^a	1.51±0.02 ^a	1.17±0.17 ^b	0.07±0.01 ^b
Mavi yengeç	7.01±0.15 ^b	1.49±0.07 ^a	1.38±0.32 ^b	0.46±0.15 ^a
Ticari Kitosan	7.31±0.12 ^a	1.67±0.18 ^a	0.19±0.08 ^c	0.32±0.04 ^a

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Çizelge 4.4'te verilen kitosan örneklerinin %n içeriği incelendiğinde manta karidesinde %7.12, sübyede %7.24, mavi yengeçte %7.01 ve ticari kitosanda %7.31 olduğu saptanmıştır. Mavi yengeçten elde edilen kitosanının %n değeri hem sübye hem de ticari kitosandan istatistiksel anlamda farklı bulunurken ($p < 0.05$), manta karidesi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir ($p > 0.05$). Farklı türlerin atık kabuklarından elde edilen kitosanın %n içeriği konusunda yapılan literatür araştırmalarından, *Nototodorus sloani* türünün kitosanda %7.5 [Shepherd vd., 1997], beş farklı marka ticari kitosanda (yengeç ve karides kabuklarına ait Sigma, Keumho, Pronova, DuPont ve Chungmu marka) %6.91-7.16 [Cho vd., 1998], *A. urmiana* türünün kitosanda %7.32-7.51 [Tajik vd., 2008], kerevit kitosanda %6.91-8.23 [Fernandez-Kim, 2004], *C. opilio* türünün kitosanda %7.55-7.70 [Jeon vd., 2002] ve sigma marka yengeç kitosanda ise %7.01 [Shepherd vd., 1997] olduğu bildirilmiştir. Kitosanın %n miktarı yapısında bulunan amin grubundaki azot ile bağlantılıdır. Mevcut çalışmada, kitosan grubunun %n miktarı benzer çalışma bulguları ile paralellik gösterirken, kitosanın %n miktarının %7'nin üzerinde olması gerektiği [Khor, 2001] sonucunu desteklemektedir.

Manta karidesi, sübye ve mavi yengeç ile yürütülen bu çalışmada, kabuklardan ekstrakte edilen kitosanın %nem içerikleri %1.49-1.67 arasında değişim göstermekte olup, en yüksek nem içeriğine ticari kitosanda (%1.67), en düşük ise

mavi yengeçte (%1.49) gözlenmesine rağmen, kitosan grubunun nem içerikleri istatistiksel anlamda birbirine benzer bulunmuştur (Çizelge 4.4). Benzer çalışmalarda, kitosanın %nem değeri *N. sloani*'de %2.1 [Shepherd vd., 1997], *Metapenaeus stebbingi*'de %1.33 [Küçükgülmez vd., 2011], *C. opilio*'da %3.75-4.50 [Jeon vd., 2002] ve *A. urmiana*'da %1.0-1.3 [Lavall vd., 2007] olarak gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan türlerin kitosanlarına ait nem içerikleri diğer araştırmacıların bulguları tarafından da desteklenmektedir.

Yüksek kalitedeki kitosanın kül içeriğinin %1'den az olması istenmektedir. Kitosanın kül miktarı düştükçe içerdiği kalıntı miktarı azalmakta dolayısı ile viskozitesi ve çözünürlüğü üzerine katkı sağlamaktadır [Fernandez-Kim, 2004]. Yapılan literatür araştırmalarında, kitosanın %ham kül içeriği *N. sloani* türünde %0.17 [Shepherd vd., 1997], *Fenneropenaeus indicus* türünde %1.07 [Mohan vd., 2012], *A. urmiana* türünde %0.19-0.51 ve *C. opilio* türünde %0.25-0.30 [Jeon vd., 2002] olarak bildirilmektedir. Çalışmamızda mavi yengeç ve sübye kitosanın ham kül içeriği istatistiksel olarak birbirine benzer bulunurken ($p>0.05$), diğer kitosan grupları arasında anlamlı bir farklılığın olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). En düşük içeriğin ticari örnekte (%0.19) olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4). Analiz sonuçları diğer çalışmalarda elde edilen değerlerle uyum içerisindedir.

Kitosanın ham yağ içerikleri, kitindeki ham yağ içeriklerine benzer şekilde düşüş göstermiş olup en düşük değer sübyede (%0.07), en yüksek değer ise mavi yengeçte (%0.46) gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Ham yağ değerleri arasında en düşük içeriğe sahip olan sübye kitosanı istatistiksel anlamda farklılığa ($p<0.05$) neden olmuştur. Yapılan literatür araştırmasında kitosanın ham yağ içeriğine ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.2.4. Karotenoid Analizine Ait Araştırma Bulguları

Çizelge 4.5.'te atık kabuklarının toplam karotenoid miktarları ($\mu\text{g/g}$) verilmiştir. Mevcut çalışmada, atık kabukların ortalama karotenoid miktarları türlere göre manta karidesinde $1.27 \mu\text{g/g}$, sübyede $0.46 \mu\text{g/g}$ ve mavi yengeçte ise $10.76 \mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir. Atık kabuklardan elde edilen kitin ve kitosan gruplarının karotenoid analizi yapılmış olup, proses esnasında uygulanan renksizleştirme

aşamasından dolayı örneklerde karotenoid içeriğine rastlanmamıştır. Atık kabukların toplam karotenoid içerikleri incelendiğinde farklılığın mavi yengeçten kaynaklandığı görülmektedir ($p<0.05$). Sübye ve manta karidesinin karotenoid içerikleri ise birbirine benzer bulunmuştur ($p>0.05$).

Çizelge 4.5. Atık Kabukların Toplam Karotenoid Miktarları, ($\mu\text{g/g}$ kabuk)

Örnek Grubu	Toplam Karotenoid Miktarı
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	1.27 ± 0.25^a
Sübye	0.46 ± 0.11^a
Mavi yengeç	10.76 ± 2.88^b

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Karotenler yağda çözünen bir pigment olup, sucul canlılarda özellikle kabuklularda (karides, istakoz, yengeç vb) farklı karotenoidler şeklinde bulunmaktadır. Sucul canlılardaki karotenoidlerin major içeriğini astaksantin ve esterleri oluşturmaktadır. Özellikle astaksantin gıda, eczacılık ve kozmetik endüstrisi gibi birçok alanda kullanıldığı bilinmektedir. Bir tür deniz yengeci olan *Charybdis cruciata* kabuğunun toplam karoten içeriği $11.0 \mu\text{g/g}$ iken, bir tatlı su yengeci türü olan *Potamon potamon* kabuğunda ise $6.9 \mu\text{g/g}$ 'dir. Deniz yengeci kabuğunun karotenoid içeriğinin büyük kısmını astaksantin ve esterleri oluştururken, tatlı su yengecinde ise zeastaksantin oluşturmaktadır. Başka bir çalışmada, deniz yengecinin β -karoten içeriği 5.1 g/100 g , tatlı su yengecinin ise 3.6 g/100 g olarak belirlenmiştir [Sachindra vd., 2005]. Avrupa yeşil yengeci (*Carcinus maenus*) kabuklarının toplam karoten içeriği $\%4.4-9.3$ [Nacz vd., 2004], *P. borealis* kabuğunun astaksantin içeriği $14-30 \text{ mg/kg}$ olduğunu ve astaksantin serbest, mono ve diester formunda bulunduğunu bildirmiştir [Einbu, 2007]. Shahidi vd. (1991), *P. borealis* atıklarındaki toplam karotenoid miktarını (kuru madde üzerinden) $14,7 \text{ mg/100 g}$ olarak tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, toplam karotenoid miktarının canlının yaşam koşullarına, beslenme durumu ve yaşadığı bölgeye bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini bildirmişlerdir. Sachindra vd., (2005), karotenoid miktarını *Parapenaeopsis stylifera*'nın baş bölgesinde $153,1 \mu\text{g/g}$ ve karapaksında $104,7 \mu\text{g/g}$ olarak belirlemişlerdir. Mevcut çalışmamızda, en yüksek karotenoid

içeriğinin ($\mu\text{g/g}$) mavi yengeç atık kabuklarında olduğu tespit edilmiştir. Bu değer, diğer yengeç türleri ile yapılan önceki çalışmalar ile kıyaslandığında sonuçlar birbirini destekler niteliktedir. Yapılan literatür araştırmalarında sübye ve manta karidesinin karotenoid içeriği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Karotenoid miktarı üzerinde tür, canlının beslenme durumu ve yaşadığı ortam koşullarının yanı sıra analizde kullanılan ekstraksiyon metodunun etkili olduğu düşünülmüştür.

4.2.5. Kalsiyum ve Magnezyum İyonlarının Miktarlarına Ait Analiz Bulguları

Atık kabuklardan kitin ekstraksiyonu esnasında, uygulanan mineral maddeleri uzaklaştırma (DM) işlem basamağında, atık kabuklardan ortama geçen kalsiyum ve magnezyum iyonlarının miktarı titrimetrik yöntemle tespit edilmiş olup elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesine ait değerler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Atık Kabuklardan Ortama Geçen Kalsiyum ve Magnezyum İyon Miktarı, (g/100 g kabuk)

Örnek Grubu	Kalsiyum İyon Derişimi	Magnezyum İyon Derişimi
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	17.19 \pm 1.21 ^a	7.60 \pm 0.95 ^a
Sübye	59.01 \pm 2.79 ^b	28.31 \pm 0.37 ^b
Mavi yengeç	38.71 \pm 4.33 ^c	18.80 \pm 1.10 ^c

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel bir ayrım vardır.

Çizelge 4.6.'da görüldüğü gibi, atık kabuklardan ortama geçen kalsiyum ve magnezyum iyon miktarları türler arasında farklılıklar göstermektedir ($p < 0.05$). Atık kabuklardan ortama geçen en yüksek kalsiyum (59,01 g/100g kabuk) ve magnezyum (28,31 g/100 g kabuk) iyon miktarının sübye grubuna, en düşük ise manta karidesi grubuna (17,19 g kalsiyum/100g kabuk ve 7,60 g magnezyum/100g kabuk) ait olduğu saptanmıştır. Atık kabukların içerdiği tuz karışımının yaklaşık %60'ını kalsiyum/magnezyum karbonat ve fosfat bileşikleri oluşturmaktadır [Naczk vd., 1981]. Yapılan bir çalışmada *Loligo plei* iç kabuğunun kalsiyum içeriği 94.5 ppm, magnezyum içeriği ise 11.7 ppm olarak tespit edilmiştir [Lavall vd., 2006]. P.

indicus türü karides kabuğunun kalsiyum içeriği ortalama 30 mg/100 g olarak belirtilmiştir [Ravichandran vd., 2009]. Karides atık kabuklarının ortalama %30 mineral madde içerdiği bilinmektedir [Elibol, 2008].

4.2.6. Hacim Yoğunluğuna Ait Araştırma Bulguları

Çalışmada kullanılan türlerin atık kabuklarından elde edilen kitinin hacim yoğunluğuna ait istatistiki veriler Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kitinin Hacim Yoğunluğu, (g/ml)

Örnek Grubu	Vurmadan $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Vurarak $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	0.14±0.01 ^a	0.18±0.00 ^a
Sübye	0.29±0.01 ^b	0.33±0.01 ^b
Mavi yengeç	0.27±0.01 ^c	0.30±0.00 ^c
Ticari Kitin	0.21±0.00 ^d	0.29±0.00 ^c

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Verilerin değerlendirilmesinde kontrol grubu olarak ticari kitin kullanılmıştır. Hacim yoğunluğu analizinin vurmadan yapıldığı durumda tüm gruplarda istatistiksel farklılığa rastlanmıştır (Çizelge 4.7). Aynı örneklere vurma işlemi uygulandığı durumda ise, mavi yengeç ve ticari grubun benzerlik gösterdiği ($p > 0.05$), buna karşılık diğer gruplar arasında istatistiksel bir ayrımın olduğu görülmektedir ($p < 0.05$).

Kitosan grubunun hacim yoğunluğu analizine ait veriler ise Çizelge 4.8’de sunulmuştur. Analiz esnasında uygulanan işlem ne olursa olsun tüm örneklerin hacim yoğunluğu değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Kitosanın Hacim Yoğunluğu, (g/ml)

Örnek Grubu	Vurmadan	Vurarak
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	0.15±0.01 ^a	0.18±0.01 ^a
Sübye	0.32±0.01 ^b	0.39±0.01 ^b
Mavi yengeç	0.30±0.00 ^c	0.30±0.01 ^c
Ticari Kitosan	0.24±0.00 ^d	0.34±0.00 ^d

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel bir ayrım vardır.

Kitin ve kitosan örneklerinin hacim yoğunluğu türe ve uygulanan yöntemle ilgili olarak değişim göstermektedir. Hacim yoğunluğunun beş farklı ticari marka kitinde 0.21-0.38 g/ml, kitosanda 0.20-0.38 g/ml [Cho vd., 1998] ve altı farklı ticari kitosanda 0.18-0.33 g/ml aralığında değişim gösterdiği belirtilmiştir [No vd., 2000]. Vurma işlemi uygulanmadığı durumda kerevit kitosanın hacim yoğunluğunun 0.16-0.19 g/ml, vurma işlemi uygulanması durumunda ise 0.20-0.24 g/ml olduğu bildirilmiştir [Fernandez-Kim, 2004]. Çalışmamızda kitin ve kitosan grubunun hacim yoğunluğu analizine ait değerler incelendiğinde, örnek grubu ve vurma işleminin hacim yoğunluğu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Vurarak yapılan işlemde hem kitin hem de kitosana ait veriler vurmada yapılan hacim değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak, örnek parçacıkları arasında bulunan boşlukların vurma işlemi esnasında en az düzeye inmesi düşünülmüştür. Kitosanın hacim yoğunluğu kitine kıyasla daha yüksek çıkmıştır. Bu durum, kitinden kitosan elde edilmesi esnasında uygulanan işlemin ürünü daha da saflaştırmasından kaynaklandığına bağlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

4.2.7. Yağ Bağlama Kapasitesine (YBK) Ait Araştırma Bulguları

C. sapidus, *Sepia* sp. ve *Squilla* sp. atık kabuklarından ekstrakte edilen kitin ve kitosanın yağ bağlama kapasiteleri ayçiçek yağı, mısır özü ve zeytin yağına karşı incelenmiş, elde edilen sonuçlar ticari örnekler ile karşılaştırılmıştır. Kitin grubunun yağ bağlama kapasitesine ait bulgular Çizelge 4.9'da, kitosan grubuna ait bulgular ise Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Kitinin Yağ Bağlama Kapasitesi, (%)

Örnek Grubu	Ayçiçek yağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Zeytinyağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Mısırözü yağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	424.82±15.15 ^a	460.50±8.11 ^a	436.37±13.98 ^a
Sübye	424.44±3.89 ^a	444.82±4.68 ^a	434.19±4.70 ^a
Mavi yengeç	392.54±9.83 ^b	387.23±37.30 ^b	396.38±47.38 ^{ab}
Ticari Kitin	351.95±10.65 ^c	381.82±1.56 ^b	353.50±6.56 ^b

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a, b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Çizelge 4.10. Kitosanın Yağ Bağlama Kapasitesi, (%)

Örnek Grubu	Ayçiçek yağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Zeytinyağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Mısırözü yağı $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	634.82±27.20 ^a	667.07±16.42 ^a	635.59±17.11 ^a
Sübye	673.23±2.02 ^b	601.83±1.33 ^b	686.06±1.50 ^b
Mavi yengeç	437.82±21.48 ^c	561.63±34.73 ^c	539.59±23.11 ^c
Ticari Kitosan	448.87±13.40 ^c	470.29±5.35 ^d	416.72±12.98 ^d

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a, b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Çizelge 4.9'dan kitin örneklerinin ayçiçeği yağını bağlama kapasitelerinin manta karidesi ile sübye arasında benzerlik gösterdiği (p>0.05), buna karşın diğer türler arasında farklılığın olduğu saptanmıştır (p<0.05). Manta karidesi kitininin ayçiçeği yağını bağlama kapasitesi ortalama %424.82 ile en yüksek iken, ticari kitinin %351.95 ile en yüksek YBK sahip olduğu gözlenmiştir. Kitosan grubunun ayçiçek yağını bağlama kapasitesi incelendiğinde (Çizelge 4.10) YBK'nin kitosan örnekleri arasında farklılık göstermesine (p<0.05) rağmen, ticari kitosan ile mavi yengeç kitosanının benzer olduğu (p>0.05) tespit edilmiştir. En yüksek ayçiçeği yağı bağlama kapasitesinin sübye kitosanda (%673.23), en düşük ise ticari kitosanda (%437.82) olduğu tespit edilmiştir.

Kitin grubu örneklerin zeytin yağını bağlama kapasitelerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu Çizelge 4.9'da görülmektedir (p<0.05). Zeytinyağını bağlama kapasiteleri manta karidesi ile sübye arasında ve mavi yengeç ile ticari kitin arasında benzerlik göstermiştir (p>0.05). En yüksek ve en düşük zeytin yağı bağlama kapasiteleri incelendiğinde manta karidesi kitini %460.50 değerine sahipken, ticari kitinin %381.82 değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Kitosan grubu örnekler arasında ise, zeytinyağı bağlama kapasitesinin istatistiksel açıdan farklılık yarattığı

saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.10). En düşük değer %470.29 ile ticari kitosanda, en yüksek değer ise manta karidesinde %667.07 olarak belirlenmiştir.

Mısır özü yağını bağlama kapasitesinin türlerin atık kabuklarından elde edilen kitinler arasında farklılık yarattığı ($p<0.05$), bu farklılığın ticari ile manta karidesi kitinleri arasında ($p<0.05$) ve ticari ile sübye kitinleri arasında ($p<0.05$) olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.9). Kitin grubu örnekleri arasında en düşük mısır özü yağı bağlama kapasitesinin ticari kitinde (%353.50), en yüksek ise manta karidesi kitininde (%436.37) olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.10'da verilen kitosan örneklerinin mısır yağı bağlama kapasiteleri tüm türler arasında farklılık göstermektedir ($p<0.05$). Türlerin kitosanları arasında en düşük mısır özü yağı bağlama kapasitesi ticari kitosanda (%416.72), en yüksek ise sübye kitosanda (%686.06) olduğu gözlenmiştir.

Örneklerin YBK'lerinde görülen farklılığa; kitin ve kitosanın farklı fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliğe sahip olması, tuz formunda bulunan grupların miktarı, ürünlerde kalıntı olarak bulunan proteinler, üretici firmaların farklı kalitede ürün (kitin ya da kitosan) üretmeleri, üretim basamaklarının yer değiştirilerek uygulanması ve kullanılan yağ türünün neden olduğu bildirilmiştir [Cho vd., 1998; Tajik vd., 2008].

C. opilio kitosanda soya yağı için YBK %433-477 [Youn vd., 2007], beş farklı ticari kitin ve kitosanda sırası ile %316-563 ve %314-535 aralığında değiştiği gösterilmiştir [Cho vd., 1998]. Altı farklı marka ticari kitosanda yağ bağlama kapasitesinin %217-403 [No vd., 2000], *M. stebbingi* kitosanda %531.15 ve kontrol grubu olarak kullanılan ticari kitosanda %383.04 [Küçükgülmez vd., 2011], karides kitosanda ise %529 [Elibol, 2008] olarak tespit edilmiştir. *A. urmiana* kist kabuklarından üretilen kitosanın ayçiçeği YBK değeri %420.3-481.2 ve ticari kitosanın %471.5 olduğu [Tajik vd., 2008], karides kitosanın mısır özü YBK %564 ve karides kitosanın zeytin yağı bağlama kapasitesinin ise %559 olduğu belirlenmiştir [Elibol, 2008].

Kilo kontrolüne yönelik endüstriyel alanda önemli bir parametre olarak kullanılan yağ bağlama kapasitesinin çalışma bulgularımıza göre türlere, türlerin kitin ve kitosan grubuna ve kullanılan yağ türlerine bağlı olarak farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Kitin grubunun YBK önceki çalışmaları destekler niteliktedir. Ancak

manta karidesi ve sübye kitosanın YBK, adı geçen çalışmaların bulgularına kıyasla yüksek bulunmuştur. Bu türlerin daha önce çalışılmamış olması buna neden olarak düşünülmüştür.

4.2.8. Su Bağlama Kapasitesine (SBK) Ait Araştırma Bulguları

Türlere göre atık kabuklardan ekstrakte edilen kitin ve kitosanın su tutma kapasiteleri ticari örnekler ile kıyaslanarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir. SBK değerleri hem kitin hem de kitosan türleri arasında istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p<0.05$). Kitin ve kitosan örneklerinin SBK incelendiğinde manta karidesinin en yüksek, ticari grubun ise en düşük SBK değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Kitin Grubunun Su Bağlama Kapasitesi, (%)

Örnek Grubu	%SBK $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	583.53±17.38 ^a
Sübye	416.34±3.72 ^b
Mavi yengeç	477.13±8.45 ^c
Ticari Kitin	378.37±17.27 ^d

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayırım vardır.

Çizelge 4.12. Kitosan Grubunun Su Bağlama Kapasitesi, (%)

Örnek Grubu	%SBK $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Manta karidesi	840.13±19.64 ^a
Sübye	685.83±5.56 ^b
Mavi yengeç	650.51±18.55 ^c
Ticari Kitosan	524.29±19.39 ^d

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayırım vardır.

Kitosan gıda sanayinde birçok amaçla kullanılmaktadır. Özellikle yüksek SBK’ne sahip olması bu alanda kitosanı cazip kılmaktadır. SBK’de görülen farklılıklara türün farklı yıllarda yakalanması, kitin ve kitosanın farklı fizikokimyasal ve fonksiyonel özellik göstermesi, depolama süresi [Youn vd., 2009], kristal yapı,

tuz formunda bulunan grupların miktarı, ürünlerde kalıntı olarak bulunan proteinler ile üretici firmaların farklı kalitede ürün üretmelerinin [Cho vd., 1998] ve üretim basamaklarının yer değiştirilerek uygulanmasının [Tajik vd., 2008] neden olduğu bildirilmiştir. Kitosan, kitine kıyasla daha yüksek SBK sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Örneğin, *C. opilio* kitosanda SBK değeri %523-539 [Youn vd., 2007] iken, aynı türden elde edilen kitinin SBK değerinin %491-555 olduğu tespit edilmiştir [Youn vd., 2009]. Beş farklı ticari kitin ve kitosanda ölçülen SBK değerleri sırası ile %381-673 ve 458-805 [Cho vd., 1998], *A. urmiana* kist kabuğundan üretilen kitosanda %654-721 ve ticari kitosanda ise %535 olarak bulunmuştur [Tajik vd., 2008]. Dokuz ay oda sıcaklığında bekletilen düşük ve yüksek viskoziteli kitosanda %518.3-646 [No ve Prinyawiwatkul., 2009], altı farklı marka ticari kitosanda SBK değeri %355-611 aralığında değişirken [No vd., 2000], karides kitosanda bu değer %749 [Elibol, 2008] olarak tespit edilmiştir.

Tez çalışması bulgularından, SBK'nin türlere, türlerin kitin ve kitosanlarına bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12). Aynı türlerin kitin ve kitosanlarının su bağlama kapasiteleri incelendiğinde, kitosan grubunun kitin grubuna kıyasla daha yüksek SBK değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Manta karidesi kitosanın su bağlama kapasitesinin diğer türlerin kitosanlarına göre daha yüksek olması, bu türün çalışılmamış bir tür olmasından dolayı türe ait verilerin bulunmamasına ve türe göre farklılık göstermesine bağlanmıştır. Sübye ve mavi yengece araştırma bulgularından kitin ve kitosan grubunun su bağlama kapasitelerinin diğer araştırmacıların bulgularına benzer olduğu saptanmıştır.

4.2.9. Potansiyometrik Analize Ait Araştırma Bulguları

Çalışmada kullanılan türlerin atık kabuklarından üretilen kitosan örneklerinin potansiyometrik yöntem ile belirlenen deasetilasyon dereceleri (%) Çizelge 4.13'de sunulmuştur. Çizelge 4.13'deki deasetilasyon dereceleri incelendiğinde, kitosan örnekleri arasında istatistiksel bir farklılığın olduğu ($p < 0.05$), bu farklılığın mavi yengeçten kaynaklandığı ve en düşük deasetilasyon derecesinin mavi yengeç örneklerinde olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.13. Kitosan Grubunun Deasetilasyon Dereceleri, (%)

	Manta Karidesi	Sübye	Mavi Yengeç	Ticari Kitosan
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
DD (%)	71.72±1.95 ^a	71.41±1.93 ^a	67.86±0.97 ^b	72.25±1.18 ^a

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b ve c harfleri örnek grupları arasındaki farkı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

Kitosanın deasetilasyon derecesinin (DD) belirlenmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu metotlar arasında yer alan ninhidrin test, hidrojen bromür ile titrimetrik yöntem, linear potansiyometrik titrasyon, near-infrared spektroskopisi, nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (H-NMR) ya da infrared spektroskopisi yöntemlerinden hangisinin kullanılacağı çalışma amacına göre seçilmektedir. Çünkü bazı yöntemler rutin analizlerde sıkıcı olmakla beraber yüksek maliyet ve iş gücü istemektedir. IR spektroskopisinde kitosanın film şeklinde kullanılması durumunda, HBr titrimetrik yöntemdekinden daha yüksek DD'ne sahip olduğu Khan vd. (2002) tarafından bildirilmiştir.

Kitosanın deasetilasyon derecesinin artması kitosan üzerinde amin gruplarının artışı vurgulamaktadır. Deasetilasyon derecesindeki artış kitosanın antimikrobiyal aktivitesinin de arttığının göstergesidir. Deasetilasyon şartlarındaki farklılığın [Yaghobi ve Mirzadeh, 2004], kitin-kitosan ekstraksiyon basamaklarının yer değiştirilmesinin [Nadarajah vd., 2006; Tajik vd., 2008; Lavall vd., 2006], kabukların alkali çözeltide tutulma süresinin [Gamage ve Shahidi, 2007] ya da farklı metotlar kullanmanın [Elibol, 2008] deasetilasyon derecesini belirlemede önemli etkiler yarattığı bildirilmektedir. Polat (2008), pembe karides kitosanın %DD'ni IR-spektroskopi ile %79.6, potansiyometrik titrasyon ile %84.3 olarak bildirilirken, Elibol, (2008) ise karides kabuklarından elde edilen kitosanın DD'ni FT-IR ile %67-84, potansiyometrik yöntemle ise %74-90 aralığında olduğunu belirlemiştir. Farklı yöntemler kullanılan diğer çalışmalarda, kitosanın deasetilasyon derecesi karides kitosanda %80.5-90.9 [Yaghobi ve Mirzadeh., 2004], kerevit kitosanda %84.2-86.7 [Nadarajah vd., 2006], *M. stebbingi* kitosanda %92.19 ve ticari kitosanda %86.92 olarak verilmektedir [Küçükgülmez vd., 2011]. *A. urmiana* kist kabuğu kitosanda %67-74 aralığında ölçülen DD ticari kitosanda %79 [Tajik vd., 2008], *Loligo plei* iç kabuğu kitosanda ise %80.8-95.4 aralığında olduğu belirlenmiştir.

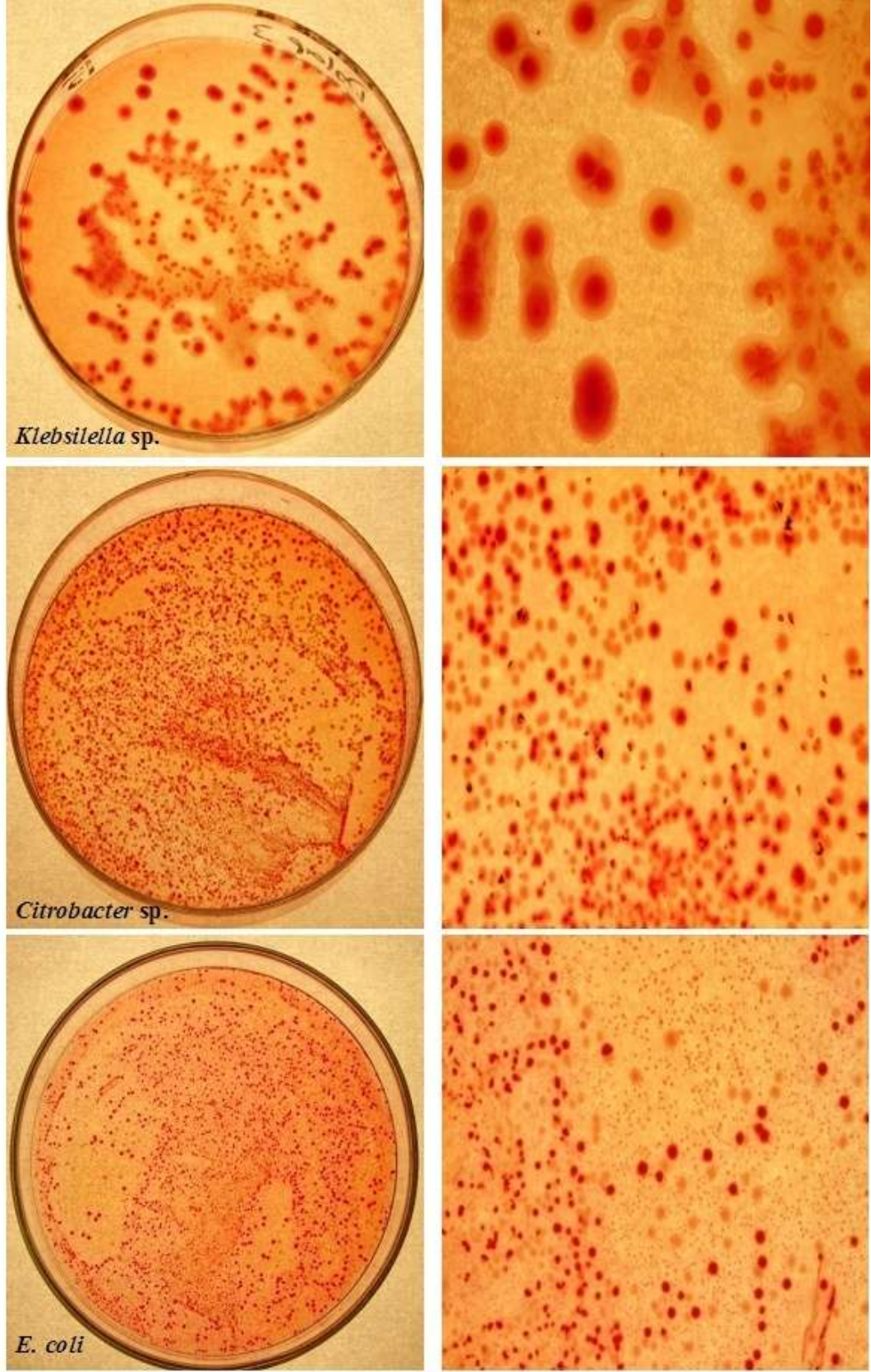
Ticari marka α -kitinde %101.2 [Lavall vd., 2006], kerevit kitosanında %71 [Fernandez-Kim, 2004], beş farklı ticari kitin ve kitosanda sırası ile %17.1-19.9 ve %72.5-90.6 [Cho vd., 1998], altı farklı marka ticari kitosanda %79.2-100 [No vd., 2000], *Fenneropenaeus indicus* kitosanında %83.28 [Mohan vd., 2012] ve yengeç kitosanda %86.40-91.30 [Gamage ve Shahidi, 2007] aralıklarında değiştiği belirlenmiştir.

Mevcut çalışmamızda kitosan gruplarının potansiyometrik yöntemle belirlenen deasetilasyon derecesinde görülen farklılığın mavi yengeçten kaynaklandığı ($p < 0.05$), diğer örneklerin ise istatistiksel anlamda benzer olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). Kitosan örneklerinin deasetilasyon derecelerinin farklı kitosan türleri ile yapılan çalışmalarla (%67.86-71.72) uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

4.3. BALIKLARIN RAF ÖMRÜNÜN BELİRLENMESİNE YÖNELİK ANALİZ BULGULARI

4.3.1. Taze Sardalya Balıklarında Enterobacteriaceae Türü Mikroorganizmaların Tespitine Yönelik Araştırma Bulguları

Çalışmada kullanılmak üzere Mersin Balık Pazarından satın alınan sardalya balıklarında, başlangıç Enterobacteriaceae türü mikroorganizmaların varlığının tespiti için balık numunelerinden örnekler alınarak besi yerlerine ekimleri yapılmıştır. Belirlenen inkübasyon süresi sonrasında çoğalan mikroorganizmaların fotoğrafları Şekil 4.3'te verilmiştir. İzole edilen saf kültürlerin identifikasyonu yapılmış ve sonuç olarak *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp. ve *Escherichia coli* türü mikroorganizmaların örnek balıklarda yaygın olarak bulunduğu saptanmıştır.



Şekil 4.3. Besiyerlerinde Çoğalan Mikroorganizmaların Görünümü

4.3.2. Taze Sardalya Filetolarının Temel Besin Madde Bileşenleri

Bu çalışmada kullanılan sardalya balıklarının depolama aşaması öncesinde belirlenen temel besin madde bileşenleri Çizelge 4.14’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan sardalya balığı örneklerinin et verimi 48.73 ± 1.10 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.14. Sardalya Balığının Temel Besin Madde Bileşenleri, (%)

Parametreler	Miktar (%)
Ham Protein	19.53 ± 0.37
Ham Yağ	7.04 ± 0.25
Ham Kül	1.64 ± 0.04
Su	71.59 ± 0.09

$\bar{X} \pm S\bar{X}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

Çizelge 4.14’de görüldüğü gibi taze sardalya filetolarının ortalama ham protein değeri %19.53, ham yağ %7.04, ham kül %1.64 ve su %71.59 olarak bulunmuştur. Balık kasının besin madde kompozisyonunu oluşturan protein, yağ, kül ve nem içeriği tür, cinsiyet, boy, yaş, avlama mevsimi, göç, beslenme durumuna bağlı olarak değişim göstermektedir [Kılınç, 1998]. Farklı çalışmalarda taze *Sardina pilchardus*’un ham protein değerinin %15.5-18.4 [Nunes vd., 1992], %18.6 [Ihm vd., 1992] ve %18.4 [Kılınç, 1998], *Sardinella longiceps* filetolarında ise %16.9 [Mohan vd., 2012] olduğu bildirilmiştir. Balık kasında bulunan protein miktarı ortalama %15-20 arasındadır. Bu değer türlere göre %15’in altında olabileceği gibi %28’in üzerinde de olabilir [Aitken vd., 2001]. Taze *S. pilchardus* filetolarında yağ içeriğini Nunes vd. (1992) %1.6-22.4, Ihm vd. (1992) %7.2 ve Kılınç, (1998) %7.21 olarak belirtirken, *S. longiceps* filetolarında ise %6.8 [Mohan vd., 2012] olarak rapor edilmiştir.

S. longiceps filetolarının ham kül değeri %1.4 [Mohan vd., 2012], *S. pilchardus* filetolarında ise %1.67 [Kılınç, 1998], %1.2 [Ihm vd., 1992] ve %1.6-3.9 [Nunes vd., 1992] olarak tespit edilmiştir. Bazı araştırmacılar sardalya balığının (*S. pilchardus*) su (nem) içeriğini %72.23 [Kılınç, 1998], %72.2 [Ihm vd., 1992] ve %58.2-78.6 [Nunes vd., 1992], *S. longiceps* filetolarında ise %75.2 [Mohan vd., 2012] olarak belirlemişlerdir. Beyaz etli balıklarda fileto ağırlığının %80’nini su oluşturmaktadır. Ancak bu değer yağlı balıklarda %70’e kadar düşebilmektedir.

Balık kasının su içeriği, balık türü, vücut bölgesi, yağ içeriğine göre değişim göstermektedir [Aitken vd., 2001]. Çalışmada tespit edilen sardalya filetolarının besin madde bulguları ile araştırmacıların tespit ettikleri değerlerin uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

4.3.3. Taze Sardalya Filetolarının Kimyasal ve Duyusal Kalite Analiz Sonuçları

Taze sardalya filetolarının kimyasal ve duyusal kalite analiz sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Sardalya Filetolarının Depolama Öncesi Kimyasal ve Duyusal Kalite Değerleri

Parametreler	Değerler
TMA-N (mg/100 g)	1.71±0.40
TVB-N(mg/100 g)	2.63±0.25
TBA(mg MA/kg)	1.66±0.09
Duyusal	5.00±0.01

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

Balıklar laboratuara ilk getirildiklerinde öncelikle Çizelge 4.15'te gösterilen analizler yapılmıştır. Taze sardalyanın TMA-N değeri 1.71 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Genel olarak sardalya balığı için TMA-N tüketim sınır değeri 5-10 mg TMA-N/100 g'dır [Ababouch vd., 1996]. Bu sınıflandırmaya göre kullanılan taze örnekler "iyi kalite"de olarak değerlendirilmiştir. Taze sardalyaların TVB-N değeri 2.63 mg/100 g olarak bulunmuştur. Ababouch vd. (1996) *S. pilchardus* için TVB-N tüketim sınırının 25-35 mg TVB-N 100 g⁻¹ olduğunu bildirmiştir. Bu değerlendirmeye göre taze sardalya balıklarının çok iyi kalitede olduğu düşünülmüştür. Sardalya balıklarının başlangıç TBA değeri 1.66 mg MA/kg ve duyusal analiz değeri 5.00 olarak tespit edilmiştir. Tüm bu değerler tazelik kriteri olarak değerlendirildiğinde, sardalya balıkları laboratuara ilk getirildiğinde çok iyi kalitede oldukları görülmektedir.

4.3.4. Depolama Süresince Kalite Kontrol Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama süresince gıdaların sahip olduğu fizikokimyasal değişimler ürünün raf ömrünün belirlenmesinde kullanılmaktadır. Raf ömrü, gıdanın tüketimine kadar iyi kalitesini sürdürdüğü zaman dilimidir. Raf ömrünü depolama sıcaklığı, balığın türü, işleme yöntemi ve paketleme şekli gibi birçok faktör etkilemektedir [Doyle, 1989].

Bu çalışmada, kimyasal kalite kontrol parametreleri üzerine depolama süresinin ve uygulama grubunun etkisinin tespit edilmesi amacıyla materyal olarak kullanılan sardalya balıkları dört gruba ayrılmıştır. Birinci grup filetolara ticari kitosandan hazırlanan %1 kitosan çözeltisi (%1 kitosan ticari), ikinci gruba tez çalışmasından elde edilen mavi yengeç kitosanının %1'lik çözeltisi (%1 kitosan uygulama), üçüncü gruba ise kitosan çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan asetik asitinin %1'lik çözeltisi uygulanmıştır. Kontrol grubu filetolara ise herhangi bir işlem uygulanmamıştır.

4.3.4.1. TMA-N (Trimetil amin) değerinde meydana gelen değişimler

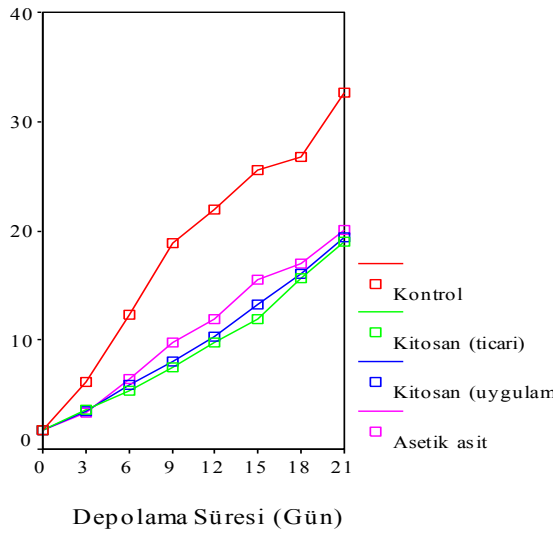
Çizelge 4.16'da farklı işleme aşamalarından geçirilen sardalya balık filetolarının buzdolabında depolaması süresince TMA-N (mg TMA-N/100 g) değerlerinde meydana gelen değişimler verilmiş olup ilgili grafik ise Şekil 4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.16. Depolama Süresince TMA-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg TMA-N/100 g)

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	1.71±0.40 ^{ax}	1.71±0.40 ^{ax}	1.71±0.40 ^{ax}	1.71±0.40 ^{ax}
3	6.15±0.41 ^{bx}	3.35±0.09 ^{by}	3.66±0.40 ^{by}	3.46±0.51 ^{by}
6	12.34±0.17 ^{cx}	6.45±0.40 ^{cy}	5.34±0.19 ^{by}	5.92±0.70 ^{cy}
9	18.93±0.80 ^{dx}	9.72±0.76 ^{dy}	7.52±0.12 ^{cz}	8.05±0.33 ^{dzy}
12	21.98±0.30 ^{ex}	11.94±0.43 ^{ey}	9.71±0.63 ^{dz}	10.35±0.23 ^{eyz}
15	25.56±0.69 ^{fx}	15.56±0.33 ^{fy}	11.92±0.89 ^{ez}	13.23±0.69 ^{fz}
18	26.79±0.81 ^{fx}	16.94±0.86 ^{fy}	15.62±0.60 ^{fy}	16.06±0.92 ^{gy}
21	32.70±0.45 ^{gx}	20.11±0.29 ^{gy}	19.04±0.30 ^{gy}	19.36±0.46 ^{hy}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b,c,d,e,f ve g harfleri süreler; x,y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.



Şekil 4.4. Depolama Süresince TMA-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg/100 g)

%1 kitosan ve %1 asetik asit uygulanan sardalya filetoalarının, buzdolabı koşullarında depolanması süresince meydana gelen kalite değişimlerinin incelendiği bu çalışmada, depolama süresinin ve uygulama grubunun TMA-N değeri üzerinde istatistiksel olarak etkili olduğu (p<0.05) Çizelge 4.16'da görülmektedir. Sardalya filetoalarının 1,71 mg TMA-N/100 g olan başlangıç TMA-N değeri depolamanın 21. gününde kontrol grubunda 32.70 mg TMA-N/100 g'a, %1 ticari kitosan uygulanan grupta 19.04 mg TMA-N/100 g'a, %1 uygulama kitosan uygulanan grupta 19,36 mg TMA-N/100 g'a ve %1 asetik asit uygulanan grupta 20.11 mg TMA-N/100 g'a

ulaşmıştır (Çizelge 4.16). Uygulama grubunun TMA-N değeri üzerine olan etkisi incelendiğinde, her analiz gününde kontrol grubunun TMA-N değerinin diğer gruplarından istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Kitosan grupları ile asetik asit grubun TMA-N değerleri depolamanın 3., 6., 18. ve 21. günde istatistiksel anlamda birbirine benzerken ($p > 0.05$); 9., 12. ve 15. günlerde gruplar arasında istatistiksel ayrımın olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).

Azotlu bileşikler içeren ekstraktlar suda çözünen, düşük molekül ağırlıklı ve protein yapısında olmayan azotlu maddeler olarak tanımlanmaktadır. TMA-N, balık etinin bozulma derecesinin, ayrıca bozulmanın koku olarak ifade edilmesinde yardımcı olmaktadır. Osmoregülasyonda görev yapan ve canlının çevresel strese adapte olmasını sağlayan TMAO (Trimetilamin oksit)'in bakteriyel veya enzimatik süreçler sonucunda indirgenmesi ile kastaki TMA miktarı artış göstermektedir. TMAO tüm deniz balıklarının kas dokusunda kuru ağırlık üzerinden %1-5 arasında bulunmaktadır. Balık ve balık ürünlerindeki TMA-N miktarı, balık türü, avlama yeri, işleme-saklama metodu ve depolama koşullarına bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir. Depolamanın ilk evresinde düşük seviyelerde iken, ilerleyen depolama süresince hızla artış göstermektedir. Sardalya balığı için TMA-N tüketim sınır değeri 5-10 mg TMA-N/100 g olarak verilmektedir [Ababouch vd., 1996].

S. pilchardus'un +4°C'de depolanması süresince TMA değeri artış göstermiş buma bağlı olarak raf ömrü 3 gün olarak belirlenmiştir [Özoğul vd., 2004]. Avlama sonrasında -18°C'de 10 gün depolanarak 24 saat oda sıcaklığında buz çözdürülen *S. pilchardus* balıkların TMA-N değerinin ise 29 mg TMA-N/100 g'dan 62 mg TMA-N/100 g'a ulaştığı tespit edilmiştir [Maršić vd., 2008]. Ababouch vd. (1996) ise, *S. pilchardus*'un buzda raf ömrünü 7 gün olarak tespit etmişlerdir. Bütün olarak ya da iç organları çıkarılan *S. pilchardus*'un +4°C'de 9 gün muhafazası süresince TMA değerlerinin sırasıyla, 2.5 mg/100 g'dan 4.16 mg/100 g'a ve 2.6 mg/100 g'dan 2.36 mg/100 g'a ulaştığı bildirilmiştir [Erkan ve Özden, 2008].

%1 ve %2'lik kitosan çözeltisi ile kaplanarak buzda muhafaza edilen *S. longiceps* filetolarının kontrol grubuna kıyasla uçucu baz ve oksidasyon ürünleri oluşumunu önemli derecede azaldığı, filetoların 6.01 mg/100 g olan başlangıç TMA-N değerinin depolamanın 9. gününde kontrol grubunda 20.19 mg/100 g, %1'lik kitosan uygulanan grupta 15.89 mg/100 g değerine, %2'lik kitosan uygulanan grupta

ise 11.88 mg/100 g değerine ulaştığı saptanmıştır. *S. longiceps* filetolarının raf ömrünün incelendiği başka bir çalışmada kontrol grubunda 5 gün, %1 kitosan uygulanan grup için 8 gün ve %2'lik kitosan uygulanan grup için 10 gün olduğu kimyasal ve fiziksel analizlerle belirlenmiştir [Mohan vd., 2012]. *Crassostrea gigas* türü istiridye etinin $+5\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 8-9 gün olan raf ömrünün, kitosan uygulanması durumunda 14-15 güne uzadığı tespit edilmiştir [Cao vd., 2009]. %2'lik kitosanla kaplanmış palamut balığı (*Sarda Sarda*) filetolarının $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 12 gün depolama süresi sonunda TMA-N değerinin 25.20-28.28 mg TMA-N/100 g seviyesine, kontrol grubu filetoların ise 33,60-33.88 mg TMA-N/100 g seviyelerine ulaştığı Muşabak, (2008) tarafından rapor edilmiştir. Ababouch vd. (1996)'nın sardalya balığı için belirttiği 5-10 mg TMA-N/100 g tüketim sınır değerine, mevcut çalışmamızda kontrol grubu örneklerin 6. günden önce, %1 asetik asit uygulanan grubun 9. günde, %1 ticari ve uygulama kitosan grubunun ise 12. günde ulaştığı tespit edilmiştir.

Balık ve balık ürünlerindeki TMA-N miktarı, balık türü, avlama yeri, işleme-saklama metodu ve depolama koşullarına bağlı olarak farklılıklar göstermektedir [Ababouch vd., 1996]. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızda kullanılan balıkların TMA-N değerlerinin uygulama grubuna ve depolama süresine bağlı olarak artış gösterdiği ayrıca, Cao vd. (2009)'nın belirttiği gibi kitosan uygulamanın ürünlerin raf ömrünü önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir.

4.3.4.2. TVB-N (toplam uçucu bazik azot) değerinde meydana gelen değişimler

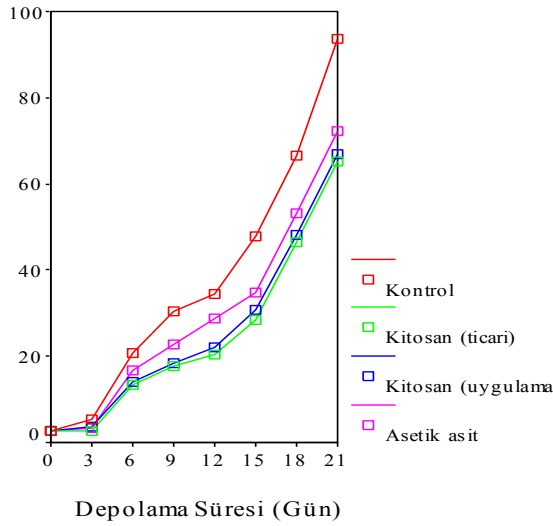
Bu çalışmada taze sardalya filetolarına farklı çözeltiler uygulanarak $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanması süresince TVB-N değerlerinde meydana gelen değişimler incelenmiş ve sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Filetoların TVB-N değerlerindeki değişimler Çizelge 4.17'de, bununla ilgili grafik ise Şekil 4.5'de sunulmuştur.

Çizelge 4.17. Depolama Süresince TVB-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg TVB-N/100 g)

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit (v/v)	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (Uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	2.63±0.25 ^{ax}	2.63±0.25 ^{ax}	2.63±0.25 ^{ax}	2.63±0.25 ^{ax}
3	5.43±0.38 ^{bx}	3.36±0.29 ^{bx}	2.59±0.43 ^{bx}	3.53±0.22 ^{bx}
6	20.83±0.96 ^{cx}	16.77±0.10 ^{exy}	13.42±0.48 ^{cy}	14.09±0.69 ^{cy}
9	30.49±0.74 ^{dx}	22.62±0.32 ^{dy}	17.67±1.39 ^{dz}	18.23±0.49 ^{dyz}
12	34.44±1.06 ^{ex}	28.76±0.94 ^{ey}	20.24±1.29 ^{dz}	22.20±0.88 ^{ez}
15	47.90±1.42 ^{fx}	34.93±0.65 ^{fy}	28.56±0.56 ^{ez}	30.75±0.05 ^{fyz}
18	66.50±1.53 ^{gx}	53.16±0.74 ^{gy}	46.59±0.88 ^{fz}	48.14±0.54 ^{gz}
21	93.49±1.83 ^{hx}	72.40±0.62 ^{hy}	65.30±0.63 ^{gz}	66.75±0.58 ^{hz}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b,c,d,e,f ve g harfleri süreler; x,y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.



Şekil 4.5. Depolama Süresince TVB-N Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg/100 g)

Bu çalışmada, buzdolabında 21 gün muhafaza edilen sardalya filetoalarının TVB-N değerlerinin depolama süresine ve uygulama gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (p<0.05). Çalışmamızda kullanılan taze sardalya filetoalarının başlangıç TVB-N değeri 2.63 mg/100 g iken, depolama süresince bu değer artış gösterdiği ve 21. günde kontrol grubunda 93.49 mg/100 g değerine yükseldiği görülmektedir. %1 asetik asit uygulanan grupta 72.40 mg/100 g değerine, %1 ticari kitosan uygulanan grupta 65.30 mg/100 g'a, %1 uygulama kitosan grubunda ise 66.75 mg/100 g'a ulaştığı tespit edilmiştir. Bu verilere göre

uygulama türüne bakmaksızın depolama süresince her grubun TVB-N değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı artışlar gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Uygulama türlerinin TVB-N değeri üzerine etkileri değerlendirildiğinde, 0. ve 3. günde tüm uygulama gruplarının istatistiksel olarak birbirine benzerlik gösterdiği saptanmıştır ($p > 0.05$), buna karşılık 6. günden itibaren her analiz gününde kontrol grubunun sahip olduğu değerler diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). Uygulama ve ticari kitosan gruplarının her ikisinde de depolama süresince sahip oldukları TVB-N değerlerinin istatistiksel olarak benzerlik gösterdiği saptanmıştır ($p > 0.05$).

Deniz ve tatlı su balıklarının tazelik derecesinin belirlenmesinde uygulanan analizlerden biride TVB-N analizidir. TVB-N taze balıkta dahi bir miktar bulunup depolama süresine bağlı olarak artış göstermektedir. Bu artış balık türü, avlama mevsimi, balığın beslenme durumu, yaşı ve cinsiyeti gibi faktörlerin yanı sıra uygulanan işleme metodu, paketlenme yöntemi ile depolama sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Kietzman vd. (1969), balık ve balık ürünlerindeki TVB-N değerinin 35 mg/100 g ve üzeri olması durumunda ürünleri “bozulmuş” olarak sınıflandırırken, Ababouch vd. (1996) *S. pilchardus* için TVB-N tüketim sınırının 25-35 mg TVB-N 100 g⁻¹ aralığında değiştiğini bildirmiştir.

S. pilchardus'un +4°C'de depolanması süresince TVB-N değeri artış göstermiş, raf ömrü ise 3 gün olarak belirlenmiştir [Özoğul vd., 2004]. Aynı balık türü ile yapılan başka bir çalışmada filetoların buzdolabında muhafazası süresince kimyasal ve mikrobiyolojik değerlerin artış gösterdiği ve depolamanın 7. gününde TVB-N değerinin tüketim sınır değerine ulaştığını ancak balığın raf ömrünün 6 gün olduğu Erkan vd. (2006) tarafından belirlenmiştir. *S. pilchardus*'la yapılan diğer çalışmada ise, Çaklı vd. (2003) filetoların 16.80 mg/100 g olan başlangıç TVB-N değerinin no-frost koşullarda 140 gün depolama süresi sonunda 19.60 mg /100 g'a ulaştığını ancak tüketim sınırları içerisinde yer aldığını vurgulamışlardır. *S. pilchardus*'un bütün ya da iç organları olmadan +4°C'de 9 gün muhafazası süresince TVB-N değerinin iç organları olmayan grupta 15.03 mg/100 g'a, bütün olanlarda ise 29.23 mg/100 g değerine yükseldiği Erkan ve Özden, (2008) tarafından tespit edilmiştir. Avlama sonrasında -18°C'de 10 gün muhafaza edilen *S. pilchardus*'un 24 saat oda sıcaklığında buz çözdürülen balıkların TVB-N değerleri 45 mg/100 g'dan

74 mg/100 g değerine ulaştığı saptanmıştır [Maršić vd., 2008]. *S. pilchardus*'un buzda muhafazası süresince kimyasal kalite ve mikrobiyolojik değerlerinin artış gösterdiği ve 7 güne kadar tüketilebileceği bildirilmiştir [Ababouch vd., 1996].

Başlangıç TVB-N değeri 14.81 mg/100 g olan *S. longiceps* filetolarına % 1 ve 2'lik kitosan çözeltisi uygulanarak buzda 9 gün muhafaza edilen örneklerin bu süre sonunda kontrol grubunda 45.88 mg /100 g'a, %1'lik kitosan grubunda 39.8 mg/100 g'a ve %2'lik kitosan grubunda 30.89 mg/100 g'a ulaştığı saptanmıştır [Mohan vd., 2012]. %2'lik kitosanla kaplanmış palamut balığı filetolarının +4±1°C'de 12 gün depolanması sonucunda TVB-N değerinin 25.20-28.28 mg /100 g'a ulaştığı bildirilmiştir [Muşabak, 2008]. Kitosan ve tarçın yağı uygulanan gökkuşağı alabalığı filetolarının buzdolabında 16 gün muhafazası süresince, kitosan uygulanan örneklerin TVB-N değeri (22.86 mg /100 g) kitosan ve tarçın yağı uygulanan gruba kıyasla (14.23 mg /100 g) daha yüksek olduğu, ancak örneklerin tüketim sınır değerine ulaşmadığı saptanmıştır [Ojagh vd., 2010]. Asetik asit (%1) ve kitosan (%2) uygulanan *Hypophthalmichthys molitrix* filetolarının 7.3 mg/100 g olan başlangıç TVB-N değeri -3°C'de 30 gün depolama süresi sonunda kitosan grubunda 18.8 mg/100 g'a, %1 asetik asit grubunda 30.2 mg/100 g değerine yükseldiği tespit edilmiştir [Fan vd., 2009]. Başlangıç TVB-N değeri 5.25 mg/100 g olan *C. gigas* türü istiridyeye etinin +5±1°C'de muhafazası süresince bu değerinin artış gösterdiğini, kontrol grubu örnekler 8. günde 20.66 mg/100 g değerine ulaşırken kitosan uygulanan grubun 23.16 mg/100 g değerine 14. günde ulaştığı Cao vd. (2009) tarafından gözlenmiştir.

TVB-N tüketim sınır değeri Ababouch vd. (1996) tarafından 25-35 mg/100 g olarak belirlenen değere çalışmamızda kontrol grubu örnekler 6. günden sonra, %1 asetik asit grubu 9. günden sonra ve %1 kitosan (uygulama ve ticari) grubu ise 12. günden sonra ulaştığı tespit edilmiştir. Kontrol grubu örnekler TVB-N tüketim sınır değerine asetik asit ve kitosan uygulanan gruba kıyasla daha önce ulaşmıştır. Asetik asit uygulanan grubun 9. günden itibaren her analiz gününde sahip olduğu TVB-N değeri kitosan uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Bu farklılık, kitosanın TVB-N değeri bakımından sardalya filetoları üzerine olumlu etkisini vurgulamaktadır. TVB-N değerinin depolama süresince artış gösterdiği ve kitosan uygulamanın balıkların TVB-N

değerlerini yavaşlattığı, bildirilen önceki çalışmaların bulguları ile bizim çalışma bulgularımızın uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

4.3.4.3. TBA (tiyobarbitürik asit) değerinde meydana gelen değişimler

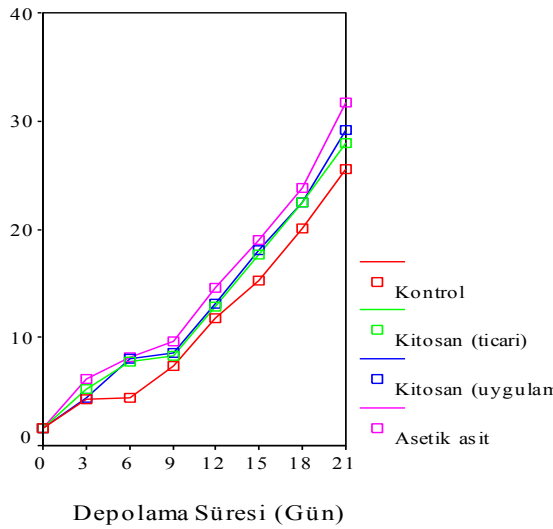
Deneme süresince $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanan sardalya filetolarında meydana gelen TBA (mg malonaldehit/kg) değerindeki değişimler Çizelge 4.18'de, ilgili grafik ise Şekil 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.18. Depolama Süresince TBA Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg MA/kg)

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	1.66±0.09 ^{ax}	1.66±0.09 ^{ax}	1.66±0.09 ^{ax}	1.66±0.09 ^{ax}
3	4.30±0.60 ^{bx}	6.10±0.20 ^{bx}	5.19±0.54 ^{bx}	4.48±0.29 ^{bx}
6	4.40±0.49 ^{bx}	8.11±0.37 ^{cx}	7.72±0.21 ^{cx}	8.05±0.23 ^{cx}
9	7.33±0.16 ^{cx}	9.58±0.50 ^{dx}	8.36±0.38 ^{cx}	8.60±0.27 ^{cx}
12	11.72±0.12 ^{dx}	14.56±0.60 ^{ex}	12.89±0.79 ^{dx}	13.15±0.73 ^{dx}
15	15.23±0.33 ^{ex}	19.06±0.72 ^{fy}	17.62±0.28 ^{ey}	18.12±0.35 ^{ey}
18	20.12±0.09 ^{fx}	23.80±0.69 ^{gy}	22.45±0.63 ^{fy}	22.49±0.26 ^{fy}
21	25.55±0.28 ^{gx}	31.72±0.41 ^{hy}	27.93±0.63 ^{gx}	29.20±0.84 ^{gxy}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b,c,d,e,f ve g harfleri süreler; x,y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.



Şekil 4.6. Depolama Süresince TBA Değerinde Meydana Gelen Değişimler, (mg MA/kg)

Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi, depolama süresinin sardalya filetolarının TBA değeri üzerine etkisi incelendiğinde, filetoların 1.66 mg MA/kg olan başlangıç TBA değerinin depolama süresince istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstererek ($p < 0.05$) depolamanın son gününde kontrol grubunda 25.55 mg MA/kg’a, %1 asetik asit grubunda 31.72 mg MA/kg’a, %1 ticari kitosan grubunda 27.93 mg MA/kg’a, %1 uygulama kitosan grubunda ise 29.20 mg MA/kg değerine ulaştığı görülmektedir. TBA değeri üzerine uygulama gruplarının genel etkisi incelendiğinde, 15. güne kadar her analiz gününde tüm grupların TBA değerleri arasında istatistiksel bir ayrıma rastlanmamıştır ($p > 0.05$). Kitosan gruplarının TBA değerleri birbiri ile kıyaslandığında, her analiz gününde ölçülen değerlerin istatistiksel olarak benzerlikler gösterdiği görülmektedir ($p > 0.05$).

TBA değeri, özellikle yağlı balıklarda, yağların acılaşma (oksidasyon) derecesini belirlemede oldukça yaygın kullanılan bir indikatördür. Genel olarak, malonaldehit miktarının artış göstermesi yağların acılaşma derecesini ifade etmektedir. Duyusal analizler ile yağlardaki değişimler gözlenebildiğinden, TBA analizlerinin duyusal analizlerle desteklenmesi önem taşımaktadır. Depolama süresince balıkların TBA değerindeki artış, ortam sıcaklığının düşürülmesi, değişik antioksidanların eklenmesi ya da farklı ambalajlama teknikleri kullanılarak yavaşlatılabilmektedir. TBA değerinin “tüketilebilirlik sınır değeri” 7-8 mg malonaldehit/kg olup, “çok iyi” bir örnekte 3’ten az, “iyi” bir örnekte ise 5’ten az olması istenmektedir [Tarladgis, 1960].

TBA değeri küçük boylu taze sardalyaların (*S. pilchardus*) 2.57 mg MA/kg, büyük boylularda ise 8.21 mg MA/kg olarak tespit edilmiştir [Tokur vd., 2006]. *S. longiceps* filetolarının -20°C ’de depolanması süresince 0.93 mg MA/kg olan başlangıç TBA değerinin 12 hafta sonunda 3.38 mg MA/kg’a ulaştığı bildirilmiştir [Sarma vd., 2000]. No-frost koşullarda 140 gün depolanan *S. pilchardus*’un 0.5 mg MA/kg olan başlangıç TBA değeri 4.76 mg MA/kg’a ulaştığı Çaklı vd. (2003) tarafından belirlenmiştir. *S. pilchardus*’un $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 9 gün muhafazası süresince, TBA değerinin 1.02 mg MA/kg’dan 7.03 mg MA/kg’a ulaştığı ve balıkların 3 günde tüketim sınırına geldiği tespit edilmiştir [Erkan vd., 2006]. *S. pilchardus*’un $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 9 gün muhafazası süresince, TBA değerlerinin bütün olarak depolanan balıklarda 2.86 mg MA/kg’dan 21.54 mg MA/kg’a, iç organları çıkarılmış grupta ise 2.7 mg

MA/kg'dan 21.54 mg MA/kg değerine ulaşarak tüketim sınırını 7. günden sonra aştığını tespit etmişlerdir [Erkan ve Özden, 2008]. Baş ve iç organları çıkarılan *S. pilchardus*'un $+4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 11 gün muhafazası süresince TBA değerlerindeki değişimlerin incelendiği başka bir araştırmada, TBA değerinin 1.39 mg MA/kg'dan 6.44 mg MA/kg değerine artarak tüketim sınır değerini aştığı ve örneklerin raf ömrünün 6 gün olduğu bildirilmiştir [Özden ve Gökoğlu, 1997]. *S. pilchardus*'un TBA değerlerinin değişimi incelendiğinde buzdolabında 3 günde tüketim sınır değerine ulaştığı saptanmıştır [Ababouch vd., 1996].

Başlangıç TBA değeri 0.08 mg MA/kg olan gökkuşağı alabalığı filetolarına kitosan ve tarçın yağı uygulaması sonrasında, buzdolabında depolama süresince bu değer 0.22-0.24 mg MA/kg yükseldiği, ancak tüketim sınırına ulaşmadığı bildirilmiştir [Ojagh vd., 2010]. Asetik asit (%1) ve kitosan (%2) uygulanan *H. molitrix* filetolarının -3°C 'de 30 gün muhafazası süresince, kitosan uygulanan örneklerin TBA değerlerinin asetik asit grubuna kıyasla düşük olduğu bildirilmiştir [Fan vd., 2009]. % 1 ve %2'lik kitosan kaplanarak buzdolabında muhafaza edilen *S. longiceps* filetolarının 0.32 mg MA/kg olan başlangıç TBA değerinin 9. günde kontrol grubunda 4.89 mg MA/kg değerine, %1'lik kitosan uygulanan grupta 2.21 mg MA/kg değerine ve %2'lik kitosan uygulanan grupta ise 2.02 mg MA/kg seviyesine ulaştığı saptanmıştır [Mohan vd., 2012].

Çalışmamızda, sardalya filetolarının TBA değerine göre tüketim sınır değerine, kontrol grubu örnekler 9. günde, diğer gruplar ise 6. günden önce ulaştıkları tespit edilmiştir. Kontrol grubu örneklerin diğer gruplardan daha sonra tüketilebilirlik sınır değerine ulaşması, Muşabak, (2008)'in belirttiği gibi kitosan çözeltisinin hazırlanmasında kullanılan asidik ortamın, lipid oksidasyonunu artırarak TBA değerini yükseltmesi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Yukarıda verilen literatür araştırmalarından da görüldüğü gibi, çalışma bulgularımızda filetoların TBA değerinin depolama süresince artış gösterdiği, asetik asit uygulamasının raf ömrü üzerinde olumsuz etki yarattığı tespit edilmiştir.

4.3.4.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında meydana gelen değişimler

Depolama süresince sardalya filetolarının toplam mezofilik aerobik bakteri sayısında meydana gelen değişimler Çizelge 4.19’da verilmiştir.

Çizelge 4.19. Depolama Süresince Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısında Meydana Gelen Değişimler, (log kob/g)

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	4.58±0.23 ^{ax}	4.36±0.41 ^{ax}	3.91±0.26 ^{ax}	4.44±0.40 ^{ax}
3	5.79±0.44 ^{ax}	5.54±0.62 ^{abx}	5.43±0.31 ^{abx}	5.52±0.18 ^{abx}
6	8.43±0.62 ^{bx}	6.66±0.63 ^{bxy}	6.40±0.79 ^{by}	6.49±0.16 ^{by}
9	11.17±0.54 ^{cx}	9.43±0.15 ^{cxy}	9.09±0.69 ^{cy}	9.01±0.70 ^{cy}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b ve c harfleri süreler; x, y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

+4±1°C’de muhafaza edilen sardalya filetolarının depolama süresince toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli artışlar göstermiştir (p<0.05) (Çizelge 4.19). Kontrol grubunun 4.58 log kob/g olan başlangıç değeri 9. günde 11.17 log kob/g’a, %1 asetik asit uygulanan grubun 4.36 log kob/g olan başlangıç değeri 9.43 log kob/g’a, %1 ticari kitosan uygulanan grubun 3.91 log kob/g olan başlangıç değeri 9.09 log kob/g’a ve %1 uygulama kitosan grubunun 4.44 log kob/g olan başlangıç değeri 9.01 log kob/g’a yükseldiği tespit edilmiştir. Depolamanın 0. ve 3. günlerinde uygulama gruplarının toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı istatistiksel olarak benzerlik göstermesine karşın, 6. günden sonra kontrol grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak daha yüksek değerlere sahip olduğu gözlenmiştir.

Su ürünlerinin buldukları sucul ortam ile sürekli temas halinde olması, mevcut mikrobiyal yüklerini de etkilemektedir. Özellikle, balığın türü, yakalandığı ortamın mikrobiyal kirlilik durumu, başlangıçtaki mikrobiyal yük gibi etmenler bozulma hızı açısından önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra, avlama sonrası depolama ve ortam koşulları su ürünlerinin mikrobiyal yükünün hızla artmasına ya da ortamdan kontaminasyona maruz kalmasına neden olmaktadır. Duyusal parametreler üzerine doğrudan etki yaratması ve tüketici sağlığı bakımından,

gıdaların mikroorganizma yükü önem taşımaktadır. Su ürünlerine uygulanan mikrobiyal analizlerden biri olan “Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı”, üründe bulunan toplam bakteri ya da toplam canlı bakteri sayısını ifade etmektedir.

Bu analiz ile gıda örneklerinin işleme, ambalajlama, taşıma, depolama koşulları hakkında standartlara uyulup uyulmadığı ya da ürünün bozulma durumu ile raf ömrünün belirlenmesinde kullanılmaktadır. İşlenmiş, soğutulmuş ya da dondurulmuş su ürünlerinin gramında kabul edilebilecek maksimum mezofilik aerobik bakteri sayısı 10^6 - 10^7 olarak belirtilmektedir [Özturan, 2009].

Koruma amaçlı kitosan çözeltisinin uygulandığı $+5\pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanan *C. gigas* türü istiridye etinin artan kitosan derişiminin bakteriyel inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir. 5 ve 10 g/l kitosan çözeltisinin etkisi benzer bulunurken, ürünlerin raf ömrü üzerine en iyi etkiyi 5 g/l kitosan çözeltisinin gösterdiği, mikrobiyal bakımından kontrol grubu örneklerin raf ömrünün 8 gün olduğu tespit edilmiştir [Cao vd., 2009]. Kitosan ve/veya tarçın yağı uygulanarak, buzdolabı koşullarında muhafaza edilen gökkuşacağı alabalığı filetolarının mikrobiyolojik analiz sonuçlarından, kitosan ve tarçın yağı uygulanan örneklerin bakteriyel inhibisyonunun yalnız kitosan uygulanan gruba kıyasla daha iyi olduğu tespit edilmiştir [Ojagh vd., 2010]. Asetik asit (%1) ve kitosan (%2) uygulanarak -3°C 'de 30 gün muhafaza edilen *H. molitrix* filetolarından, kitosan uygulanan grubun mikrobiyolojik analizlerinden, iyi kalitelerini devam ettirdikleri, asetik asit grubu örneklerinin ise depolamanın 25. gününde tüketim sınır değerini aştığı tespit edilmiştir [Fan vd., 2009]. $+4^\circ\text{C}$ 'de 9 gün muhafaza edilen *S. pilchardus*'un depolamanın 3-5. günleri arasında mikrobiyal değerlerinin hızla artış gösterdiği ve 5. günden sonra tüketime uygun olmadığı sonucuna varılmıştır [Erkan vd., 2006]. Bütün olarak ya da iç organları çıkarılarak $+4^\circ\text{C}$ 'de 9 gün muhafaza edilen *S. pilchardus*'un mikrobiyal tüketim değerini aşmadığı bildirilmiştir [Erkan ve Özden, 2008]. Kitosanın antimikrobiyal etki mekanizması tam olarak belirlenememesine rağmen negatif yüklü maddeler ile interaksyonu sonucunda bakteri, küf ve mayalara karşı etkili olabileceği vurgulanmıştır [Kurt ve Zorba, 2005].

Çalışma bulgularımızdan işlenmiş, soğutulmuş ya da dondurulmuş su ürünlerinin gramında kabul edilebilecek maksimum mezofilik aerobik bakteri sayısı olan 10^6 - 10^7 [Özturan, 2009] değerine, kontrol grubu örneklerin 6. günden önce

diğer grupların ise 6. günde ulaştığı tespit edilmiştir. Kitosanın bakteriyel gelişim üzerine inhibe edici etkisinin bir sonucu olarak filetoların duyusal ve bazı kimyasal analiz değerlerini (TVB-N gibi) yavaşlatarak kontrol grubuna kıyasla daha uzun raf ömrüne neden olduğu düşünülmüştür.

4.3.4.5. Duyusal analiz parametrelerinde meydana gelen değişimler

Sardalya filetolarının buzdolabında depolanması süresince daha önceden belirlenen günlerde her uygulama grubu için duyusal analizler ayrı ayrı yapılmış olup filetolar pişirilmeden değerlendirilmiştir. Sardalya filetolarının buzdolabında depolanması süresince duyusal analizin bir parçası olan renk parametresinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20. Depolama Süresince Renk Parametresinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}
3	4.33±0.58 ^{ax}	2.67±0.58 ^{by}	3.33±0.58 ^{bxy}	4.00±0.00 ^{ax}
6	3.67±0.58 ^{ax}	2.33±0.58 ^{by}	3.00±1.00 ^{bcxy}	3.00±1.00 ^{abxy}
9	1.33±0.58 ^{bx}	2.33±0.58 ^{bx}	2.00±0.00 ^{cx}	2.33±0.58 ^{bcx}
12	1.33±0.58 ^{bx}	1.00±0.00 ^{cx}	2.00±0.00 ^{cx}	1.67±0.58 ^{cx}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a, b ve c harfleri süreler; x, y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Çizelge 4.20’nin incelenmesinden, sardalya balıklarının renk parametresinde meydana gelen değişimlerin depolama süresince istatistiksel anlamda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (p<0.05). Uygulama gruplarının renk değerleri kıyaslandığında, 9. günden itibaren grupların renk değerleri arasında herhangi bir istatistiksel ayrım görülmemiştir (p>0.05). Bu parametreye göre, filetolar kabul edilebilir tüketim sınır değerine kontrol grubu örnekler 6. günden sonra, asetik asit grubu 3. günden önce, kitosan uygulanan gruplar ise 6. günde ulaşmışlardır.

Çalışmamızda +4±1°C’de muhafaza edilen sardalya filetolarının depolama süresince duyusal analiz değerlerinden koku parametresinde meydana gelen değişimler ise Çizelge 4.21’de sunulmuştur. Depolama süresine bağlı olarak

filetoların duyuşal koku değeri istatistiksel olarak anlamlı düşüşler göstermiştir ($p<0.05$). Depolamanın sadece 9. gününde uygulama gruplarının koku değeri arasında istatistiksel bir ayrımın olduğu tespit edilmiştir. Koku parametresine göre filetolar kabul edilebilir tüketim sınır değerine kontrol grubu 6. günden sonra, asetik asit ve ticari kitosan uygulanan grubun 9. günde, uygulama kitosan grubunun ise 6. Günden önce ulaştığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. Depolama Süresince Koku Parametresinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}
3	4.67±0.58 ^{ax}	3.33±0.58 ^{bx}	3.33±0.58 ^{bx}	3.67±0.58 ^{ax}
6	3.67±0.58 ^{bx}	3.00±1.00 ^{bx}	3.00±1.00 ^{bx}	2.67±1.15 ^{abx}
9	1.00±0.00 ^{cx}	3.00±0.00 ^{by}	3.00±0.00 ^{by}	2.67±0.58 ^{acy}
12	1.00±0.00 ^{cx}	1.00±0.00 ^{cx}	2.00±0.00 ^{cx}	1.33±0.58 ^{bcx}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b ve c harfleri süreler; x,y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

Sardalya filetolarının buzdolabı koşullarında depolanması süresince duyuşal analiz değerinden bir başkası olan görünüm parametresinde meydana gelen değişimler Çizelge 4.22’de verilmiştir. Görünüm açısından sardalya filetoları depolama süresince istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$). Uygulama gruplarının görünüm parametresi üzerine etkisi değerlendirildiğinde, grupların 3. günde sahip olduğu değerler dışında istatistiksel ayrımın gözlenmediği tespit edilmiştir. Tüketim sınır değerine, kontrol grubu örnekler 9. günde, uygulama kitosan grubu 6. günde, asetik asit grubunda 3. günden önce, ticari kitosan uygulanan grupta ise 3. günde ulaştığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.22. Depolama Süresince Görünüm Parametresinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}
3	5.00±0.00 ^{ax}	2.67±0.58 ^{by}	3.00±0.00 ^{by}	4.00±0.00 ^{axy}
6	3.67±0.58 ^{bx}	2.67±0.58 ^{bx}	2.67±0.58 ^{bx}	3.33±0.58 ^{bx}
9	3.33±0.58 ^{bx}	2.33±0.58 ^{bx}	2.67±0.58 ^{bx}	2.33±0.58 ^{cx}
12	1.33±0.58 ^{cx}	1.00±0.00 ^{cx}	1.67±0.58 ^{cx}	1.67±0.58 ^{dx}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Farklı uygulamalar yapılarak buzdolabı koşullarında muhafaza edilen sardalya filetoalarının duyusal analiz değerlerinden doku parametresinde meydana gelen değişimler ise Çizelge 4.23'te verilmektedir. Filetoaların dokusal değerleri, depolama süresince anlamlı farklılıklar göstermiştir (p<0.05). Depolamanın 6. gününden itibaren uygulama gruplarının sahip olduğu dokusal analiz değerleri karşılaştırıldığında, tüm grupların birbirine benzer olduğu görülmektedir (p>0.05). Tüketim sınır değerine, kontrol grubu örnekler depolamanın 6. gününde, asetik asit grubu 3. günde ve ticari kitosan uygulanan grubunun 3. günden sonra ve uygulama kitosan grubunun ise 6. günden önce ulaştığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.23. Depolama Süresince Doku Parametresinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}
3	4.33±0.58 ^{ax}	3.00±0.00 ^{by}	3.67±0.58 ^{axy}	4.00±0.00 ^{axy}
6	3.00±1.00 ^{ax}	2.33±1.15 ^{bcx}	2.67±0.58 ^{abx}	2.67±0.58 ^{bcx}
9	1.33±0.58 ^{bx}	2.00±0.00 ^{bcx}	2.33±0.58 ^{bx}	2.00±0.00 ^{cdx}
12	1.33±0.58 ^{bx}	1.67±0.58 ^{cx}	1.00±0.00 ^{cx}	1.33±0.58 ^{dx}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b, c ve d harfleri süreler; x, y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistiki bir ayırım vardır.

Çalışmamızda kullanılan sardalya filetoalarının buzdolabında depolanması süresince duyusal analiz değerinden tüketilebilirlik parametresinde meydana gelen

değişimler Çizelge 4.24'te verilmiştir. Çalışmanın ilk gününde çok taze olduğu tespit edilen sardalya filetolarının depolama süresine bağlı olarak tazelikleri önemli ölçüde düşüş göstermiştir ($p < 0.05$). Depolamanın 9. ve 12. gününde gruplar arası tüketilebilirlik değerleri birbirine benzerlik göstermektedir ($p > 0.05$). Tüketim sınır değerine kontrol grubu örnekler 6. günden sonra, %1 asetik asit grubu 3. günden önce, ticari kitosan grubunun 3. günde ve uygulama kitosan grubunun 6. günden önce ulaştığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.24. Depolama Süresince Tüketilebilirlik Parametresinde Meydana Gelen Değişimler

Depolama Süresi (gün)	Uygulama Grubu			
	Kontrol	%1 asetik asit	%1 kitosan (Ticari)	%1 kitosan (uygulama)
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
0	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}	5.00±0.00 ^{ax}
3	4.00±0.00 ^{ax}	2.33±0.58 ^{by}	3.00±1.00 ^{bxy}	4.00±0.00 ^{ax}
6	3.67±0.58 ^{ax}	2.33±0.58 ^{by}	2.33±0.58 ^{cy}	2.33±0.58 ^{by}
9	1.00±0.00 ^{bx}	2.00±0.00 ^{bx}	2.00±0.00 ^{cx}	2.00±0.00 ^{bx}
12	1.00±0.00 ^{bx}	1.00±0.00 ^{cx}	1.00±0.00 ^{dx}	1.33±0.58 ^{cx}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a, b ve c harfleri süreler; x, y ve z harfleri ise uygulamalar arası farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistiki bir ayrım vardır.

“Kalite” ifadesi, çok yaygın kullanılan bir terim olup “bir gıdanın tüketici tarafından tercihini ve kabul edilebilirliğini” ifade etmektedir. Kitosan ve tarçın yağı uygulanan gökkuşağı alabalığı filetolarının buzdolabında muhafaza süresince duyu kalite değişimlerinin incelendiği bir çalışmada, kontrol grubu örnekler 8 gün raf ömrüne sahip olurken, kitosan uygulanan örneklerin aynı sürede tüketim sınır değerine ulaşmadığı bildirilmiştir [Ojagh vd., 2010]. No-frost koşullarda 140 gün depolanan *S. pilchardus*'un duyu analiz sonuçlarına dayanarak depolamanın birinci ayından sonra lezzette acılaşmanın başladığı ve depolama süresi sonuna doğru artış gösterdiği saptanmıştır [Çaklı vd., 2003]. Asetik asit (%1) ve kitosan (%2) uygulanarak, -3°C'de 30 gün muhafaza edilen *H. molitrix* filetolarından asetik asit uygulanan grubun duyu kalitesini 25 gün sürdürdüğü bildirilmiştir [Fan vd., 2009]. 9 gün süreyle +4°C'de muhafaza edilen *S. pilchardus*'un duyu analizlerinden, depolamanın 5. gününde tüketim sınır değerine ulaştığı bildirilmektedir [Erkan vd., 2006]. Bütün olarak ya da iç organları çıkarılarak

+4°C'de 9 gün muhafaza edilen *S. pilchardus*'un duyusal olarak 7. günden sonra tüketim sınırını aştığı belirtilmiştir [Erkan ve Özden, 2008]. Kitosan çözeltisi uygulanan *C. gigas* türü istiridye etinin +5±1°C'de depolaması süresince depolamanın ilk birkaç günü gruplar arası duyusal değerlerde belirgin bir farklılık gözlenmezken, 4. günden sonra kontrol grubunda hızla artarak 10. günde tüketim sınırını aştığı, kitosan uygulanan grubun ise 15. güne kadar tüketilebilir değerini koruduğu vurgulanmıştır [Cao vd., 2009]. Depolama süresince ürünlerde duyusal kalite kayıplarının bildirildiği literatür çalışmaları ile tez çalışma bulguları benzer niteliktedir. Ancak kitosan uygulamanın filetoaların raf ömrü üzerindeki etkisi, kimyasal ya da mikrobiyal analizin tersine duyusal analiz ile tespit edilememiştir. Bunun nedeni olarak, panelistlerin yarı eğitilmiş olması düşünülmüştür.

4.4. AĞIR METAL UYGULAMASINA AİT ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada adsorbent olarak kitin ve kitosanın Cd⁺² ve Cr⁺⁶ iyonlarını adsorpsiyon yetenekleri incelenmiştir. Tez materyalleri arasından seçilen kitin ve kitosan gruplarının Cd⁺² iyonunu adsorpsiyon yeteneği arasındaki ilişki Çizelge 4.25'te gösterilmektedir.

Çizelge 4.25. Adsorbentlerin Cd⁺² İyonunu Adsorpsiyon Yetenekleri

Adsorbent Türü	Grup	Derişim (mg/l)	%Adsorpsiyon $\bar{X} \pm S\bar{x}$	q (mg/g) $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Kitin	Manta Karidesi	10	50.77±0.93 ^{axk}	2.54±0.05 ^{axk}
		25	29.36±0.56 ^{bxx}	3.67±0.07 ^{bxx}
		50	22.05±0.42 ^{cxk}	5.51±0.11 ^{cxk}
		75	18.40±0.25 ^{dxk}	6.90±0.09 ^{dxk}
		100	14.81±0.17 ^{exk}	7.41±0.08 ^{exk}
	Ticari	10	53.03±1.38 ^{ayk}	2.65±0.07 ^{axk}
		25	28.11±0.33 ^{bxx}	3.51±0.04 ^{bxx}
		50	20.82±0.22 ^{cxk}	5.21±0.06 ^{cyk}
		75	16.72±0.12 ^{dyk}	6.27±0.04 ^{dyk}
		100	14.96±0.12 ^{exk}	7.48±0.06 ^{exk}
Kitosan	Manta Karidesi	10	98.87±0.15 ^{axl}	4.95±0.01 ^{axl}
		25	48.55±0.48 ^{bxl}	6.07±0.06 ^{bxl}
		50	29.70±0.29 ^{cxl}	7.43±0.07 ^{cxl}
		75	24.60±0.12 ^{dxl}	9.23±0.05 ^{dxl}
		100	21.47±0.07 ^{exl}	10.74±0.04 ^{exl}
	Ticari	10	99.73±0.06 ^{axl}	4.99±0.00 ^{axl}
		25	51.76±0.50 ^{byl}	6.47±0.06 ^{byl}
		50	31.33±0.24 ^{cyl}	7.84±0.06 ^{cyl}
		75	27.27±0.12 ^{dyl}	10.23±0.04 ^{dyl}
		100	23.22±0.16 ^{eyl}	11.62±0.08 ^{eyl}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama ± Standart Sapma

a,b,c,d,e harfleri aynı adsorbent türü ve grup içinde derişimlerin karşılaştırılmasında, x ve y harfleri aynı adsorbent türü ve derişim içinde grupların karşılaştırılmasında, k ve l harfleri ise aynı grup ve derişim içinde adsorbent türlerinin karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Farklı harflerle gösterilen veriler arasında p<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Çizelge 4.25 incelendiğinde aynı adsorbent türü ve grup içerisinde Cd⁺² iyon derişimleri karşılaştırıldığında metal iyonu gideriminin azaldığı (%adsorpsiyon) buna karşın adsorpsiyon kapasitesinin (q) artış gösterdiği istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0.05). Adsorbent türlerinin Cd⁺² iyonu adsorpsiyon yeteneklerinde istatistiksel ayırma rastlanmıştır (p<0.05). Kitosan gruplarının kitin gruplarına göre daha yüksek adsorpsiyon yeteneğine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.26'da kitin ve kitosan türlerinin Cr⁺⁶ iyonunu adsorpsiyon yeteneği arasındaki ilişki sunulmuştur. Adsorbent türü ve grubu ne olursa olsun ortamın Cr⁺⁶ iyon derişimi arttıkça metal iyonu gideriminin azaldığı ve adsorpsiyon kapasitesinin arttığı Çizelge 4.26'da görülmektedir (p<0.05). Ayrıca adsorbent türleri arasında en iyi adsorpsiyon yeteneğinin Cd⁺² iyonuna benzer şekilde Cr⁺⁶ iyonu içinde kitosan gruplarında olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.26. Adsorbentlerin Cr⁺⁶ İyonunu Adsorpsiyon Yetenekleri

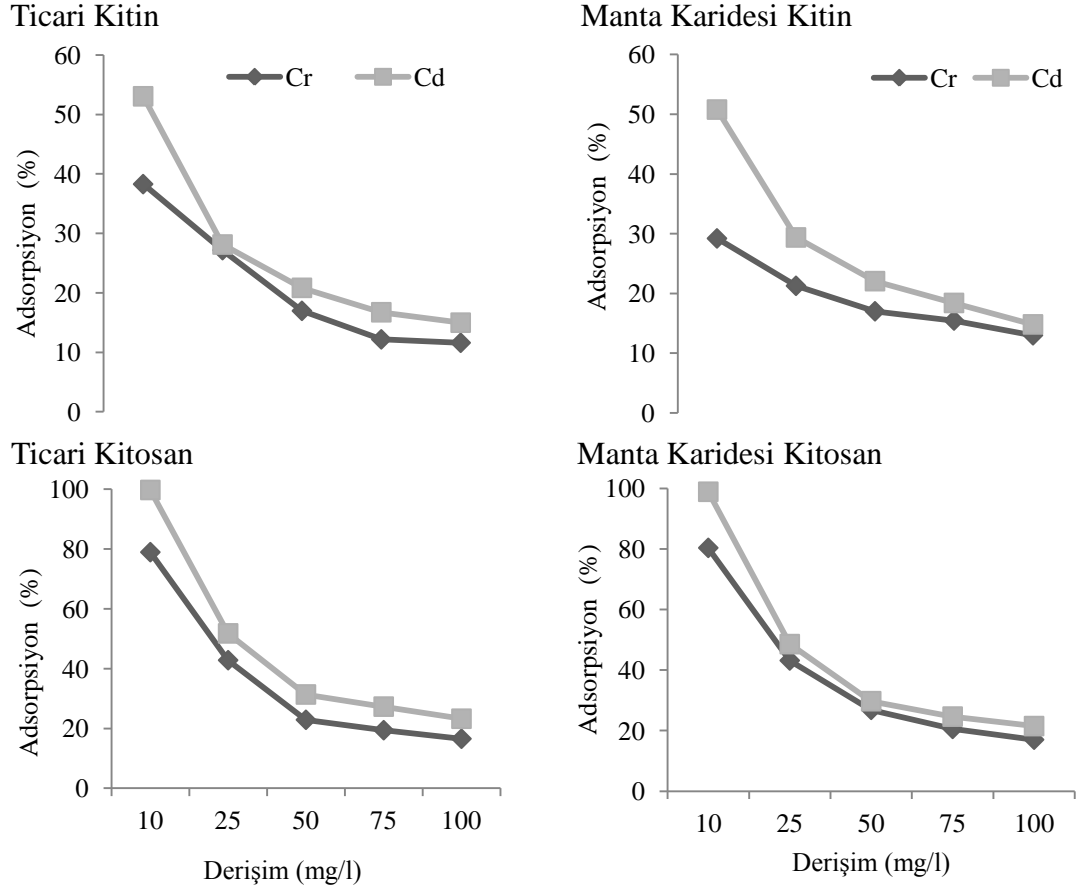
Adsorbent Türü	Grup	Derişim (mg/l)	%Adsorpsiyon $\bar{X} \pm S\bar{x}$	q (mg/g) $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Kitin	Manta Karidesi	10	29.20±0.70 ^{axk}	1.46±0.04 ^{axk}
		25	21.27±0.74 ^{bxx}	2.66±0.10 ^{bxx}
		50	17.00±0.69 ^{cxk}	4.25±0.17 ^{cxk}
		75	15.45±0.20 ^{cxk}	5.80±0.07 ^{dxk}
		100	12.99±0.15 ^{dxk}	6.49±0.07 ^{exk}
	Ticari	10	38.27±2.18 ^{ayk}	1.92±0.11 ^{ayk}
		25	27.16±0.84 ^{byk}	3.40±0.11 ^{byk}
		50	16.95±0.49 ^{cxk}	4.24±0.12 ^{cxk}
		75	12.16±0.15 ^{dyk}	4.56±0.06 ^{dyk}
		100	11.58±0.08 ^{dxk}	5.79±0.04 ^{eyk}
Kitosan	Manta Karidesi	10	80.33±0.35 ^{axl}	4.02±0.02 ^{axl}
		25	43.13±0.38 ^{bxl}	5.40±0.05 ^{bxl}
		50	26.83±0.68 ^{cxl}	6.71±0.17 ^{cxl}
		75	20.54±0.47 ^{dxl}	7.70±0.17 ^{dxl}
		100	16.98±0.09 ^{exl}	8.49±0.04 ^{exl}
	Ticari	10	78.93±0.85 ^{axl}	3.95±0.04 ^{axl}
		25	42.80±0.82 ^{bxl}	5.35±0.11 ^{bxl}
		50	22.87±0.32 ^{cxl}	5.72±0.08 ^{cyl}
		75	19.38±0.41 ^{dyl}	7.27±0.16 ^{dyl}
		100	16.53±0.22 ^{exl}	8.27±0.11 ^{exl}

$\bar{X} \pm S\bar{x}$: Aritmetik Ortalama \pm Standart Sapma

a,b,c,d,e harfleri aynı adsorbent türü ve grup içinde derişimlerin karşılaştırılmasında, x ve y harfleri aynı adsorbent türü ve derişim içinde grupların karşılaştırılmasında, k ve l harfleri ise aynı grup ve derişim içinde adsorbent türlerinin karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

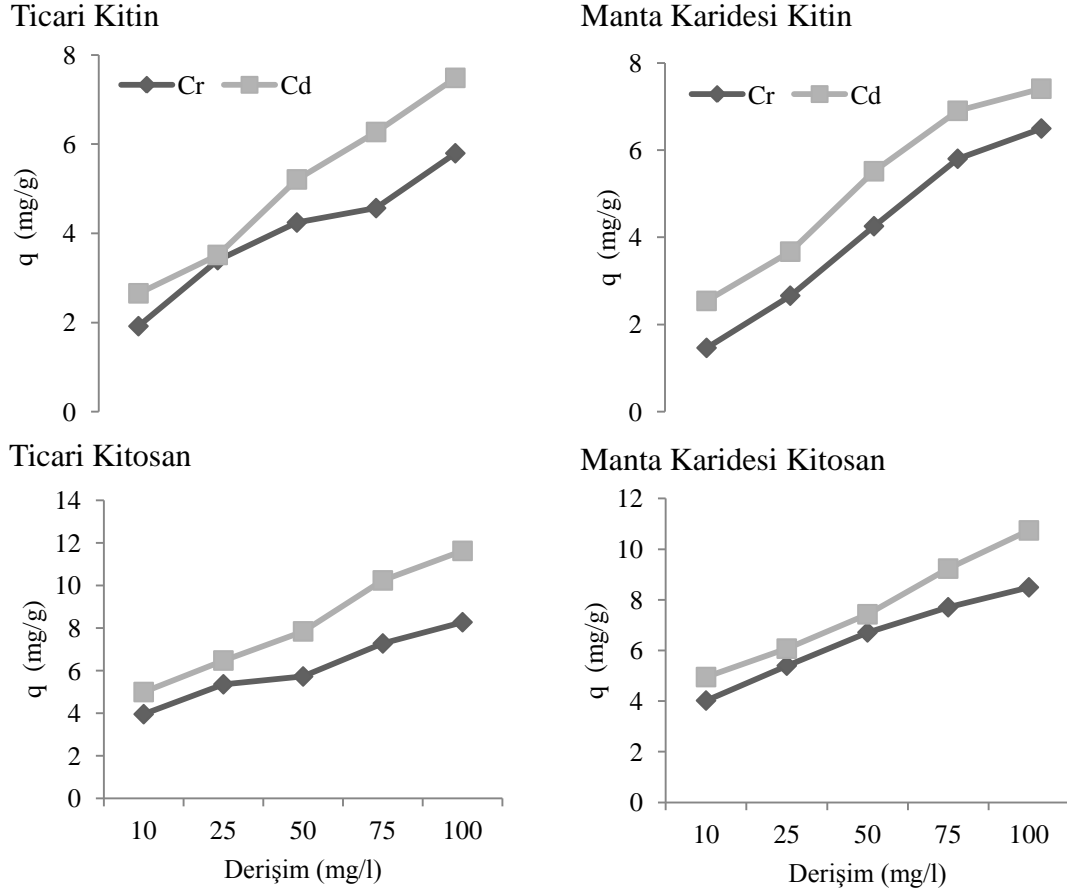
Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Adsorbentlerin Cd⁺² ve Cr⁺⁶ iyonlarını tutma etkinlikleri Şekil 4.7’de; adsorpsiyon kapasiteleri ise Şekil 4.8’de sunulmuştur.



Şekil 4.7. Adsorbentlerin Cd^{+2} ve Cr^{+6} İyonlarını Tutma Etkinlikleri

Mevcut çalışmada her iki metal iyonu için adsorbentlerin metal iyonlarını tutma etkinliklerinin ortamdaki metal derişimi arttıkça azaldığı, kitosanın kitine kıyasla daha yüksek %adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu ve adsorbentlerin Cd^{+2} iyonlarını Cr^{+6} iyonlarından daha yüksek tutma etkinliğine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.8. Adsorbentlerin Cd^{+2} ve Cr^{+6} İyonlarını Adsorpsiyon Kapasiteleri

Adsorbentlerin adsorpsiyon kapasiteleri Cd^{+2} ve Cr^{+6} iyon derişim artıka artış gösterdiği ve Cd^{+2} iyonlarını Cr^{+6} iyonlarından daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi ile tuttukları Şekil 4.8’de görülmektedir.

Çevreye yayılarak toksik etki yaratan en az 20 metal varlığı bildirilmiştir. Krom ve kromlu bileşikler boya ve tekstil sanayi başta olmak üzere birçok alanda kullanılmakta olup özellikle soğutma sularında korozyon engelleyici olarak kullanılmakta ve kaza ya da benzeri şekilde sucul sistemlere karışmaktadır. Krom VI formu sucul ortamda kolayca çözünmesi nedeni ile atık sulardan metal iyonlarının çıkarılması oldukça önemlidir [Nomanbhay ve Palanisamy, 2005]. Toksik metal iyonlarının atık sulardan çıkarılmasında kullanılan en ekonomik yöntemlerden biri adsorpsiyondur. Bir çok çalışmada metal iyonlarına (kurşun, platin, vanadyum, gümüş, kadmiyum, krom ve bakır) karşı adsorbent olarak kitosan kullanılmıştır [Vasconcelos vd., 2007].

Rana vd. (2009), kadmiyum ve krom metal iyonu içeren çözeltilerden yengeç kitosanın metal iyonunu (%) çıkarma etkinliğinin %100 olabilmesi için metal iyonu türüne bağlı olarak en az 16 saat gerekli olduğunu ve kitosanın kadmiyum iyonunu krom iyonuna göre daha etkin tuttuğunu saptamışlardır. Nomanbhay ve Palanisamy, (2005), adsorbent olarak kullandıkları kitosan ile kaplanmış palmye tohum kabuğu kömürü dozunun 180 dakika temas süresi ile 13 g/l'ye kadar sulardan Cr (VI) metal iyonunu çıkarma kapasitesinin etkili olduğunu vurgulamıştır.

Gamage ve Shahidi, (2007), yengeç kabuklarından üretilen kitosanın 4.99 ppm Cd(II) içeren endüstriyel atık sudan metal iyonunu şelatlama kapasitesinin (%) ortamın pH değerine ve kitosanın deasetilasyon derecesindeki farklılığa bağlı olduğunu vurgularken pH değerinin asidikten nötre yaklaştıkça kitosanın şelatlama kapasitesinin (%) artış göstererek %20.4-39.1 değerleri arasında yer aldığını saptamışlardır. Filiz, (2007), 100 ppm Cd⁺² iyonu içeren su örneğinden kabuklu deniz canlılarının kabuklarından elde edilen Ca esaslı adsorbanın Maksimum Cd⁺² iyon gideriminin pH 4'te %97 olduğunu ve gerekli sürenin 300 dakika olduğunu, bunların dışında çözelti konsantrasyonunun artmasıyla bütün metal iyonları için adsorpsiyon kapasitesinin arttığını, %giderimin ise azaldığını belirtmiştir.

Muzzarelli ve Tubertini, (1969), Cr⁺³ metal iyonunun kitin üzerine adsorpsiyon derecesi (%) ortamın pH derecesi asidikten nötre yaklaştıkça artış gösterdiğini, pH'ı 6 olan saf suda %20-30 iken, pH'ı 7 olan deniz suyunda %35-55 olduğunu bildirmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar kitosanın adsorpsiyon kapasitesinin kitinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. 0.25-1 mg kromat içeren çözeltilerden kitinin adsorpsiyon derecesi (%) ortamın pH derecesine göre değişmekle beraber %25-90, kitosanın ise pH 5'te %80-84 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Tirgar vd. (2006), Cr VI içeren homojen atmosferik ortamdan kitosan boncuklarının metal iyonlarını tutma etkinliğini %31.68-40.38 olarak ve maksimum metal iyonu tutma etkinliğinin ortam pH'ının 5-6'da gerçekleştiğini tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak çalışmamızda, metal iyon konsantrasyonunun artması adsorbentlerin %adsorpsiyon değerinde düşüş, adsorpsiyon kapasitesinde (q) ise artış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.25 ve Çizelge.4.26). Bu durum benzer çalışmaları destekler niteliktedir. Bunun yanı sıra, Muzzarelli ve Tubertini,

(1969)'nin yaptıkları çalışmada belirttiği gibi adsorbent olarak kitosan kullanılması durumunda tespit edilen adsorpsiyon oranlarının, kitinin adsorbent olarak kullanıldığı durumdakine kıyasla oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Kullanılan adsorbent türü ne olursa olsun adsorbentin Cd^{+2} iyonunu adsorpsiyon yeteneği Cr^{+6} iyonunkinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

➤ Su ürünleri atıkları ülkemizde henüz değerlendirilmemesine rağmen Amerika ve Japonya gibi ülkelerde sanayinin pek çok alanında bu atıklardan elde edilen ürünler (kitin, kitosan ve türevleri) kullanılmaktadır. Mevcut çalışmanın ana amacı; üç tarafı denizle çevrili olan ülkemizde, su ürünlerinin avlanmaları ya da tüketilmeleri sonucunda değerlendirilmeyen atık kabukların kitin ve kitosan içeriğinin belirlenmesi ve bunların fiziksel ve kimyasal analizlerle tanımlanmasına yöneliktir.

➤ Çalışmanın ikinci amacı; atık kabuklardan ekstrakte edilen kitosanın ülkemizde deniz balıkları avcılığının %6.9'unu oluşturan sardalya balıklarının buzdolabı koşullarında saklanması süresince kimyasal, duyuşsal ve mikrobiyolojik parametrelerine olan etkilerini incelemektir.

➤ Araştırmamızın son amacı ise, kitin ve kitosanın en yaygın kullanım alanlarından biri olan sulardan metal iyonlarının uzaklaştırılmasındaki etkinliğidir.

➤ Doktora tez çalışmasında öncelikle deney materyalleri olarak seçilen mavi yengeç (*Callinectes sapidus*), sübye iç kabuğu (*Sepia* sp.) ve manta karidesi (*Squilla* sp.) atık kabuklarından ekstrakte edilen kitin ve kitosanın verimleri hesaplanmıştır. Atık kabukların kitin verimi manta karidesi, sübye ve mavi yengeçte sırası ile %14.89, %2.87 ve %10.21 olarak; kabuktan kitosan verimleri ise %12.52, %1.69 ve %7.55 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre en düşük kitin ve kitosan verimine sahip olan sübyenin ekonomik bir kaynak olarak kullanılamayacağı düşünülmektedir.

➤ Atık kabukların toplam karotenoid içeriği manta karidesinde 1.27 µg/g, sübyede 0.46 µg/g ve mavi yengeçte 10.76 µg/g olarak belirlenmiştir.

➤ Deney materyallerinden elde edilen kitosanın potansiyometrik titrasyon yöntemi ile elde edilen %deasetilasyon değerleri manta karidesi kitosanının %71.72, sübye kitosanının %71.41, mavi yengeç kitosanının %67.86 ve ticari kitosanın %72.25'dir.

➤ Atık kabuklardan kitin üretimi esnasında minerallerin uzaklaştırılması işlem basamağında kabuklardan ortama geçen en yüksek kalsiyum (59,01 g/100g kabuk) ve magnezyum (28,31 g/100 g kabuk) iyon miktarının sübye grubuna, en

düşük ise manta karidesi grubuna (17,19 g kalsiyum/100g kabuk ve 7,60 g magnezyum/100g kabuk) ait olduğu saptanmıştır.

➤ Çalışmamızda kitin ve kitosan grubunun hacim yoğunluğu analizine ait değerler incelendiğinde örnek grubu ve vurma işleminin hacim yoğunluğu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Vurarak yapılan işlemde hem kitin hem de kitosana ait veriler vurmadan yapılabildiğine göre daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni olarak örnek parçacıkları arasında bulunan boşlukların vurma işlemi esnasında en az düzeye inmesi düşünülmüştür.

➤ Araştırmamızda yağ bağlama analizinde kitin ve kitosan gruplarına ayçiçeği yağı, mısır özü ve zeytinyağı uygulanmıştır. Analiz sonuçlarından yağ bağlama kapasitesinin, türlere, türlerin kitin ve kitosan grubuna ayrıca kullanılan yağ türlerine bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

➤ Kitin ve kitosan gruplarına uygulanan analizlerden biri olan su bağlama kapasitesinin türlere, türlerin kitin ve kitosanlarına bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Aynı türlerin kitin ve kitosanlarının su bağlama kapasiteleri incelendiğinde kitosan grubunun kitin grubuna kıyasla daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir.

➤ Genel olarak su ürünleri kabuk atıklarının en iyi değerlendirildiği alan kitin ve kitosan üretimidir. Bu sayede atıkların tamamen değerlendirilmesi sağlanarak çevre üzerindeki olumsuz etkileri engellenecektir.

➤ Ülkemizde sevilerek tüketilen mavi yengecin atık kabukları ile ıskarta ürün olarak değerlendirilen manta karidesinin iyi bir kitin ve kitosan kaynağı olduğu bununla birlikte bu kabukların iyi değerlendirilmesi ve ülke ekonomisine kazandırılmasının faydalı olacağı umulmaktadır.

➤ Mevcut çalışmanın ikinci aşamasında, laboratuara gelen taze sardalya balıklarının ham protein, ham yağ, su ve ham kül miktarları araştırılmış, sırası ile %19.53, %7.04, %71,59 ve %1,64 olarak tespit edilmiştir.

➤ Taze sardalya balıklarında depolama öncesinde Enterobacteriaceae türü mikroorganizmalardan *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp. ve *Escherichia coli*'ye rastlanmıştır. Bu grup bakteriler sindirim sistemine ait olup gıdalara bulaşması durumunda enfeksiyona neden olmaktadır.

➤ Taze sardalyaların ilk gün TVB-N, TMA, TBA ve duyuşal analiz sonuçları tazelik kriterlerine göre incelendiğinde balıklar taze olarak tespit edilmiştir.

➤ Sardalya filetoları kontrol, %1 ticari kitosan, %1 deneylerden elde edilen (uygulama) kitosan ve %1 asetik asit grubu olmak üzere dört uygulama grubuna ayrılarak aynı koşullarda depolanmıştır. Asetik asit grubu uygulamanın amacı kitosan çözeltisinin hazırlanmasında kullanılması nedeniyledir.

➤ Buzdolabında muhafaza edilen sardalya fileto grupları kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik parametrelerine göre belirli periyotlarla değerlendirilmiştir.

➤ Önemli kimyasal analiz yöntemlerinden biri olan TVB-N değeri, tüm uygulama gruplarında depolama süresine bağılı olarak istatistiksel anlamda ($p<0.05$) etkilenmiştir. Uygulama gruplarının TVB-N değerlerinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). 21 günlük buzdolabı koşullarında depolanan sardalya balıklarının en düşük TVB-N miktarı kitosan uygulanan grupta (65.30 mg TVB-N / 100 g), en yüksek ise kontrol grubunda (93.49 mg TVB-N / 100 g) olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, kitosan uygulamanın TVB-N değeri üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir.

➤ Balık yağlarında lipit oksidasyonunun bir göstergesi olan TBA analiz sonuçlarına bakıldığında, depolama süresi sonunda kitosan ve asetik asit uygulanan grupların TBA değeri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Buna durum, çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan asetik asit çözeltisinin lipit oksidasyonunu arttırarak TBA değerini yükselmesine neden olmasına bağlanmıştır.

➤ Balık etinin bozulma derecesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden biri olan TMA-N analizi ile sardalya filetolarının uygulama grubuna ve depolama süresine bağılı olarak istatistiksel ayrımlar gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). Depolama süresi sonunda kitosan uygulanan grubun kontrol grubuna kıyasla daha düşük TMA-N değerine sahip olması, kitosanın sardalya filetolarının raf ömrü üzerinde olumlu etki yarattığına işaret etmektedir.

➤ Depolama süresince uygulanan analizlerden biri olan toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı tüm uygulama gruplarında zamana bağılı olarak önemli artışlar göstermiştir ($p<0.05$). Depolama süresi sonunda bu parametre bakımından asetik asit ve kitosan uygulanan gruplar arasında istatistiki ayrıma rastlanmazken ($p>0.05$),

kontrol grubu ile kitosan ve asetik asit grupları arasında önemli farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Asetik asit ve kitosan uygulamanın sardalya filetolarının toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı üzerinde olumlu etki yaptığı görülmüştür.

➤ Sardalya filetolarının depolama süresince duyu kalite parametreleri düşüş göstermiş olup kontrol grubu dışında diğer uygulama gruplarında asetik asit çözeltisinin kullanılması filetoları üzerine olumsuz etkiye neden olmuştur. Bu nedenle genel tüketilebilirlik parametresine göre kontrol grubu örnekler daha yüksek puan almıştır.

➤ Tüm çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, kullanılan kitosanın sardalya filetolarının buzdolabı koşullarında depolanması süresince kaliteyi olumlu yönde etkilediği görülmüştür.

➤ Depolama çalışmalarında kitosan kullanımına yönelik çalışma sayısının sınırlı olması mevcut çalışmanın önemini arttırmıştır. Bundan dolayı elde edilen sonuçların, ileride yapılacak olan diğer çalışmalara ışık tutacağı umulmaktadır.

➤ Ağır metal uygulamaları pH 6.5 ortam şartlarında ve 3 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Adsorbentlerin metal iyonlarını tutma etkinlikleri (% Adsorpsiyon) ortamdaki metal derişiminin (her iki metal iyonu için) artması ile birlikte azaldığı, kitosanın kitine kıyasla daha yüksek % adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğu ve adsorbentlerin Cd^{+2} iyonlarını Cr^{+6} iyonlarından daha yüksek tutma etkinliğine sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra adsorbentlerin adsorpsiyon kapasiteleri (q) Cd^{+2} ve Cr^{+6} iyon derişim artıkça artış gösterdiği ve Cd^{+2} iyonlarını Cr^{+6} iyonlarından daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi ile tuttukları tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, yapılacak benzer çalışmaların daha düşük pH derecelerinde ve daha uzun çalışma süresinde gerçekleştirilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Ababouch, L.H., Souibri, L., Rhaliby, K., Ouahdi, O., Battal, M. and Busta, F.F. "Quality Changes in Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice and At Ambient Tempature", Food Microbiology, 13: 123-132, (1996).
- Aitken, A., Lees, A. and Smith, G.M. "Measuring Fish Composition", Torry Research Station, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Torry Advisory Note No: 89, (2001).
- Akçay, S. ve Egemen, Ö. "İzmir Körfezinde Avlanan Bazı Balık Türlerinin Kimyasal Değişimleri Üzerine Bir Araştırma", Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (1-2): 117-120, (2006)
- Alak, G., Aras Hisar, S., Hisar, O., Kaban, G. and Kaya, M. "Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum", Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 16: S73-S80, (2010).
- Altieri, C., Scrocco, C., Sinigaglia, M. and Del Nobile, M.A. "Use of Chitosan to Prolong Mozzarella Cheese Shelf Life", J. Dairy Sci. American Dairy Science Association, 88: 2683-2688, (2005).
- Alyüz, B. ve Veli, S. "Low-Cost Adsorbents Used in Heavy Metal Contaminated Waste Water Treatment", Sigma, Journal of Engineering and Natural Sciences, 94-105, (2005).
- Anonim, Microbiologischen Handbuch, E. Merck, Darmstadt., (1978).
- Anonim, St.Paul's Convent School, "Green Saviour, Chitin and Chitosan", Erişim: [http://www.hksspc.gov.hk/ppt/2006/Green%20Saviour%20-%20Chitin%20and%20Chitosan.pdf, 1-76 s., (22.06.2006).
- Anonim, "Mantis Shrimp (Stomatopoda)", NSW Department of Primary Industries, http://www.dpi.nsw.gov.au/research/areas/systems-research/wild-fisheries/outputs/2008/972/status_short/Mantis-Shrimps.pdf, (2008).
- Anonim, Erişim: http://en.wikipedia.org/wiki/Cephalopoda, (2012).
- Anoop-Krishnan, K. and Anirudhan, T.S. "Removal of Cadmium (II) from Aqueous Solutions by Steamactivated Sulphurised Carbon Prepared from Sugar-Cane Bagasse Pith: Kinetics and Equilibrium Studies", Water SA, 29 (2): 147-156, (2003).

- Antonocopoulos, N., “Bestimmung des Fluchtigen Basenstickstoffes”, In: Ludorf, W., Meyer, V., Fische und Fischerzeugnisse, Aulage Verlag Paul Parcy, Berlin und Hamburg, 224-225, (1973).
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International, Arlington, VA, (1995).
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, 971.14 “Trimethylamine Nitrogen in Seafood Colorimetric Method, Fish and Other Marine Products”, Chapter: 35, 9 s., (2000).
- Archer, M. “Shellfish Waste Disposal and Opportunities for by-Products”, Erişim: <http://www.seafish.org.uk>, 1-27, (2004).
- Ausich, R.L. “Commercial Opportunities for Carotenoid Production by Biotechnology”, Pure & Appl. Chem. 69 (10): 2169-2173, (1997).
- Aydınlı Esen, A. “Bazı Schiff Bazlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri”, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 38s. (2006).
- Ayas, D. “Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve Sardalya (*Sardina pilchardus*)’nın Sıcak Tütsülenmesi Sonrasındaki Kimyasal Kompozisyon Oranlarındaki Değişimleri”, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (1/3): 343-346, (2006).
- Aytekin, A.Ö. “Kabuklu Katı Deniz Ürünü (*Penaeus* sp.) Atığından Kitin Kazanımı”, Ege Üniv. Fen Bilimleri Enst. Biyomühendislik ABD, Yüksek Lisans Tezi, 107 s., (2007).
- Baştürk, Ö. “Su Kalitesi ve Kimyası Ders Notları”, Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. (2001).
- Benguella, B. and Benaissa, H. “Cadmium Removal from Aqueous Solutions by Chitin: Kinetic and Equilibrium Studies”, Water Research, 36, 2463–2474, (2002).
- Bligh, E.G. ve Dyer, W.J. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
- Bolat, Y., Bilgin, Ş., Günlü, A., Izci, L., Koca, S.B., Çetinkaya, S. and Koca, H.U. “Chitin-Chitosan Yield of Freshwater Crab (*Potamon potamios*, Olivier 1804) Shell”. Pak Vet J., 30 (4): 227-231, (2010).

- Brzeski, M.M., “Concept of Chitin and Chitosan Isolation from Antarctic Krill (*Euphasia superba*) Shells on a Technical Scale”, In Proceedings of the Second International Conference on Chitin and Chitosan, Hirano S., Tokura, S. (Ed). The Japan Society of Chitin and Chitosan, Sapporo, Japan, 15-29 s., (1982).
- Cao, R., Xue, C.H. and Liu, Q. “Changes in Microbial Flora of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*) During Refrigerated Storage and Its Shelf-Life Extension by Chitosan”, International Journal of Food Microbiology, 131: 272–276, (2009).
- Chang, K.L.B., Tsai, G., Lee, J. and Fu, W.R. “Heterogeneous N-Deacetylation of Chitin in Alkaline Solution”, Carbohydrate Research, 303: 327-332, (1997).
- Cho, Y.I., No, H.K. and Meyers, S.P. “Physicochemical Characteristics and Functional Properties of Various Commercial Chitin and Chitosan Products”, J. Agric. Food Chem., 46: 3839-3843, (1998).
- Chung, Y.C., Li, Y.H. and Chen, C.C. “Pollutant Removal from Aquaculture Wastewater Using the Biopolymer Chitosan at Different Molecular Weights”, Journal of Environmental Science and Health, 40: 1775–1790, (2005).
- Cira, L.A., Huerta, S., Hall, G.M. and Shirai, K. “Pilot Scale Lactic Acid Fermentation of Shrimp Wastes for Chitin Recovery”, Process Biochemistry, 37: 1359-1366, (2002).
- Coma, V., Deschamps, A. and Martial-Gros, A. “Bioactive Packaging Materials from Edible Chitosan Polymer—Antimicrobial Activity Assessment on Dairy-Related Contaminants”, Journal of Food Science, 68 (9): 2788–2792, (2003).
- Cooksey, K. “Effectiveness of Antimicrobial Food Packaging Materials”, Food Additives and Contaminants, 22 (10): 980–987, (2005).
- Costin, I.D. “Die Biochemische Identifizierung der Enterobacteriaceae Kristiche Benerkungen zu Prinzipien und Methoden”, Zbl.Bakt. I. Ref., 219: 83-151, (1969).
- Cunningham, J.A., Hof, C.H.J. and Braddy, S.J. “*Lenisquilla Californiensis*, a New Species of Stomatopod Crustacean”, J. Paleont., 82 (2): 431–435, (2008).

- Çaklı, Ş., Tokur, B., Çelik, U. ve Taşkaya, L. “No-Frost Koşullarda Depolanan Sardalya Balıklarının (*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)) Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Değerlendirilmesi”, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20 (1-2): 87–93, (2003).
- Çolak, Ö. ve Arıkan, B. “Laktoz Pozitif Enterobacteriaceae Üyelerinin Teşhisi için Geliştirilmiş Yeni Bir Selektif Agar Besiyeri”, Kükem, 13 (2): 15-21, (1990).
- Das, S. and Ganesh, E.A. “Extraction of Chitin from Trash Crabs (*Podophthalmus vigil*) by an Eccentric Method”, Journal of Biological Sciences, 2 (1): 72-75, (2010).
- Diaz-Rojas, E.I., Arguelles-Monal, W.M., Higuera-Ciapara, I., Hernandez, J., Lizardi-Mendoza, J. and Goycoolea, F.M. “Determination of Chitin and Protein Contents During the Isolation of Chitin from Shrimp Waste”, Macromol. Biosci., 6: 340–347, (2006).
- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G. and Zhao, Y., “Effect of Combined Chitosan-Krill Oil Coating and Modified Atmosphere Packaging on The Storability of Cold Stored Lingcod (*Ophiodon elongates*) Fillets”, Food Chemistry, 122: 1035-1042, (2010).
- Doyle, J.P. “Seafood Shelf Life as a Function of Temperature”, Alaska Sea Grant Marine Advisory Program, No: 30, 6 s., (1989).
- Einbu, A. “Characterisation of Chitin and a Study of its Acid-Catalysed Hydrolysis”, Thesis for the Degree of Philosophiae Doctor, Trondheim, Norwegian University of Science and Technology, Faculty of Natural Sciences and Technology, Department of Biotechnology, 85 s., (2007).
- Elibol, M. “Kabuklu Katı Deniz Ürünleri Artıklarından Kitin, Kitosan ve Türevlerinin Üretimi”, Proje No: TÜBİTAK-MAG 106M241, 126 s., (2008).
- Erkan, N., Özden, Ö., Üçok Alakavuk, D., Yıldırım, Ş.Y. and İnuğur, M. “Spoilage and Shelf Life of Sardines (*Sardina Pilchardus*) Packed in Modified Atmosphere”, Eur Food Res Technol., 222: 667–673, (2006).

- Erkan, N. ve Özden, Ö. “Quality Assessment of Whole and Guttred Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice”, International Journal of Food Science and Technology, 43: 1549–1559, (2008).
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y. “Effects of Chitosan Coating on Quality and Shelf Life of Silver Carp during Frozen Storage”, Food Chemistry, 115: 66–70, (2009).
- FAO, <http://www.fao.org/fishery/species/2088/en>, <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5948e/x5948e01.htm>, (17.02.2011).
- FAO, <http://www.fao.org/fishery/species/2632/en>, (2012).
- Fernandez-Kim, S-O. “Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols”, a Thesis, Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in Partial Fulfillment of The Requirements for The Degree of Master of Science in The Department of Food Science, B.S., Seoul National University, 99 s., (2004).
- Filiz, E. “Doğal Kaynaklardan Elde Edilen Adsorbanlarla Sulardan Ağır Metal Giderimi”, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 123 s., (2007).
- Fishbase, <http://fishbase.mnhn.fr/summary/Sardinella-aurita.html>, erişim tarihi: (04/05/2012). Site güncelleme tarihi (15/11/2011).
- Gamage, A. and Shahidi, F. “Use of Chitosan for the Removal of Metal İon Contaminants and Proteins from Water”, Food Chemistry, 104: 989–996, (2007).
- Gidas, M.B., Garnier, O. and Gidas, N.K. “Performance of Chitosan as a Primary Coagulant for The Wastewater Treatment”, Transactions on Ecology and the Environment, 33: 1-10, (1999).
- Goosen, M.F.A. (Ed.) “Applications of Chitin and Chitosan”, CRC Press, United States of Amerika, New York, 336 s., (1997).
- Gökoğlu, N. “Su Ürünleri İşleme Teknolojisi”, İstanbul Su Vakfı Yayınları, 157 s., (2002).
- Günlü, A. “Yetiştiriciliği Yapılan Deniz Levreğinin (*Dicentrarchus Labrax* L. 1758) Dumanlama Sonrası Bazı Besin Bileşenlerindeki Değişimler ve Raf

- Ömrünün Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Temel Bilimler Ana Bilim Dalı, 121 s., (2007).
- Healy, M., Green, A. and Healy, A. “Bioprocessing of Marine Crustacean Shell Waste”. *Acta Biotechnol.*, 23 (2–3): 151–160, (2003).
- Hisar, Ş.A., Hisar, O. ve Kaban G. “Kaplama Materyali Olarak Kitosanın Palamut (*Sarda sarda*) Filetolarının Mikrobiyal ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi”, Tubitak Proje No: 107 O 606, 36 s., (2008).
- Hollanda, H.D. and Netto, M., “Recovery of Components from Shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) Processing Waste by Enzymatic Hydrolysis”, *Journal of Food Science*, 71 (5): 298-303, (2006).
- Ihm, C.W, Kim, J.S., Joo, D.S. and Lee, H.E., “Processing and Quality Stability of Precooked Frozen Fish Foods: (II) Quality Stability of Sardine Burger, Hanquk Nonghwakak Hoechi”, *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35 (4): 260-264, (1992).
- Issa, M.M., Koping-Hoggard, M. and Artursson, P. “Chitosan and The Mucosal Delivery of Biotechnology Drugs”, *Drug Discovery Today: Technologies*, 2 (1): 1-6, (2005).
- İlhan, R., İkiz, R. ve Gülyavuz, H. “Antalya Körfezi’nden Avlanan *Sardinella aurita*’nın (Valenciennes, 1847) Et Kompozisyonunun Mevsimsel Değişimi”, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1/3): 439-442, (2006).
- Jang, M.K., Kong, B.G., Jeong, Y.I., Lee, C.H. and Nah, J.W., “Physicochemical Characterization of α -Chitin, β -Chitin, and γ -Chitin Separated from Natural Resources”, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 42: 3423–3432, (2004).
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F., “Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod”, *J. Agric. Food Chem.*, 50: 5167-5178, (2002).
- Jia, Z. and Shen, D., “Effect of Reaction Temperature and Reaction Time on the Preparation of Low-Molecular-Weight Chitosan Using Phosphoric Acid”, *Carbohydrate Polymers*, 49: 393-396, (2002).

- Jollès, P. and Muzzarelli, R.A.A. (Edt) “Chitin and Chitinases”, Birkhäuser Verlag, PO Box 133, CH-4010 Basel, Switzerland, Printed in Germany, ISBN 3-7643-5815-7, 340 s., (1999).
- Kang, D.W., Choi, H.R. and Kweon, D.K., “Stability Constants of Amidoximated Chitosan-g-Poly (Acrylonitrile) Copolymer for Heavy Metal Ions”, *Journal of Applied Polymer Science*, 73: 469–476, (1999).
- Keleşoğlu, S. “Comparative Adsorption Studies of Heavy Metal Ions on Chitin and Chitosan Biopolymers”, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 153 s., (2007).
- Khan, T.A., Peh, K.K. and Ch'ng, H.S., “Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: the Influence of Analytical Methods”, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 5(3): 205-212, (2002).
- Khor, E. “Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise”, Department of Chemistry, National University of Singapore, Republic of Singapore, Elsevier Science Ltd., The Boulevard, Langford Lane Kidlington, Oxford OX5 1 GB, UK. First Edition, ISBN: 0 08 0440185, 135 s. (2001).
- Kılınç, B. “Dondurularak Depolanmış Sardalya Balıklarında (*Sardina Pilchardus*, W.1992) Kimyasal, Fiziksel, Duyusal ve Mikrobiyolojik Değişimler”, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi ABD, 98 s., (1998).
- Kietzman, U., Priebbe, K., Rakow, D. and Reichstein, K., “Seefisch als Lebensmittel”, Paul Parey Verlag, Hamburg Berlin., 176-368, (1969).
- Kittur, F.S., Kumar, K.R. and Tharanathan, R.N., “Functional Packaging Properties of Chitosan Films”, *Z. Lebensm Unters Forsch A*, 206: 44-47, (1998).
- Kjartansson, G.T., Zivanovic, S., Kristbergsson, K. and Weiss, J. “Sonication-Assisted Extraction of Chitin From North Atlantic Shrimps (*Pandalus Borealis*)”, *J. Agric. Food Chem.*, 54: 5894-5902, (2006).
- Kok, T.N. and Park, J.W., “Extending The Shelf Life of Set Fish Ball”, *Journal of Food Quality*, 30: 1–27, (2007).

- Korkut, A.Y., Kop, A. ve Demir, P., “Balık Yemlerinde Kullanılan Balık Yağı ve Özellikleri”, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 24 (1-2): 195–199, (2007).
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. “Kitin (Chitin), Kitosan (Chitosan) ve Türevlerinin Gıdalarda Kullanım Olanakları”, Gıda, 30 (6): 371–378, (2005).
- Küçükgülmez, A., Çelik, M., Yanar, Y., Sen, D., Polat, H. and Kadak, A.E. “Physicochemical Characterization of Chitosan Extracted from *Metapenaeus stebbingi* shells”, Food Chemistry, 126: 1144–1148, (2011).
- Lavall, R.L., Assis, O.B.G. and Campana-Filho, S.P., “ β -Chitin from the Pens of *Loligo sp.*: Extraction and Characterization”, Bioresource Technology, 98: 2465–2472, (2007).
- Maršić-Lučić, J., Tudor, M. and Šćekić, V., “Effect of Defrosting on Quantity of Volatile Amines in Stored Sardines and Herring used for Tuna Fattening”, J. Appl. Ichthyol., 24: 81–84, (2008).
- Mahan, F.I. “Kitosanla Kaplanmış Soyulmuş Sosislerin mikrobiyolojik Kalitesi ve Raf Ömürlerinin Araştırılması”, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 82 s., (2007).
- Maruca, R., Suder, B.J. and Wightman, J.P. “Interaction of Heavy Metals with Chitin and Chitosan. 111. Chromium”, Journal of Applied Polymer Science, 27: 4827-4837, (1982).
- Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V. and Srinivasa Gopal, T.K. “Effect of Chitosan Edible Coating on the Quality of Double Filleted Indian Oil Sardine (*Sardinella longiceps*) During Chilled Storage”, Food Hydrocolloids, 26: 167-174, (2012).
- Muşabak, C. “Kitosanla Kaplama ve Modifiye Atmosfer Ambalajlamanın Palamut (*Sarda sarda*) Filetolarının Kimyasal Parametreleri Üzerine Etkisi”, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 32 s., (2008).
- Muzzarelli, R.A.A. and Tubertini, O., “Chitin and Chitosan as Chromatographic Supports and Adsorbents for Collection of Metal Ions from Organic and Aqueous Solutions and Sea-Water”, Talanta, 16: 571-1577, (1969).

- Naczk, M., Synowiecki, J. and Sikorski, Z.E. “The Gross Chemical Composition of Antarctic Krill Shell Waste”, *Food Chemistry*, 7: 175-179, (1981).
- Naczk, M., Williams, J., Brennan, K., Liyanapathirana, C. and Shahidi, F. “Compositional Characteristics of Green Crab (*Carcinus maenas*)”, *Food Chemistry*, 88: 429–434, (2004).
- Nadarajah, K., Prinyawiwatkul, W., No, H.K., Sathivel, S. and Xu, Z. “Sorption Behavior of Crawfish Chitosan Films as Affected by Chitosan Extraction Processes and Solvent Types”, *Journal of Food Science*, 71 (2): E33-E39, (2006).
- Nicholson, G. “Chitosan, Limited Summary of Data for Chemical Selection, 9012–76–4”, http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/Chitosan.pdf, ss. 1-16, (27.11.2007).
- Nunes, M.L., Batista, I., Campos, R.M., “Physical, Chemical and Sensory Analysis of Sardine (*Sardina Pilchardus*) Stored in Ice”, *J.Sci.Food Agric.*, 59: 37-43, (1992).
- Nemtsev, S.V., Gamzazade, A.I., Rogozhin, S.V., Bykova V.M. and Bykov, V.P. “Deacetylation of Chitin under Homogeneous Conditions”, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38 (6): 521–526, (2002).
- No, H.K., Meyers, S.P. and Lee, K.S.J. “Isolation and Characterization of Chitin from Crawfish Shell Waste”, *Agric. Food Chem.*, 37 (3): 575-579, (1989).
- No, H.K., Lee, K.S. and Meyers, S.P. “Correlation Between Physicochemical Characteristics and Binding Capacities of Chitosan Products”, *Journal of Food Science*, 65 (7):1134-1137, (2000).
- No H.K. and Prinyawiwatkul, W. “Stability of Chitosan Powder During Long-Term Storage at Room Temperature”, *J. Agric. Food Chem.*, 57: 8434–8438, (2009).
- Nomanbhay, S.M. and Palanisamy, K. “Removal of Heavy Metal From Industrial Wastewater Using Chitosan Coated Oil Palm Shell Charcoal”, *Electronic Journal of Biotechnology*, 8(1): 1-15, (2005).
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. “Effect of Chitosan Coatings Enriched with Cinnamon Oil on The Quality of Refrigerated Rainbow Trout”, *Food Chemistry*, 120: 193–198, (2010).

- Oshita, K., Oshima, M., Gao, Y.H., Lee K.H. and Motomizu, S. “Adsorption Behavior of Mercury and Precious Metals on Cross-Linked Chitosan and The Removal of Ultratrace Amounts of Mercury in Concentrated Hydrochloric Acid by a Column Treatment with Cross-Linked Chitosan”, *Analytical Sciences*, 18: 1121-1125, (2002).
- Özden, Ö. ve Gökoğlu, N. “Sardalya Balığının [*Sardina pilchardus*, (W.1792)], Soğukta Depolanması Sırasında Yağında Oluşan Değişimlerin İncelenmesi”, *Gıda*, 22 (4): 309-313, (1997).
- Özogul, F., Polat, A. ve Özogul, Y. “The Effects of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging on Chemical, Sensory and Microbiological Changes of Sardines (*Sardina pilchardus*)”, *Food Chemistry*, 85: 49–57, (2004).
- Özoğul, F. ve Özoğul, Y. “Biogenic Amine Content and Biogenic Amine Quality Indices of Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging”, *Food Chemistry*, 99: 574–578, (2006).
- Özturan, S. “Vakum Ambalajda Pişirilmiş (Sous Vide) Balıkta Kalite ve Raf Ömrünün Belirlenmesi”, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 94 s., (2009)
- Pap N. “Industrial Ecology and Recycling, Industrial Ecology in Food Industry”, *Industrial Ecology and Recycling Course IE in Food Industry*, 480370S, Erişim: <http://cc.oulu.fi/~polamwww/IEfood.pdf>, (2004).
- Peker, İ.; Oktar, F.; Eroğlu, M. ve Morkoç E., “Kerevit Kabuklarından Kitosan Üretilmesi ve Kesilmiş Sütün Suyundan Laktoz İzolasyonu İşleminde Kullanılması”, Tübitak MAG Proje 104M017, 88 s. (2006).
- Polat, H. “Kitin ve Kitosan Biyosorbentlerinin Pembe Karides (*Parapenaeus longirostris*) Kabuk Atıklarından Sentezlenmesi Karakterizasyonu ve Karşılaştırmalı Zehirli Metal Adsorpsiyon Çalışmaları”, Tübitak Proje No: 106T111, 88 s., (2008).
- Qin, C., Du, Y., Zhang, Z., Liu, Y., Xiao, L. and Shi, X. “Adsorption of Chromium (VI) on a Novel Quaternized Chitosan Resin”, *Journal of Applied Polymer Science*, 90: 505–510, (2003).
- Rana, M.S., Halim, M.A., Safiullah, S., Mamun Mollah, M., Azam, M.S., Goni, M.A., Kamal Hossain, M. and Rana, M.M., “Removal of Heavy Metal from

- Contaminated Water by Biopolymer Crab Shell Chitosan”, Journal of Applied Sciences, 9 (15): 2762-2769, (2009).
- Ravichandran, S., Rameshkumar, G. and Rosario Prince, A. “Biochemical Composition of Shell and Flesh of the Indian White Shrimp *Penaeus indicus* (*H.milne* Edwards 1837)”, American-Eurasian Journal of Scientific Research, 4 (3): 191-194, (2009).
- Richcore., “Chitin Extraction from Shrimps/Squid Shells”, <http://richcoreindia.com>, (2005).
- Ruiz, M., Sastre, A. and Guibal, E., “Pd and Pt Recovery Using Chitosan Gel Beads”. II. Influence of Chemical Modifications on Sorption Properties, 1-26 s., (2002).
- Sachindra, N.M., Bhaskar, N. and Mahendrakar, N.S. “Carotenoids in Crabs from Marine and Fresh Waters of India”, LWT, 38: 221–225, (2005).
- Sarma, J., Vidya Sagar Reddy, G. and Srikar, L.N. “Effect of Frozen Storage on Lipids and Functional Properties of Proteins of Dressed Indian Oil Sardine (*Sardinella longiceps*)”, Food Research International, 33: 815-820, (2000).
- Šimat, V., Maršić-Lučić, J., Tudor, M. and Mladineo, I., “Long-Term Storage Influence on Volatile Amines (TVB-N and TMA-N) in Sardines and Herring Utilized as Food for Tuna Fattening”, J. Appl. Ichthyol., 25: 766–770, (2009).
- Serdaroğlu, M. ve Deniz, E.E. “Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar”, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18 (3/4): 575-581, (2001).
- Schmuhl, R., Krieg, H.M. and Keizer, K., “Adsorption of Cu(II) and Cr(VI) ions by Chitosan: Kinetics and Equilibrium Studies”, Water SA, 27 (1): 1-8, (2001).
- Shafaei, A., Ashtiani, F.Z. and Kaghazchi, T., “Equilibrium Studies of the Sorption of Hg(II) Ions onto Chitosan”, Chemical Engineering Journal, 133: 311–316, (2007).
- Shahidi, F., Arachchi J.K.V. and Jeon, Y.J., “Food Applications of Chitin and Chitosans”, Trends in Food Science & Technology, 10: 37–51, (1999).

- Shahidi, F., Kamil, J., Jeon, Y.J. and Kim, S.K., “Antioxidant Role of Chitosan in A Cooked Cod (*Gadus Mornua*) Model System”, *Journal of Food Lipids*, 9: 57-64, (2002).
- Shepherd, R., Reader, S. and Falshaw, A., “Chitosan Functional Properties”, *Glycoconjugate Journal*, 14: 535-542, (1997).
- Songkroah, C., Nakbanpote, W. and Thiravetyan, P., “Recovery of Silver-Thiosulphate Complexes with Chitin”, *Process Biochemistry*, 39: 1553–1559, (2004).
- Srinivasa, P.C. and Tharanathan, R.N. “Chitin/Chitosan—Safe, Ecofriendly Packaging Materials with Multiple Potential Uses”, *Food Reviews International*, 23: 53–72, (2007).
- Suginta, W., “Identification of Chitin Binding Proteins and Characterization of Two Chitinase Isoforms from *Vibrio alginolyticus* 283”, *Enzyme and Microbial Technology*, 41: 212–220, (2007).
- Synowiecki, J. and Al-Khateeb, N.A.A.Q., “The Recovery of Protein Hydrolysate during Enzymatic Isolation of Chitin from Shrimp *Crangon crangon* Processing Discards”, *Food Chemistry*, 68: 147-152, (2000).
- Tajik, H., Moradi, M., Rohani, S.M.R., Erfani, A.M. and Jalali, F.S.S., “Preparation of Chitosan from Brine Shrimp (*Artemia urmiana*) Cyst Shells and Effects of Different Chemical Processing Sequences on the Physicochemical and Functional Properties of the Product”, *Molecules*, 13: 1263-1274, (2008).
- Tarladgis, B., Watts, B.M., and Yonathan, M., “Distillation Method for the Determination of Malonaldehyde in Rancidty Food”, *J. American Oil Che. Soc.*, 37(1): 44-48, (1960).
- Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C. and Pan, C.L., “Antimicrobial Activity of Shrimp Chitin and Chitosan From Different Treatments and Applications of Fish Preservation”, *Fisheries Science*, 68: 170–177, (2002).
- Tirgar, A., Golbabaie, F., Hamedi, J., Nourijelyani, K., Shahtaheri S.J. and Moosavi, S.R., “Removal of Airborne Hexavalent Chromium Mist Using Chitosan Gel Beads as a New Control Approach”, *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 3 (3): 305-313, (2006).

- Tokur, B., Korkmaz, K. ve Ayas, D., “Comparison of Two Thiobarbituric Acid (TBA) Method for Monitoring Lipid Oxidation in Fish”, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23 (3-4): 331–334, (2006).
- Torlak, E. ve Nizamlioğlu, M., “Uçucu Yağ İçeren Yenilebilir Kitosan Filmlerinin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* O157:H7 Üzerine Etkinlikleri”, Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 17: S125-S129, (2011).
- Torrissen, O.J., “Pigmentation of Salmonids: Effect of Carotenoids in Eggs and Start-Feeding Diet on Survival and Growth Rate”, Aquaculture, 43: 185-193, (1984).
- Tuncay, E. ve Merdivan, E., “Krom (VI) Metalinin Kitosan ve Çapraz Bağlı Kitosan Küreler Kullanılarak Giderimi”, Özel Ege Lisesi, İzmir, 1-10 s., (2005).
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), “Su Ürünleri İstatistikleri 2010”, 72 s., <http://www.tuik.gov.tr>, (2010).
- Usta Dikmen, A. “Atık Sulardan Ağır Metallerin Giderilmesinde Doğal Zeolitlerin Kullanılması: Klinoptilolitin Çinko, Kurşun ve Kadmiyum için İyon Değişim Kapasitesi”, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 92 s., (2008).
- Uzun, I. and Güzel, F. “Adsorption of Some Heavy Metal Ions from Aqueous Solution by Activated Carbon and Comparison of Percent Adsorption Results of Activated Carbon with those of Some Other Adsorbents”, Turk J Chem, 24: 291–297, (2000).
- Vasconcelos, H.L., Fa’vere, V.T., Gonçaves, N.S. and Laranjeira, M.C.M., “Chitosan Modified with Reactive Blue 2 Dye on Adsorption Equilibrium of Cu(II) and Ni(II) Ions”, Reactive & Functional Polymers, 67: 1052–1060, (2007).
- Vasireddy, D., “Arsenic Adsorption onto Iron-Chitosan Composite from Drinking Water”, A Thesis Presented to The Faculty of The Graduate School, University of Missouri-Columbia, 1-111 s., (2005).
- Westergren, R., “Arsenic Removal Using Biosorption with Chitosan: Evaluating The Extraction and Adsorption Performance of Chitosan from Shrimp Shell Waste”, MSc. Thesis, Royal Institute of Technology (KTH), Stockholm, Sweden, 1-36 s., (2006).

- Yaghobi, N. and Mirzadeh, H., “Enhancement of Chitin’s Degree of Deacetylation by Multistage Alkali Treatments”, *Iranian Polymer Journal*, 13 (2): 131-136, (2004).
- Youn, D.K., No, H.K. and Prinyawiwatkul, W., “Physical Characteristics of Decolorized Chitosan as Affected by Sun Drying During Chitosan Preparation”, *Carbohydrate Polymers*, 69: 707–712, (2007).
- Youn, D.K., No, H.K. and Prinyawiwatkul, W., “Physicochemical and Functional Properties of Chitosans Prepared from Shells of Crabs Harvested in Three Different Years”, *Carbohydrate Polymers*, 78: 41–45, (2009).
- Zhou, D., Zhanga, L. and Guo, S., “Mechanisms of Lead Biosorption on Cellulose/Chitin Beads”, *Water Research*, 39: 3755–3762, (2005).
- Zhoua, D., Zhanga, L., Zhoua, J. and Guo, S. “Cellulose/Chitin Beads for Adsorption of Heavy metals in Aqueous Solution”, *Water Research*, 38: 2643–2650, (2004).
- Zinski, S.C., <http://www.bluecrab.info/taxonomy.html>, (2006).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Teslime ÖZBAY

Doğum Tarihi: 13/11/1977

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Osmaniye Atatürk Lisesi		1991-1994
Lisans	Su Ürünleri Fakültesi	Mersin Üniversitesi	1996-2000
Yüksek Lisans	Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri ABD	Mersin Üniversitesi	2000-2005

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri ABD	2001-2012

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- Toku, T. ve Baştürk, Ö. “ Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Hazırlanan Yılan Balığı (*Anguilla anguilla*, L. 1758) Salamuralarının Duyusal Analizi”, XII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, 1: 541-545, (2003).
- Toku, T., Gündüz, S. G., Özkan, F. ve Özlüer Hunt, A. “Mersin Bölgesinden Yakalanan Bazı Balık Türlerinin Fileto Besin Madde Bileşenlerinin Karşılaştırılması”, 4-7 Eylül 2007, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla Üniversitesi, Muğla, 456, (2007).
- Toku, T., Çelikkıran, Ç. ve Baştürk, Ö. “Mavi Yengeç (*Callinectes Sapidus*) ve Karides (*Parapenaeus Longirostris*) Kabuk Atıklarından Kıtın-Kitosan Eldesi ve Biyokimyasal Kompozisyonları”, 4-7 Eylül 2007, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla Üniversitesi, Muğla, 455, (2007).
- Toku, T. ve Baştürk, Ö. “Çiğ ve Tütsülenerek Vakumlu ve Vakumsuz Paketlerde Saklanan Yılan Balığı (*Anguilla anguilla*; L., 1758) Filetolarının 0±1°C’de Raf Ömrünün Belirlenmesi”, 4-7 Eylül 2007, XIV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Muğla Üniversitesi, Muğla, 195, (2007).

Özby, T. ve Baştürk, Ö. “Endüstriyel Atık Suların Arıtılmasında Alternatif Yöntem Olarak Kitosan Kullanımı”, Mersin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 1: 216-227, (2008).

Özby, T., Baştürk, Ö. ve Sungur M.A. “Manta Karidesi (*Squilla* Sp.), Sübye (*Sepia* Sp.) ve Mavi Yengeç (*Callinectes sapidus*, Rathbun, 1896) Atık Kabuklarının Kitin ve Kitosan Verimi”, Yunus Araştırma Bülteni, 1: 13-19, (2012).