

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BAZI MİKROBİYOLOJİK METABOLİTLERİN
ÇİPURA (*Sparus aurata*)'DAKİ BOZUCU
MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ VE
SOĞUKTA DEPOLAMA AŞAMASINDA KULLANILMA
POTANSİYELİ

DOKTORA TEZİ

HATİCE HASANHOCAOĞLU YAPICI

OCAK 2020

MUĞLA

**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**BAZI MİKROBİYOLOJİK METABOLİTLERİN
ÇİPURA (*Sparus aurata*)’DAKİ BOZUCU
MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ VE
SOĞUKTA DEPOLAMA AŞAMASINDA KULLANILMA
POTANSİYELİ**

DOKTORA TEZİ

HATİCE HASANHOCAOĞLU YAPICI

OCAK 2020

MUĞLA

MUĞLA
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI tarafından hazırlanan **Bazı Mikrobiyolojik Metabolitlerin Çipura (*Sparus aurata*)'daki Bozucu Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi ve Soğukta Depolama Aşamasında Kullanılma Potansiyeli** başlıklı tezinin, 06/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JURİSİ

Prof. Dr. Şengül BİLGİN (**Jüri Başkanı**)
Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Isparta

İmza:

Prof. Dr. Latif TAŞKAYA (**Danışman**)
Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ (**Üye**)
Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ

İmza:

Prof. Dr. Taçnur BAYGAR (**Üye**)
Su Ürünleri Fakültesi, İşleme Teknolojisi
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Dr. Öğr. Üyesi Alper AKSÖZEK (**Üye**)
Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Celal ATEŞ
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Prof. Dr. Latif TAŞKAYA
Danışman, İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

Savunma Tarihi: 06/01/2020

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI



06/01/2020

ÖZET

BAZI MİKROBİYOLOJİK METABOLİTLERİN ÇİPURA (*Sparus aurata*)'DAKİ BOZUCU MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ VE SOĞUKTA DEPOLAMA AŞAMASINDA KULLANILMA POTANSİYELİ

Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI

Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Latif TAŞKAYA

Ocak 2020, 114 sayfa

Su ürünleri, son yılların en fazla büyüyen gıda sektörlerindedir. Ancak özellikle mikroorganizma aktiviteleri yüzünden çabuk bozulan gıdalar arasında yer almaktadır. Bu da su ürünleri endüstrisinin karşı karşıya olduğu en büyük problemdir. Tüm canlılarda olduğu gibi balıkların da yaşam süreçleri boyunca doğal bir mikroflorası vardır. Mevcut mikroflora hasattan sonra pek çok değişime uğrayarak sonunda yalnızca belirli bazı mikroorganizma türleri ortamda baskın hale geçerek bozulmaya neden olurlar. Bir gıdanın kalitesini korumak ve raf ömrünü uzatmak için öncelikli olarak bu bozulmaya neden olan dominant mikroorganizmaların belirlenmesi ve bunlar üzerine inhibe edici çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Bu amaçla tez çalışmasında öncelikle ülkemiz için değerli bir balık olan çipura balığı (*Sparus aurata*) materyal olarak seçilmiş ve bozulmaya neden olan dominant mikroorganizmaları belirlenmiştir. Temin edilen balıklar buzlanarak aerobik koşullarda 16 günlük soğuk muhafazaya ($+4\pm 2^{\circ}\text{C}$) alınmıştır. Depolama süresince analiz günlerinde toplam bakteri, maya&küf, psikrotrofik ve lipolitik bakteri için ekimler yapılmıştır. PCA'ya yapılan ekimlerden farklı morfolojideki koloniler izole edilmiştir. İzolatlar gram boyama ve oksidaz testleri yapılarak, aynı sonuçları veren izolatlar gruplandırılmıştır. Farklı gruplardan izolatlar seçilerek önce API kitleri, daha sonra 16S rDNA yöntemi kullanılarak PZR ile tanımlanmış ve bozulmaya neden olan dominant bakteriler *Pseudomonas fragi* ve *Pseudomonas fluorescens* grup olarak belirlenmiştir.

Mikroorganizmalar biyolojik faaliyetleri sonucu metabolit adı verilen küçük moleküller sentezlemektedir. Mikroorganizmaların ürettikleri bu metabolitler gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanabilmektedir. Bu tez çalışmasında birer mikrobiyolojik metabolit olan mevinolin, nisin ve oksitetrasiklin satın alınarak, çipuranın dominant bozulma bakterileri üzerindeki etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bunun için öncelikle metabolitlerin minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Mevinolinin her iki bakteri üzerindeki MİK değeri $32\ \mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir. Çalışmada nisinin, gram negatif olan *P. fragi* ve *P. fluorescens* bakteriler üzerinde, $0.125 - 128\ \mu\text{g/ml}$ aralığında gerçekleştirilen analizlerde MİK değeri belirlenmemiştir. Oksitetrasiklin metabolitinin ise *P. fragi* ve

P. fluorescens üzerinde sırasıyla 1 ve 8 µg/ml MİK değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılan miktarın ve maliyetin oldukça düşük olması sebebi ile solüsyon çalışmaları oksitetrasiklin ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle oksitetrasiklin metabolitinden konsantrasyonu 8 µg/ml olacak şekilde 200 ml solüsyon hazırlanarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenen dominant bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Hazırlanan oksitetrasiklin solüsyonun *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerindeki en büyük inhibisyon zonunun sırasıyla 22.6 ve 13.1 mm olduğu tespit edilmiştir.

Son olarak farklı bir parti çipura balığı temin edilerek yine konsantrasyonu 8 µg/ml olan oksitetrasiklin solüsyonu 3 farklı yöntem (daldırma, sprey, buz) ile balıklara uygulanmıştır. Kontrol (K), daldırma (D), sprey (S) ve buz (B) grupları yine aerobik şartlarda soğuk havada (+4±2°C) 16 gün boyunca depolanmış ve raf ömrünü belirlemek için aralıklarla duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapılmıştır.

Analiz sonuçlarına göre buz şeklinde uygulanan oksitetrasiklinin çipuranın duyuşal ve mikrobiyolojik açıdan raf ömrünü kontrol grubuna göre 5 gün kadar uzattığı belirlenmiştir. Ayrıca kontrol grubuna göre *Pseudomonas spp.*'de en az 2 log, proteolitik bakterilerde de en az 1 log düşüş sağladığı ortaya konmuştur. Kimyasal olarak toplam uçucu bazik azot (TVB-N) (31.36 mg/100g) ve trimetilamin azot (TMA-N) (1.03 mg malonaldehit/kg) değerlerinin diğer gruplara göre çok daha az seviyelerde kaldığı belirlenmiştir. Tiyobarbütirik asit (TBA) değerleri incelendiğinde 17. günde kontrol, daldırma ve sprey grupları sırasıyla 5.30, 4.71 ve 4.94 mg malonaldehit/kg iken; oksitetrasiklinli buz uygulaması 2.46 mg malonaldehit/kg'dır. TBA sonuçlarına göre oksitetrasiklinin ayrıca antioksidan özelliğinin de güçlü olduğu görülmektedir. Çipura örneklerinin başlangıçtaki ham protein ve ham yağ değerleri sırasıyla %18.56 ve %10.55'tir. Depolamanın 17. gününde bu değerler kontrol (%17.57 ve %9), daldırma (%16.97 ve %6.74) ve sprey (%16.53 ve %8.55) grubunda kayıba uğradığı görülmüştür. Buz uygulanan grupta ise ham protein ve ham yağ değerleri %18.23 ve %10.45 ile tazeye en yakın besin içeriğine sahip grup olarak tespit edilmiştir.

Oksitetrasiklinin; soğuk depolama süresince çipura balığının bozulma etmeni mikroorganizmaları üzerindeki inhibe edici etkisi ortaya konulmuştur. Yapılan denemeler sonucunda oksitetrasiklinin buz olarak uygulanmasının raf ömrünü uzatmak için çok daha etkili bir yöntem olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca su ürünleri işleme tesislerinde kullanılma potansiyeli ve önemi tartışılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Spesifik Bozulma Organizmaları (SBO), Mevinolin, Nisin, Oksitetrasiklin, *Pseudomonas spp.*, Raf Ömrü, Çipura

ABSTRACT

EFFECT OF SOME MICROBIOLOGICAL METABOLITES ON SPECIFIC SPOILAGE MICROORGANISMS IN GILTHEAD SEA BREAM (*Sparus aurata*), AND THEIR USAGE POTENTIAL IN COLD STORAGE

Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI

Doctor of Philosophy (Ph.D.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Fisheries

Supervisor: Prof. Dr. Latif TAŞKAYA

Ocak 2020, 114 pages

Seafood is one of the fastest growing food markets in recent years. However, it is among quickly spoiling food especially due to microorganism activity. This is one of the biggest challenge facing seafood industry. Fish, as all living, have a natural microflora during their lifetime. Current microflora undergoes many changes after harvesting, only some specific microorganisms become dominant in environment resulting in spoilage. In order to quarentee quality and expand shelf life of any food product; it is mandatory to determine this spoilage causing dominant microorganisms and perform prohibitive precautions on them.

Therefore; first of all, gilthead sea bream (*Sparus aurata*) which is a valuable species in our country, was selected as main material in this thesis and dominant microorganisms causing its spoilage was determined. Procured fish were placed in ice and stored in cold ($+4\pm 2^{\circ}\text{C}$) for 16 days in aerobic conditions. Total bacteria, lipolytic bacteria, yeast&mould and psychrotrophic bacteria were performed during storage. Colonies with varying morphologies were isolated from PCA plantings. Isolates producing similar results in gram staining and oxidase test were grouped as one. Isolates obtained from different groups were identified first by API kits then 16S rDNA sequencing by PCR and *Pseudomonas fragi* and *Pseudomonas fluorescens* groups were detected as dominant spoilage bacteria.

Microorganisms synthesize small molecules called metabolites as result of their biological activities. These metabolites can be used as natural preservatives for food. Thus; mevinolin, nisin and oxytetracycline, which are microbiological metabolites, were purchased and their effects on mentioned dominant spoilage bacteria for gilthead sea bream was studied in this thesis. To do so; first of all, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of metabolites were identified. MIC value of mevinolin on both bacteria was identified to be 32 $\mu\text{g/ml}$. MIC value of nisin on *P. fragi* and *P. fluorescens*, which are gram-negative bacteria, could not be detected in series of analysis performed in 0.125 – 128 $\mu\text{g/ml}$ range. Oxytetracycline metabolite's MIC values on *P. fragi* ve *P. fluorescens* were detected as 1 and 8 $\mu\text{g/ml}$ respectively.

Solution applications were performed with oxytetracycline due to low amount and hence cost of required usage. First; 200 ml solution with 8 $\mu\text{g/ml}$ oxytetracycline

concentration was prepared and its antimicrobial effect using disc diffusion method on dominant spoilage bacteria was researched. Maximum inhibition zone of prepared oxytetracycline solution on *P. fragi* and *P. fluorescens* were identified as 22.6 and 13.1 mm respectively.

Finally, oxytetracycline solution, again with 8 µg/ml concentration, using 3 different methods (dipping, spraying and ice) was applied to another party of gilthead sea bream. Control (K), dipping (D), spraying (S) and ice (B) groups were, again, stored in cold ($+4\pm 2^{\circ}\text{C}$) and aerobic conditions for 16 days. Sensory, microbiological and chemical analysis were performed periodically on these groups in order to identify shelf life.

Analysis results unveiled that oxytetracycline applied as ice (B) increases sensory and microbiological shelf life of gilthead sea bream about 5 days compared to control (K) group. It was also found out that; application of oxytetracycline applied as ice (B) causes a decrease at least 2 log in *Pseudomonas* spp. and 1 log in proteolytic bacteria compared to control (K) group. Chemically it was detected that total volatile base nitrogen (TVB-N) (31.36 mg/100g) and trimethylamine nitrogen (TMA-N) (1.03 mg malonaldehit/kg) values are much lower compared to other groups. Thiobarbituric acid (TBA) values at day 17 for control (K), dipping (D) and spray (S) groups were 5.30, 4.71 and 4.94 mg malonaldehit/kg respectively whereas it was close to half at 2.46 mg malonaldehit/kg for oxytetracycline ice (B) application. TBA values also shows that; oxytetracycline, in addition, has stronger antioxidant feature. Initial raw protein and raw lipid values of gilthead seabream samples were 18.56 % and 10.55 %. At day 17; those values were observed to drop in control (17.57 % and 9 %), dipping (16.97 % and 6.74 %) and spray (16.53 % and 8.55 %) groups. Oxytetracycline ice group was detected to be closest group to the fresh food content with raw protein and raw lipid values at 18.23 % and 10.45 % respectively.

It is manifested that oxytetracycline has an inhibiting effect on dominant spoilage microorganisms of gilthead sea bream during cold storage. Its application in the form of ice is a much better method for increasing shelf life as a result of assays has been done in this study. In addition, the potential of using in seafood processing and importance of oxytetracycline were discussed.

Keywords: Specific Spoilage Organisms (SSOs), Mevinolin, Nisin, Oxytetracycline, *Pseudomonas* spp. Shelf Life, Sea bream

ÖNSÖZ

Bana duyduğu güvenle tezimin her aşamasında yanımda olan ve anlayışı olmasa tezimi asla tamamlayamayacağımı bildiğim danışmanım Prof. Dr. Latif TAŞKAYA'ya

Altı ayda bir zamanlarını ayırarak beni dinleyen ve tezimi değerli katkıları ile yönlendiren tez izleme komitesindeki hocalarım Prof. Dr. Taçnur BAYGAR ve Dr. Öğr. Üyesi Alper AKSÖZEK'e

Tezime olan değerli katkılarından dolayı ikinci danışmanım Doç. Dr. Özgür CEYLAN'a ve ne zaman bir analizde zorlansam yanına koştuğum Dr. Öğr. Üyesi Bora EKİNCİ'ye

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan takım arkadaşlarım Doç. Dr. Yunus ALPARSLAN, Arş. Gör. Cansu METİN ve ekibin bir parçası olan Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Zerrin EKŞİ'ye

Tez örneklerini temin etmemde bana yardımcı olan arkadaşım Arş. Gör. Murat Can SUNAR'a,

Tez örneklerimi temin ettiğim Hatko Su Ürünleri A.Ş., ÖZBAŞER Su Ürünleri Tic. İth. İhr. Ltd. Şti, SÜRSAN Su Ürünleri A.Ş. ve Çakıl Su Ürünleri A.Ş. işletmelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu yol boyunca her türlü yakınmalarına, şikayetlerime zaman ayıran hayat kaynağım annem Sermin HASANHOCAOĞLU'na; akademik dünyaya beni iterek bu tezin oluşmasının sorumlusu babam Mehmet HASANHOCAOĞLU'na ve tabiki her aradığımda anlattıkları ile aklımı tezimden uzaklaştırıp nefes almamı sağlayan abim Hamit HASANHOCAOĞLU'na

Sadece tezime değil hayatıma kattıklarından dolayı, dayanağım, hayat arkadaşım Arş. Gör. Dr. Sercan YAPICI'ya yürekten teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No:16/159) tarafından ve TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek (Proje Kodu: 1180782) programı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	7
2.1. Çipuranın Spesifik Bozulma Etmeni Mikroorganizmalar İle İlgili Çalışmalar..	7
2.2. Antimikrobiyal Etkili Doğal Bileşenler İle İlgili Çalışmalar	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Spesifik bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi için kullanılan çipura balıklarının temin edilmesi.....	19
3.1.2. Bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerinde etkisi belirlenecek olan mikrobiyolojik metabolitlerin temini	21
3.1.3. Metabolit solüsyonunun uygulanacağı çipuraların temini ve grupların hazırlanması	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Çipuranın spesifik bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi	22
3.2.2. Metabolitlerin bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi	25
3.2.3. Seçilen metabolitin bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi	26
3.2.4. Hazırlanana metabolit solüsyonunun çipura balıklarının raf ömrü ve et kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi	26
3.2.4.1. Depolanan grupların duyuşal analizleri	26
3.2.4.2. Depolanan grupların mikrobiyolojik analizleri	28
3.2.4.3. Depolanan grupların kimyasal analizleri	29
3.2.4.4. Depolanan grupların fiziksel analizleri	30
3.2.4.5. Depolanan grupların besin analizleri	30
3.2.5. İstatistiksel analizler	32
4. ARAŞTIRMA BULGULAR	33

4.1. Çipuranın Spesifik Bozulma Mikroorganizmalarının Tanımlama Sonuçları..	33
4.2. Metabolitlerin Belirlenen Bozulma Etmeni Mikroorganizmalar Üzerindeki MİK Değerleri	41
4.3. MİK Değerlerine Göre Hazırlanan Metabolit Solüsyonun Antimikrobiyal Analiz Sonuçları	48
4.4. Metabolit Solüsyonun Çipura Balıklarının Raf Ömrü ve Et Kalitesi Üzerine Etkisi.....	51
4.4.1. Depolanan grupların duyuşal analiz sonuçları.....	51
4.4.2. Depolanan grupların mikrobiyolojik analiz sonuçları	58
4.4.3. Depolanan grupların kimyasal analiz sonuçları.....	65
4.4.4. Depolanan grupların fiziksel analiz sonuçları	68
4.4.5. Depolanan grupların besin analiz sonuçları.....	73
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	74
KAYNAKLAR	91
EK. A: Grupların Hazırlanma Akış Şeması	107
EK. B: Oksitetrasiklin Metabolit Solüsyonun Zamana Bağlı pH Değerleri	108
EK. C: <i>Pseudomonas fragi</i> 16S rDNA Sekans Dizilimi.....	109
EK. D: <i>Pseudomonas flourescens</i> 16S rDNA Sekans Dizilimi.....	110
ÖZGEÇMİŞ.....	111

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünyada su ürünleri üretimi	2
Çizelge 1.2. Türkiyedeki su ürünleri üretim ve tüketim miktarları.....	3
Çizelge 1.3. Çipura balığının avlancılık ve yetiştiricilik miktarları.....	4
Çizelge 3.1. Taze balıkların duyu analizi değerlendirme tablosu.....	27
Çizelge 3.2. Beğeni ile ilgili puan skalası.....	27
Çizelge 4.1. Balıkların boy-ağırlık değerleri.....	33
Çizelge 4.2. Ağ kafes ve toprak havuz çipura balıklarının kültürel sayım sonuçları (log kob/g)	33
Çizelge 4.3. Analiz günlerinde yapılan ekimlerden alınan izolat miktarları.....	35
Çizelge 4.4. Ağ kafes ve toprak havuz örneklerinden depolama boyunca yapılan toplam bakteri ekimlerinden alınan izolatların gram boyama ve oksidaz test sonuçları.....	36
Çizelge 4.5. Ağ kafes ve toprak havuz örneklerinden depolama boyunca yapılan psikrotrofik bakteri ekimlerinden alınan izolatların gram boyama ve oksidaz test sonuçları	37
Çizelge 4.6. Oksidaz negatif izolatların TSI agar ekim sonuçları.....	38
Çizelge 4.7. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında toplam mezofilik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların API tanımlama sonuçları ...	38
Çizelge 4.8. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında toplam psikrotrofik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların API tanımlama sonuçları	39
Çizelge 4.9. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında yapılan bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların 16S rDNA tanımlama sonuçları	40
Çizelge 4.10. Oksitetrasiklin solüsyonun antimikrobiyal analiz sonuçları (mm).....	48
Çizelge 4.11. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden deri kriterinin puanlama sonuçları.....	51
Çizelge 4.12. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden göz kriterinin puanlama sonuçları.....	52
Çizelge 4.13. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden solungaç kriterinin puanlama sonuçları.....	53
Çizelge 4.14. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden doku kriterinin puanlama sonuçları.....	54
Çizelge 4.15. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden koku kriterinin puanlama sonuçları.....	55
Çizelge 4.16. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden dış görünüş kriterinin puanlama sonuçları.....	56
Çizelge 4.17. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden genel beğeni kriterinin puanlama sonuçları.....	57
Çizelge 4.18. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan toplam bakteri sonuçları	58
Çizelge 4.19. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan <i>Pseudomonas</i> spp. sonuçları	59

Çizelge 4.20. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koliform bakteri sonuçları	60
Çizelge 4.21. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan lipolitik bakteri sonuçları	61
Çizelge 4.22. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan proteolitik bakteri sonuçları.....	62
Çizelge 4.23. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan maya&küf sonuçları ..	63
Çizelge 4.24. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan psikrotrofik bakteri sonuçları.....	64
Çizelge 4.25. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TVB-N sonuçları.....	65
Çizelge 4.26. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TBA sonuçları	66
Çizelge 4.27. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TMA-N sonuçları	67
Çizelge 4.28. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan pH sonuçları	68
Çizelge 4.29. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan su aktivitesi sonuçları	69
Çizelge 4.30. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan L* sonuçları.....	70
Çizelge 4.31. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan a* sonuçları	71
Çizelge 4.32. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan b* sonuçları	72
Çizelge 4.33. Taze ve depolama sonunda yapılan besin kompozisyonu analiz sonuçları	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çipura örneklerinin temin edildiği işletmeler	19
Şekil 3.2. Temin edilen çipura balıklarının boy-ağırlık ölçümü	20
Şekil 3.3. Ağ kafes ve toprak havuz balıklarının depolanması	20
Şekil 4.1. Çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi için yapılan kültürel sayım sonuçları	34
Şekil 4.2. İzolat kodlama sistemi	36
Şekil.4.3. Nisin metabolitinin <i>P. fragi</i> üzerine MİK analiz sonuçları.....	41
Şekil.4.4. Nisin metabolitinin <i>P. fluorescens</i> üzerine MİK analiz sonuçları	41
Şekil.4.5. Nisin metabolitinin <i>E. coli</i> üzerine MİK analiz sonuçları	42
Şekil.4.6. Nisin metabolitinin <i>S. aureus</i> üzerine MİK analiz sonuçları	42
Şekil.4.7. Nisin metabolitinin <i>P. aeruginosa</i> üzerine MİK analiz sonuçları	42
Şekil.4.8. Mevinolin metabolitinin <i>P. fragi</i> üzerine MİK analiz sonuçları.....	43
Şekil.4.9. Mevinolin metabolitinin <i>P. fluorescens</i> üzerine MİK analiz sonuçları	43
Şekil.4.10. Mevinolin metabolitinin <i>E. coli</i> üzerine MİK analiz sonuçları	44
Şekil.4.11. Mevinolin metabolitinin <i>S. aureus</i> üzerine MİK analiz sonuçları.....	44
Şekil.4.12. Mevinolin metabolitinin <i>P. aeruginosa</i> üzerine MİK analiz sonuçları ...	45
Şekil.4.13. Oksitetrasiklin metabolitinin <i>P. fragi</i> üzerine MİK analiz sonuçları.....	45
Şekil.4.14. Oksitetrasiklin metabolitinin <i>P. fluorescens</i> üzerine MİK analiz sonuçları	46
Şekil.4.15. Oksitetrasiklin metabolitinin <i>E. coli</i> üzerine MİK analiz sonuçları	46
Şekil.4.16. Oksitetrasiklin metabolitinin <i>S. aureus</i> üzerine MİK analiz sonuçları	47
Şekil.4.17. Oksitetrasiklin metabolitinin <i>P. aeruginosa</i> üzerine MİK analiz sonuçları	47
Şekil.4.18. Oksitetrasiklin solüsyonun antimikrobiyal disk difüzyon analiz sonuçları	49
Şekil 4.19 Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden deri kriterinin puanlama sonuçları	51
Şekil 4.20. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden göz kriterinin puanlama sonuçları	52
Şekil 4.21. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden solungaç kriterinin puanlama sonuçları	53
Şekil 4.22. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden doku kriterinin puanlama sonuçları	54
Şekil 4.23. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden koku kriterinin puanlama sonuçları	55
Şekil 4.24. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden dış görünüş kriterinin puanlama sonuçları	56
Şekil 4.25. Depolama süresince yapılan duyuşal analizlerden genel beğeni kriterinin puanlama sonuçları	57
Şekil 4.26. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan toplam bakteri sonuçları	58
Şekil 4.27. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan <i>Pseudomonas</i> spp. sonuçları	59

Şekil 4.28. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koliform bakteri sonuçları	60
Şekil 4.29. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan lipolitik bakteri sonuçları	61
Şekil 4.30. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan proteolitik bakteri sonuçları	62
Şekil 4.31. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan maya&küf sonuçları	63
Şekil 4.32. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan psikrotrofik bakteri sonuçları	64
Şekil 4.33. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TVB-N sonuçları	65
Şekil 4.34. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TBA sonuçları	66
Şekil 4.35. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TMA-N sonuçları	67
Şekil 4.36. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan pH sonuçları	68
Şekil 4.37. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan su aktivitesi sonuçları	69
Şekil 4.38. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan L* sonuçları	70
Şekil 4.39. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan a* sonuçları	71
Şekil 4.40. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan b* sonuçları	72

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μ l	Mikrolitre
SBO	Spesifik bozulma organizmaları
PUFAs	Çoklu doymamış yağ asitleri
EPA	Eikozapentaenoik asit
DHA	Dokozahekzaenoik Asit
BHA	Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillendirilmiş hidroksi tolüen
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
TBHQ	Ter-Bütül hidrokinon
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GRAS	Genel olarak güvenilir zararsız kabul edilen
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
OTS	Oksitetrasiklin
LAB	Laktik asit bakterileri
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
BLAST	Temel yerel hizalama arama aracı
ADI	Kabul edilebilir günlük alım miktarı
NOEL	Deney hayvanlarında saptanabilir bir etki oluşturmayan, vücut ağırlığı (kg) başına düşen maksimum mg madde miktarı
MRL	Maksimum kalıntı limiti
JECFA	Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi
MAP	Modifiye atmosfer paketleme
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
TBA	Tiyobarbütirik asit
TVB-N	Toplam uçucu bazik azot
TMA-N	Trimetilamin azot

1. GİRİŞ

Mikroorganizmalar dünya üzerindeki en eski varlıklar olarak tanımlanmıştır. Gözle görülemeyen bu minik canlılar yaşamı pek çok yönden etkilemiş, hala etkilemektedir ve etkilemeye devam edecektir. İnsanoğlu uzun yıllar bu gözle görülemeyen canlıların varlığından şüphelense de ilk inceleme Antony van Leeuwenhoek tarafından 1684 yılında kendi yaptığı mikroskop ile gerçekleşmiştir. Leeuwenhoek bu canlıları “hayvancık” anlamına gelen Animalcules olarak adlandırmıştır (Anonim, 2019; Susever, 2016).

Mikrobiyolojinin altın çağı olarak bilinen 1800 – 1900 yıllarında pek çok hastalığın etken mikroorganizması izole edilerek tanımlanmış; ikinci dünya savaşından sonra antibiyotiklerin keşfi ile de sıtma, difteri, verem, menenjit gibi zamanın önemli hastalıkları tedavi edilmiştir. Böylece mikrobiyolojinin önemi anlaşılmış ve ilgi giderek artmıştır. 1940’larda elektron mikroskopunun geliştirilmesi ile viral hastalıkların incelenmesi ve kontrol altına alınması sağlanmıştır. Günümüzde ise mikrobiyoloji ve mikroorganizmalar gıda, tıp, kozmetik, ekoloji, genetik, farmakoloji, ziraat gibi pek çok endüstri alanıyla iç içedir (Madigan ve Martinko, 2012; Anonim, 2019; Susever, 2016; Şanlı, 2019).

Mikroorganizmalar “mikrop” adı altında yalnızca hastalık yapıcı zararlılar gibi algılansa da bundan çok daha fazlası anlamına gelmektedir. Mikroorganizmalar yeryüzünde canlı kütleinin önemli bir kısmını oluşturur. Dünyada 500.000 - 6.000.000 arasında farklı türde mikroorganizma olduğu sanılmaktadır. Bugüne kadar bunların %5 'inden daha azı olduğu kabul edilen 3.500 bakteri, 90.000 fungi (maya, küf, şapkalı mantar), 100.000 protist (alg ve protozoa) tanımlanabilmiştir. Mikroorganizmalar yaşamsal faaliyetlerde gerekli olan temel maddeler için depo görevini üstlenmelerinin yanı sıra diğer organizmaların ihtiyacı olan pek çok kimyasal reaksiyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar. Mikroorganizmalar yaşam için gerekli temel maddeler için depo görevi görür ve diğer organizmalar için gerekli pek çok kimyasal reaksiyonu gerçekleştirirler (Güven vd., 2011; Anonim, 2015a; Çoban, 2013). Örneğin doğada azot, karbondioksit, oksijen gibi yaşam için hayati döngülerde büyük rol

oyunmaktadır. Mikrobiyal ekoloji; mikroorganizmaların atık su arıtımı, maden arıtımı gibi alanlarda kullanılmasını sağlamaktadır. Diğer sanayi dallarında kullanılan bazı kimyasal maddelerin (organik asitler, etil alkol, vitamin vb.) mikrobiyolojik yollardan daha hızlı ve ekonomik üretimi endüstriyel mikrobiyolojinin gelişimi ile mümkün olmaktadır. Hücre ve genetik üzerine çalışmalarda mikroorganizmalar sayesinde çığır açan sonuçlar elde edilmektedir. Gıdaların sağlıklı şekilde üretilmesi, temin edilmesi, işlenmesi, saklanması ve tüketilmesi için gıda mikrobiyolojisinin önemi ve gerekliliği her geçen yıl giderek artmaktadır.

Su ürünleri, artan dünya nüfusunun ihtiyaç duyduğu protein ihtiyacının en kaliteli şekilde karşılanabileceği bir kaynaktır. Protein içeriği vücut için gerekli tüm esansiyel amino asitlerden oluşmaktadır. Bunun yanı sıra yararlı çoklu doymamış yağ asitlerinin varlığı (PUFAs, EPA, DHA), zayıf bağ dokusu sayesinde kolay sindirilebilme özelliği, bünyesindeki biyoaktif bileşenleri, vitamin ve mineraller ile birlikte sağlıklı ve lezzetli bir öğün olarak tüm sağlık kuruluşları ve beslenme uzmanları tarafından tavsiye edilmektedir (Murray ve Burt, 2011; Hamed vd., 2015; SGB, 2019). Günümüzde insanların sağlıklı yaşam ve fit olma isteği ile de uyumlu olarak su ürünlerine olan ilgi giderek artmaktadır. Bununla birlikte dünyada su ürünleri üretimi ve tüketimi her geçen sene artmaktadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünyada su ürünleri üretimi

	<i>Avcılık (bin ton)</i>			<i>Yetiştiricilik (bin ton)</i>			<i>TOPLAM</i>
	<i>Deniz</i>	<i>İçsu</i>	<i>Toplam</i>	<i>Deniz</i>	<i>İçsu</i>	<i>Toplam</i>	
2013	79.386	11.202	90.588	25.405	44.784	70.189	160.777
2014	79.888	11.333	91.221	26.810	46.905	73.715	164.936
2015	81.262	11.408	92.670	27.499	48.596	76.095	168.765
2016	79.290	11.633	90.923	28.704	51.368	80.072	170.995
2017	80.598	11.924	92.522	30.626	49.509	80.138	172.660

Kaynak: SGB, 2019

Türkiye’de su ürünleri üretimi; avcılık ve yetiştiricilik yolu ile yapılmaktadır. Üç tarafı denizlerle çevrili ülkemizde ayrıca 200 kadar doğal göl, 300’den fazla baraj gölü, 33 tane büyük akarsu ve 750’den fazla gölet bulunmaktadır. Bu zengin kaynaklarımız ve tür çeşitliliğimiz ülkemizi su ürünleri üretimi açısından oldukça şanslı bir konuma getirmektedir (Yüksel ve Diler, 2019). Özellikle son yıllarda yetiştiriciliğe yapılan yatırımlar ile ürünlerimiz çeşitlenmekte ve dünya sahnesinde yerini sağlamlaştırmaktadır. Ülkemizdeki su ürünleri üretiminin %35.3’ünü deniz balıkları,

%9.9'unu diğ er deniz ürünleri, %4.8'ini iç su ürünleri ve %50'sini yetiştiricilik ürünleri oluşturmaktadır (Çizelge 1.2). 2018 yılında avcılıkla yapılan üretim 314 bin 094 ton, yetiştiricilik üretimi ise 314 bin 537 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2019a).

Çizelge 1.2. Türkiye'deki su ürünleri üretim ve tüketim miktarları

	Deniz Ürünleri (Ton)	Yetiştiricilik Üretimi* (Ton)	Tatlısu Ürünleri* (Ton)	Kişi başına tüketim (kg)
2013	339 047	233 394	35 074	6.3
2014	266 078	235 133	36 134	5.5
2015	397 731	240 334	34 176	6.1
2016	301 464	253 395	33 856	5.4
2017	322 173	276 502	32 145	5.5
2018	283 955	314 537	30 139	6.1

Kaynak: TÜİK, 2019b,

*Yetiştiricilik üretimi ve tatlısu ürünleri için kaynak Tarım ve Orman Bakanlığı

Ülkemizde 2019 yılı Ocak ayı itibari ile en çok ihracat gerçekleştirilen ilk 5 alt sektörden su ürünleri, 91.5 milyon dolarla birinci sırada yer almaktadır (EİB, 2019).

Muğla İli'nin su ürünleri ve hayvansal ihracat açısından Türkiye'de İstanbul ve İzmir'den sonra 3. sırada yer aldığı bildirilmiştir. Ancak kıyı şeridinin 1.484 km uzunluğunda olduğu ve ihracatının %73'ünün su ürünlerinden oluştuğu göz önüne alınca; Muğla su ürünleri söz konusu olduğunda Türkiye'de ilk sıraya yükselmektedir. Muğla, 94 bin 750 ton üretimle Türkiye deniz kültür balıkçılığı üretiminin yüzde 65'ini gerçekleştirmektedir. 64 bin 923 ton çipura, levrek ve alabalık ihraç edilerek ülkemizin özellikle levrek ve çipura ihracatı konusunda dünya liderliğine katkısı en fazla olan ildir (Kartal, 2018). Avrupa, Rusya, ABD olmak üzere birçok ülkeye ihracat yapılmaktadır (Genç, 2019).

Ülkemizde su ürünleri üretiminde gösterdiğimiz başarıyı maalesef ki tüketim miktarımızda gösterememekteyiz (Çizelge 1.2). Dünyada yıllık kişi başına düşen su ürünleri tüketimi 16 kg, AB ülkelerinde ise 22 kg (SGB, 2019) iken Türkiye de bu miktar 2018 yılında 6.14 kg olmuştur (TÜİK, 2019b)

Tüketimin az olduğu ülkemizde çipura sevilerek tüketilen ve en çok tercih edilen su ürünleri arasındadır. Ülkemiz kıyılarında gerçekleşen kontrolsüz ve aşırı avcılık sonucunda çipura popülasyonunun sayısı hızla azalmıştır. Ülkemizde avlanan çipura miktarında 2014 yılından itibaren düşüş görülmektedir. Bu durum çipuranın

yetiştiriciliğine ağırlık verilmesine yol açmıştır. Çipura balığı üretim kültürüne uygunluğu nedeniyle ekonomik değeri yüksektir. Bu sebeple ülkemizde çipura yetiştiriciliği her geçen sene artış göstermektedir (Çizelge 1.3) (Anonim, 2015b).

Çizelge 1.3. Çipura balığının avlancılık ve yetiştiricilik miktarları

		<i>Aylanan deniz balıkları miktarı (Ton)</i>					
		2013	2014	2015	2016	2017	2018
Toplam		295 167.9	231 058.3	345 765.0	263 724.5	269 676.4	222 023.6
Çipura		943.5	606.3	480.9	495.1	590.0	544.1
		<i>Yetiştiricilik üretimi (Ton)</i>					
		2013	2014	2015	2016	2017	2018
Toplam		233 393.9	235 133.0	240 334.0	253 395.0	276 502.0	314 537.0
Çipura		35 701.1	41 873.0	51 844.0	58 254.0	61 090.0	76 680.0

Kaynak: TÜİK, 2019a

Artan çipura yetiştiriciliğinin çoğu Muğla İli sınırları içerisinde yapılmaktadır. Bu da çalışma da çipuranın tercih edilmesinin nedenlerinden biridir. Ülkemiz su ürünleri üreticilerinin artan uluslararası ticaret ve rekabet ortamında yerlerini sağlamlaştırabilmesi ve pazar paylarını büyütebilmesi için kaliteli ürünlere sahip olmaları gerekmektedir. Bunu sağlamak için üretilen su ürünlerini en iyi kalitede muhafaza ederek tüketicilere ulaştırmak gerekmektedir.

Su ürünlerinin endüstriyel anlamda en büyük problemi çabuk bozulan gıdalar arasında yer almasıdır. Balıklar avlandıktan veya hasat edildikten sonra çeşitli işlemlere maruz kalmaktadır. Bu işlemlere bağlı olarak balığın kalitesinde bir takım olumsuz değişimlerin oluşması kaçınılmazdır (Huss, 1995; Turan vd., 2006). Mikrobiyolojik aktivite, lipidlerin oksidasyonu, enzimatik faaliyetler ve otoliz gibi reaksiyonlardan dolayı kalite kayıpları çok çabuk gerçekleşmektedir (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004; Ghaly vd., 2010). Balık etinin; su içeriğinin ve besin değerinin yüksek olması ve zayıf bağ dokusu, onu insanlar için olduğu kadar mikroorganizmalar için de oldukça zengin bir besin kaynağı yapmaktadır. Bu yüzden dolayı balıklarda kalite kaybının en büyük nedeni mikrobiyolojik aktivite olarak sayılmaktadır (Borgstorm ve Farber, 1965; Çaklı ve Kışla, 2003; Çapkın, 2008). Bu durum üreticide ekonomik, tüketicide hijyen ve sağlık kaygılarına sebep olmaktadır. Su ürünleri işleme teknolojisinde balığın mikroflorasının belirlenmesi, bozulmaya neden olabilecek potansiyel dominant mikroorganizmaların ön görülebilmesi, gerekli engelleyici önemlerin alınabilmesi için elzemdir.

Bu tez çalışmasında ülkemizde sevilerek tüketilen ve su ürünleri ihracatımızda ikinci sırada yer alan çipurada (*Sparus aurata*) kalite kayıplarına ve bozulmaya neden olan spesifik bozulma mikroorganizmaları tespit edimeye çalışılacaktır.

Gıdalarda mikroorganizmaların gelişimini durdurmak için pek çok baharat (karanfil, kekik, zerdaçal, defne vb.) ve bitki ekstraktının (portakal/limon kabuğu, papatya, ada çayı, lavanta vb.) antimikrobiyal etkileri denenmektedir (Çoşkun, 2010; Öksüztepe vd., 2010; Bingöl ve Bostan, 2012; Attouchi ve Sadok, 2012; İlkimen ve Gülbandır, 2018; Navarro-Segura vd., 2019; Baptista vd., 2020; Liu vd., 2020). Sentetik koruyucuların yerini alabilecek doğal madde arayışında mikroorganizmalar ve bunların metabolitleri de unutulmamalıdır. Mikroorganizmaların birbiri üzerine inhibe edici etkileri daha çok besiyeri ortamlarında ve patojen mikroorganizmalar üzerinde denenmektedir. Bu çalışmalarda daha çok laktik asit bakterileri (LAB) ve bunların metabolitleri kullanılmaktadır. Ancak farklı mikrobiyolojik metabolitlerin doğal katkı maddesi arayışına dahil edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yapılan tez çalışmasında doğal koruyucu olarak 3 adet mikrobiyolojik metabolit olan nisin, mevinolin ve oksitetrasiklinin çipuranın belirlenen SBO'ları üzerinde antimikrobiyal etkileri denenecektir. Nisin, LAB tarafından üretilen, gıdalarda oldukça yaygın kullanılan ve etkileri hakkında daha fazla literatür bilgisi bulunan metabolitlerden biridir. Bu yüzden nisin; analizi yapılan oksitetrasiklin ve mevinolinin etkilerinin yorumlanabilmesi ve daha etkili olup olmadıklarının karşılaştırılabilmesi için çalışmada kullanılmıştır. Mevinolin, kolesterol düşürücü ilaçlarda kullanılan statinlerden biridir. Tıbbi olarak kullanılan mikrobiyolojik bir metabolitin, balık gibi değerli bir besin ile birleştirilmesinden fonksiyonel bir gıda üretilebilme potansiyeli düşünülerek tez çalışmasına dahil edilmiştir. Oksitetrasiklin balık hastalıklarında kullanılan oldukça bilindik bir antibiyotiktir. Balığın canlılık sürecindeki mikroflorası üzerine etkileri ile ilgili nispeten daha fazla bilgi bulunmasına karşın balığın ölümünden sonraki mikroflora üzerindeki etkileri hakkındaki bilgiler yok denecek kadar azdır. Bu yüzden çalışmada çalışma materyali olarak seçilen çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin ortaya konulması planlanmıştır. Yapılan tez çalışmasında, nisin de dahil olmak üzere seçilen diğer mikrobiyolojik metabolitler olan mevinolin ve oksitetrasiklin ilk defa patojen mikroorganizmalar yerine, su ürünlerinin bozulma etmeni olan mikroorganizmalar üzerinde denenecektir. Ayrıca denemeler besiyeri boyutlarında kalmayarak; en etkili ve maliyet açısından

uygun olan metabolit solüsyon halinde 3 farklı yöntemle (daldırma, sprey ve buz) çipura balığına uygulanacak ve raf ömrü üzerindeki etkileri duyusal, mikrobiyolojik (toplam bakteri, *Pseudomonas* spp., koliform bakteri, lipolitik, proteolitik, maya&küf, psikrotrofik bakteri ve *Vibrionaceae*), kimyasal (TVB-N, TBA ve TMA-N) fiziksel (pH, su aktivitesi ve renk) ve besin (ham protein, ham yağ, nem ve kül) analizleri ile ortaya konulacaktır. Oluşturulan metabolit solüsyonun su ürünleri sanayisinde kullanılma potansiyeli tartışılacaktır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Çipuranın Spesifik Bozulma Etmeni Mikoorganizmalar İle İlgili Çalışmalar

Tüm canlılarda olduğu gibi balıklar da yaşam süreçleri boyunca çeşitli mikroorganizmalarla temas halindedir. Yaşam döngülerini farklı ortam ve şekillerde geçiren balıkların doğal mikrofloraları da farklılık gösterir. Balıklar avlandıktan ve immün sistemleri ortadan kalktıktan kısa süre sonra solungaç, deri ve iç organlarında mevcut bulunan mikroorganizmalar steril olarak kabul edilen balık etine geçmektedir (Soyer, 1999; Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004). Ayrıca hasattan sonraki tüm işlemler sırasında farklı kaynaklardan mikroorganizmalar da balığa bulaşabilmektedir. Bulaşan bu mikroorganizmalar zamanla istenmeyen bileşenlerin ve kalite kayıplarının oluşmasına neden olmaktadır (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Yılmaz vd., 2007; Serdaroğlu ve Barış, 2012).

Balıkların mikrobiyolojik özellikleri iç ve dış faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Su aktivitesi (aw), balık eti bileşimi, pH gibi parametreler iç faktörler arasında incelenmektedir. Etkili önemli dış faktörler ise; balıkların canlı iken ve işlenmesi esnasındaki çevre kontaminasyonu ve sıcaklıktır. Ayrıca su ürünlerinin işlenmesinde görev alan personel ve işleme ekipmanlarının hijyen-sanitasyon açısından yetersizliği neticesinde bazı olumsuz etkilerin oluşabileceği unutulmamalıdır. Su ürünlerinin hasatı yapıldıktan sonraki nakil, işleme ve depolanma aşamasında zaman-sıcaklık ilişkisine dikkat edilmemesi, hijyen şartlarına uyulmaması mikrobiyolojik yükü arttıran ve bu açıdan balığın raf ömrünü azaltan durumlar olarak gösterilmektedir (Gram ve Huss 1996; Ünlütürk ve Turantaş 1999; Koutsoumanis ve Nychas 2000; Hisar vd. 2004).

Gıdalarda bulunan mikroorganizmalar zamanla ve uygulanan tüm işlemlerle farklılaşabilir. Bazı organizmalar ortamda daha fazla çoğalarak diğer organizmaların önüne geçip ortamı domine etmektedir. Bu organizmalar kimyasal ve enzimatik reaksiyonlarla kötü tat, koku gibi istenmeyen bileşenlerin oluşmasına ve kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Bu bakterilere “spesifik bozulma organizmaları” (SBO) denilmektedir (Gram ve Dalgaard, 2002; Yılmaz vd., 2007; Reynisson, 2009; Böhme

vd., 2010; Serdaroğlu ve Barış, 2012; Bekaert vd., 2015; Zhang vd., 2016;). Bu organizmaların ortaya konması kalite kontrolü ve raf ömrü için oldukça önemlidir.

Özellikle çabuk bozulan bir gıda olan su ürünlerinde mikrobiyolojik açıdan oluşabilecek değişimlerin önceden bilinip gerekli tedbirlerin alınması için SBO'nun bilinmesi ve kontrol altına alınması oldukça önemli bir konudur.

Hasat işleminden sonra balığın mikroflorası yakalandığı ortamın kirlilik durumuna, sıcaklığına, yakalanma şekline ve avlandıktan sonraki işlemlere bağlıdır (Çaklı ve Kışla, 2003). Soğuk sulardan avlanan balıkların derisinde gram negatif bakteriler (*Morexalla*, *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Shewanella* ve *Vibrio*), sıcak sularda avlananlarda gram-pozitif bakteriler (*Micrococcus*, *Coryneform* ve *Bacillus*) bulunmaktadır. Ilık sularda avlanan balıklarda ise psikrotrofik, aerobik ya da fakültatif aerobik Gram (-) bakteriler (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Photobacterium* ve *Aeromonas*) mevcuttur. Ayrıca deniz suyunda sodyuma ihtiyaç duyan halofilik bakteriler olan *Vibrio*, *Photobacterium* ve *Shewanella putrefaciens* gibi Gram (-) bakteriler bulunurken tatlı sularda avlanan balıklarda deniz suyundaki bakterilere ilaveten *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Alcaligenes* ve *Streptococcus*'a ait türlerin varlığından söz edilebilir. Her iki kaynakta bulunan balıkların sindirim sistemlerinde *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* ve *Escherichia* cinslerine ait bakteriler bulunmaktadır (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004; Öksüztepe vd., 2010). Bu bakterilerden bazıları balığın bozulmasında etkili olan Gram negatif proteolitiklerdir. Bozulmada etkili olan diğer kısım bakteriler ise sonradan, sekonder olarak işleme, paketlenme ve taşıma sırasında kontamine olan mezofilik bakterilerdir (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004; Çolakoğlu, 2004).

Depolama esnasında 1-2 hafta içinde mikroflora değişiklikleri meydana gelir. Ortamda korunmasız olarak bırakılan balıklarda mezofilik fermantatif Gram (-) bakteri olan *Vibrionaceae* baskın olabilir. Kirli sulardan yakalanan balıklarda *Enterobacteriaceae*'nin zamanla baskın hale gelmesi söz konusudur. Soğukta muhafazada psikrotrofik bakteri olan *Pseudomonas* ve *Shewanella* dominant hale geçmektedir. Aerobik şartlarda buzda depolamada flora hemen hemen yalnızca *Pseudomonas* ve *S. putrefaciens*'ten oluşmaktadır. Anaerob şartlarda (vakum ambalaj,

modifiye atmosfer paketlenme vb.) ise bozulmaya, CO₂'e dayanıklı G (+) bakteriler *Photobacterium phosphoreum* ve laktik asit bakterileri (*Lactobacillus* ve *Carnobacterium*) neden olmaktadır. Kurutulmuş ya da tuzlanmış balıklarda halofilik bakterilerin ve ıslak tuzlama yapılmış ürünlerde ise mayaların gelişmesi söz konusu olabilmektedir. Tuz gibi koruyucu ilavesi yapılmamış hafif ısıtılmış sous vide gibi ürünlerde en büyük problem ise spor oluşturabilen *Clostridium* ve/veya *Bacillus* bakterileridir (Gram ve Huss, 1996; Gram ve Dalgaard, 2002; Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004).

Su ürünleride SBO'nun dışında endişe yaratan diğer mikroorganizmalar bulaşma sonucu zehirlenmelere neden olabilen patojen mikroorganizmalardır. *Clostridium botulinum* tip E tarafından üretilen toksinin neden olduğu botulizm ve *Vibrio parahaemolyticus*'un sebep olduğu gastroenteritis örnek olarak verilebilir. *Vibrio* türlerinden *V. parahaemolyticus* kıyı sularından, körfezlerden, nehir ağızlarına yakın deniz sularından avlanan su ürünlerinde sıklıkla rastlanmaktadır. Bu mikroorganizmanın deniz suyunda yaz aylarında daha çok izole edildiği bilinmektedir. *Vibrio cholerae* ise fekal kontaminasyona maruz kalmış deniz suyu ve çift kabuklu yumuşakçalarda uzun süre canlılığını koruyabilmekte ve tüketilmesi durumunda ishal ve kusma ile çok miktarda sıvı ve elektrolit kaybına sebep olan kolera hastalığına neden olabilmektedir. *Aeromonas hydrophila*'nın en sık izole edildiği kaynaklar; tatlı su sistemleri, evsel ve endüstriyel atık sular, yüzey suları, kuyu suları, işlem görmemiş çeşitli içme ve kullanma sularıdır. *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türleri de başlıca tatlı sulardan, endüstriyel, insan ve hayvan kaynaklı kontaminasyona maruz kalmış sığ deniz sularından avlanan balıklardan izole edilmektedir. *Salmonella* cinsi bakteriler başlıca insan ve hayvan bağırsaklarında bulunur. Balıklar önemli bir *Salmonella* kaynağı olmamalarına rağmen, kanalizasyon suları ve dışkı ile kontamine olmuş sulardan avlanan balıklarda *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Shigella* gibi patojenlerin gelişmesi söz konudur. Diğer önemli bir patojen olan *Staphylococcus aureus* insan deri, boğaz, burun florasında mevcuttur. Özellikle avlandıktan sonra çok fazla el ile temas eden, hijyen şartlarının zayıf olduğu ve uygun şartlarda bekletilmeyen su ürünlerinde gelişimi ve toksisitesi söz konusu olabilir. *C. botulinum* E tipi çoğunlukla deniz ve göl sularında ve diplerindeki çamurda, balık bağırsaklarında bulunmaktadır. Balığa bulaşması halinde spor oluşturabilmeleri nedeni ile inhibe

edilmeleri oldukça zordur. Özellikle yetersiz ısı işlem uygulanmış konserve gıdalarda tehlike arz etmektedirler (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004).

Çalışmada seçilen çipura balığı (*Sparus aurata*) sıcak ve ılıman sularda, kumlu–çamurlu ortamlarda bulunan bir deniz balığıdır. Bu yüzden çipuranın deri, solungaç ve bağırsaklarında bulunması söz konusu olabilecek bakteriler; *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Photobacterium*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Clostridium* ve *Escherichia* türleridir (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004; Parlapani vd., 2013). Bu bakterilerden bir kısmı avlanmadan sonra yapılan işlemlere, depolama şartlarına ve sıcaklıklarına göre dominant mikroflora haline gelerek bozulmadan sorumlu hale gelebilmektedir. Bu konuda yapılan bazı çalışmalara aşağıda değinilmiştir.

Tryfinopoulou vd., 2002 farklı sıcaklık ve paketleme yöntemleri ile muamele edilen çipuralarda baskın olan *Pseudomonas* spp'nin hangi suşlar olduğunu belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonunda bu türlerin *P. fluorescens*, *P. lundensis*'in yanı sıra *P. fragi* ve *P. putida* olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada tuzlu deniz suyundan avlanan balıklarda çoğunlukla *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Alteromonas* ve *Shewanella* spp. bakterileri türlerinin varlığından söz edilmiştir. Bu yüzden çipuraları tuzlu suda bekletip vakum paketler içerisinde ışınlama uyguladıkları çalışmalarında bozulma mikroorganizmaları olarak *Pseudomonas*, H₂S bakterileri, *B. thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* üzerinde yoğunlaşmışlardır (Chouliara vd., 2004). Parlapani vd. (2013)'nin çipura üzerinde yaptıkları bir çalışmada 16 günlük depolama sonundaki dominant mikroflorayı *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve *Shewanella* olarak ortaya koymuşlardır. Parlapani vd., (2014) çipura balığının farklı şartlar ve sıcaklıktaki bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerine yaptıkları farklı bir çalışmada tüm durumlar için *Pseudomonas* spp.'nin dominant olduğunu aktarmışlardır. Parlapani vd., 2018 yılında Yunanistan'ın iki farklı yakasındaki İyon ve Ege Denizi'den temin ettikleri çipura balıkları ile yaptıkları diğer bir çalışmada 0, 4 ve 8°C'de muhafaza ettikleri çipuraların depolama süresince mikrobiyal yüklerindeki değişimler ve mikrofloralarındaki farklılığı değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda Ege ve İyon Denizleri'ndeki çipuralarda ortak olarak belirlenen dominant mikroflora *Pseudomonas* olarak ifade edilmiştir.

2.2. Antimikrobiyal Etkili Doğal Bileşenler İle İlgili Çalışmalar

Gıda sektöründe patojenik bakterilere karşı mücadele uzun zamandır sürmektedir. Bunun yanı sıra son yıllarda su ürünlerinde spesifik bozulma mikroorganizmalarının belirlenmesi, araştırmalara yeni bir bakış açısı kazandırmıştır. Çalışmalar hem patojen hem de özellikle SBO üzerine inhibe edici ya da gelişmelerini yavaşlatıcı etki gösterebilecek farklı yöntemler üzerine yoğunlaşmaktadır.

Gıdaların korunması için yıllardır ısı işlem, soğukta muhafaza, paketlenme vb. metotların kullanımı söz konusudur. Bu metotlardan biri de katkı maddelerinin ilavesidir. Gıda katkı maddeleri Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde "Besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeleri" şeklinde tanımlanmaktadır. Su ürünlerinde hali hazırda askorbik asit, eritorbik asit, propilgallat, BHA/BHT, sitrik asit, EDTA ve TBHQ gibi katkı maddeleri kullanılmaktadır (Kocatepe ve Turan, 2018). Bunlara alternatif doğal katkı maddelerinin araştırılması devam etmektedir Baharatların, çeşitli yöresel bitkilerden elde edilen ekstraktların ve farklı metotların diğer gıda ürünlerinde olduğu gibi su ürünlerinde de kalite ve raf ömrü üzerine etkileri araştırılmaktadır (Öksüztepe vd., 2010; Özyurt vd., 2010; Iturrida ve Olabarrieta 2012; Cai vd., 2014; Taşkaya ve Yaşar 2018).

Toz biberiye ekstraktı kullanarak hazırlanmış solüsyona 2 dakika süre ile batırılarak 3 farklı metotla pişirilen çipura filetoları -18 °C'de 4 ay süre ile depolanmıştır. Bu çalışma sonunda 4 ay sonunda hiçbir **grupta** bozulma tespit edilmediği aktarılmıştır (Özyurt vd., 2010). Öksüztepe vd (2010)'nin yaptıkları çalışmada gökkuşuğu alabalığından elde ettikleri köftelere farklı oranlarda sodyum laktat ilave ettikten sonra kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik değişimleri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarını sodyum laktatın ürünün duyuşal özelliklerini etkilemediği ancak mikrobiyel gelişmeyi yavaşlatarak raf ömrünü arttırdığı şeklinde paylaşmışlardır.

Gama ışınlaması yapılmış çipura örneklerinde düşük dozda (1 kGy) yapılan uygulamaya göre, yüksek doz (3 kGy) uygulanmış grupta *Pseudomonas* spp., H₂S

üreten bakteriler, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* ve laktik asit bakteri sayılarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (Mol ve Ceylan, 2011).

Iturrida ve Olabarrieta (2012) tarafından yapılan çalışmada 12 doğal ekstraktın antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Bunun için balıkların bozulma etmeni olan *P. fluorescens*, *A. hydrophila/caviae* ve *L. innocua* bakterileri kısmi vakumlanmış çipura ve levrek balıklarından izole ederek 5 ml saf ekstrakt aşılana steril filtre kağıt diskler bakteri bulunan petrilere; direkt besiyeri üzerine konularak ve petrinin kapak kısmına konularak iki farklı yöntem ile uygulanmıştır. Çalışma sonunda turunçgil ekstraktının 12 doğal madde içerisinde en etkili olduğu ve ekstraktların film halinde uygulanmasının daha da etkili olduğu görülmüştür.

Çipura filetolarına defne ve kekik yağı ilavesi ile jelatin kaplama yapılan diğer bir çalışmada toplam bakteri sayısı defne ve kekik yağı eklenen jelatin ile kaplanan gruplarda daha az sayıya ulaştığı belirlenmiştir (Gerçek, 2014). Çetinkaya vd. (2017) alabalık filetolarına öğütülmüş biberiyeyi doğal bir antioksidan olarak uyguladıkları ve vakum pakette sous-vide işlemine tabi tuttıkları çalışmada, biberiyenin numunelerin raf ömrü ve kabul edilebilirliği en az 5 güne kadar uzattığını tespit etmişlerdir.

Defne ve kimyon uçucu yağlarının taze, vakumlu paketlenmiş yabani ve çiftlik çipura (*Sparus aurata*) filetoları üzerindeki koruyucu etkisinin değerlendirildiği çalışmada, bakteri gelişiminin 0.5 ile 1 log arasında düştüğü aktarılmıştır. Ayrıca TBA değerindeki %40'lık düşüş ile lipit oksidasyonunu da azaltarak filetolarının raf ömrünü yaklaşık 5 gün uzattığı bildirilmiştir (Attouchi ve Sadok, 2012). Doğal koruyucular üzerine yapılan diğer bir çalışmada bergamot, karvakrol ve greylift esansiyel yağlarını ve nanokapsül in β -siklodekstrin içeren buzun, çipuranın 17 gün boyunca 2°C'de depolamasında kullanılmasının mikrobiyal, fiziksel-kimyasal ve duyu kalite değişiklikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar katkılı olarak hazırlanmış buzun çipuranın kalitesini koruduğunu ve raf ömrünü 4 güne kadar uzattığı ifade edilmiştir (Navarro-Segura vd., 2019).

Eritme peynirine *S. aureus* ve *E. coli*'nin inoküle edilerek, %1' lik ve %3' lük kekik, nane, anason, dereotu ve sarımsak tozunun antimikrobiyal etkilerinin incelendiği çalışmada 90 günlük periyod sonunda, *S. aureus* üzerine en etkili baharat çeşitlerinin

nane (%3) ve dereotu olduğu, *E.coli* üzerinde ise kullanılan bütün baharat çeşitlerinin etkili olduğunu belirtmişlerdir (Gümüş ve Bursa, 2015).

Bunun yanı sıra son yıllarda mikrobiyolojik metabolitlerin pek çok endüstride ham madde, yan ürün ve ana ürün olarak kullanımı artmaktadır. Gıda endüstrisinde ise farklı mikrobiyolojik metabolitlerin patojen mikroorganizmalar üzerine inhibe etkileri denenmektedir (Güven vd., 2011).

Canlı organizmalarda üreme, büyüme, gelişme, hareket gibi yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için gerçekleşen kimyasal olayların tümüne metabolizma; bu metabolizma reaksiyonları sonucu ortaya çıkan ara ve son ürünlere metabolit denilmektedir (Onbaşılı ve Aslım, 2011; Schuhmacher vd., 2013).

Bakteri popülasyonunun üreme eğrisi 4 ana fazdan oluşmaktadır. Bunlar; lag fazı, logaritmik üreme fazı, durgun faz ve ölüm fazı şeklindedir. Belirli bir besiyerine aktarılan bakteriler ilk olarak; üreyebilmek için gerekli enzimlerin üretimini yaparlar. Bu enzimlerin sentezlenmesi için gerekli olan zaman lag fazı olarak bilinmektedir. Hazırlık sürecinden sonra her bir bakteri hücresi hızla bölünür ve popülasyonda hızlı logaritmik bir artış gözlemlenir. Bu aşamaya logaritmik faz denilmektedir. Logaritmik çoğalma sırasında bakteriler hızlı şekilde besin elementlerini tüketir ve ortamda artık ürünler birikmeye başlar. Bu aşamada durgun faz başlar ve bu fazın sonunda bakteriler yaşamlarını belirli bir süre devam ettirseler de ölmeye başlarlar ve üreme eğrisi ölüm fazına ulaşmış olur (Madigan ve Martinko, 2012).

Bakteriler, aktif hücre çoğalmasının gerçekleştiği lag ve logaritmik üreme fazında birincil metabolik yollarla reaksiyonlar gerçekleştirirler. Birincil metabolik faaliyetlerle ortaya çıkan metabolik ürünlere primer metabolitler denir. Primer metabolitler, bakterilerin çoğalması ve yaşamsal faaliyeti için esas bileşenler olup düşük molekül ağırlıklı ürünlerdir. Örnek olarak amino asitler (lizin), pürin, pürimidin ve vitaminler (B₁₂) verilebilir ancak endüstriyel açıdan değerli ve daha çok bilinen primer metabolitler; ethanol ve asetik asit, laktik asit, sitrik asit gibi organik asitlerdir. Sekonder metabolitler ise genelde durgun fazda üretilirler ve bunlar gelişme ve üreme için gerekli ürünler değildirler. Primer metabolitlerin aksine sadece belli grup bakteriler tarafından üretilirler. Sekonder metabolit denilince ilk akla gelen antibiyotikler olsa da bunun dışında mikotoksinler, pigmentler ve bazı vitaminler de

sekonder metabolitlere örnek olarak verilebilir (Onbaşılı ve Aslım, 2011; Schuhmacher vd., 2013; Keegan ve O'Leary, 2014).

Gıdalarda özellikle primer metabolitlerin kullanımı oldukça yaygındır. Asetik asitin marinat teknolojisi ile balıklara uygulanması zaten süre gelen bir prosestir (Çelikyurt ve Arıcı, 2008). Kılınç ve Yavuz'un (2011) farklı konsantrasyondaki laktik asite 30dk süre ile daldırdıkları alabalık filetolarında toplam, psikrofil ve *Enterobacteriaceae* bakterileri açısından incelemişlerdir. Laktik asitte bekletme işleminin alabalık filetolarının raf ömrünü uzattığı ve bakteri yükünü azaltmada en etkili, %5 konsantrasyondaki laktik asite daldırılan grubun olduğu aktarılmıştır. Ancak %1-2 laktik asit kullanımının duyuşal olarak daha çok beğenildiğinin altı çizilmiştir.

Bakteriyosinler; kullanılan sentetik gıda koruyucularına karşı son dönemde oluşun kaygıdan dolayı doğal koruyucu arayışları ile dikkatleri üstünde toplayan mikrobiyolojik sekonder metabolitlerdir. Bakteriyosinler ribozomal olarak sentezlenen hücre dışı benzer ve/veya rekabetçi bakteri türlerine karşı bakteriyosid/bakteriyostatik etki gösteren antimikrobiyal proteinler veya peptitlerdir. (Cleveland vd, 2001; Field vd., 2012; Sidhu ve Nehra, 2017; Kaktcham vd., 2019).

Nisin; *Lactococcus lactis* suşlarının ürettiği FDA'nın GRAS sınıfına almış olduğu, WHO tarafından da E 234 kodu ile gıda katkı maddesi olarak kabul gören tek bakteriyosindir (Ceylan ve Mol, 2015). Elli yıldan fazla 40 kadar ülkede süt, et, pastacılık, konserve gibi pek çok gıdada oldukça geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Nisin hedef hücredeki sitoplazmik zarı por oluşumunu teşvik etmektedir. Porların oluşmasıyla hücreler için gerekli olan aminoasitlerin, ATP ve katyonların kaybı meydana gelmekte ve hücredeki canlılık için gerekli tüm biyokimyasal reaksiyonlar sekteye uğramaktadır (Özel ve Şimşek, 2017). Nisin Nisaplin olarak ticaretleştirilmiştir. Nisin sarı – kahverengi renkte olup pH değeri 3.2 ile 3.8 arasındadır. Gram pozitif ve spor oluşturan *Clostridium* spp. gibi bakterilere karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Williams ve Delves-Broughton 2003; Hofstetter vd., 2013). Ancak gram negatif bakterilerdeki hücre duvarının dışındaki dış membranın nisinin sitoplazmik zara erişimini sınırlandırdığı bilinmektedir. Bu yüzden Gram negatif ve mantarlara karşı ya çok az bir etkiye sahiptir ya da hiçbir etki göstermemektedir (Williams ve Delves-Broughton, 2003). Ayrıca etin yüksek pH değerinin ve çiğ ette bulunan bazı enzimlerin nisinin etkinliğini azalttığı

belirtilmektedir (Cleveland vd, 2001; Williams ve Delves-Broughton 2003; Field vd., 2012; Gharsallaoui vd., 2016). Hücre duvarına farklı işlemlerle (ısı, donma vb.) zarar verilecek olursa gram negatif bakterilerin de nisine duyarlı hale gelebildikleri aktarılmıştır. Bu yüzden nisinin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) gibi ajanlarla birlikte kullanılmasının uygun olduğu bildirilmiştir (Williams ve Delves-Broughton, 2003).

Liu vd. (2020)'nin, yıldız anason esansiyel yağı, polilisin ve nisin karışımını nanoemülsiyon esaslı aktif kaplama olarak, etin kalite özellikleri ve raf ömrü üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmada depolama sırasında bakteri üremesinin engellenmesi ile raf ömrünün 8 günden 16 güne uzatıldığı aktarılmıştır. Yıldız anason esansiyel yağı, polilisin ve nisin içeren kaplamanın, hazır et ürünleri için kalite ve raf ömrünü korumak için potansiyel bir yöntem olduğunu doğrulamışlardır.

Andrés-bello vd., (2015) vakum emprenye tekniği ile çipura fileto larını nisin üreten *L. lactis* bakterisi (10^7 kob/ml) solüsyonu ve nisin solüsyonu (0.02 g/ml) ile muamele ettikleri ve +4°C'de 15 gün depoladıkları çalışmada çipura fileto larında bakteri artışını ve gelişme fazlarını incelemişlerdir. Nisinin *Enterobacteriaceae* üzerinde bakteriyostatik etkisinin olduğu aktarılmıştır.

Bakteriler hariç ökaryotik hücreler de antimikrobiyal peptit (pardaxin, histatins, ceratotoxin vb.) üretmektedir. Ancak pek çoğu toksik olduğu için gıdalarda ya da insan tüketimi için kullanılmamaktadır (Cleveland vd., 2001). Bunların arasında istisnai olarak statinler kardiyovasküler hastalıklarda oldukça yaygın olarak kullanılan fungal kaynaklı sekonder metabolitlerdir. *Aspergillus* spp., *Monascus* spp. gibi fungal organizmaların ürettiği statinlerin antifungal aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Statinler mikroorganizmalarda ergosterol, insanlarda ise kolesterol sentezini inhibe eder. Mevinolin beyaz – sarımsı renkli alkolde çözülen ticari statindir. Tıpta kandaki lipid seviyesini düşürücü etkisi ile kolesterol ve kalp hastalarında ilaç olarak kullanılmakta olduğu aktarılmıştır (Atlı ve Yamaç, 2012). Ancak mevinolinin gıda endüstrisinde kullanımına literatür taramalarımızda rastlanılmamıştır

Mikroorganizmaların diğer bir metaboliti antibiyotiktir. Antibiyotikler mikroorganizmaları öldüren ya da gelişmelerini engelleyen doğal ya da sentetik ilaçlar olarak tanımlanabilir. Oksitetrasiklin; *Streptomyces rimosus* isimli bakteri tarafından

Üretilen bakteriyostatik etkiye sahip doğal kaynaklı olan dört tetrasiklin türevinden biri olan antibiyotiktir. FDA tarafından balık yetiştiriciliğinde kullanılması onaylanan sadece üç antimikrobiyalden biridir (Vorbach vd., 2019). Türkiye’de veterinerlikte, özellikle su ürünleri hastalıklarında en çok kullanılan antibiyotikler arasındadır. Bunda etki spektrumlarının son derece geniş olması en önemli rolü oynar (şanlı, 2019; Kaya vd., 2007). Sarı renkli bir sodium tuzudur. Alkol, aseton ve propilen glikolde çözünür. pH seviyesi 2-5 arasında değişir (Saghaei, 2014). Oksitetrasiklin, 50S ve 30S ribozomal alt ünitelerine tersine bağlanarak bakterilerde protein sentezinin inhibisyonu yoluyla çalışan bakteriyostatik bir antibiyotiktir (Vorbach vd., 2019). Solunum yolu, sinüs, orta kulak, deri, idrar yolları iltihaplarından belsoğukluğuna kadar birçok enfeksiyonun tedavisinde oksitetrasiklin kullanılabilir. Ayrıca şarbon, bruselloz, tularemi, kolera ve *Yersinia pestis* tedavilerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Ağır akne tedavisinde oksitetrasiklin içeren ilaçların olumlu sonuçlar verdiği grlmştir. Akvaryum balığı yetiştiriciliğinde bazı akvaryum balığı hastalıklarının tedavisinde özellikle de balıkların karın kmelerinde yaygın olarak kullanıldığı aktarılmıştır. Oksitetrasiklin ağız yolu ile alındıktan sonra etil hayvanlarda 2-4 saat, diğer hayvanlarda 2-8 saat sonra plazmada en yüksek değere ulaşır. Bu düzeylerde 6 saat boyunca kalır ve 24 saat sonra etkisiz seviyelere iner. Gram negatif bakterilerde hem etkin hem pasif taşıma ile hücre içine girişi söz konusudur. İlacın plazmadaki etkili yoğunluğu 0.5-1 µg/ml arasındadır (Saghaei, 2014). Oksitetrasiklin verildikten sonra yaklaşık 60 dk içinde idrar ve dışkılama ile değişmemiş halde (%60-70 arasında) vücuttan atılabilmektedir (Kater 2006; Saghaei, 2014)

Babacan ve Karadeniz (2019)’in çiğ tavuk etlerinden izole ettikleri *Salmonella* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında 30µg oksitetrasiklin kullanmışlar ve disk difüzyon yöntemi ile yaptıkları analiz sonuçlarına göre 29 suşu direli, 6 suşu ise duyarlı olarak tespit etmişlerdir. Güralp (2012) hastalıklı levrek balıklarından izole edilen patojen türleri *Pseudoalteromonas* spp., *Vibrio* spp., *V. anguillarum*, *V. splendidus* ve *Psychrobacter* spp. olarak tespit etmişler ve 30 µg oksitetrasikline karşı hassas olduklarını bildirmişlerdir. Turtura vd., (1990) tavuk karkaslarından izole edilen koliform bakteriler *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. ve *Serratia* spp., antibiyotik dirençlerini test ettikleri çalışmalarında 30 µg/ml tetrasiklini disk difüzyon yöntemi ile uygulamışlardır. *E. coli*’nin oksitetrasikline karşı en dirençli suş olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu çalışmalara ilave olarak gıda ve pek çok sektörde mikroorganizmalar ve metabolit olarak ürettikleri biyokoruyucular kullanılmaktadır. Taze balıkların muhafazasında bir antibiyotik olan oksitetrasiklin (OTS) ve bakteriyosin olan nisin birlikte kullanımı söz konusudur. Bu amaçla muhafazada kullanılan buza OTS veya nisin ilave edildiği gibi fileto formundaki balıklar bu maddeleri içeren çözeltilere daldırılabilir (Angiş ve Oğuzhan, 2008).

Bazı mikroorganizmaların yalnızca ürettikleri metabolitlerin değil kendilerinin de bazı patojenler üzerine etkileri yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Gram ve Dalgaard (2002) yaptıkları derlemede bozulmaya neden olmayan LAB'ların direkt kullanımı ya da ürettikleri bakteriyosinlerin kullanımının gıda sektöründe raf ömrünü arttırmada etkili olabilecek yöntemlerden olduğunu belirtmişlerdir. Tangüler ve Erten (2006) bir LAB olan *Weissella* türlerinin balık sosu, sucuğu gibi ürünlerin olgunlaştırılması ve dayanıklılığının sağlanmasında starter kültür olarak ilave edildiğini ortaya koymuşlardır.

Ibrahim vd. (2003), çeşitli baharatların ve *Bifidobacterium* türlerinin, *E. coli* O157:H7 aşılansmış sığır kıyması üzerindeki antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. *Bifidobacterium longum* ve baharatın sinerjistik etkisinin *E. coli* üzerinde en fazla etki gösteren grup olduğunu tespit etmişlerdir. Taş ve Erginkaya (2008)'nın yaptıkları çalışmada probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* NCC68, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* Shirota suşlarının *E.coli* O157:H7 ATCC 35150 patojeni üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Test edilen tüm probiyotik laktik asit bakterileri *E. coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Chahad vd. (2012) deniz levreğinden ve çipuradan izole ettikleri 84 LAB suşunu tanımlamışlar ve su ürünlerinde potansiyel bozulma ve patojenik bakterilere karşı inhibe edici aktivitelerini karakterize etmişlerdir. *Enterococcus* türüne ait biyoaktif suşların *Carnobacterium* sp, *Bacillus* sp, *L. monocytogenes*, *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila* ve *Vibrio anguillarum*'a karşı inhibisyon etkisinin olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca bu bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerin *Listeria*'yi inhibe ettiği aktarılmıştır.

Lee vd., (2015) Japon yılan balıklarından izole ettikleri laktobasili türlerinden *Lactobacillus pentosus*'un süpernatantının yine balık hastalıklarında önemli patojenler

V. anguillarum, *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *E. coli*, *Edwardsiella tarda* ve *Streptococcus iniae* üzerinde etkili olduğunu aktarmışlardır.

Metabolitler sadece raf ömrü uzatma amaçlı olarak kullanılmamaktadır. Örneğin su ürünleri çiftliklerinde *Pseudomonas aeruginosa* türünden üretilen sekonder metabolit olan ramnolipid suyu temizlemek için kullanılmaktadır (Onbaşılı ve Aslım, 2011).

Mikroorganizma ve metabolitlerinin antimikrobiyal etkileri üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla patojen mikroorganizmalar üzerine olup bozulma etmeni mikroorganizmalara olan etkiler hakkındaki veriler oldukça azdır. Metabolitler ile ilgili çalışmalar olmasına karşın bunların etkileri genellikle besiyeri ortamında belirlenmiş ve gıdalara yönelik çalışmalar kısıtlı olarak kalmıştır.



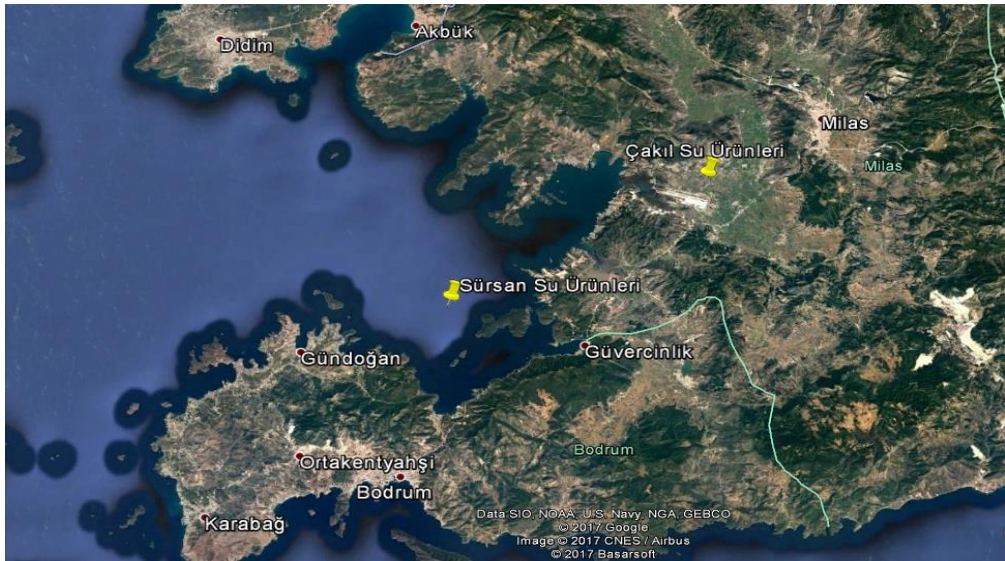
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Spesifik bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi için kullanılan çipura balıklarının temin edilmesi

Çalışma materyeli olarak seçilen çipura; Sparidae familyasına ait, Akdeniz'de yayılım gösteren bir türdür. Kuvvetli çenesiyle küçük kabukluları, balıkları ve diğer hayvanları kolayca yiyen etçil bir balıktır. Sıcak ve ılıman sularda, kumlu–çamurlu ortamlarda yaşayan demersal bir deniz balığıdır. Eti lezzetli az kılçıklı, sert, beyaz ve orta yağlıdır (Anonim, 2015c).

Çipuranın spesifik bozulma etmeni organizmalarının tespiti için yapılan çalışma örnekleri Muğla ilinin Milas ilçesinde faaliyet göstermekte olan, ağ kafes için SÜRSAN ve toprak havuz için ÇAKIL Su Ürünleri işletmelerinden 23.05.2017 tarihinde temin edilmiştir (Şekil 3.1). Ağ kafesten alınan çipuralar (25 adet) limandan (10.00-10.30); toprak havuzdan alınan çipuralar (20 adet) ise hasat işleminden hemen (09.00-10.00) sonra teslim alınmıştır. Her iki grupta strafor kutularda buzlanarak 2 saat içerisinde Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Kalite Kontrol ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir.



Şekil 3.1. Çipura örneklerinin temin edildiği işletmeler

Laboratuvara getirilen ağ kafes ve toprak havuz gruplarının her birinden rastgele 10 adet balık seçilerek boy ağırlık ölçümü yapılmıştır. Balıklar temiz straforlara buz-balık-buz olacak şekilde yerleştirildikten sonra stroforların ağzıları kapatılmış ve soğuk hava ($+4\pm 2^{\circ}\text{C}$) deposunda 16 günlük depolamaya alınmıştır. (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Strafor kutuların altına delikler açılarak buzun erimesiyle oluşan suyun birikmesi önlenmiştir. Depolama süresi boyunca 0, 3, 6, 9, 12, 14, 15 ve 16. günlerde örnek alınarak mikrobiyolojik (toplam bakteri, lipolitik bakteri, maya&küf ve psikrotrofik bakteri) ekimler yapılmış ve toplam ve psikrotrofik bakteri ekimlerinden izolatlar alınmıştır.



Şekil 3.2. Temin edilen çipura balıklarının boy-ağırlık ölçümü



Şekil 3.3. Ağ kafes ve toprak havuz balıklarının depolanması

Depolama süresince mikrofloranın etkilenmemesi için herhangi bir buz ilavesi yapılmamıştır. İlave edilen buzdan mikrobiyolojik ekimler de yapılmıştır. Tüm işlemlerde iki farklı grup örneğin birbirine temas etmemesine özen gösterilmiştir.

3.1.2. Bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerinde etkisi belirlenecek olan mikrobiyolojik metabolitlerin temini

Mikrobiyolojik metabolit olarak fungal metabolit olan *Aspergillus terreus* tarafından üretilen mevinolin, *Lactococcus lactis* suşlarının ürettiği bakteriyosin olan nisin ve *Streptomyces rimosus* ürettiği bir antibiyotik olan oksitetrasiklin kullanılmıştır. Tales Analitik Ltd. Şti.'den satın alınan tüm metabolitler Sigma-Aldrich (mevinolin CAS Number 75330-75-5; nisin CAS Number 1414-45-5; oksitetrasiklin CAS Number 2058-46-0) markadır. Alınan metabolitler kullanılasıya kadar buzdolabı şartlarında muhafaza edilmiştir. Metabolitler üretici firma talimatlarına göre çözündürülerek kullanılmıştır.

3.1.3. Metabolit solüsyonun uygulanacağı çipuraların temini ve grupların hazırlanması

Nisin, mevinolin ve oksitetrasiklin metabolitleri içerisinde en etkili metabolit analiz sonuçlarına göre belirlenmiştir. Belirlenen metabolit son aşamada solüsyon haline getirilerek çipura balıklarına uygulanmıştır. Metabolit solüsyonun raf ömrü üzerindeki etkilerinin tespiti için kullanılacak olan 72 kg (200 – 300 g/adet) çipura balıkları ise Aydın ilinin Didim ilçesinde bulunan ÖZBAŞER Su Ürünleri Tic. İth. İhr. Ltd. Şti'inden 27.08.2019 tarihinde satın alınmıştır. Balıklar buzlanarak strafor kutular içerisinde en kısa sürede Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Kalite Kontrol ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvara getirilen balıklardan 5 adet balık taze örnek analizleri için ayrılmıştır. Daha sonra balıklar her grupta en az 60 adet (18 kg) balık olacak şekilde gruplandırılmıştır.

Kontrol grubu (K): Çipura balıkları hiçbir işlem uygulanmadan yalnızca temiz straforlara buz-balık-buz olacak şekilde sıralanarak aktarılmış ve straforların kapağı kapatılıp (+4±2°C)'deki soğuk hava deposunda 16 gün boyunca tutulmuştur.

Daldırma grubu (D): Çipura balıklarının daldırılacakları solüsyon 1:1 (balık:solüsyon) oranında hazırlanmıştır. Bunun için metot kısmında aktarıldığı şekilde MİK değeri belirlenen metabolitten 18 litre solüsyon için gerekli miktar 0.144 g olarak hesaplanmıştır. Metabolit tartılarak 18 litre içme suyu içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan solüsyonun (+4±2°C)'ye soğuması sağlanmıştır. Çipura balıkları 1 dk süre

daldırılıp çıkartılarak kullanılmamış olan temiz straforlara buz-balık-buz olarak yerleştirilmiştir. Ardından straforların kapakları kapatılıp (+4±2°C)'deki soğuk hava deposunda 16 gün boyunca tutulmuştur.

Sprey grubu (S): Çipura balıklarının üzerine püskürtülerek uygulanacak olan solüsyon aynı şekilde, belirlenen MİK değerine uygun olarak hesaplanmış olan 0.144 g metabolit tartılarak 18 litre içme suyu içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyon (+4±2°C)'ye soğutulmuş ve basınçlı plastik sprej şişesine aktarılmıştır. Daha sonra balıklar ızgara üzerine dizilerek her bir yüzeye 2 dk boyunca (yaklaşık 1.2 lt) püskürtme işlemi uygulanmıştır. Spreyleme işleminden sonra balıklar temiz strafor kutulara buz-balık-buz olacak şekilde aktarılmıştır. Ardından straforların kapakları kapatılıp +4(±2)'deki soğuk hava deposunda 16 gün boyunca tutulmuştur.

Buz grubu (B): Diğer gruplarda olduğu gibi MİK değerine uygun olarak 0.144 g metabolit tartılarak 18 litre içme suyu içerisinde çözündürülmüş ve bu solüsyon buz haline getirilmiştir. Daha sonra buzlar kırılarak temin edilen çipura balıkları temiz straforlara solüsyonlu buz-balık-solüsyonlu buz olacak şekilde sıralanmış ve ardından straforların kapakları kapatılıp (+4±2°C)'deki soğuk hava deposunda 16 gün boyunca tutulmuştur (Ek A).

Tüm grupların strafor kutularının altına delikler açılarak depolama boyunca buzun erimesinden kaynaklı suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Depolamanın 3, 6, 9, 12, 15 ve 16. günlerde her bir gruptan en az 5 adet balık rastgele alınarak duyuşal, mikrobiyolojik, kimyasal, fiziksel ve besin analizleri yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Çipuranın spesifik bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi

Çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmaların belirlenmesi için temin edilen çipura balıklarından analiz günlerinde rastgele şekilde seçilerek örnekler alınmıştır. Alınan örneklerden ekim kabini içerisinde ve bek alevi altında steril makas ve pens ile 10 g balık eti stomacher poşetlere tartılmıştır. Üzerine otoklavlanmış 90 ml %0.1 peptonlu (Pepton feom meat Merck 1.07214.0500) su eklenmiştir. Örnekler stomacher (Bagmixer, Intersince) cihazı ile homojenize edildikten sonra poşetten 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril peptonlu su (%0.1) bulunan tüplere aktararak dilüsyonlar

hazırlanmıştır. Depolamanın ilk günlerinde 10^{-3} 'e kadar dilüsyon yeterli görülmüş ancak ilerleyen günlerde 10^{-5} 'e kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Tüpler vorteks (Velp Scientifica, İtalya) ile iyice karıştırılarak kullanılmıştır (Gürgün ve Halkman, 1990).

Toplam mezofilik ve psikrotrofik bakteri için; hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml steril pipetle alınarak 170°C 'de steril edilmiş cam petrilere aktarılmış üzerine otoklavlanıp 45°C 'ye soğutulmuş Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463.0500) dökülmüştür. Besiyeri donduktan sonra toplam mezofilik bakteri için petriler 36°C 'de 24 – 48 saat; toplam psikrotrofik bakteri için 7°C 'de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır (Maturin ve Peeler, 2001).

Lipolitik bakteri için; hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml steril pipetle alınarak 170°C 'de steril edilmiş cam petrilere aktarılmış üzerine otoklavlanıp 45°C 'ye soğutulmuş ve 5 ml tributyrin (500 ml için) eklenmiş Tributyrin Agar (Fluka 91015-500 g + Tributyrin; Fluka 91010) dökülmüştür. Petriler donduktan sonra 30°C 'de 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Halkman ve Doğan, 2000).

Maya&küf için; önce Potato Dextrose Agar (PDA, Merck 1.10130.0500) 170°C 'de steril edilmiş boş cam petrilere dökülmüş ve besiyeri donduktan sonra üzerine 0.1 ml hazırlanan dilüsyonlardan ekim yapıp drigaski ile yayılmıştır. Petriler 30°C 'de 3 – 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (ICMSF, 1986).

Ekimler üç paralel olarak yapılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm bakteri grupları için hesaplamalar 30-300 arası koloni bulunan petriler ile gerçekleştirilmiştir.

Sayım işlemlerinden sonra petriler incelenerek farklı morfolojideki koloniler öze yardımı ile Nutrient Brotha (Merck 1.05443.0500) izole edilmiş ve 36°C 'de 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra brothtan Nutrient Agara (Merck 1.05450.0500) çizme ekim yapılmıştır. Agarda 36°C 'de 24 saat inkübasyondan sonra gelişen bakteri kolonileri ileri çalışma ve tanımlama işlemleri için içerisinde %40 gliserol (Merck 1.04092.2500) içeren nutrient broth bulunan steril ependorflara aktararak – 80°C 'de muhafazaya alınmıştır (Halkman, 2005).

Tanımlama testleri için – 80°C 'den çıkarılan bakteriler nutrient agara yine çizme metodu ile aktarılmış ve koloni oluşturmaları için mezofil bakteriler 36°C 'de 24 saat; psikrotrofik bakteriler 10°C 'de 24 – 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan

kolonilere gram boyama seti (Merck Millipore, Cat No.111885) ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda gram boyama yapılmıştır. İzolatlar ayrıca oksidaz testine tabi tutulmuştur (Hariggan ve McCance, 1976).

Gram pozitif olan bakteriler doğrulama için egg-yolk tellurite emülsiyon (Himedia 0000319402) ilavesi yapılmış Baird Parker Agara (Merck 1.05406.0500); oksidaz negatif izolatlar H₂S bakteri analizi için TSI (Triple Sugar Iron) Agara (Merck 1.03915.0500) ekim yapılmıştır (Halkman, 2005; Dolapçı, 2016).

Gram boyama ve oksidaz sonuçlarına göre gruplandırılmış izolatlardan seçilerek üretici firmanın talimatları doğrultusunda API 20 E ve API 20 NE (bioméieux) kitleri ile tanımlama yapılmıştır.

Seçilen bazı izolatlar ayrıca 16S rDNA analizi için MG Biyoinformatik firmasına gönderilmiştir. Firmada yapılan işlemler şu şekilde aktarılmıştır.

Kültür ortamında teslim alınan numuneden örnekler mikrosantrifüj tüpüne alındıktan sonra DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen, Germany) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel 16S ribosomal DNA'ya ait yaklaşık 1400 bp uzunluğunda bir bölge 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) ve 1492R (TACGGYTACCTTGTTACGACTT) (Wilson vd., 1990) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. PZR reaksiyonları 50 µl son hacimde hazırlanmış olup, reaksiyon ortamına 0.5 U Taq DNA polimeraz, 5 µl 10 × reaksiyon tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8.8, 500 mM KCl, %0.8 Nonidet P-40), primer çiftlerinin her birinden 10 pmol (Macrogen), 0.2 mM dNTP (MBI Fermentas), 3 mM MgCl₂ ve 10-200 ng kalıp DNA eklenmiştir. PZR uygulamalarında; 94°C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonu ve sonrasında 33 döngüden oluşan; denatürasyon (94°C'de 40 saniye), primer bağlanma (51°C'de 40 saniye), uzama (72°C, 1 dakika) ve son uzama (72°C'de 10 dakika) adımları takip edilmiştir. PZR ürünlerinin kalite ve kantitesi %1'lik konsantrasyonla hazırlanan agaroz jel ile elektroforetik olarak kontrol edilmiştir. PZR ürünleri agaroz jelden kesilerek saflaştırmıştır. Ürünlerin konsantrasyonları ve boyutları tekrar %2'lik agaroz jelde görüntülenerek belirlenmiştir (Sun vd., 2012). Marker olarak Thermo Scientific™ SM0331 kodlu ürün kullanılmıştır. Dizileme işlemleri Applied Biosystems™ 3730xl DNA Analyzer cihazı kullanılarak otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Dizileme işlemleri ileri ve geri yönlü primerler kullanılarak çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir. Dizileme reaksiyonları sonrasında ham dizileri içeren

.ab1 formatındaki kromotogramlar bir araya getirilerek ileri analizler gerçekleştirilmiştir. İleri ve geri yönlü diziler Geneious R9 programı kullanılarak birleştirilmiştir. Dizi okumalarında kalitesiz ve hatalı okumalar kontrol edilmiştir. Her bir primer çifti için ortak okuma bölgeleri çoklu hizalama yapılarak konsensüs diziler .ab1 ve .fasta formatında kaydedilmiştir. Fasta dosyaları kullanılarak diğer analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir örneğe ait diziler BLAST veritabanında taranmış ve açığa çıkan sonuçlar kaydedilmiştir (Camacho vd., 2009). Daha sonra aynı türe ait olduğu belirlenen örnekler Mafft programı kullanılarak çoklu olarak hizalanmıştır (Katoh vd., 2009). Hizalanan dizi verisi kullanılarak örnekler arasındaki %benzerlik değerleri (%identity) hesaplanmıştır. Ayrıca hizalanan veri kullanılarak örnekler arasındaki ilişkinin belirlenmesi için Kimura-2 genetik uzaklık modeli ve Neighbor-joinin (komşu-bağlama) yöntemi kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur (Kimura, 1980; Tamura, vd., 2013). Ağaç topolojisinin test edilmesi için Bootstrap yöntemi kullanılmıştır ve 500 tekrarlı olarak test edilmiştir. Elde edilen .fasta dosyaları Genbank veri tabanında yüksek benzerlik sekansı (megablast) seçilerek taranmıştır ve sonuçlar “BLAST Sonuçları” dosyasına kaydedilmiştir. Burada maksimum kimliklendirme değerleri ile “Taxonomy reports” maksimum benzerlik veren organizma kullanılarak tanımlama yapılmıştır.

3.2.2. Metabolitlerin bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) belirlenmesi

Metabolitlerin minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için tüp dilüsyon metodu kullanılmıştır. Bunun için metaboliten hazırlanan solüsyondan 1 ml alınarak içerisinde 1 ml Mueller-Hinton Broth (Merck 1.10293.0500) olan tüpe aktırılmış, daha sonra buradan diğer tüplere aktararak 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 µg/ml konsantrasyonlarda tüpler hazırlanmıştır.

Çalışmada çipuranın spesifik bozulma etmeni mikroorganizmaları olarak tespit edilen izolatlar ve ayrıca Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesinden temin edilen patojen mikroorganizmalar olan *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923) ve *P. aeruginosa* (ATCC 15422) saf kültürleri kullanılmıştır. Belirtilen bakterilerin nutrient agarda 24 saatlik kültürleri Mueller-Hinton brothta yoğunluk 10^8 cfu/ml (McFarland 0.5 bulanıklığına) erişinceye kadar steril eküvyon çubuğu ile aktarılmıştır. Hazırlanan bu broth kültüründen 0.1 ml alınarak 10 ml Mueller-Hinton brothta

aktarılarak kültür solüsyonu hazırlanmıştır. Kültür solüsyonundan 1ml alınarak içerisinde 1 ml farklı konsantrasyonlarda metabolit bulunan tüplere aktarılarak 37°C’de 24 saatlik inkübasyona kaldırılmıştır. İnkübasyon sonunda tüplerdeki üreme gözle değerlendirilip üremenin olmadığı dilüsyondan ve üreme olmayan dilüsyonun hem bir alt hem bir üst dilüsyonundan dökme plak yöntemi ile nutrient agara ekim yapılarak inkübasyona bırakılmıştır. Üremenin olmadığı dilüsyon MİK değeri ve bir üst dilüsyon MBK (minimal bakterisidal konsantrasyon) değeri olarak alınmıştır (Taş ve Erginkaya, 2008; Demirpek, 2012; Güralp, 2012; Azizkhani vd., 2013; Yazdi vd., 2014).

3.2.3. Seçilen metabolitin bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

Çipuranın spesifik bozulma etmeni olarak izole edilmiş ve moleküler tanımlaması yapılmış türler ile patojen *P. aeruginosa* üzerine seçilen ve MİK değeri belirlenen mikrobiyolojik metabolitin antimikrobiyal etkisini belirlemek için disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Nutrient agarda 24 saatlik kültürü yapılmış bakteri kolonileri nutrient broth içerisine 0.5 McFarland olacak şekilde aktarılmış ve daha sonra steril eküvyon çubuğu ile agar yüzeyine aktarılmıştır. MİK değerine göre ayarlanarak iki adet 200 ml metabolit solüsyonu hazırlanmıştır. Metabolit solüsyonlarından biri boş antibiyotik disklerine (Bioanalyse 1903261) 20 µl ve 50 µl miktarında emdirilerek agar yüzeyine yerleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülüp kaydedilmiştir (Bauer vd., 1966; CLSI, 2010; Yıldırım 2010) Antimikrobiyal etki analizleri hazırlanan metabolit solüsyonundan yarım saat, 1, 2, 4, 8, 12, 24 ve 48 saat ara ile tekrarlanmıştır. Bu süre içerisinde metabolit solüsyonları +4±3°C’de saklanmış ve hazırlanan diğer metabolit solüsyonundan pH değeri de ölçülmüştür (Ek B).

3.2.4. Hazırlanana metabolit solüsyonun çipura balıklarının raf ömrü ve et kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi

3.2.4.1. Depolanan grupların duyuusal analizleri

Depolamaya alınan K, D, S ve B gruplarından analiz günlerinde rastgele alınan çipura balıklarına 6 panelist tarafından Aubourg (2001)’un “Taze balıkların duyuusal analiz

değerlendirme tablosu” ve MEB (2012)’in “Beğeni ile ilgili puan skalası”na göre iki farklı puanlama sistemi ile duysal analiz yapılmıştır. Deri, göz, solungaç, doku, koku ve dış görünüş kriterleri 4 puan üzerinden Çizelge 3.1’deki tanımlamalar göz önünde tutularak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.1. Taze balıkların duysal analiz değerlendirme çizelgesi

	En İyi Kalite (4 puan)	İyi Kalite (3puan)	Orta Kalite (2puan)	Kabul Edilmeyen (1puan)
Deri	Çok yoğun pigmentasyon Saydam mukus	Önemsiz pigmentasyon kayıpları	Pigmentasyon renksiz ve bulanık Süt görünümlü mukus	Önemli pigmentasyon kayıpları Mat mukus
Göz	Dış bükey Saydam kornea Parlak ve siyah gözbebeği	Dış bükey ama biraz çökük Hafif saydam kornea Siyah fakat bulanıklaşmaya başlamış göz bebeği	Düz Az saydam kornea Mat göz bebeği	İç bükey Sütümsü kornea Grileşmiş göz bebeği
Solungaç	Parlak kırmızı Flamentlerin tek tek açılımı çok iyi	Gül rengine çalan kırmızı Flamentler açılıyor ama birleşmeye başlamış	Soluk kırmızı Flamentler birleşmiş	Grimsi-sarımsı renk değişimi Flamentler tamamen yapışmış
Doku	Çok sulu ve pembemsi Kas yapısı normal görünümde	Sululuğunu ve pembeliğini koruyor Kas yapısı normal görünümde	Az sulu ve soluk görünümlü Kaslar yumuşamaya/birleşmeye başlamış	Sarımsı ve kuru Kaslar tamamen yumuşamış/birleşmiş
Koku	Keskin yosun ve deniz ürünü kokusu	Zayıf yosunumsu ve deniz ürünü kokusu	Ekşi ve acımtırak koku	Keskin ekşi ve iyice acılaştırmış koku
Dış görünüş	Ölüm sertliği belirtileri henüz başlamamış	Sert ve elastik doku El ile dokunulduğunda et kıvamı eski haline gelebiliyor	El ile dokunulduğunda et kıvamı eski haline gelmiyor Esneklik gözle görülebilir azalmış	Önemli şekil değişiklikleri mevcut olup mekanik işlemler için uygunsuz

Genel beğeni ise 10 puan izerinden Çizelge 3.2’deki puanlar dikkate alınarak tazelik derecesine göre gerçekleştirilmiştir

Çizelge 3.2. Beğeni ile ilgili puan skalası

	10-9	8	7	6	5	4	3	2	1
Genel Beğeni	Mükemmel	Çok iyi	İyi	İyinin altı ortanın üstü	Orta	Ortanın altı kötünün üstü	Kötü	Çok kötü	Aşırı kötü

Panelistlerin verdiklerin puanların ortalamaları hesaplanarak duysal analiz sonuçları oluşturulmuştur.

3.2.4.2. Depolanan grupların mikrobiyolojik analizleri

Depolama süresince analiz günlerinde K, D, S ve B gruplarından rastgele olarak alınan 3 adet balığın dorsal kas etinden steril bistüri ve pens ile 10 g örnek alınarak laminar kabin içerisinde stomacher poşetlere aktarılmıştır. Üzerine önceden hazırlanıp otoklavlanmış 90 ml %0.1 steril peptonlu su konularak stomacher ile homojenize edilmiştir. Daha sonra poşetten 1 ml alınarak içerisinde 9'ar ml steril peptonlu su bulunan tüplere aktararak 10^{-6} 'ya kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır (Andrews ve Hammack, 2003).

Hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml otomatik pipet ile alınarak 170°C 'de en az iki saat tutularak steril hale getirilmiş cam petrilere aktararak üzerine toplam ve psikrotrofik bakteri sayımı için; otoklavlanıp 45°C 'ye soğutulmuş Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463.0500) dökülmüştür. Besiyeri donduktan sonra petrilere toplam bakteri için 37°C 'de 24-48 saat; psikrotrofik bakteri için 7°C 'de 10 gün süre ile inkübasyona bırakılmışlardır (Maturin ve Peeler, 2001).

Pseudomonas spp. bakteri sayımı için dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek steril petrilere aktararak üzerine otoklavlanıp 45°C 'ye soğutulmuş Pseudomonas Base Agar (Merck 1.07620.0500) dökülmüştür. Petrilere daha sonra 37°C 'de 18-24 saat ile inkübasyona bırakılmıştır (Pereira vd., 2018).

Koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB) (Merck 1.01406.0500) hazırlanarak dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek üzerine dökülmüş ve besiyeri donduktan sonra bir kat daha besiyeri dökülmüş ve petrilere 37°C 'de 24- 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (FAO, 1986).

Toplam lipolitik bakteri sayımı için dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek üzerine 500 ml içersine 5 ml tributyrin eklenmiş Tributyrin Agar dökülmüş ve 30°C 'de 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Halkman ve Doğan, 2000).

Toplam proteolitik bakteri sayımı için Kurt ve Akyüz (1984)'ün kullandığı yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Dilüsyonlardan alınan 1 ml örnek steril petrilere aktarılmış ve üzerine Skim Milk Powder Agar dökülmüş 30°C 'de 24-72 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Skim Milk Powder Agar 50 ml saf su içerisinde 5 g Skim Milk Powder (Oxoid 1044910) çözündürülmüş ayrı bir kaptaki 1 g Agar Agar (Merck 1.01613.0500) 50 ml saf suda çözündürülmüş daha sonra ikisinin iyice karışması

sağlanarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri otoklavlanarak steril hale getirilmiştir (Halkman ve Doğan, 2000).

Maya-küf sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) steril petrilere dökülmüş ve besiyeri donduktan sonra üzerine dilüsyonlardan 0.1 ml aktarılarak drigaski ile yüzeye yayma işlemi yapılmıştır. Daha sonra petrilere 30°C’de 3 – 5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (ICMSF, 1986).

Vibrionaceae bakteri sayımı için 1 ml örnek steril petrilere aktarılmış ve üzerine Thiosülfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS) (Merck 1.10263.0500) döküldükten sonra petrilere 37°C’de 18-24 saat ile inkübasyona bırakılmıştır (Nigro ve Steward, 2015; ISO, 2017).

Mikrobiyolojik sayım 30-300 arasındaki koloni olan petrilere yapılarak hesaplamalar yapılmıştır.

3.2.4.3. Depolanan grupların kimyasal analizleri

TVB-N analizi; Antonacopoulos (1973)’e göre yapılmıştır. Homojenize edilen 10 g balık eti tartılıp üzerine 200 mg MgO ve 100 ml saf su ilave edilerek distile edilmiştir. Boş erlene 10 ml %3’lük borik asit, 100 ml saf su ve 6–8 damla metil kırmızısı eklendikten sonra 200 ml distilat birikene kadar distilasyon ünitesinde (VELP-UDK 142) tutulmuştur. Oluşan distilat 0.1 N HCl ile titre edilerek ve toplam uçucu bazik azot miktarları aşağıdaki formülde (3.1) verildiği şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{TVB-N (mg N/100g)} = \frac{0,1 \text{ N HCl sarfiyatı (ml)} \times 1,4 \times 100}{\text{Örnek ağırlığı (g)}} \quad (3.1)$$

TBA analizi; Tarladgis vd. (1960)’a göre spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Homojenize edilmiş çipura etinden 10 g Kjeldahl tüpüne tartılarak üzerine 2.5 ml 1:2’lik HCl, 97.5 ml distile su eklenmiştir. Daha sonra 200 ml distilat toplanıncaya kadar distilasyon ünitesine konulmuştur. Deney tüplerine 5 ml destilat, kör için ise 5 ml saf su aktarıldıktan sonra üzerine 5 ml TBA reaktifi eklenmiştir. Bu tüpler 35 dakika kaynayan su içerisinde bekletilip soğutulduktan sonra ve 538 nm dalga boyunda UV spektrofotometrede (PG Instrument T80+UV/VIS) okunmuştur. Okunan değerler 7.8 ile çarpılarak çipura balıklarındaki mevcut TBA değeri mg malonaldehit/kg olarak saptanmıştır.

TMA-N analizi; Schormüller (1968)'e metoduna göre yapılmıştır. Çipura balık etinden 10 g tartılıp %7.5'luk triklorasetik asit ile ekstrakte edildikten sonra kaba filtre kağıdı ile erlen içerisine süzlmüştür. Süzüntüden 4ml cam tüplere aktarılmış üzerine 1ml %20'lik formaldehit, 10 ml toluen (Merck) ve 3 ml %50'lik potasyum hidroksit eklendikten sonra iyice karıştırılmıştır. Fazların ayrılması için 5 dk beklendikten sonra üst fazdan 5 ml tüplere aktarılarak üzerine 5ml %0.02 pikrik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Aynı işlemler kör numune için de tekrarlanmıştır. Elde edilen pikrik asitli çözelti kör numuneye karşı 410 nm dalga boyundaki spektrofotometrede ölçülmüştür. Okunan absorbans değerleri hazırlanan standart eğrilerle hesaplanarak örnekteki TMA-N miktarı mg/100g olarak verilmiştir.

3.2.4.4. Depolanan grupların fiziksel analizleri

pH analizi; Manthey vd. (1988)'e göre, pH metre (Inolab WTW pH meter) kullanılmıştır. Ölçüm işlemi 10 g balık örneği tartılıp 1:1 sulandırıldıktan sonra homojenize edilerek probun bu çözelti içerisine daldırılması ile yapılmıştır.

Su aktivitesi (aw); Novasina (Model: LabSwift) marka su aktivite ölçüm cihazı ile belirlenmiştir.

Renk analizi; kolorimetre (Pen Color Art 1L, Artoksi MSM, Türkiye) kullanılarak yapılmıştır. CIE sistem tarafından rapor edilen L*, a* ve b* değeri sırasıyla aydınlık/parlaklık, kırmızılık/yeşillik ve sarılık/mavilik olarak belirlenmiştir. Kolorimetre beyaz plaka ile kalibre edilmiştir. CIE renk sistemi et ürünlerinde renk ölçümünde en yaygın kullanılan sistemdir (Luo, 2006).

3.2.4.5. Depolanan grupların besin analizleri

Ham protein analizi; AOAC (2006)'ye göre Kjeldahl metodu kullanılarak yapılmıştır. Homojen hale getirilen örneklerden 1 g tartılarak Kjeldahl tüplerine aktarılmış ve üzerine bir adet Kjeldahl tableti eklenmiştir. Daha sonra 10 ml %98'lik H₂SO₄ ilave edilerek yakma ünitesinde (VELP-DK 85) 420°C'de tüpler içindeki örnekler yeşil-sarı saydam bir renk alıncaya kadar yakılmıştır. Yakma işlemi sonrasında ise tüpler oda sıcaklığına kadar soğutularak üzerine 75 ml distile su eklenerek distilasyon ünitesine aktarılmıştır. Distilasyon ünitesinde tüplerin içerisine 50 ml %40'luk NaOH ve 25 ml %3'lük borik asit otomatik olarak eklenmektedir. Yaklaşık 200 ml destilat

toplanıncaya kadar destile edilip indikatör ilavesinden sonra 0.2 N HCl ile titre edilerek örneklerdeki %N (azot) miktarı aşağıdaki formül (3.2) ile hesaplanmış ve %ham protein için hayvansal ürünlerde 6.25 olan protein faktörü ile çarpılarak sonuç elde edilmiştir.

$$\% N = \frac{14,1 \times [\text{Titre edilen asit miktarı (ml)} - \text{Kör deneme için kullanılan asit miktarı (ml)}] \times \text{Asit normalitesi}}{\text{Örnek ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (3.2)$$

Ham yağ analizi; Bligh ve Dyer (1959)'ın metodu esas alınarak yapılmıştır. Analiz için önceden homojenize edilmiş olan örneklerden yaklaşık 5 g örnek, hassas terazide tartılıp üzerine 1:2 oranında 120 ml metanol+kloroform karışımı eklenerek tekrar homojenize edilmiştir. Daha sonra bu örnekler üzerine %0.4'lük CaCl₂ solüsyonundan 20 ml eklenerek bir süzme kağıdından (Schleicher & Schuell, 5951/2 185 mm), sabit tartıma getirilip darası not edilmiş balonlara süzölmüştür. Bu balonlar ağızları hava almayacak şekilde kapatılarak bir gece karanlık ortamda bekletilmiş ve ertesi gün ayırma hunisi yardımıyla metanol+sudan oluşan üst tabakadan, kloroform+lipit bulunan alt tabakanın ayrılması sağlanmıştır. Balon içinde kalan kloroform+lipit karışımındaki kloroform, 60°C'de rotary evaporatör (Heidolph) kullanılarak uçurulmuş ve balonlar etüvde 60°C'de 1 saat süreyle bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamen uçması sağlanmıştır. Balonlar etüvden çıkartıldıktan sonra desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup hassas terazide tartılmıştır. Aşağıdaki formül (3.3) ile de hesaplama yapılmıştır.

$$\% \text{ Ham yağ} = \frac{[(\text{Balon+Lipit ağırlığı (g)}) - \text{Boş balon ağırlığı (g)}]}{\text{Örnek miktarı(g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

Nem miktarı tayini; AOAC (2006) metodu esas alınarak yapılmıştır. Cam petri kaplar 3 saat 105°C'lik etüvde (NÜVE FN 120) tutulduktan sonra 1 saat desikatörde bekletilip hassas terazide tartılıp darası not alınmıştır. 5 g örnek sabit tartıma getirilmiş petri kaplarına aktararak ve 105°C'lik etüv içerisinde 3 saat süre ile kurutulmuştur. Soğuması için petriler desikatörde yarım saat bekletilip hassas terazide tartılarak aşağıdaki formülle (3.4) nem miktarı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem} = \frac{[\text{Petri+Örnek (g)}] - \text{Son tartım (g)}}{\text{Örnek miktarı(g)}} \times 100 \quad (3.4)$$

Ham kül analizi; AOAC (1990) yöntemine göre yapılmıştır. Boş porselen krozeler sabit tartıma gelinceye kadar 550°C'de 4 saat boyunca kül fırını (Nüve MF120)

içerisinde bekletilip daha sonra desikatöre alınıp soğutulmuş ve hassas terazi ile ağırlıkları ölçülmüştür. 5 g örnek tartıldıktan sonra kül fırınına yerleştirilerek 550°C’de tamamen kül haline gelinceye kadar yakılmıştır.

$$\% \text{ Ham kül} = \frac{\text{Son tartım (g)} - \text{İlk tartım (g)}}{\text{Örnek ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (3.5)$$

Desikatörde soğuduktan sonra son tartım yapılmış ve ham kül oranları %olarak aşağıdaki formülle (3.5) göre hesaplanmıştır. Analizler üç paraleli olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. İstatistiksel analizler

Elde edilen parametreler arasındaki farkların istatistiki olarak anlamlı olup olmadığı, SPSS 16 Windows bilgisayar programı kullanılarak varyans (ANOVA) analizi ile ortaya konulmuştur. ANOVA’da gruplar arasında anlamlı bir farkın ($P < 0.05$) belirlenmesi durumunda farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Tukey testi uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULAR

4.1. Çipuranın Spesifik Bozulma Mikroorganizmalarının Tanımlama Sonuçları

Ağ kafes ve toprak havuzdan temin edilerek laboratuvara getirilen balıkların boy-ağırlık ölçümleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Ağ kafesten alınan balıkların boy ortalaması 26.0 cm, ağırlık ortalaması ise 409.4 g iken, toprak havuzdan alınan balıkların boy ortalaması 25.8 cm, ağırlık ortalaması 315.6 g olarak ölçülmüştür. Ağ kafesten alınan çipura balıkları boy-ağırlık olarak birbirine daha yakın iken toprak havuzlarda balıklar arasındaki boy-ağırlık farkı daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Balıkların boy-ağırlık değerleri

	Ağ Kafes		Toprak Havuz	
	Boy (cm)	Ağırlık (g)	Boy (cm)	Ağırlık (g)
<i>Min.</i>	25.2	328.1	21.5	150
<i>Max.</i>	29.9	482.2	31.7	568.7
ORTALAMA	26.0±1.4	409.4±53.0	25.8±2.6	315.6±98.0

Çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi için yapılan 16 günlük depolama çalışmasının kültürel sayım sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ağ kafes ve toprak havuz çipura balıklarının kültürel sayım sonuçları (log kob/g)

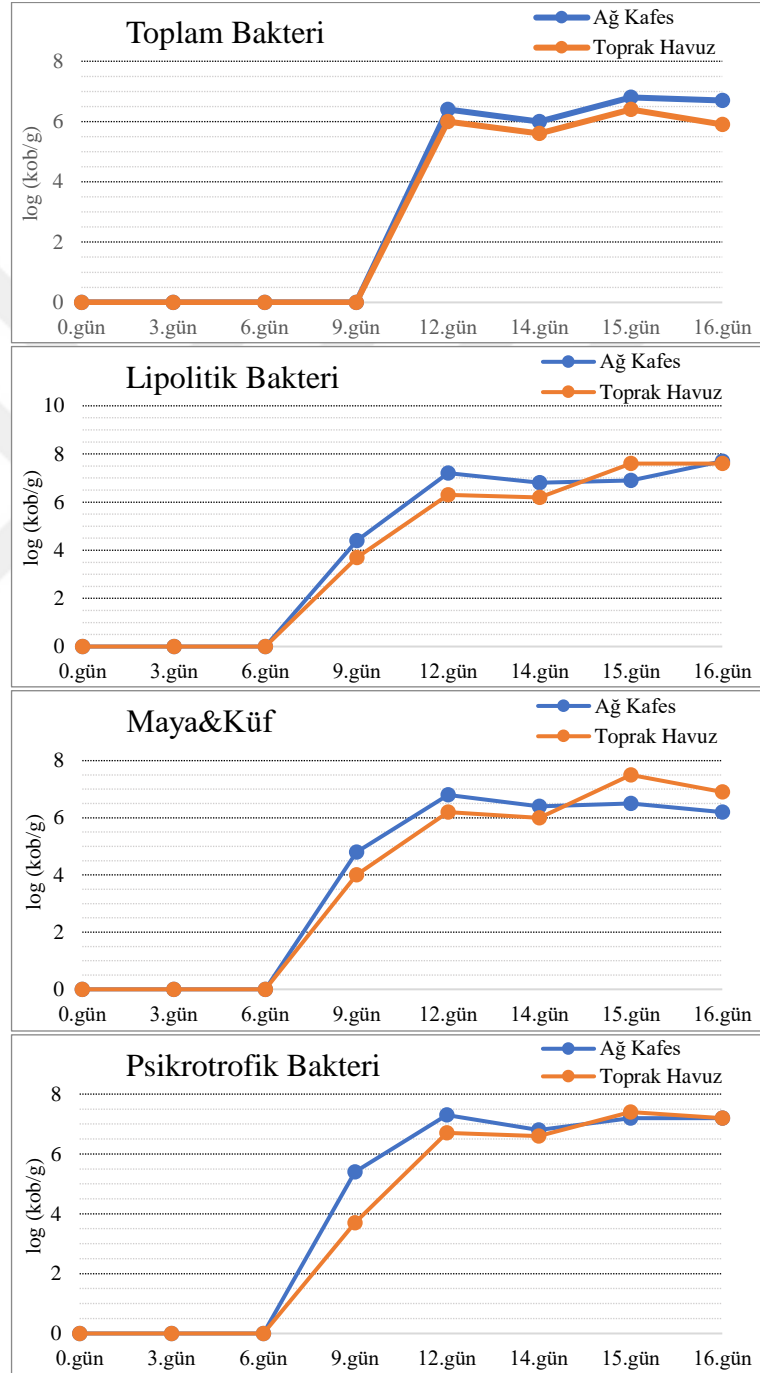
	Toplam Bakteri		Lipolitik Bakteri		Maya&Küf		Psikrotrofik Bakteri	
	Ağ Kafes	Toprak Havuz	Ağ Kafes	Toprak Havuz	Ağ Kafes	Toprak Havuz	Ağ Kafes	Toprak Havuz
0.gün	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^b	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^b
3.gün	0.0±0.0 ^a	0.0*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a
6.gün	0.0±0.0 ^a	0.0±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^b	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^b	<1*±0.0 ^a	<1*±0.0 ^a
9.gün	<1*±0.0 ^a	0.0±0.0 ^b	4.4±0.3 ^a	3.7±0.9 ^b	4.8±0.0 ^a	4.0±0.1 ^b	5.4±0.0 ^a	3.7±0.1 ^b
12.gün	6.4±0.1 ^a	6.0±0.1 ^a	7.2±0.1 ^a	6.3±0.0 ^b	6.8±0.3 ^a	6.2±0.0 ^b	7.3±0.0 ^a	6.7±0.0 ^a
14.gün	6.0±0.1 ^a	5.6±0.1 ^a	6.8±0.2 ^a	6.2±0.3 ^b	6.4±0.2 ^a	6.0±0.1 ^a	6.8±0.0 ^a	6.6±0.1 ^a
15.gün	6.8±0.1 ^a	6.4±0.1 ^a	6.9±0.0 ^b	7.6±0.1 ^a	6.5±0.1 ^b	7.5±0.0 ^a	7.2±0.0 ^a	7.4±0.0 ^a
16.gün	6.7±0.1 ^a	5.9±0.0 ^b	7.7±0.0 ^a	7.6±0.1 ^a	6.2±0.1 ^b	6.9±0.1 ^a	7.2±0.1 ^a	7.2±0.0 ^a

* Petrielerde koloni sayısı 30’dan az bulunmuştur. Ancak gelişen kolonilerden izolat alınmıştır.

Veriler Ortalama ± Standart sapma olarak verilmiştir.

Üstsel olarak verilen harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Taze su ürünlerinde toplam bakteri ve psikrotrofik bakteri miktarının kabul edilebilirlik sınır değeri 7 log (kob/g) olarak bildirilmiştir (ICMSF, 1986; Sallam, 2007). Çalışmada 9. günden sonra mezofilik bakteri artışı olsa da depolamanın son gününe kadar bu değerin tüketilebilir limit değerini aşmadığı görülmüştür. Mezofilik bakteri yükü açısından toprak havuzdan alınan örnekler ağ kafes örneklerine oranla daha az seviyelerde kaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmalarının belirlenmesi için yapılan kültürel sayım sonuçları

İki grupta da 9. günde lipolitik, psikrotrofik bakteri ve maya&küf açısından artış gözlenmiştir. Her iki kaynaktan alınan çipura balıklarında psikrotrofik ve lipolitik bakterilerin artışının diğer analiz edilen bakteri gruplarına göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Psikrotrofik bakteri yükü 12. günde toprak havuz örneklerinde 6.7 log iken ağ kafes örneklerinde 7.3 log ile tüketilebilir limit değeri aşmıştır. Depolamanın sonunda psikrotrofik, lipolitik bakteri ve maya küf açısından her iki grubun mikrobiyolojik yük seviyelerinin aynı olduğu tespit edilmiştir.

Toplam bakteri ve psikrotrofik bakteri açısından gruplar arasında depolama zamanına bağlı olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P>0.05$). Depolamanın son gününe kadar lipolitik bakteri açısından gruplar arasında istatistiksel farkın anlamlı olduğu ($P<0.05$), maya küf açısından da gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

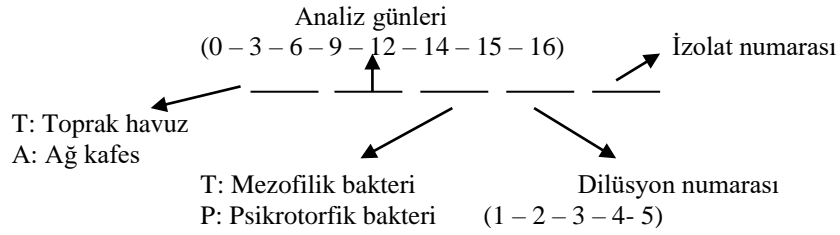
Ağ kafes ve toprak havuz örneklerinden yapılan ekimlerde kültürel sayım işlemleri tamamlandıktan sonra alınan izolat sayıları Çizelge 4.3'teki gibidir. Depolama boyunca PCA'dan (mezofil ve psikrotrof) toplam 154 izolat alınmıştır. Ayrıca ilk gün balıkların üzerine ilave edilen buzdan ekim yapılarak 1 izolat alınmıştır. Toplamda 155 izolat elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. Analiz günlerinde yapılan ekimlerden alınan izolat miktarları

	<i>Toplam Bakteri</i>		<i>Psikrotrofik Bakteri</i>	
	Ağ Kafes	Toprak Havuz	Ağ Kafes	Toprak Havuz
<i>0.gün</i>	2	4	1	0
<i>3.gün</i>	0	1	0	1
<i>6.gün</i>	0	0	3	3
<i>9.gün</i>	3	0	9	9
<i>12.gün</i>	8	5	9	10
<i>14.gün</i>	2	2	12	14
<i>15.gün</i>	5	5	6	11
<i>16.gün</i>	6	6	9	8
<i>Toplam</i>	26	23	49	56
<i>Toplam</i>	49		105	
<i>Toplam</i>	155 (154+1)*			

*154 adet izolat örnek ekimlerinden alınmış, 1 adet izolat ise buzun psikrotrofik bakteri ekiminden elde edilmiştir.

Alınan izolatların daha kolay takibi için aşağıdaki gibi bir kodlama sistemi uygulanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 İzolat kodlama sistemi

İzolatlara uygulanan gram boyama ve oksidaz testleri sonuçları izolat numaraları ile Çizelge 4.4 ve 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Ağ kafes ve toprak havuz örneklerinden depolama boyunca yapılan toplam bakteri ekimlerinden alınan izolatların gram boyama ve oksidaz test sonuçları

TOPLAM BAKTERİ								
	Ağ Kafes				Toprak Havuz			
	Gram Pozitif		Gram Negatif		Gram Pozitif		Gram Negatif	
	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)
0.gün		6		5		1 2 4		3
3.gün						7		
6.gün								
9.gün			10 11	9				
12.gün		25 26 27	13 14 22 23 24				15 16 17 19 20	
14.gün			35 36				37 38	
15.gün		50	45 46 47 48			41	39 40 42 43	
16.gün			51 58 59 60 61 62				52 53 54 55 56 57	

Ağ kafes ve toprak havuzun toplam bakteri profillerine bakıldığında toprak havuz örneklerinden elde edilen izolatlarda gram pozitif bakterilerin varlığı depolamanın ilk günlerinde söz konusu iken depolamanın ilerleyen günlerinde izolatlar gram negatif olarak tespit edilmiştir. Ağ kafes örneklerinden alınan örneklerde ise depolamanın 12 ve 15. günlerinde de gram pozitif bakteri izolasyonu söz konusudur. Ancak depolamanın sonuna doğru her iki grubunda mezofilik bakteri açısından dominant mikrofloranın gram negatif, oksidaz negatif, kok, kokobasil ve basillerden oluştuğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.5. Ağ kafes ve toprak havuz örneklerinden depolama boyunca yapılan psikrotrofik bakteri ekimlerinden alınan izolatların gram boyama ve oksidaz test sonuçları

PSİKROTROFİK BAKTERİ								
	Ağ Kafes				Toprak Havuz			
	Gram Pozitif		Gram Negatif		Gram Pozitif		Gram Negatif	
	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)	Oksidaz (+)	Oksidaz (-)
0.gün			8					
3.gün						12		
6.gün			32 33 34				28 29 31	
9.gün	81		75 76 79 80 82 85 86	77	71	65	63 64 66 67 68 69 72	
12.gün			97 99 100 101 102 103 104 105 106				87 88 89 90 91 92 93 94 95 96	
14.gün			125 126 127 128 129 131 132 133 134 135 136 137				139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 150 151	138 149
15.gün			107 108 109 110 111 112				114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124	
16.gün			152 153 154 155 156 157 159 160 161				162 164 166 167 168 169 170 173	

Her iki grubun psikrotrofik bakteri profili aynıdır ve dominant mikrofloranın gram negatif, oksidaz pozitif kok, kokobasil ve basil türlerinden oluştuğu tespit edilmiştir.

Son olarak buzdan yapılan ekimlerde PCA'dan alınan izolat gram negatif oksidaz pozitif basil olarak tespit edilmiştir.

İzolatlardan oksidaz negatif olanlar TSI agara ekilmiştir ve sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre ağ kafes ya da toprak havuzdan alınan örneklerden elde edilen izolatlarda H₂S üreten bakteriye rastlanmamıştır.

Çizelge 4.6. Oksidaz negatif izolatların TSI agar ekim sonuçları

İzolat Numarası	TSI yatık agar tüpündeki değişim	İzolat Numarası	TSI yatık agar tüpündeki değişim
T.0.T.1-1	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı	A.9.T.1-9	Değişim yok
T.0.T.1-2	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı	A.12.T.4-25	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı
T.0.T.2-3	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı	A.12.T.2-27	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı
T.0.T.1-4	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı	T.15.T.3-41	Değişim yok
A.0.T.1-5	Değişim yok	A.15.T.3-50	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı
A.0.T.1-6	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı	T.9.P.1-65	Gaz yok, H ₂ S yok, alt sarı
T.3.T.1-7	Gaz yok, H ₂ S yok, alt/üst sarı		

Elde edilen 14 tane gram pozitif izolat Baird Parker Agara çizgi metot yöntemi ile ekilerek gram pozitif oldukları doğrulanmış ve -80°C’de ihtiyaç halinde kullanılmak üzere muhafaza altına alınmıştır. Tezin asıl konusunu oluşturan 145 adet gram negatif bakteri izolatlarından 64 tanesinin API kitleri ile tanımlaması yapılmıştır.

Toplam mezofilik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatlara yapılan API tanımlama sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında toplam mezofilik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların API tanımlama sonuçları

Ağ Kafes				Toprak Havuz		
Analiz Günü	İzolat Kodu ve Numarası	API Sonucu		İzolat Kodu ve Numarası	API Sonucu	
0. GÜN	A.0.T.1 5	<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>		T.0.T.2 3	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	
3. GÜN						
6. GÜN						
9. GÜN	A.9.T.1 9	TANIMLANAMADI				
	A.9.T.1 10	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>				
	A.9.T.1 11	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>				
12. GÜN	A.12.T.3 13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		T.12.T.4 16	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	
	A.12.T.4 22	<i>Pseudomonas fluorescens</i>				
14. GÜN	A.14.T.3 35	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		T.14.T.3 37	<i>Pseudomonas putida</i>	
15. GÜN	A.15.T.4 48	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		T.15.T.5 40	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
				T.15.T.3 41	TANIMLANAMADI	
				T.15.T.3 43	<i>Pseudomonas fluerescens</i>	
16. GÜN	A.16.T.2 51	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>		T.16.T.4 52	<i>Pseudomonas putida</i>	
	A.16.T.4 58	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		T.16.T.4 55	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
				T.16.T.3 57	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	

İzolatların API tanımlama sonuçlarına bakıldığında mezofilik bakteri açısından her iki grup içinde baskın türün *Pseudomonas* spp. olduğu görülmektedir. Toprak havuzdan

farklı olarak, ağ kafeslerden temin edilen çipura örneklerinde refakatçi flora olarak *Aeromonas* türlerinin de varlığı söz konusudur.

Toplam psikrotrofik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatlara yapılan API tanımlama sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında toplam psikrotrofik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların API tanımlama sonuçları

<i>Ağ Kafes</i>				<i>Toprak Havuz</i>		
<i>Analiz Günü</i>	<i>İzolat Kodu ve Numarası</i>		<i>API Sonucu</i>	<i>İzolat Kodu ve Numarası</i>		<i>API Sonucu</i>
0. GÜN	A.0.P.1	8	<i>Comamonas testosteroni/ Pseudomonas alcaligenes</i>			
3. GÜN				T.3.P.2	12	<i>Brevundimonos vesicularis</i>
6. GÜN	A.6.P.1	33	<i>Moraxella sp.</i>	T.6.P.1	29	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.6.P.1	34	<i>Ralstonia pickettii</i>	T.6.P.1	31	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
9. GÜN	A.9.P.3	77	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	T.9.P.1	63	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	A.9.P.3	79	<i>Ralstonia pickettii</i>	T.9.P.1	66	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.9.P.3	85	<i>Ralstonia pickettii</i>	T.9.P.1	67	TANIMLANAMADI
	A.9.P.1	86	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.9.P.1	72	<i>Delftia acidovorans</i>
12. GÜN	A.12.P.4	99	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.12.P.4	88	<i>Ochrobactrum anthopi</i>
	A.12.P.4	100	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.12.P.4	91	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
	A.12.P.4	103	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.12.P.4	96	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
14. GÜN	A.14.P.4	127	<i>Brevundimonos vesicularis</i>	T.14.P.5	138	<i>Pseudomonas oryzae</i>
	A.14.P.4	129	TANIMLANAMADI	T.14.P.5	144	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	A.14.P.4	131	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	T.14.P.4	148	TANIMLANAMADI
				T.14.P.4	150	<i>Pseudomonas putida</i>
15. GÜN	A.15.P.5	108	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	T.15.P.4	115	<i>Ochrobactrum anthopi</i>
	A.15.P.4	111	<i>Ochrobactrum anthopi</i>	T.15.P.5	117	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.15.P.4	112	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.15.P.5	119	<i>Ochrobactrum anthopi</i>
				T.15.P.5	123	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
16. GÜN	A.16.P.5	154	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.16.P.4	162	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.16.P.5	155	<i>Burkholderia cepacia</i>	T.16.P.5	164	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.16.P.5	156	<i>Ralstonia pickettii</i>	T.16.P.5	166	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.16.P.5	156	<i>Ralstonia pickettii</i>	T.16.P.5	167	<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>
	A.16.P.5	159	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.16.P.5	168	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	A.16.P.5	159	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.16.P.5	169	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
			T.16.P.5	173	<i>Pseudomonas putida</i>	

Her iki grubun da psikrotrofik bakteri profiline bakıldığında *Pseudomonas* spp.'nin dominant olduğu ancak refakatçi floranın mezofilik bakterilerden daha çeşitli olduğu görülmektedir.

API kitleri ile tanımlanamayan izolatlar ve tezin ileri aşamalarında kullanılabilecek izolatlar daha kesin bir tanımlama yapılması için 16S rDNA analizine gönderilmiştir. Ayrıca buzdan alınan izolat ve önceden ayrılan gram pozitif izolatlardan 5 tanesi seçilerek genetik tanımlaması yapılmıştır. Toplamda 35 izolatın genetik tanımlama sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Ağ kafes ve toprak havuzdan alınan çipura balıklarında yapılan bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların 16S rDNA tanımlama sonuçları

Ağ Kafes		Toprak Havuz	
Tür adı	İzolat Kodu ve Numarası	Tür adı	İzolat Kodu ve Numarası
<i>Acinetobacter bouvetii</i>	A.9.T.1 – 9	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	T.0.T.2 – 3
<i>Staphylococcus warneri</i>	A.15.T.3 – 50	<i>Pseudomonas lundensis</i>	T.14.T.3 – 37
<i>Pseudomonas fluorescens</i> group	A.16.T.4 – 58	<i>Arthrobacter gandavensis</i>	T.15.T.3 – 41
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.16.T.4 – 53
<i>Pseudomonas</i> sp.	A.6.P.1 – 34		
<i>Psychrobacter cibarius</i>	A.9.P.3 – 76	<i>Frigoribacterium</i> sp.	T.3.P.2 – 12
<i>Acinetobacter</i> sp.	A.9.P.3 – 77	<i>Pseudomonas lurida</i>	T.3.P.1 – 28
<i>Psychrobacter cibarius</i>	A.9.P.3 – 82	<i>Flavobacterium</i> sp.	T.9.P.1 – 63
<i>Janthinobacterium lividum</i>	A.12.P.4 – 104	<i>Arthrobacter citreus</i>	T.9.P.1 – 65
<i>Pseudomonas fragi</i>	A.15.P.5 – 109	<i>Pseudomonas fragi</i>	T.9.P.1 – 66
<i>Flavobacterium hercynium</i>	A.14.P.4 – 129	<i>Flavobacterium</i> sp.	T.9.P.1 – 67
<i>Pseudomonas fluorescens</i> group	A.14.P.4 – 135	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	T.9.P.1 – 69
<i>Pseudomonas fragi</i>	A.16.P.4 – 153	<i>Flavobacterium frigidimaris</i>	T.12.P.4 – 87
<i>Pseudomonas fluorescens</i> group	A.16.P.5 – 159	<i>Flavobacterium</i> sp.	T.15.P.5 – 118
<i>Pseudomonas fragi</i>	A.16.P.5 – 160	<i>Pseudomonas fragi</i>	T.15.P.5 – 123
		<i>Flavobacterium branchiarum</i>	T.14.P.4 – 148
		<i>Acinetobacter johnsonii</i>	T.14.P.4 – 149
		<i>Flavobacterium</i> sp.	T.14.P.5 – 150
		<i>Flavobacterium</i> sp.	T.16.P.5 – 166
		<i>Pseudomonas fragi</i>	T.16.P.5 – 169
		<i>Pseudomonas fragi</i>	T.16.P.5 – 173

Genetik tanımlama sonuçları incelendiğinde hem ağ kafes hem toprak havuzdan alınan çipura balıklarında *Pseudomonas* türlerinin çoğunlukta olduğu saptanmıştır. Toprak havuz örneklerinde *Flavobacterium* türlerinin *Pseudomonas* türlerine refakat ettiği gözlenmiştir. Buz izolatının 16S rDNA analiz sonucu *P. fragi* olarak bulunmuştur.

Çipura balıklarının spesifik bozulma organizmalarının belirlemek için yapılan çalışma sonucu hem ağ kafes hem de toprak havuz örneklerinde *Pseudomonas* türlerinin

dominant olduğu tespit edilmiştir. Yapılan genetik tanımlamalar ile de özellikle *P. fragi* ve *P. fluorescens* grubu bakterilerin çipura balıklarında bozulmaya neden olduğu ortaya konmuştur (Ek C ve Ek D).

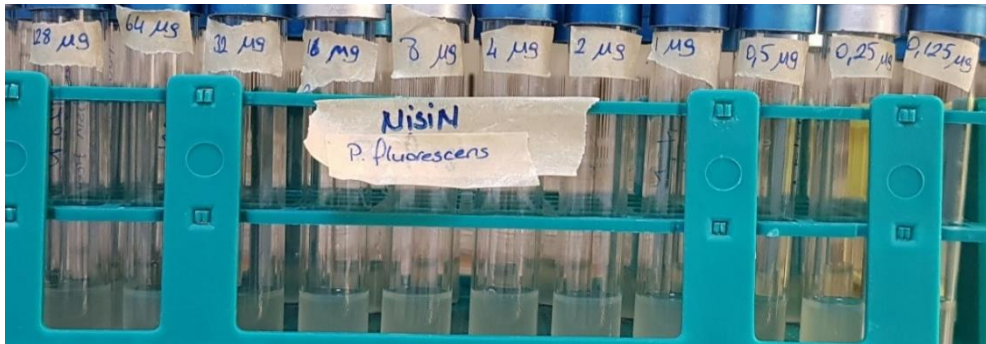
4.2. Metabolitlerin Belirlenen Bozulma Etmeni Mikroorganizmalar Üzerindeki MİK Değerleri

Solüsyon halinde uygulanacak olan metabolitin belirlenebilmesi için mikrobiyolojik metabolitler olan nisin, oksitetrasiklin ve mevilonin *P. fragi*, *P. fluorescens* üzerinde MİK değerleri tespit edilmiştir. Ayrıca patojen mikroorganizmalardan *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi de test edilmiştir.

Kullanılan nisin metabolitinin MİK analiz sonuçları Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verilmiştir.



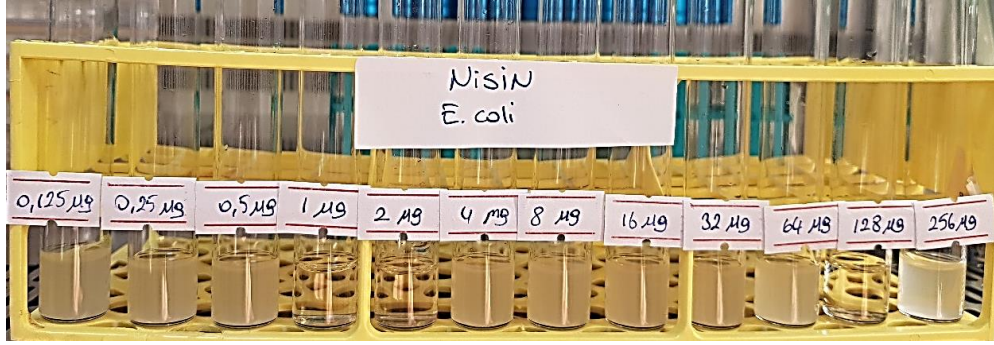
Şekil.4.3. Nisin metabolitinin *P. fragi* üzerine MİK analiz sonuçları



Şekil.4.4. Nisin metabolitinin *P. fluorescens* üzerine MİK analiz sonuçları

Nisin metabolitinin hem *P. fragi* hem de *P. fluorescens* üzerinde 128 µg/ml kadar herhangi antimikrobiyal etkisi bulunamamıştır.

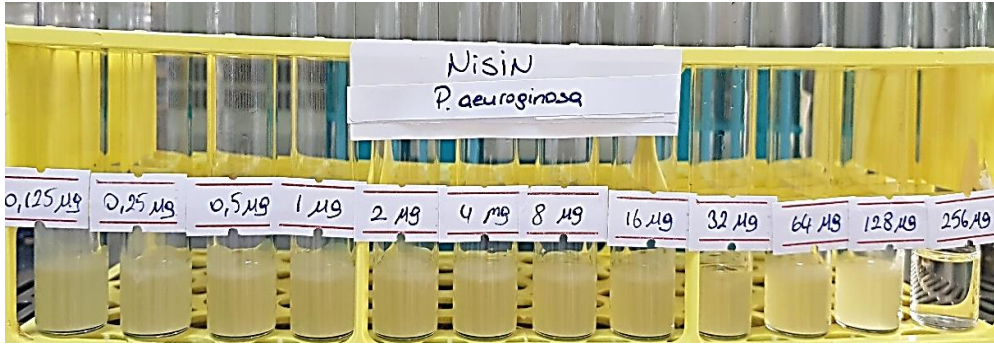
Nisin metabolitinin *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değeri sonuçları Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil.4.5. Nisin metabolitinin *E. coli* üzerine MİK analiz sonuçları



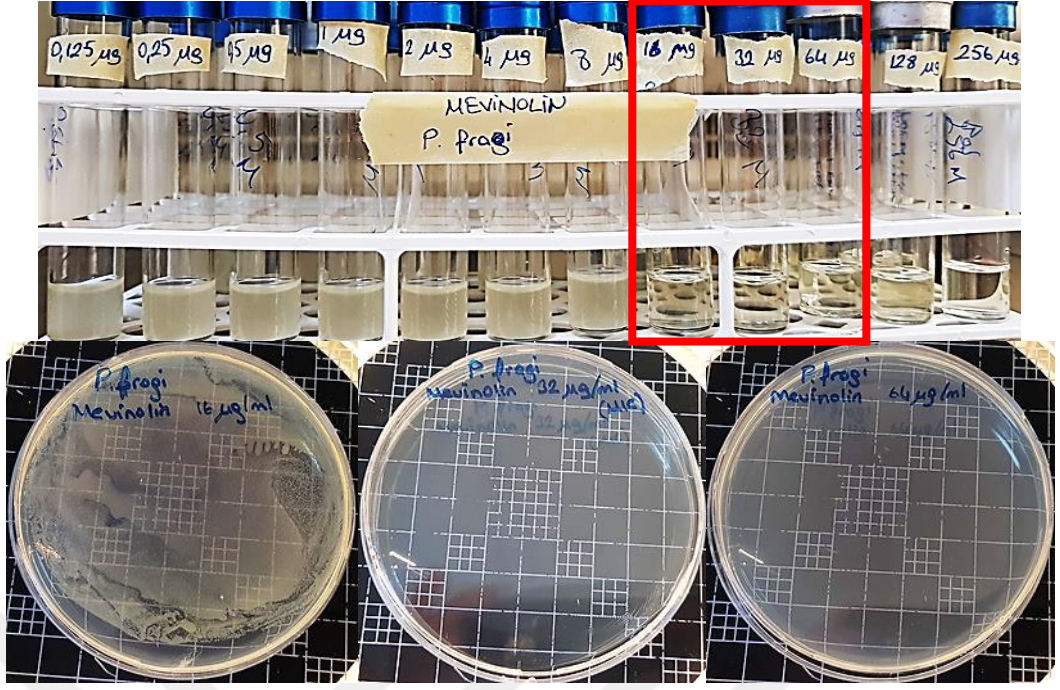
Şekil.4.6. Nisin metabolitinin *S. aureus* üzerine MİK analiz sonuçları



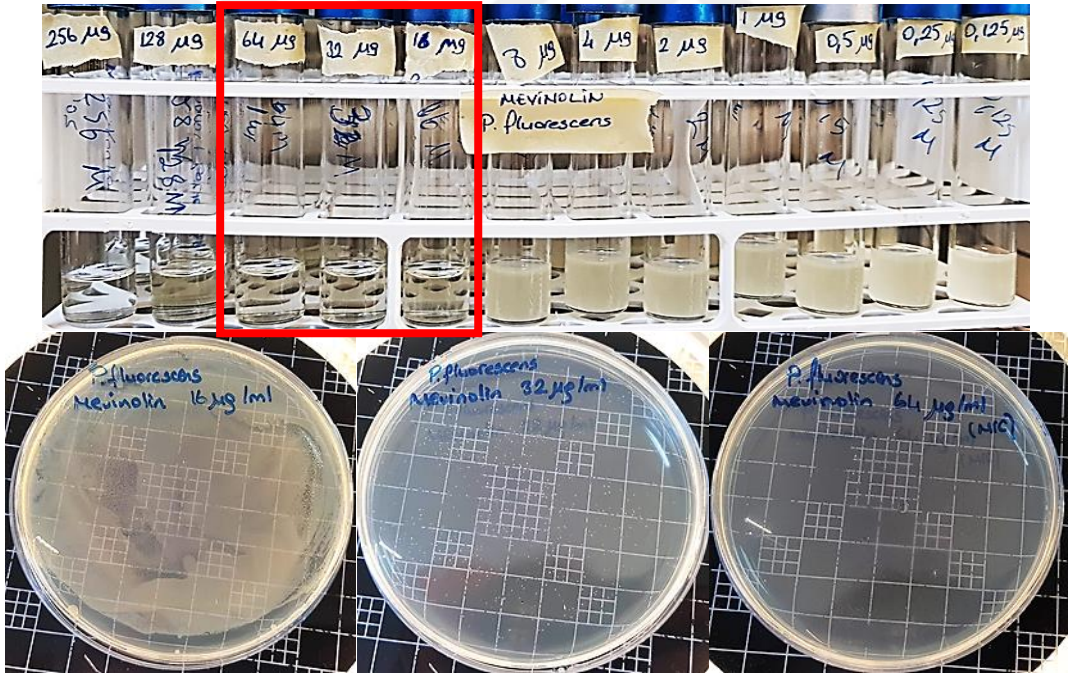
Şekil.4.7. Nisin metabolitinin *P. aeruginosa* üzerine MİK analiz sonuçları

Nisin metabolitinin patojen mikroorganizmalar *E. coli*, ve *P. aeruginosa* üzerinde 128 µg/ml kadar herhangi antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı ancak *S. aureus* üzerinde 64 µg/ml’den sonra etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Kullanılan mevinolin metabolitinin belirlenen çipura bozulma etmeni mikroorganizmaları üzerindeki MİK analiz sonuçları Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil.4.8. Mevinolin metabolitinin *P. fragi* üzerine MİK analiz sonuçları



Şekil.4.9. Mevinolin metabolitinin *P. fluorescens* üzerine MİK analiz sonuçları

Mevinolin metabolitinin *P. fragi* üzerindeki MİK değeri 32 µg/ml; MBK değeri 64 µg/ml; *P. fluorescens* üzerindeki MİK değeri ise 32 µg/ml; MBK değeri 64 µg/ml olarak bulunmuştur.

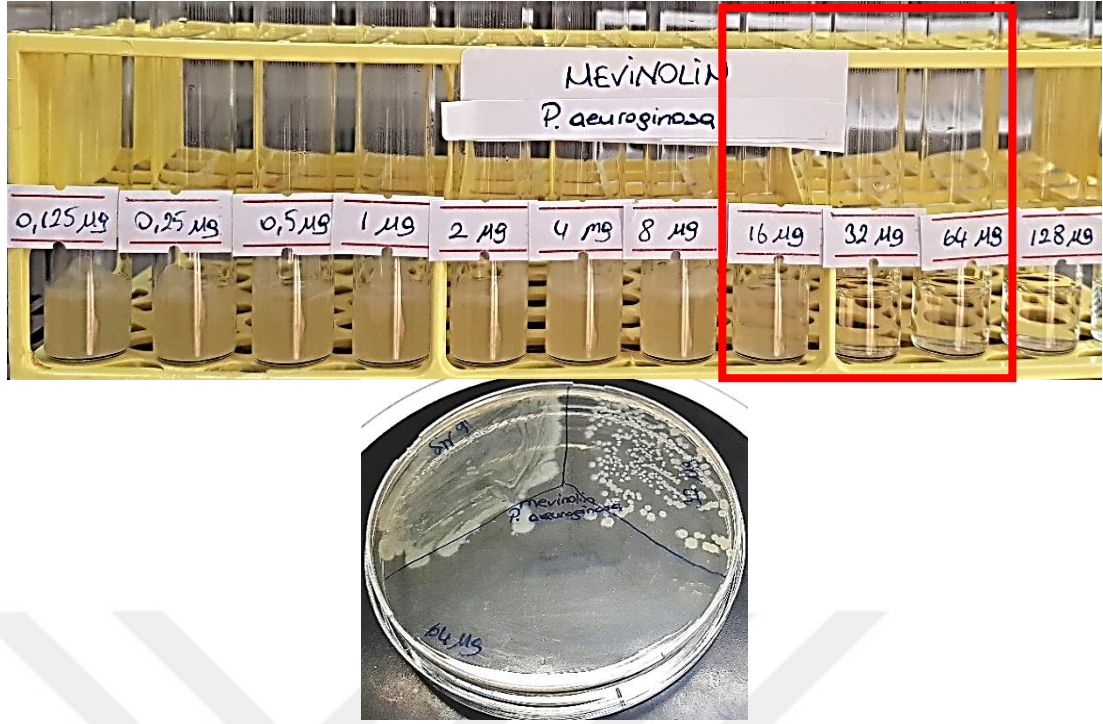
Mevinolin metabolitinin ayrıca *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değeri sonuçları Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil.4.10. Mevinolin metabolitinin *E. coli* üzerine MİK analiz sonuçları



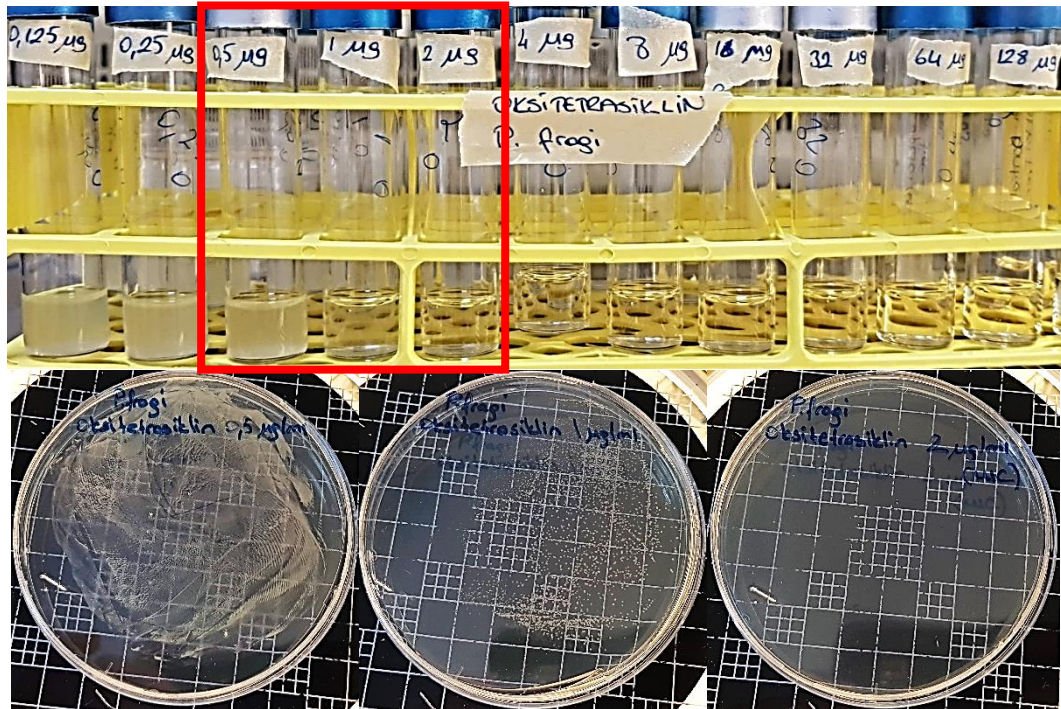
Şekil.4.11. Mevinolin metabolitinin *S. aureus* üzerine MİK analiz sonuçları



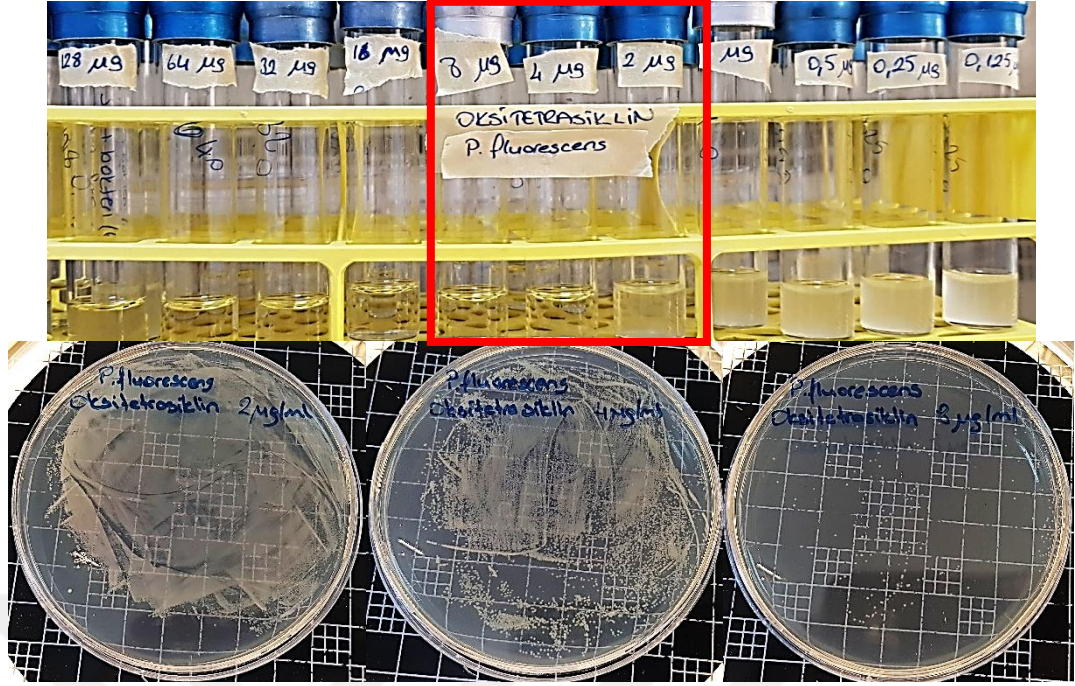
Şekil.4.12. Mevinolin metabolitinin *P. aeruginosa* üzerine MİK analiz sonuçları

Mevinolin metabolitinin *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde MİK değeri sırasıyla 128 µg/ml; 128 µg/ml ve 64 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Kullanılan oksitetrasiklin metabolitinin *P. fragi* ve *P. fluorescens* için MİK analiz sonuçları Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir.



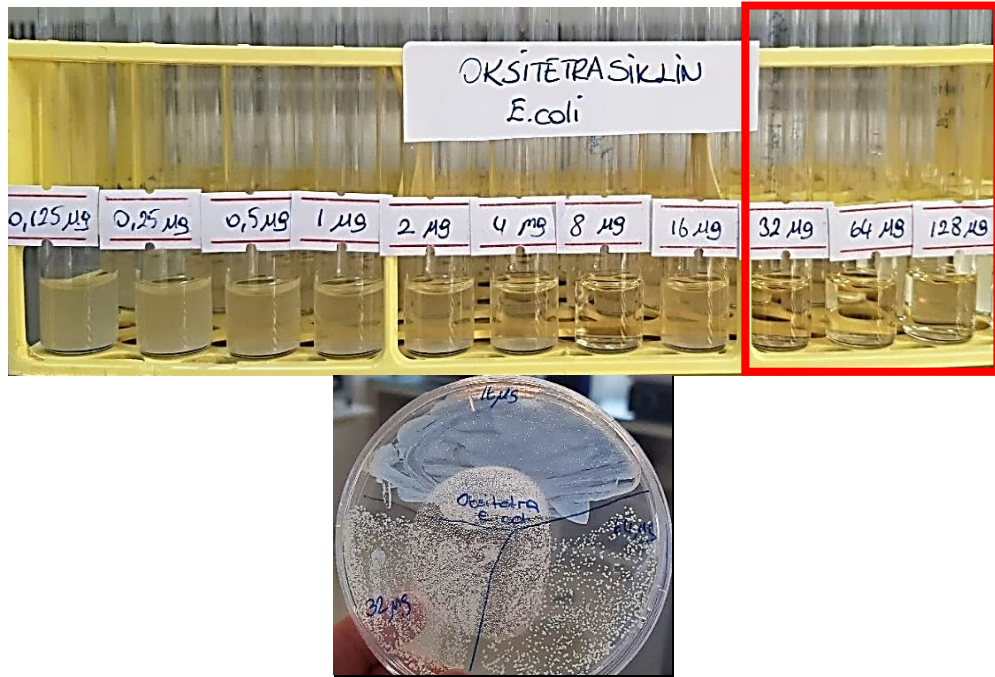
Şekil.4.13. Oksitetrasiklin metabolitinin *P. fragi* üzerine MİK analiz sonuçları



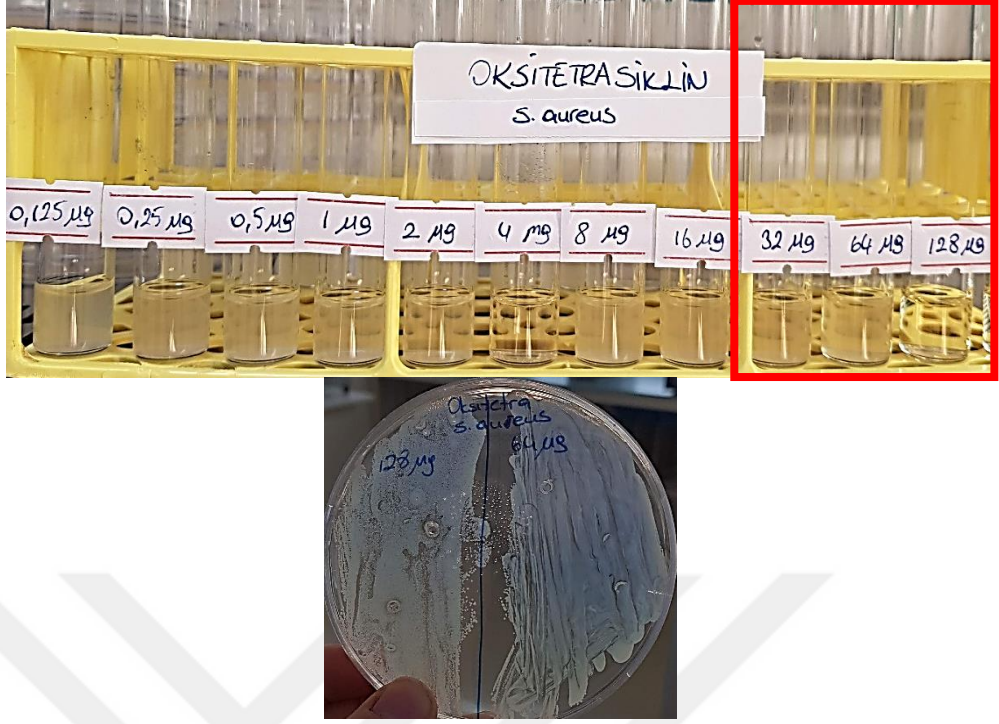
Şekil.4.14. Oksitetrasiklin metabolitinin *P. fluorescens* üzerine MİK analiz sonuçları

Oksitetrasiklin metabolitinin *P. fragi* üzerindeki MİK değeri 1 µg/ml, MBK değeri 2 µg/ml; *P. fluorescens* üzerindeki MİK değeri ise 8 µg/ml, MBC değeri 16 µg/ml olarak bulunmuştur.

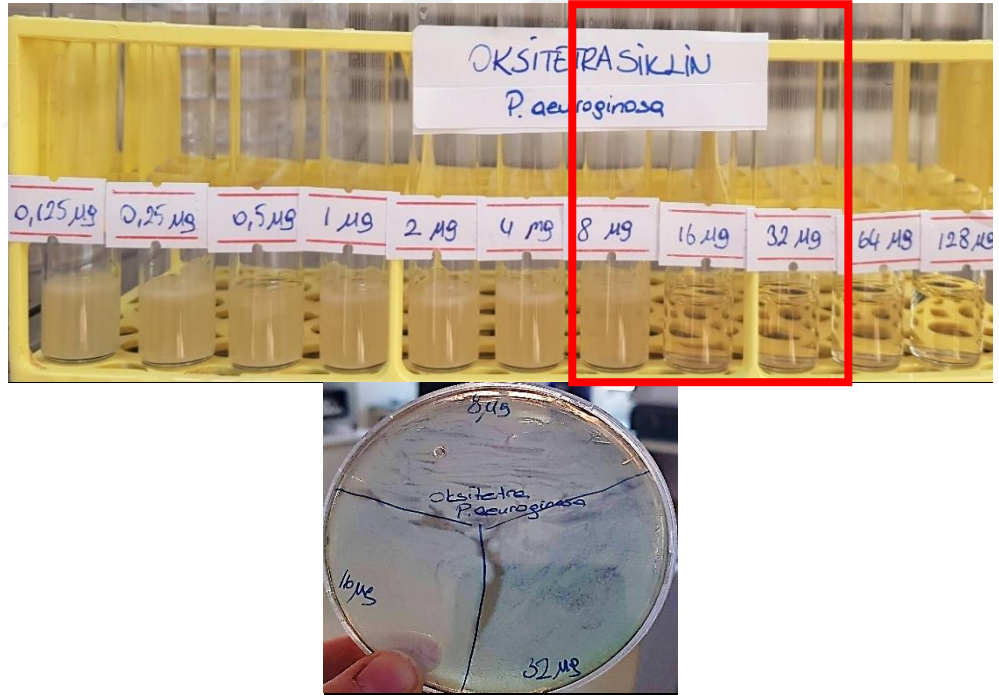
Oksitetrasiklin metabolitinin *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değeri sonuçları Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de verilmiştir.



Şekil.4.15. Oksitetrasiklin metabolitinin *E. coli* üzerine MİK analiz sonuçları



Şekil.4.16. Oksitetrasiklin metabolitinin *S. aureus* üzerine MİK analiz sonuçları



Şekil.4.17. Oksitetrasiklin metabolitinin *P. aeruginosa* üzerine MİK analiz sonuçları

Yapılan denemeler sonucu oksitetrasiklinin *E. coli*, *S. aureus* patojenleri üzerine çok etkili olamazken *Pseudomonas* grubuna ait bir patojen olan *P. aeruginosa* üzerinde

etkili olduğu ancak yapılan ekimlerde 32 µg/ml'ye kadar herhangi bir MİK değerinin olmadığı görülmüştür.

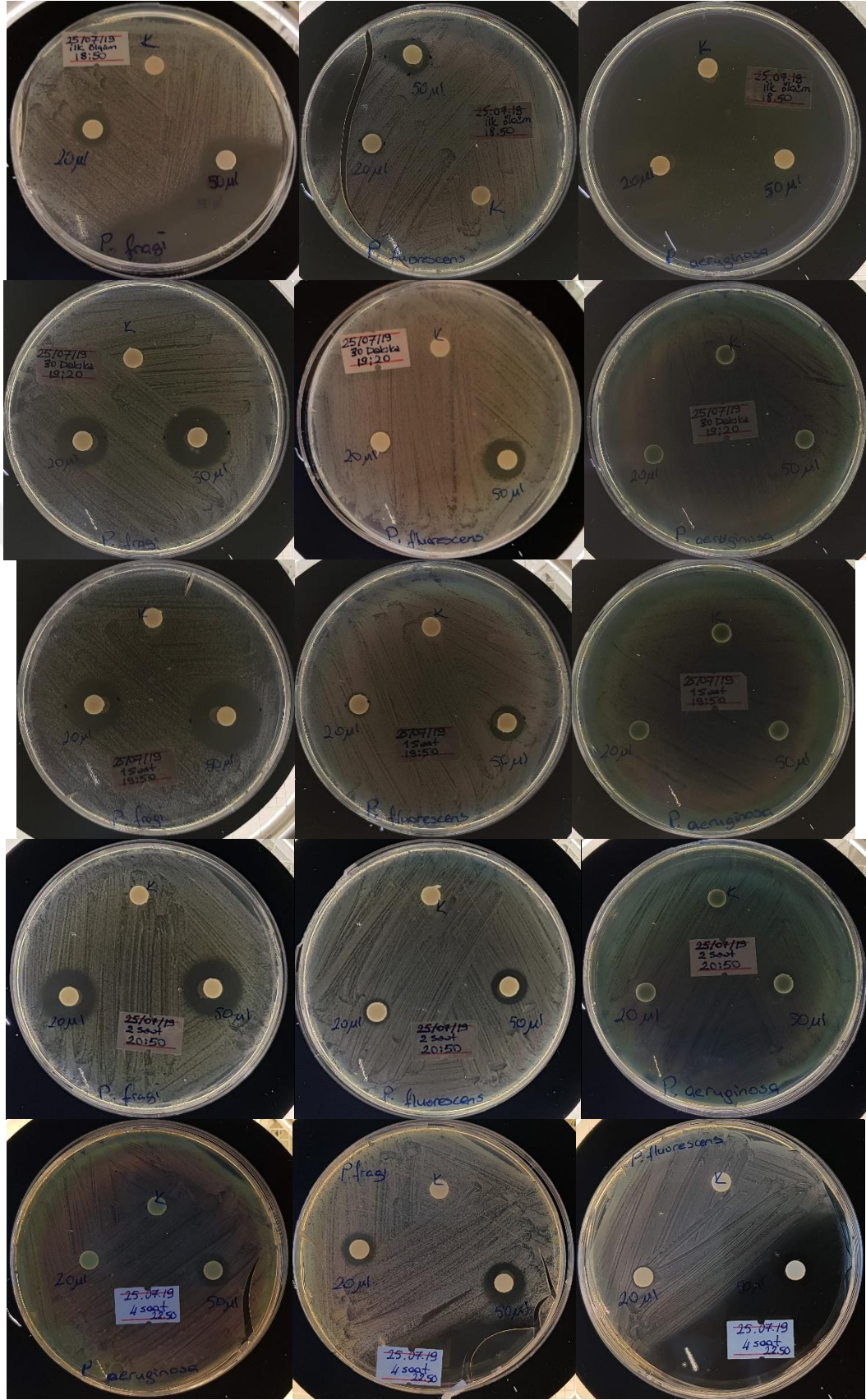
Yapılan MİK sonuçları değerlendirildiğinde tek başına nisin çipuranın bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerinde etkili olmadığı tespit edilmiştir. Mevinolinin ise MİK değerinin oksitetrasiklinden çok daha fazla olduğu belirlenmiştir ve bu durumda işletmelerde fazla miktarlarda kullanılması oldukça maliyetli olacaktır. Buna karşın oksitetrasiklin metabolitinin çipuranın spesifik bozulma etmeni mikroorganizmaları üzerinde düşük dozlarda bile etkili olduğu ve solüsyon halinde çipura balığına uygulanmasının daha sonucuna varılmıştır.

4.3. MİK Değerlerine Göre Hazırlanan Metabolit Solüsyonun Antimikrobiyal Analiz Sonuçları

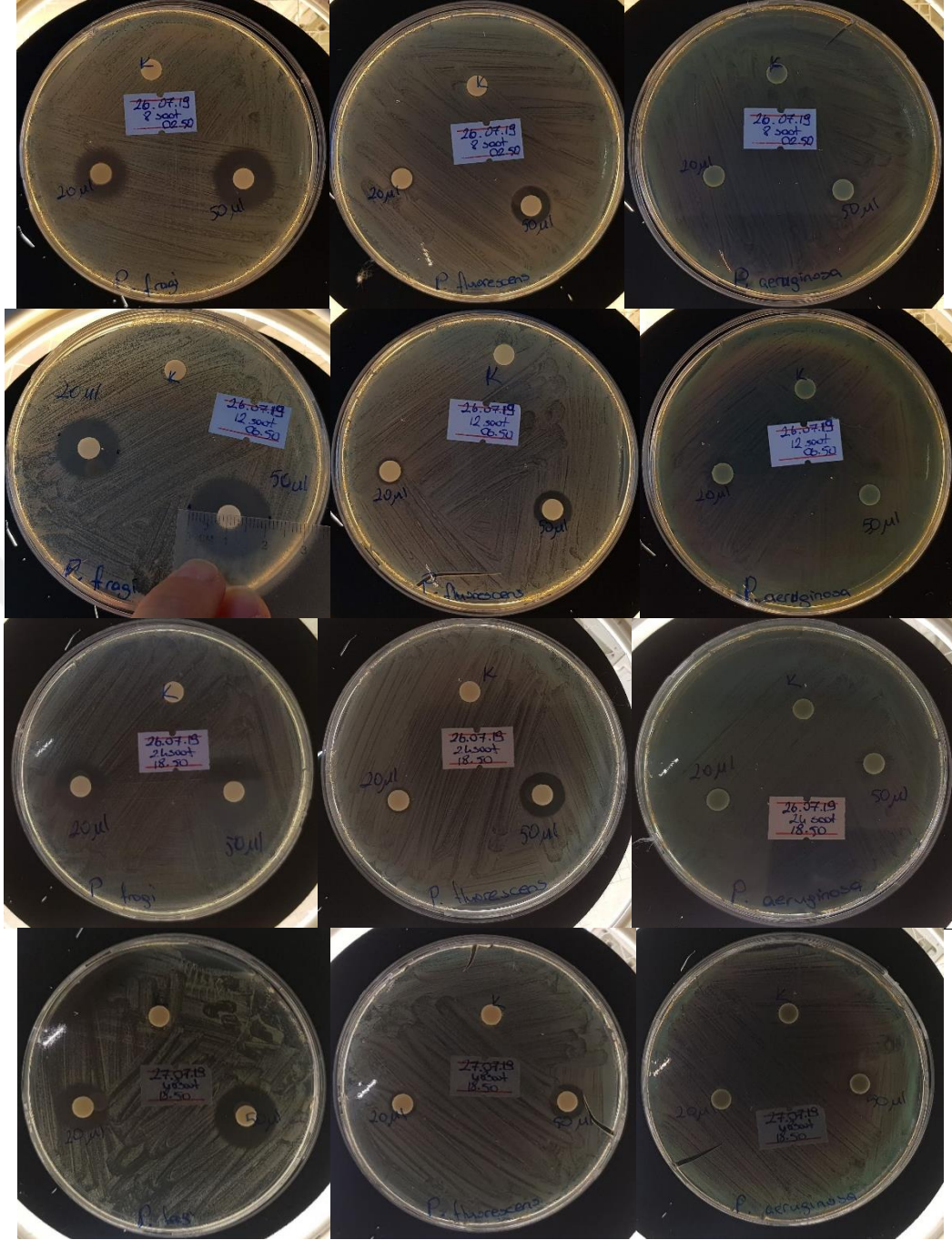
Çipura üzerinde raf ömrü çalışmalarına geçmeden önce, uygulanacak olan oksitetrasiklin solüsyonu 8 µg/ml (MİK değerine göre) olacak şekilde hazırlanmış, *P. fragi*, *Ps. fluorescens* ve *P. aeuroginosa* üzerinde antimikrobiyal etkisi ve solüsyonun stabilitesi test edilmiştir. Oksitetrasiklin solüsyonun antimikrobiyal ve stabilite analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Oksitetrasiklin solüsyonun antimikrobiyal analiz sonuçları (mm)

	20µl							
	30 dk	1 sa	2 sa	4 sa	8 sa	12 sa	24 sa	48 sa
<i>Pseudomonas fragi</i>	15.3	16.1	17.1	9.8	13.8	16	14	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6	7.4	8.1	7.1	6.7	7.7	7.4	7.9
<i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	-	-	-	6.3	-	-	-	-
	50µl							
<i>Pseudomonas fragi</i>	20.1	22.6	19.2	13.3	17.2	20.3	18.5	18.5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	13	11.6	12.1	11.8	11.4	10.6	13.1	10.5
<i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	-	-	-	9.1	10.1	-	-	-



Şekil.4.18. Oksitetrasiklin solüsyonun antimikrobiyal disk difüzyon analiz sonuçları



Şekil.4.18. 'in devamı

Antimikrobiyal analiz sonuçlarına göre 8 µg/ml konsantrasyondaki oksitetrasiklin metabolitinin çipuranın bozulma etmeni olarak tespit edilen 2 dominant bakteriden *P. fragi* üzerinde *P. fluorescens*'ten daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında yine *Pseudomonas* spp. türüne ait patojen bir mikroorganizma olan *P. aeruginosa* üzerinde çok daha az etkili olduğu gözlenmiştir.

4.4. Metabolit Solüsyonun Çipura Balıklarının Raf Ömrü ve Et Kalitesi Üzerine Etkisi

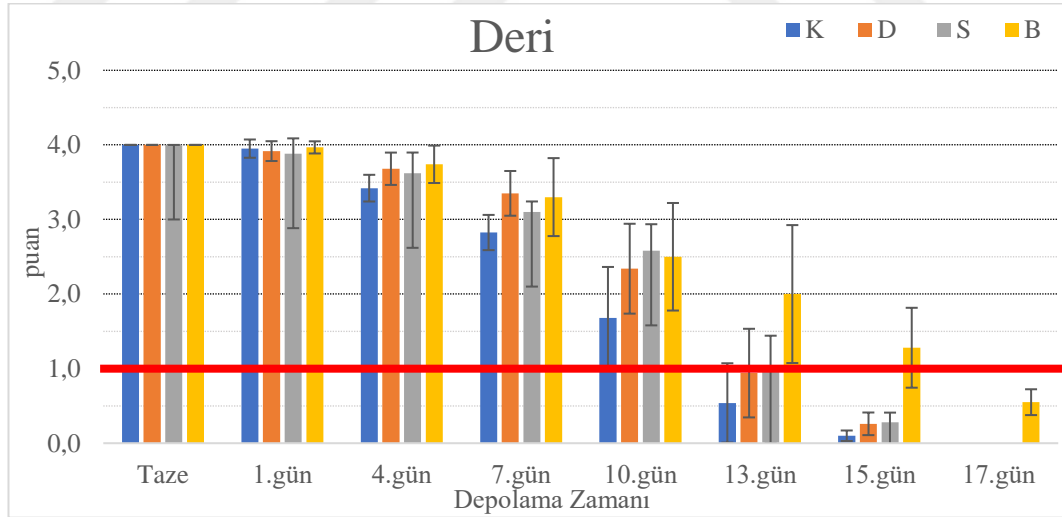
4.4.1. Depolanan grupların duyu analizi sonuçları

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan deri sonuçları Çizelge 4.11 ve Şekil 4.19’da verilmiştir.

Çizelge 4.11. Depolama süresince yapılan duyu analizlerden deri kriterinin puanlama sonuçları

	Deri			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
1.gün	4.0 ±0.1 ^{Aa}	3.9 ±0.1 ^{Aa}	3.9 ±0.2 ^{Aa}	4.0 ±0.1 ^{Aa}
4.gün	3.4 ±0.2 ^{Bb}	3.7 ±0.2 ^{ABa}	3.6 ±0.3 ^{Ba}	3.7 ±0.3 ^{Ba}
7.gün	2.8 ±0.2 ^{Cc}	3.4 ±0.3 ^{Ba}	3.1 ±0.1 ^{Cb}	3.3 ±0.5 ^{Ca}
10.gün	1.7 ±0.7 ^{Dc}	2.3 ±0.6 ^{Cb}	2.6 ±0.4 ^{Da}	2.5 ±0.7 ^{Da}
13.gün	0.5 ±0.5 ^{Ec}	0.9 ±0.6 ^{Db}	1.0 ±0.4 ^{Eb}	2.0 ±0.9 ^{Ea}
15.gün	0.1 ±0.1 ^{Ec}	0.3 ±0.2 ^{Eb}	0.3 ±0.1 ^{Fb}	1.3 ±0.5 ^{Fa}
17.gün	-	-	-	0.6 ±0.2 ^{Ga}

-Duyu bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır. Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.19 Depolama süresince yapılan duyu analizlerden deri kriterinin puanlama sonuçları

Tüm gruplar için ilk 4 gün deri kriterleri “en iyi kalite” ile “iyi kalite arası” puanlar almıştır. Deri görüntüsü K grubunda 7 günde orta kaliteye, 13 günde ise kabul edilemez değerlere gerilediği görülmüştür. D grubu da 13. günde kabul edilemez puanlar almıştır. S ve B grubu ise sırasıyla 15. ve 17. günde 1 puanın altına düşmüş

olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında D ve S grubu arasında istatistiksel olarak farkın anlamsız olduğu ($P>0.05$) bu iki grup ile K ve B grupları arasındaki farkın anlamlı olduğu ($P<0.05$) ve K ve B grubu arasındaki farkın da anlamlı olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir.

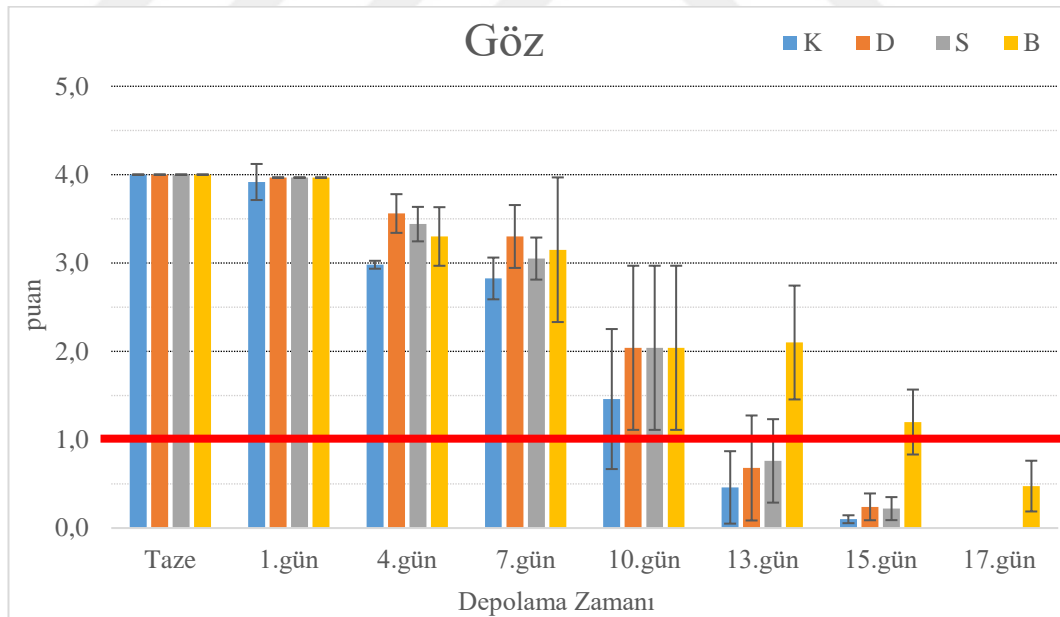
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan göz sonuçları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Depolama süresince yapılan duyu analizlerden göz kriterinin puanlama sonuçları

	Göz			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
1.gün	3.9 ±0.2 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
4.gün	3.0 ±0.0 ^{Bc}	3.6 ±0.2 ^{ABa}	3.4 ±0.2 ^{Bb}	3.3 ±0.3 ^{Bb}
7.gün	2.8 ±0.2 ^{Bb}	3.3 ±0.4 ^{Ba}	3.1 ±0.2 ^{Ba}	3.2 ±0.8 ^{Ba}
10.gün	1.5 ±0.8 ^{Cb}	2.0 ±0.9 ^{Ca}	2.0 ±0.9 ^{Ca}	2.0 ±0.9 ^{Ca}
13.gün	0.5 ±0.4 ^{Dc}	0.7 ±0.6 ^{Db}	0.8 ±0.5 ^{Db}	2.1 ±0.6 ^{Ca}
15.gün	0.1 ±0.0 ^{Db}	0.2 ±0.2 ^{Db}	0.2 ±0.1 ^{Db}	1.2 ±0.4 ^{Da}
17.gün	-	-	-	0.5 ±0.3 ^{Ea}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.20. Depolama süresince yapılan duyu analizlerden göz kriterinin puanlama sonuçları

Panelistlerin 4. güne kadar tüm grupların göz kriterlerine “en iyi kalite” puanlarını verdikleri görülmüştür. K, D ve S grubu 13. günde sırasıyla 0.5, 0.7 ve 0.8 puan olarak kabul edilebilir değerin altına düşerken B grubunun depolamanın son günü olan 17.

günde kabul edilebilir değerin altına düşmüş olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel açıdan 15. günde B grubu ile diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

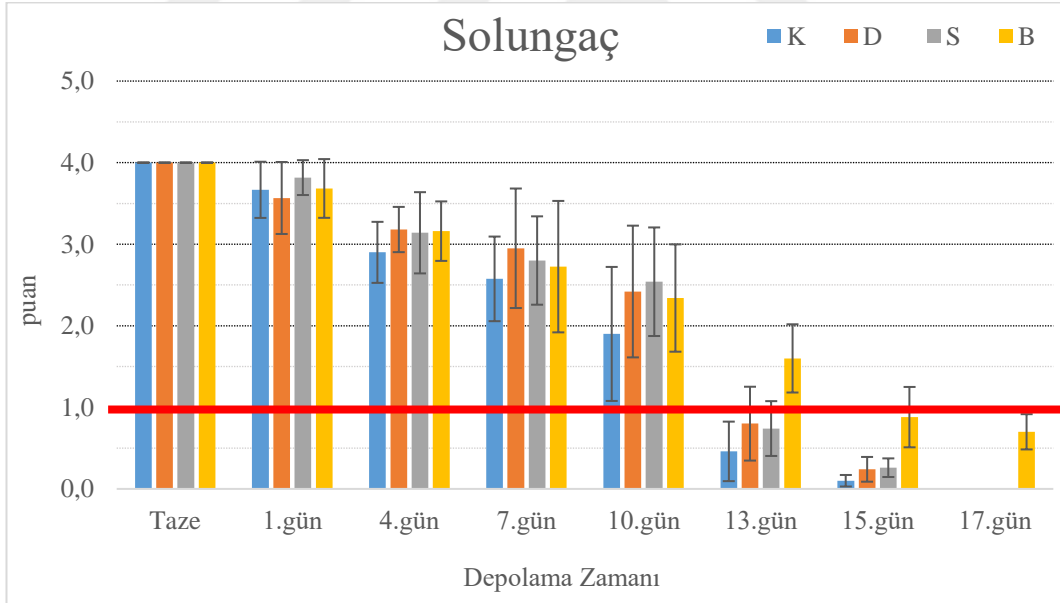
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan solungaç sonuçları Çizelge 4.13 ve Şekil 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden solungaç kriterinin puanlama sonuçları

	Solungaç			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
1.gün	3.7 ±0.3 ^{Aa}	3.6 ±0.4 ^{Aa}	3.8 ±0.2 ^{Aa}	3.7 ±0.4 ^{Aa}
4.gün	2.9 ±0.4 ^{Bb}	3.2 ±0.3 ^{Ba}	3.1 ±0.5 ^{Ba}	3.2 ±0.4 ^{Ba}
7.gün	2.6 ±0.5 ^{Bb}	3.0 ±0.7 ^{Ba}	2.8 ±0.5 ^{BCb}	2.7 ±0.8 ^{BCb}
10.gün	1.9 ±0.8 ^{Cb}	2.4 ±0.8 ^{Ca}	2.5 ±0.7 ^{Ca}	2.3 ±0.7 ^{Ca}
13.gün	0.5 ±0.4 ^{Dc}	0.8 ±0.5 ^{Db}	0.7 ±0.3 ^{Db}	1.6 ±0.4 ^{Da}
15.gün	0.1 ±0.1 ^{Db}	0.2 ±0.2 ^{Db}	0.3 ±0.1 ^{Db}	0.9 ±0.4 ^{Ea}
17.gün	-	-	-	0.7 ±0.2 ^{Ea}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.21. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden solungaç kriterinin puanlama sonuçları

Laboratuvara getirilen çipura balıklarının solungaçları ilk gün panelistler tarafından en iyi kalite olarak değerlendirilmiştir. K, D ve S grupları sırasıyla 0.5, 0.8 ve 0.7 puan ile 13. günde kabul edilebilir değerin altına düşmüşken; B grubu 15. günde aldığı 0.9 puan ile panelistler tarafından kabul edilemez olarak değerlendirilmiştir. Depolamanın

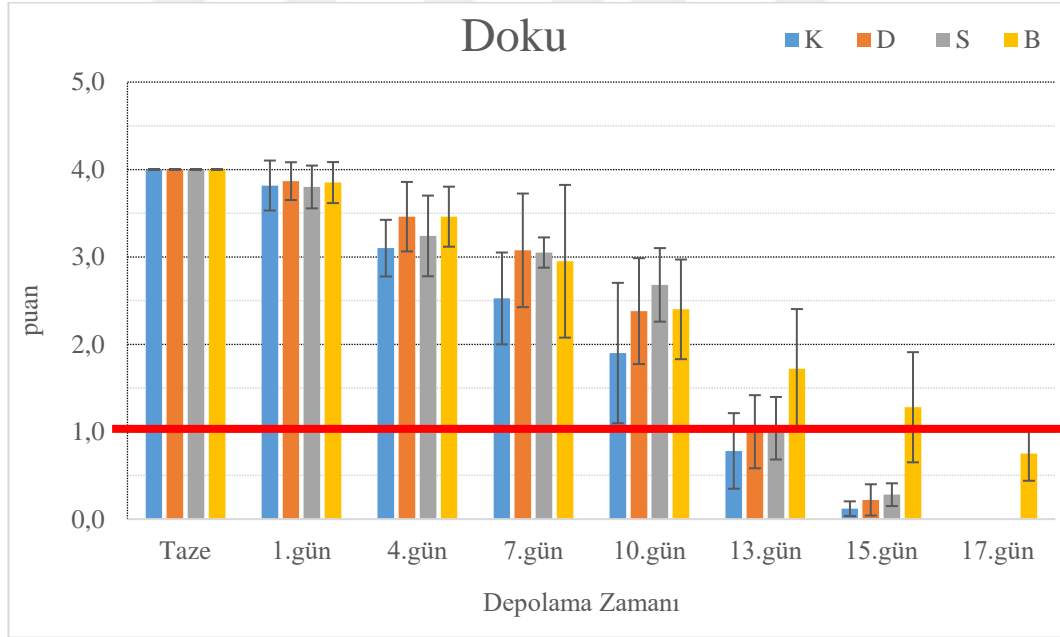
15. gününde K, D ve S grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($P>0.05$), B grubu ile diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan doku sonuçları Çizelge 4.14 ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden doku kriterinin puanlama sonuçları

	Doku			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
1.gün	3.8 ±0.3 ^{Aa}	3.9 ±0.2 ^{Aa}	3.8 ±0.2 ^{Aa}	3.9 ±0.2 ^{Aa}
4.gün	3.1 ±0.3 ^{Bb}	3.5 ±0.4 ^{B^{Ca}}	3.2 ±0.5 ^{Bb}	3.5 ±0.3 ^{Ba}
7.gün	2.5 ±0.5 ^{Cb}	3.1 ±0.7 ^{Ca}	3.1 ±0.2 ^{Ba}	3.0 ±0.9 ^{Ba}
10.gün	1.9 ±0.8 ^{Dc}	2.4 ±0.6 ^{Db}	2.7 ±0.4 ^{Ca}	2.4 ±0.6 ^{Cb}
13.gün	0.8 ±0.4 ^{Ec}	1.0 ±0.4 ^{Eb}	1.0 ±0.4 ^{Db}	1.7 ±0.7 ^{Da}
15.gün	0.1 ±0.1 ^{Eb}	0.2 ±0.2 ^{Fb}	0.3 ±0.1 ^{Eb}	1.3 ±0.6 ^{Da}
17.gün	-	-	-	0.8 ±0.3 ^{Ea}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.
Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.22. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden doku kriterinin puanlama sonuçları

Taze çipura balıklarının ve ilk analiz günündeki tüm grupların dokusu panelistler tarafından beğenilmiş ve en iyi kalite olarak belirlenmiştir. K grubu en önce kabul edilemez puanlara düşen grup olarak belirlenmiştir. Depolamanın 15. gününde K, D,

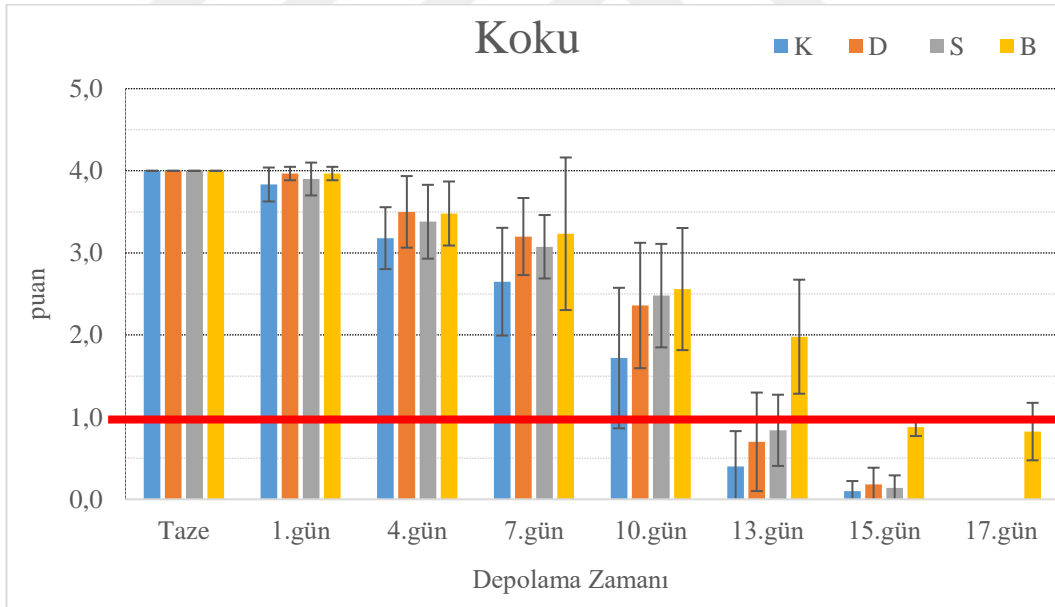
S ve B gruplarının doku puanları sırasıyla 0.1, 0.2, 0.3 ve 1.3 olarak saptanmıştır. B grubu ancak 17. günde kabul edilebilir limitin altına düşmüştür. B grubunun diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koku sonuçları Çizelge 4.15 ve Şekil 4.23’de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden koku kriterinin puanlama sonuçları

	Koku			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ± 0.0 ^{Aa}	4.0 ± 0.0 ^{Aa}	4.0 ± 0.0 ^{Aa}	4.0 ± 0.0 ^{Aa}
1.gün	3.8 ± 0.2 ^{Aa}	4.0 ± 0.1 ^{Aa}	3.9 ± 0.2 ^{Aa}	4.0 ± 0.1 ^{Aa}
4.gün	3.2 ± 0.4 ^{Bb}	3.5 ± 0.4 ^{Ba}	3.4 ± 0.4 ^{Ba}	3.5 ± 0.4 ^{Ba}
7.gün	2.7 ± 0.7 ^{Cb}	3.2 ± 0.5 ^{Ba}	3.1 ± 0.4 ^{Ba}	3.2 ± 0.9 ^{Ba}
10.gün	1.7 ± 0.9 ^{Db}	2.4 ± 0.8 ^{Ca}	2.5 ± 0.6 ^{Ca}	2.6 ± 0.7 ^{Ca}
13.gün	0.4 ± 0.4 ^{Ec}	0.7 ± 0.6 ^{Db}	0.8 ± 0.4 ^{Db}	2.0 ± 0.7 ^{Ca}
15.gün	0.1 ± 0.1 ^{Eb}	0.2 ± 0.2 ^{Db}	0.1 ± 0.2 ^{Db}	0.9 ± 0.1 ^{Da}
17.gün	-	-	-	0.8 ± 0.4 ^{Da}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır. Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.23. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden koku kriterinin puanlama sonuçları

Depolamanın ilk 7 günü D, S ve B grupları “en iyi kalite” ve “iyi kalite” arası puanlar almıştır. K grubu ise 7. günde 2.7 puan ile orta kalite olarak değerlendirilmiştir. B grubu hariç diğer gruplar 13. günde kabul edilemez olarak puanlandırılmıştır. B grubu 13. günde 2 puan alırken 15. günde 0.9 puana düşerek kabul edilemez olarak

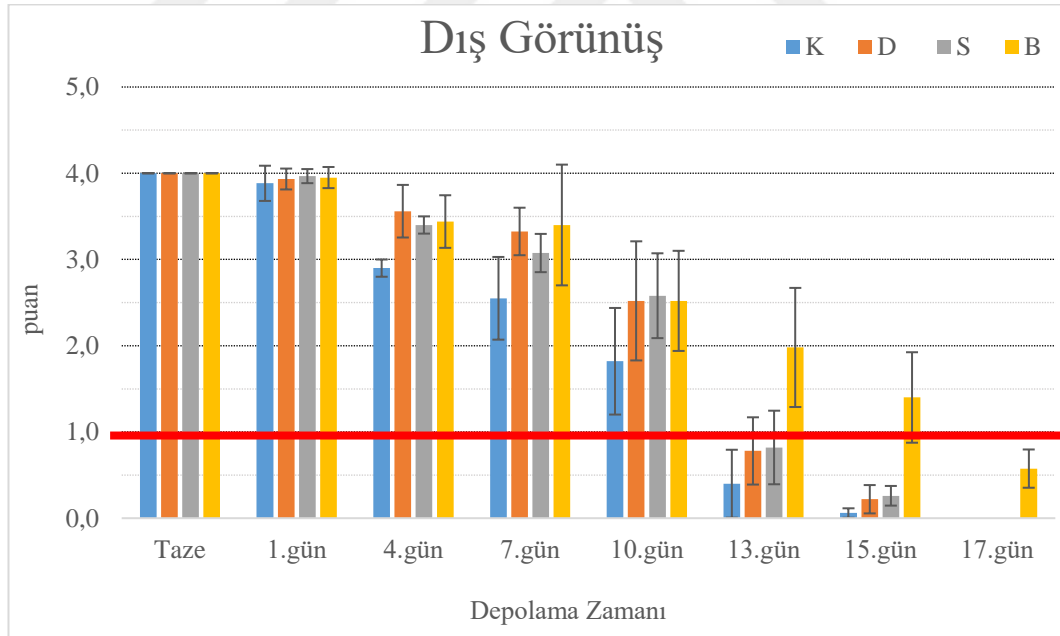
değerlendirilmiştir. B grubunun K grubu ile arasındaki fark 4. günden, diğer gruplar arasındaki fark ise 13. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan dış görünüş sonuçları Çizelge 4.16 ve Şekil 4.24’de verilmiştir.

Çizelge 4.16. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden dış görünüş kriterinin puanlama sonuçları

	Dış Görünüş			
	K	D	S	B
Taze	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}	4.0 ±0.0 ^{Aa}
1.gün	3.9 ±0.2 ^{Aa}	3.9 ±0.1 ^{Aa}	4.0 ±0.1 ^{Aa}	4.0 ±0.1 ^{Aa}
4.gün	2.9 ±0.1 ^{Bc}	3.6 ±0.3 ^{Bc}	3.4 ±0.1 ^{Bb}	3.4 ±0.3 ^{Bb}
7.gün	2.6 ±0.5 ^{Bc}	3.3 ±0.3 ^{Ca}	3.1 ±0.2 ^{Bb}	3.4 ±0.7 ^{Ba}
10.gün	1.8 ±0.6 ^{Cb}	2.5 ±0.7 ^{Da}	2.6 ±0.5 ^{Ca}	2.5 ±0.6 ^{Ca}
13.gün	0.4 ±0.4 ^{Dc}	0.8 ±0.4 ^{Eb}	0.8 ±0.4 ^{Db}	2.0 ±0.7 ^{Ca}
15.gün	0.1 ±0.1 ^{Db}	0.2 ±0.2 ^{Eb}	0.3 ±0.1 ^{Db}	1.4 ±0.5 ^{Da}
17.gün	-	-	-	0.6 ±0.2 ^{Ea}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.
Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.24. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden dış görünüş kriterinin puanlama sonuçları

Çalışmanın ilk günü laboratuvara getirilen çipura balıkları dış görünüş olarak en iyi kalite olarak belirlenmiştir. K, D ve S grubu sırasıyla grubu 0.4, 0.8 ve 0.8 puan ile 13. günde, B grubu ise 0.6 ile 17. günde kabul edilebilir değerlerin altında puan almıştır.

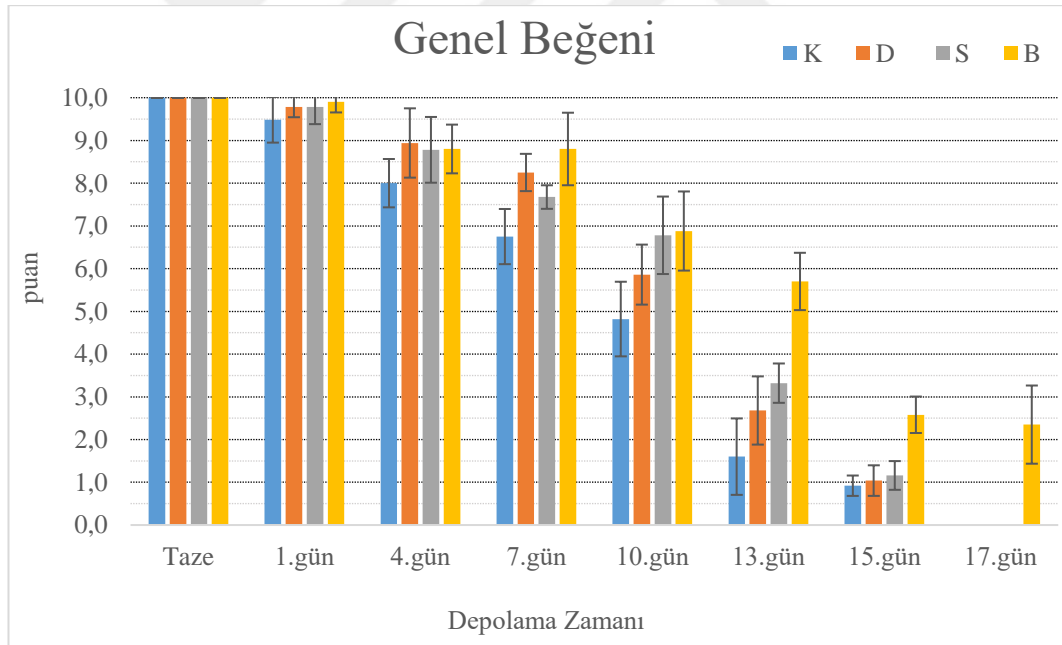
Genel olarak değerlendirildiğinde B grubunun diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan genel beğeni sonuçları Çizelge 4.17 ve Şekil 4.25’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden genel beğeni kriterinin puanlama sonuçları

	Genel Beğeni			
	K	D	S	B
Taze	10.0 ± 0.0 ^{Aa}	10.0 ± 0.0 ^{Aa}	10.0 ± 0.0 ^{Aa}	10.0 ± 0.0 ^{Aa}
1.gün	9.5 ± 0.5 ^{Bb}	9.8 ± 0.2 ^{Aa}	9.8 ± 0.4 ^{Aa}	9.9 ± 0.2 ^{Aa}
4.gün	8.0 ± 0.6 ^{Cb}	8.9 ± 0.8 ^{Ba}	8.8 ± 0.8 ^{Ba}	8.8 ± 0.6 ^{Ba}
7.gün	6.8 ± 0.6 ^{Dd}	8.3 ± 0.4 ^{Bb}	7.7 ± 0.3 ^{Cc}	8.8 ± 0.8 ^{Ba}
10.gün	4.8 ± 0.9 ^{Ec}	5.9 ± 0.9 ^{Cb}	6.8 ± 0.9 ^{Da}	6.9 ± 0.9 ^{Ca}
13.gün	1.6 ± 0.9 ^{Fd}	2.7 ± 0.8 ^{Dc}	3.3 ± 0.5 ^{Eb}	5.7 ± 0.7 ^{Da}
15.gün	0.9 ± 0.2 ^{Gb}	1.0 ± 0.4 ^{Eb}	1.2 ± 0.3 ^{Fb}	2.6 ± 0.4 ^{Ea}
17.gün	-	-	-	2.4 ± 0.9 ^{Ea}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.
Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.25. Depolama süresince yapılan duyu analizlerinden genel beğeni kriterinin puanlama sonuçları

Panelistler çipura balıklarını mükemmel olarak değerlendirmişlerdir. Yalnızca K grubu balıklar hızlı bir düşüş göstererek 15. günde aşırı kötünün altında bir puan almıştır. D, S ve B grubu balıklar 7 gün boyunca genel beğeni açısından iyi olarak değerlendirilmiştir. Panelistler tarafından D ve S grupları 15. günde sırasıyla 1 ve 1.2

puan olarak aşırı kötü; B grubu balıklar ise 2.6 ile çok kötü olarak bulunmuştur. Depolama boyunca gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı olmasına ($P<0.05$) karşın 15. günde K, D ve S grupları arasındaki fark anlamsız ($P>0.05$) yalnızca B grubunun diğer gruplar arasındaki farkı anlamlı olarak tespit edilmiştir ($P<0.05$).

4.4.2. Depolanan grupların mikrobiyolojik analiz sonuçları

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan toplam bakteri sonuçları Çizelge 4.18 ve Şekil 4.26'da verilmiştir.

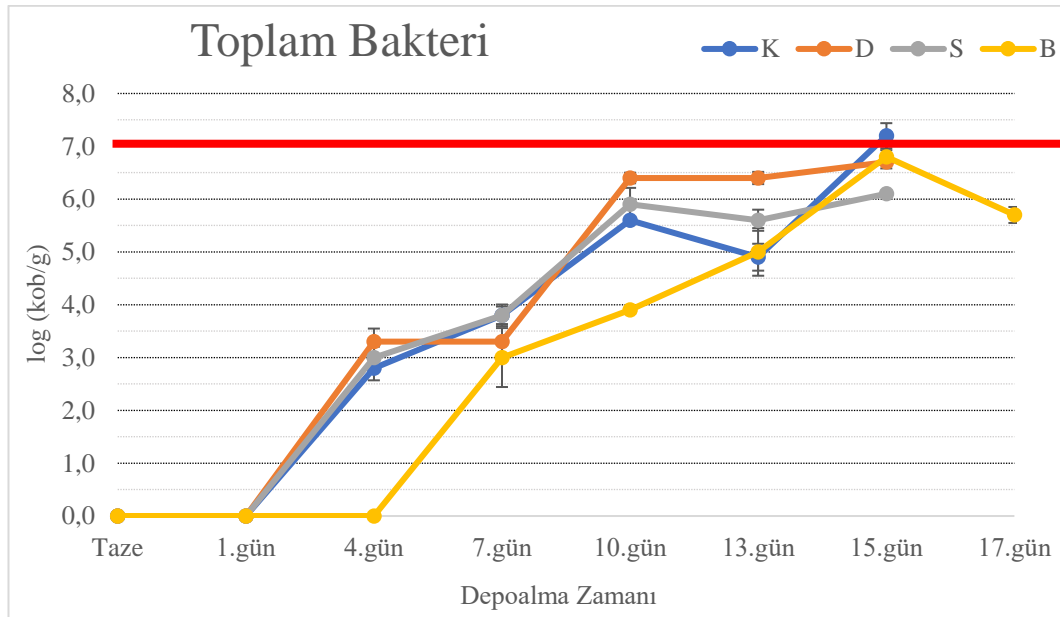
Çizelge 4.18. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan toplam bakteri sonuçları

Toplam Bakteri				
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>1.gün</i>	<1 ^{aA}	0 ±0,0 ^A	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>4.gün</i>	2.8 ±0.2 ^{bB}	3.3 ±0.2 ^{aB}	3.0 ±0.2 ^{aB}	<1 ^{cA}
<i>7.gün</i>	3.8 ±0.2 ^{aC}	3.3 ±0.0 ^{bB}	3.8 ±0.2 ^{aC}	3.0 ±0.6 ^{cB}
<i>10.gün</i>	5.6 ±0.0 ^{bE}	7.1 ±0.2 ^{aD}	5.9 ±0.3 ^{bD}	3.9 ±0.1 ^{cC}
<i>13.gün</i>	4.9 ±0.3 ^{dD}	6.4 ±0.1 ^{aC}	5.6 ±0.5 ^{bD}	5.0 ±0.5 ^{cD}
<i>15.gün</i>	7.2 ±0.2 ^{aF}	6.7 ±0.1 ^{bC}	6.1 ±0.0 ^{cD}	6.8 ±0.1 ^{bF}
<i>17.gün</i>	-	-	-	5.7 ±0.2 ^{aE}

Petirlerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.26. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan toplam bakteri sonuçları

Taze ve 1. günde tüm gruptaki balıklarda toplam bakteri gelişimi sayılabilir limitlerin altındadır. Ancak yalnızca B grubu için toplam bakteri yükü 7. güne kadar sayılabilir limitlerin altında kalmaya devam etmiştir. Toplam bakteri açısından limit değere (7 log) D, S ve K gruplarının sırasıyla 10. gün, 13. gün ve 15. gün de ulaştığı ancak B grubunun 17 günlük depolama sonunda dahi limit değeri aşmadığı görülmüştür. Depolamanın sonlarına doğru diğer gruplar ile B grubundaki toplam bakteri yükü arasındaki fark kapansa da depolamanın 15. gününe kadar fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (P<0.05).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan *Pseudomonas* spp. sonuçları Çizelge 4.19 ve Şekil 4.27'de verilmiştir.

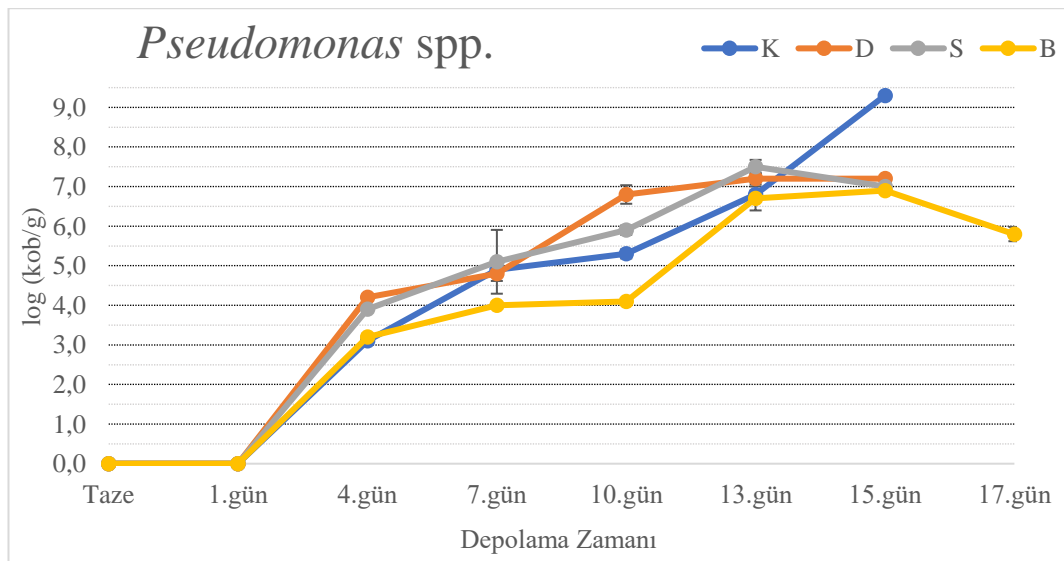
Çizelge 4.19. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan *Pseudomonas* spp. sonuçları

<i>Pseudomonas</i> spp.				
	K	D	S	B
Taze	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A
1.gün	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
4.gün	3.1 ±0.1 ^{bB}	4.2 ±0.0 ^{aB}	3.9 ±0.0 ^{aB}	3.2 ±0.1 ^{bB}
7.gün	4.9 ±0.1 ^{aC}	4.8 ±0.2 ^{aB}	5.1 ±0.8 ^{aC}	4.0 ±0.0 ^{bC}
10.gün	5.3 ±0.1 ^{cC}	6.8 ±0.2 ^{aC}	5.9 ±0.1 ^{bC}	4.1 ±0.0 ^{dC}
13.gün	6.8 ±0.1 ^{bD}	7.2 ±0.1 ^{aD}	7.5 ±0.2 ^{aD}	6.7 ±0.3 ^{bE}
15.gün	9.3 ±0.0 ^{aE}	7.2 ±0.1 ^{bD}	7.0 ±0.0 ^{bD}	6.9 ±0.0 ^{cE}
17.gün	-	-	-	5.8 ±0.2 ^{aD}

Petrilerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.27. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan *Pseudomonas* spp. sonuçları

Depolama süresince taze ve 1. günde sayılabilir limit altında olan *Pseudomonas* spp. 4. günden itibaren tüm gruplarda artış göstermiştir. Oksitetrasiklin uygulanan gruplarda özellikle de B grubunda bu artışın daha az seviyelerde kaldığı gözlenmiştir. Kontrol grubunun 15. günde *Pseudomonas* spp. yükü 9.3 log'a ulaşırken; D, S ve B grupların yükü sırasıyla 7.2, 7.0 ve 6.9 log olarak kalmıştır. Depolamanın 15. gününde kontrol grubunun diğer gruplarla ve B grubunun diğer gruplarla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($P<0.05$); D ve S grubu arasındaki fark anlamsız bulunmuştur ($P>0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koliform bakteri sonuçları Çizelge 4.20 ve Şekil 4.28'de verilmiştir.

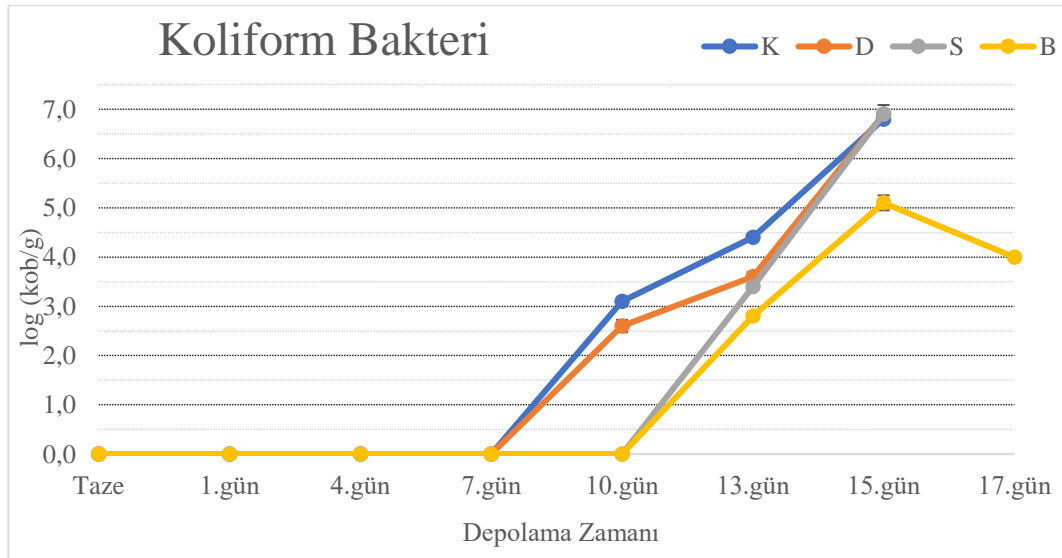
Çizelge 4.20. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koliform bakteri sonuçları

	Koliform Bakteri			
	K	D	S	B
Taze	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A
1.gün	<1 ^{aA}	0 ±0.0 ^A	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
4.gün	<1 ^{aA}	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	<1 ^{aA}
7.gün	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
10.gün	3.1 ±0.0 ^{aB}	2.6 ±0.1 ^{bB}	<1 ^{cA}	<1 ^{cA}
13.gün	4.4 ±0.1 ^{aC}	3.6 ±0.1 ^{bC}	3.4 ±0.1 ^{bB}	2.8 ±0.0 ^{cB}
15.gün	6.8 ±0.0 ^{aD}	5.1 ±0.1 ^{bD}	5.7 ±0.1 ^{bC}	5.0 ±0.2 ^{bD}
17.gün	-	-	-	4.0±0.0 ^{aC}

Petriderdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.28. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan koliform bakteri sonuçları

Tüm gruplarda koliform bakteri varlığı 7. güne kadar sayılabilir limit altında kalmıştır. Depolamanın 10. gününde ise K ve D gruplarında koliform yükü sırası ile 3.1 ve 2.6 log iken S ve B grupları hala sayılabilir limitin altında kalmaya devam etmiştir. Depolamanın son günü istatistiki açıdan K grubu ile diğer gruplar arasındaki fark anlamlı ($P < 0.05$) iken D, S ve B grupları arasındaki fark anlamsız bulunmuştur ($P > 0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan lipolitik bakteri sonuçları Çizelge 4.21 ve Şekil 4.29'da verilmiştir.

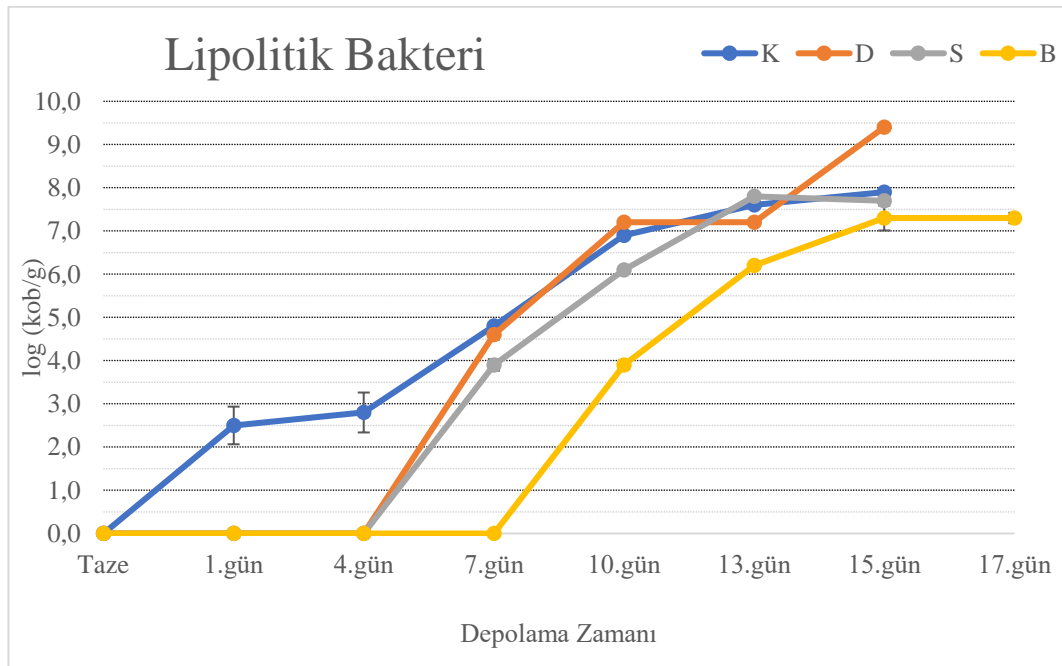
Çizelge 4.21. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan lipolitik bakteri sonuçları

Lipolitik Bakteri				
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>1.gün</i>	2.5 ± 0.4 ^{aB}	<1 ^{bA}	<1 ^{bA}	<1 ^{bA}
<i>4.gün</i>	2.8 ± 0.5 ^{aB}	<1 ^{bA}	<1 ^{bA}	<1 ^{bA}
<i>7.gün</i>	4.8 ± 0.1 ^{aC}	4.6 ± 0.1 ^{aB}	3.9 ± 0.1 ^{bB}	<1 ^{cA}
<i>10.gün</i>	6.9 ± 0.0 ^{aD}	7.2 ± 0.0 ^{aC}	6.1 ± 0.1 ^{bC}	3.9 ± 0.1 ^{cB}
<i>13.gün</i>	7.6 ± 0.0 ^{aE}	7.2 ± 0.1 ^{bC}	7.8 ± 0.1 ^{aD}	6.2 ± 0.1 ^{cC}
<i>15.gün</i>	7.9 ± 0.0 ^{bE}	9.4 ± 0.0 ^{aD}	7.7 ± 0.0 ^{bD}	7.3 ± 0.3 ^{cD}
<i>17.gün</i>	-	-	-	7.3 ± 0.1 ^{aD}

Petrilerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.29. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan lipolitik bakteri sonuçları

Lipolitik bakteri gelişimi oksitetrasiklin uygulanan gruplarda 7. güne kadar sayılabilir limitin altında kalmıştır ve kontrol grubu ile olan bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Depolamanın 7. gününde K, D ve S gruplarındaki yük, sırası ile 4.8, 4.6 ve 3.9 log olarak tespit edilmiştir. B grubunda ise 10. güne kadar artış görülmemişken; 10. günde lipolitik bakteri yükü 3.9 log olarak bulunmuştur. B grubunun diğer gruplar ile farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Depolamanın sonuna doğru B grubunun lipolitik bakteri yükü diğer gruplara oranla daha düşük seviyelerde kaldığı belirlenmiştir.

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan proteolitik bakteri sonuçları Çizelge 4.22 ve Şekil 4.30'da verilmiştir.

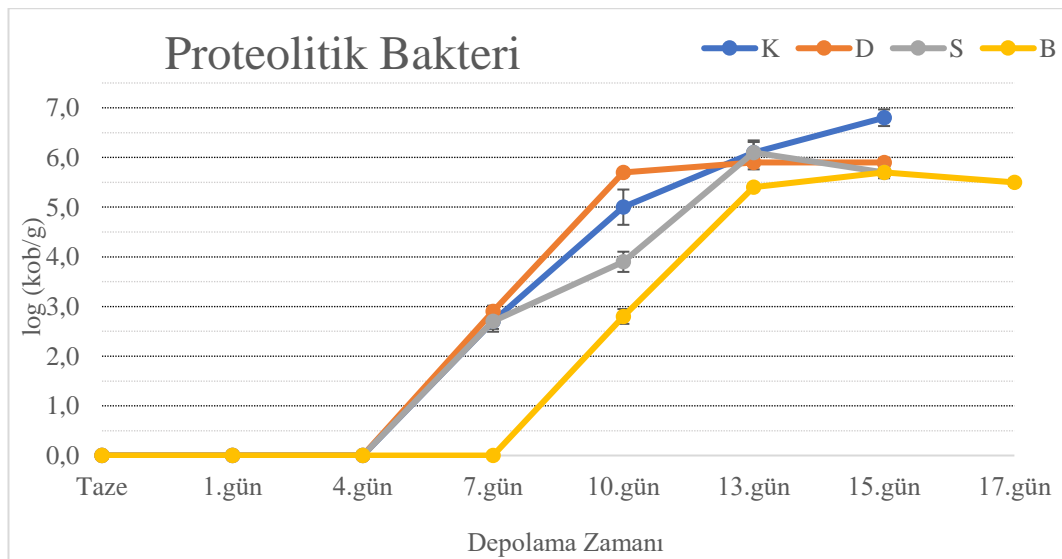
Çizelge 4.22. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan proteolitik bakteri sonuçları

	Proteolitik Bakteri			
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>1.gün</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>4.gün</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>7.gün</i>	2.7 ± 0.2 ^{aB}	2.9 ± 0.1 ^{aB}	2.7 ± 0.2 ^{aB}	<1 ^{bA}
<i>10.gün</i>	5.0 ± 0.4 ^{bC}	5.7 ± 0.0 ^{aC}	3.9 ± 0.2 ^{cC}	2.8 ± 0.1 ^{dB}
<i>13.gün</i>	6.1 ± 0.2 ^{aD}	5.9 ± 0.1 ^{aC}	6.1 ± 0.2 ^{aD}	5.4 ± 0.0 ^{bC}
<i>15.gün</i>	6.8 ± 0.2 ^{aE}	5.9 ± 0.1 ^{bC}	5.7 ± 0.1 ^{bD}	5.7 ± 0.1 ^{bC}
<i>17.gün</i>	-	-	-	5.5 ± 0.1 ^{aC}

Petirlerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.30. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan proteolitik bakteri sonuçları

Proteolitik bakteri sonuçlarına göre K, D ve S gruplarının 7. güne; B grubunun ise 10. güne kadar sayılabilir limitin altında kaldığı görülmektedir. Depolamanın 15. gününde K, D, S ve B gruplarının proteolitik bakteri yükü sırasıyla 6.8, 5.9, 5.7 ve 5.7 log olarak tespit edilmiş ve oksitetrasiklin uygulanan grupların kontrol grubu ile arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (P<0.05).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan maya&küf sonuçları Çizelge 4.23 ve Şekil 4.31’de verilmiştir.

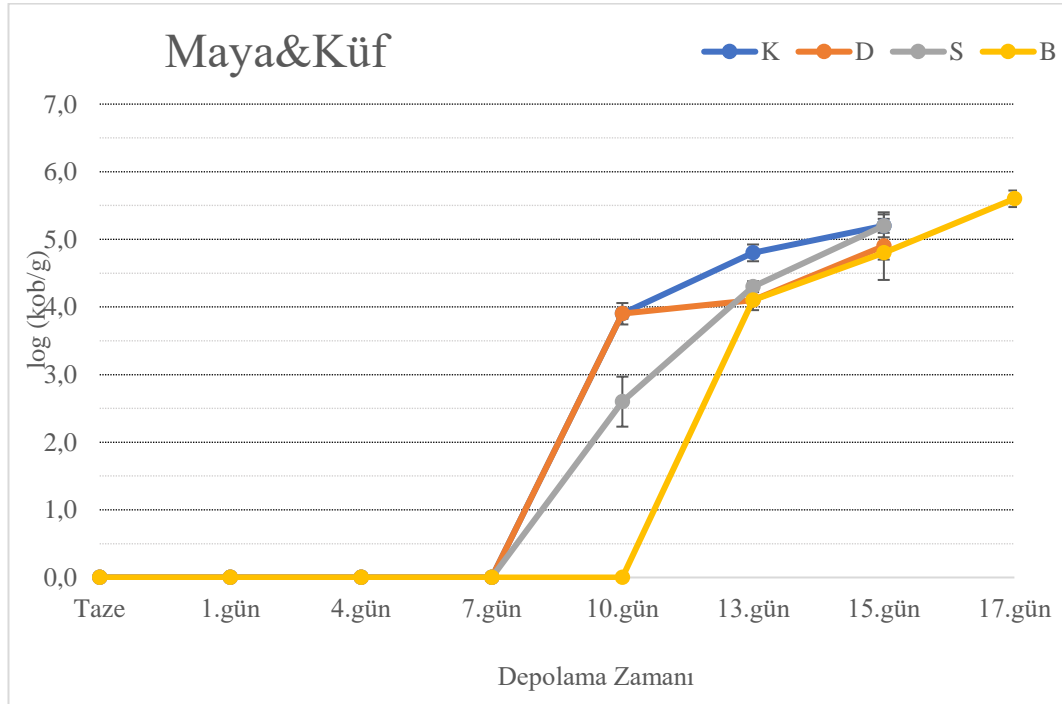
Çizelge 4.23. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan maya&küf sonuçları

	Maya&Küf			
	K	D	S	B
Taze	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A	0 ±0.0 ^A
1.gün	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	0 ±0.0 ^A
4.gün	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
7.gün	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
10.gün	3.9 ±0.2 ^{aB}	3.9 ±0.1 ^{aB}	2.6 ±0.4 ^{bB}	<1 ^{cA}
13.gün	4.8 ±0.1 ^{aC}	4.1 ±0.1 ^{bB}	4.3 ±0.1 ^{bC}	4.1 ±0.0 ^{bB}
15.gün	5.2 ±0.1 ^{aD}	4.9 ±0.5 ^{bC}	5.2 ±0.2 ^{aD}	4.8 ±0.1 ^{bC}
17.gün	-	-	-	5.6 ±0.1 ^{aD}

Petrilerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.31. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan maya&küf sonuçları

Maya&küf sonuçları proteolitik bakteri sonuçları gibi başlangıçta sayılabilir limit değerinin altında kalmıştır. Depolamanın ilk günlerinde K ve D grubun arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P>0.05$). Depolamanın 13. gününde oksitetrasikilin uygulanan grupların maya&küf yükü kontrol grubundan daha az miktarlarda olsa da depolamanın ilerleyen günlerinde K, D ve S gruplarında hemen hemen aynı miktarlarda gelişme gözlenmiştir. Depolamanın 15. gününde K, D, S ve B grubu sırasıyla 5.2, 4.9, 5.2 ve 4.8 log olarak tespit edilmiştir.

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan psikrotrofik bakteri sonuçları Çizelge 4.24 ve Şekil 4.32’de verilmiştir.

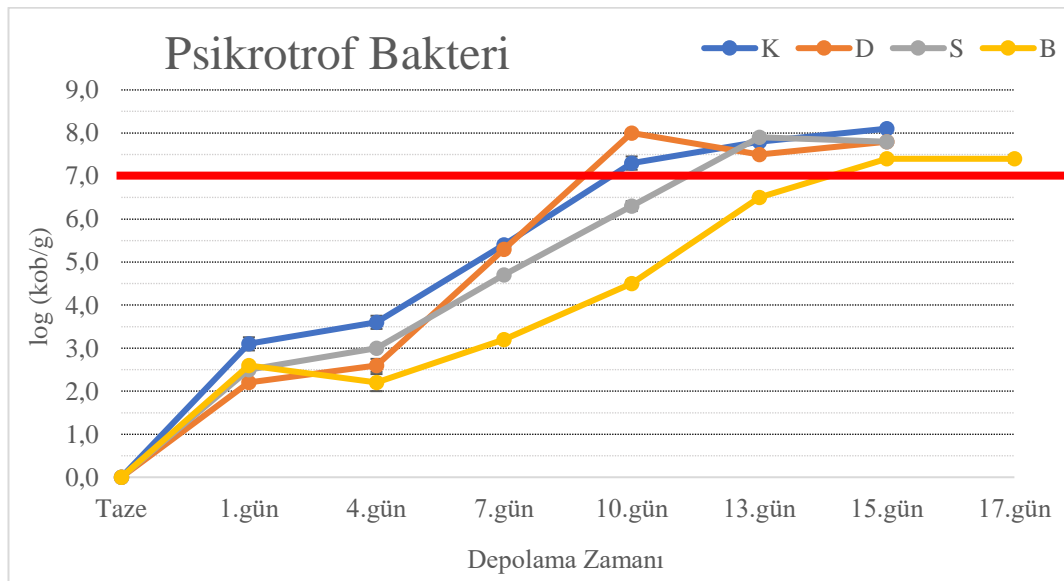
Çizelge 4.24. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan psikrotrofik bakteri sonuçları

Psikrotrofik Bakteri				
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}	<1 ^{aA}
<i>1.gün</i>	3.1 ±0.2 ^{aB}	2.2 ±0.2 ^{cB}	2.5 ±0.1 ^{bB}	2.6 ±0.0 ^{bB}
<i>4.gün</i>	3.6 ±0.2 ^{aB}	2.6 ±0.2 ^{cB}	3.0 ±0.0 ^{bC}	2.2 ±0.2 ^{dB}
<i>7.gün</i>	5.4 ±0.0 ^{aC}	5.3 ±0.1 ^{aC}	4.7 ±0.0 ^{bD}	3.2 ±1.1 ^{cC}
<i>10.gün</i>	7.3 ±0.2 ^{bD}	8.0 ±0.0 ^{aE}	6.3 ±0.1 ^{eE}	4.5 ±0.1 ^{dD}
<i>13.gün</i>	7.8 ±0.1 ^{aE}	7.5 ±0.1 ^{bD}	7.9 ±0.0 ^{aF}	6.5 ±0.1 ^{cE}
<i>15.gün</i>	8.1 ±0.0 ^{aE}	7.8 ±0.0 ^{aE}	7.8 ±0.0 ^{aF}	7.4 ±0.1 ^{bF}
<i>17.gün</i>	-	-	-	7.4 ±0.1 ^{aF}

Petrilerdeki koloni sayısı 30 altında olan sonuçlar <1 olarak gösterilmiştir.

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.32. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan psikrotrofik bakteri sonuçları

Psikrotrof bakteri yükünün ilk günden itibaren tüm gruplarda arttığı ancak kontrol ve D grubundaki artışın daha hızlı olarak 10. günde limit değeri aştığı tespit edilmiştir. Oksitetrasiklinin sprej ve buz yöntemi ile uygulandığı gruplarda ise limit değerin sırasıyla 13. ve 15. günlerde aşıldığı belirlenmiştir. Psikrotrof açısından bakteri yükünün B grubunda depolama boyunca daha yavaş bir artışın olduğu gözlenmiş ve istatistiksel açıdan bu fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Çalışma boyunca hiçbir grupta *Vibrionaceae* varlığına rastlanamamıştır.

4.4.3. Depolanan grupların kimyasal analiz sonuçları

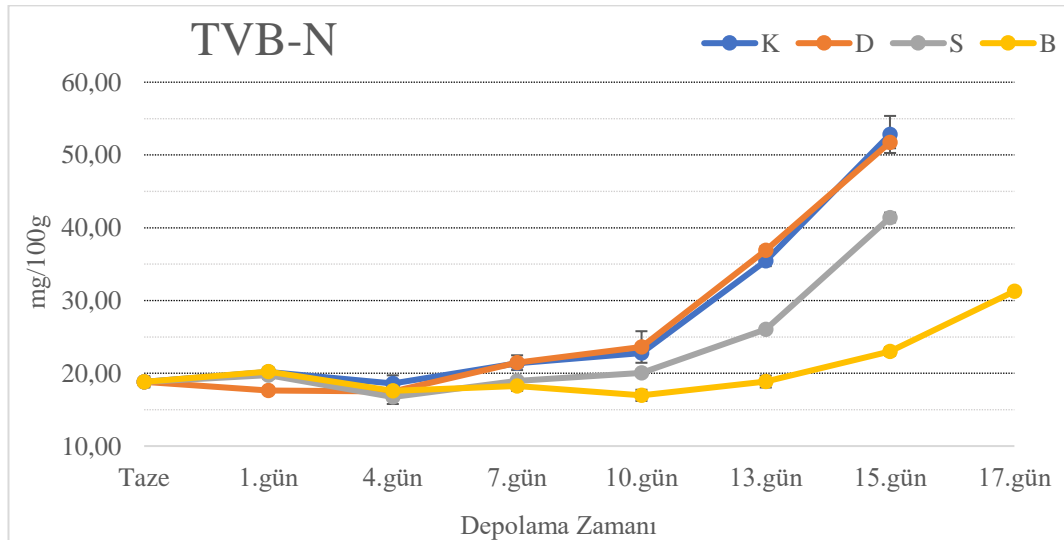
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TVB-N sonuçları Çizelge 4.25 ve Şekil 4.33'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TVB-N sonuçları

	TVB-N (mg/100g)			
	K	D	S	B
Taze	18.82 ±0.07 ^{aE}	18.82 ±0.07 ^{aD}	18.82 ±0.07 ^{aD}	18.82 ±0.07 ^{aD}
1.gün	20.20 ±0.58 ^{aD}	17.65 ±0.30 ^{cE}	19.76 ±0.55 ^{bC}	20.22 ±0.43 ^{aC}
4.gün	18.60 ±1.12 ^{aE}	17.50 ±0.48 ^{bE}	16.74 ±0.96 ^{cE}	17.59 ±0.27 ^{bE}
7.gün	21.37 ±0.48 ^{aC}	21.46 ±1.02 ^{aC}	18.96 ±0.22 ^{bD}	18.25 ±0.66 ^{bD}
10.gün	22.78 ±0.36 ^{bC}	23.61 ±2.17 ^{aC}	20.04 ±0.28 ^{cC}	16.97 ±0.77 ^{dE}
13.gün	35.46 ±0.74 ^{aB}	36.89 ±0.59 ^{aB}	26.04 ±0.20 ^{bB}	18.87 ±0.82 ^{cD}
15.gün	52.82 ±2.54 ^{aA}	51.73 ±0.81 ^{aA}	41.41 ±0.67 ^{bA}	23.00 ±0.56 ^{cB}
17.gün	-	-	-	31.26 ±0.32 ^{aA}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.33. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TVB-N sonuçları

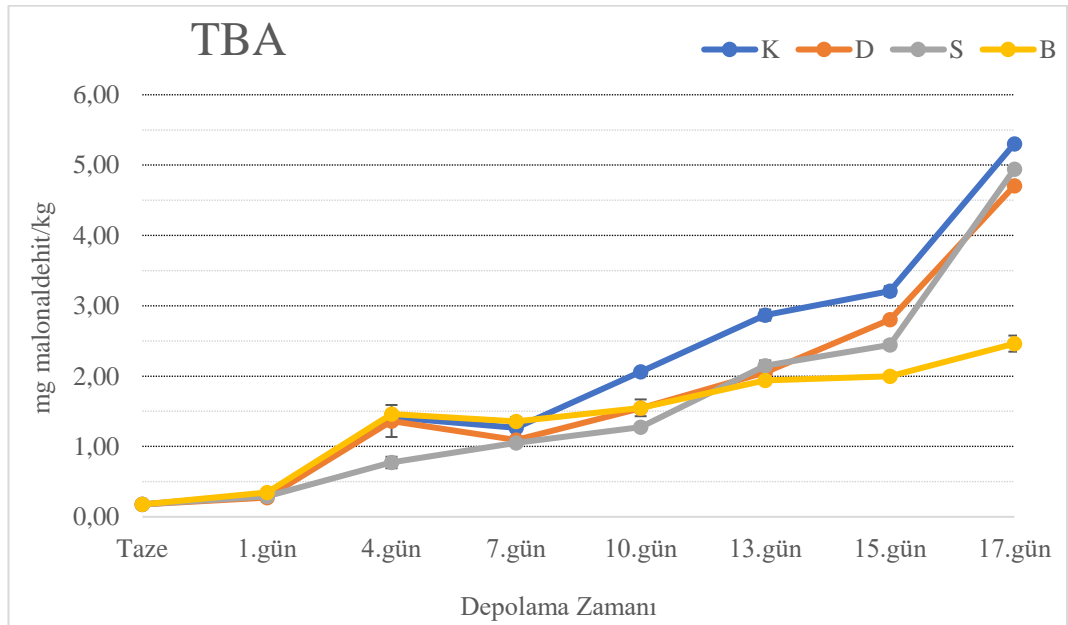
İlk gün taze çipuralarda TVB-N değeri 18.82 mg/100g olarak belirlenmiştir. Depolamanın 4. gününde itibaren tüm grupların TVB-N değerlerinde anlamlı bir artış görülmüş, K ve D gruplarındaki artış diğer gruplara oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir. K ve D grupları depolamanın 13. gününde sınır değerlerini (35 mg/100g) aşarken, S grubu 15. günde tüketilebilir sınır değerini aşmıştır. B grubu ise depolama boyunca sınır değerleri içerisinde kalmıştır. K ve D grupları arasında istatistiksel bir fark görülmezken ($P>0.05$), diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TBA sonuçları Çizelge 4.26 ve Şekil 4.34'de verilmiştir.

Çizelge 4.26. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TBA sonuçları

	TBA (mg malonaldehit/kg)			
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	0.18 ±0.00 ^{aF}	0.18 ±0.00 ^{aF}	0.18 ±0.00 ^{aE}	0.18 ±0.00 ^{aD}
<i>1.gün</i>	0.33 ±0.04 ^{aF}	0.27 ±0.06 ^{bF}	0.29 ±0.02 ^{bE}	0.35 ±0.03 ^{aD}
<i>4.gün</i>	1.42 ±0.08 ^{aE}	1.36 ±0.23 ^{aD}	0.77 ±0.08 ^{bD}	1.46 ±0.04 ^{aC}
<i>7.gün</i>	1.26 ±0.03 ^{aE}	1.09 ±0.01 ^{bE}	1.05 ±0.02 ^{bD}	1.35 ±0.06 ^{aC}
<i>10.gün</i>	2.06 ±0.03 ^{aD}	1.54 ±0.05 ^{bD}	1.28 ±0.02 ^{cC}	1.55 ±0.12 ^{bC}
<i>13.gün</i>	2.87 ±0.08 ^{aC}	2.05 ±0.04 ^{bcC}	2.15 ±0.07 ^{bb}	1.94 ±0.04 ^{cB}
<i>15.gün</i>	3.21 ±0.07 ^{aB}	2.81 ±0.03 ^{bb}	2.44 ±0.06 ^{cb}	2.00 ±0.01 ^{dB}
<i>17.gün</i>	5.30 ±0.01 ^{aA}	4.71 ±0.02 ^{ba}	4.94 ±0.03 ^{ba}	2.46 ±0.11 ^{cA}

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.34. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TBA sonuçları

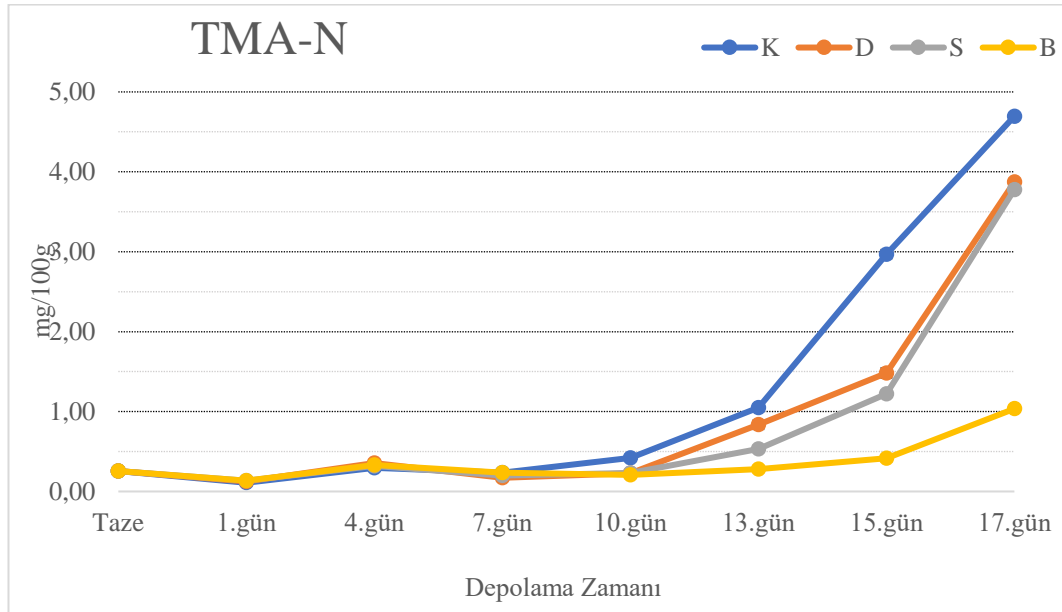
Çalışmada kullanılan çipuraların taze TBA değeri 0.18 mg malonaldehit/kg olarak belirlenmiştir. Depolama boyunca tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüş ve aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur (P<0.05). Depolama sonunda K, D, S ve B gruplarının TBA değerleri sırasıyla 5.30, 4.71, 4.94 ve 2.46 mg malonaldehit/kg olarak tespit edilmiştir. Hiçbir grubun TBA değeri tüketilebilir sınır değeri olan 8 mg malonaldehit/kg'ı aşmamıştır. Ancak depolamanın sonunda D ve S gruplarının TBA değeri, B grubunun TBA değerinin yaklaşık iki katı olduğu net olarak görülmektedir.

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TMA-N sonuçları Çizelge 4.27 ve Şekil 4.35'da verilmiştir.

Çizelge 4.27. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TMA-N sonuçları

	TMA-N (mg/100g)			
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	0.25 ±0.03 ^{aD}	0.25 ±0.03 ^{aD}	0.25 ±0.03 ^{aD}	0.25 ±0.03 ^{aC}
<i>1.gün</i>	0.11 ±0.02 ^{aE}	0.12 ±0.00 ^{aE}	0.14 ±0.02 ^{aE}	0.14 ±0.02 ^{aD}
<i>4.gün</i>	0.30 ±0.02 ^{aD}	0.36 ±0.01 ^{aD}	0.32 ±0.05 ^{aD}	0.33 ±0.02 ^{aC}
<i>7.gün</i>	0.24 ±0.04 ^{aD}	0.17 ±0.02 ^{bE}	0.20 ±0.02 ^{abD}	0.24 ±0.03 ^{aC}
<i>10.gün</i>	0.42 ±0.02 ^{aD}	0.23 ±0.00 ^{bD}	0.23 ±0.02 ^{bD}	0.21 ±0.02 ^{bC}
<i>13.gün</i>	1.05 ±0.03 ^{aC}	0.83 ±0.05 ^{bC}	0.53 ±0.02 ^{cC}	0.28 ±0.03 ^{dC}
<i>15.gün</i>	2.97 ±0.05 ^{aB}	1.48 ±0.06 ^{bB}	1.22 ±0.01 ^{cB}	0.42 ±0.04 ^{dB}
<i>17.gün</i>	4.70 ±0.01 ^{aA}	3.87 ±0.04 ^{bA}	3.78 ±0.02 ^{bA}	1.03 ±0.03 ^{cA}

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.35. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan TMA-N sonuçları

Çalışmada kullanılan taze çipuraların TMA-N değeri 0.25 mg/100g olarak belirlenmiştir. Depolamanın boyunca TBA sonuçlarına benzer bir şekilde tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüş ve aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Depolama sonunda K, D, S ve B gruplarının TMA-N değerleri sırasıyla 4.70, 3.87, 3.78 ve 1.03 mg/100g olarak belirlenmiştir. Depolamanın sonunda B grubunun TMA-N değeri; tüm gruplar içerisinde en düşük seviyede olduğu; K grubunun ise en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Tüm grupların TMA-N değerleri tüketilebilir sınır değeri olan 8 mg/100g'ın altında kaldığı görülmüştür.

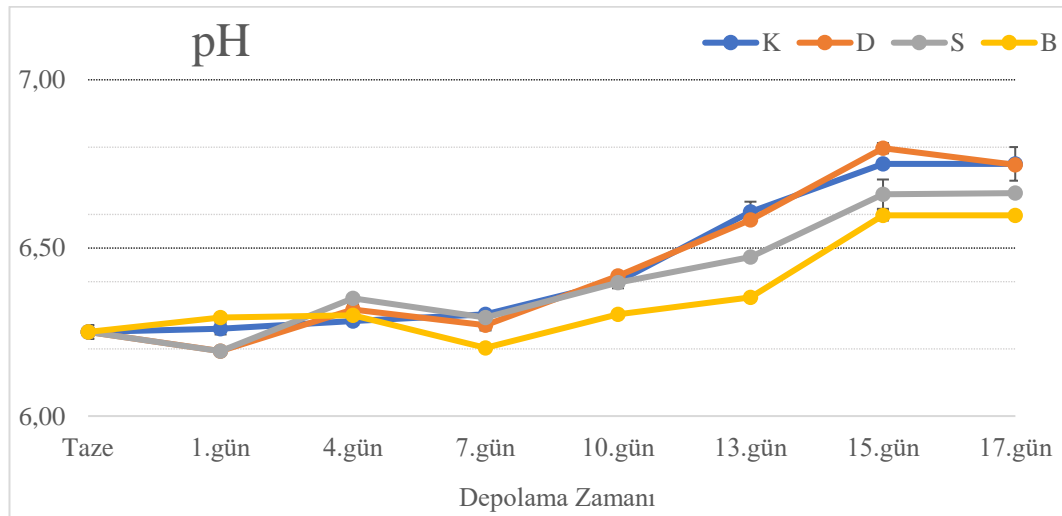
4.4.4. Depolanan grupların fiziksel analiz sonuçları

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan pH sonuçları Çizelge 4.28 ve Şekil 4.36'de verilmiştir.

Çizelge 4.28. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan pH sonuçları

	pH			
	K	D	S	B
Taze	6.25 ±0.02 ^{aD}	6.25 ±0.02 ^{aC}	6.25 ±0.02 ^{aC}	6.25 ±0.02 ^{aC}
1.gün	6.26 ±0.02 ^{aD}	6.19 ±0.01 ^{bD}	6.19 ±0.01 ^{bD}	6.29 ±0.01 ^{aB}
4.gün	6.28 ±0.01 ^{aD}	6.32 ±0.02 ^{aC}	6.35 ±0.01 ^{aC}	6.30 ±0.02 ^{aB}
7.gün	6.30 ±0.01 ^{aD}	6.27 ±0.02 ^{aC}	6.29 ±0.01 ^{aC}	6.20 ±0.01 ^{bC}
10.gün	6.40 ±0.02 ^{aC}	6.42 ±0.00 ^{aB}	6.40 ±0.01 ^{aB}	6.30 ±0.01 ^{bB}
13.gün	6.61 ±0.03 ^{aB}	6.58 ±0.01 ^{aB}	6.47 ±0.01 ^{bB}	6.35 ±0.01 ^{cB}
15.gün	6.75 ±0.01 ^{aA}	6.80 ±0.02 ^{aA}	6.66 ±0.04 ^{bA}	6.60 ±0.02 ^{bA}
17.gün	6.75 ±0.05 ^{aA}	6.75 ±0.02 ^{aA}	6.66 ±0.02 ^{bA}	6.60 ±0.01 ^{bA}

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.36. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan pH sonuçları

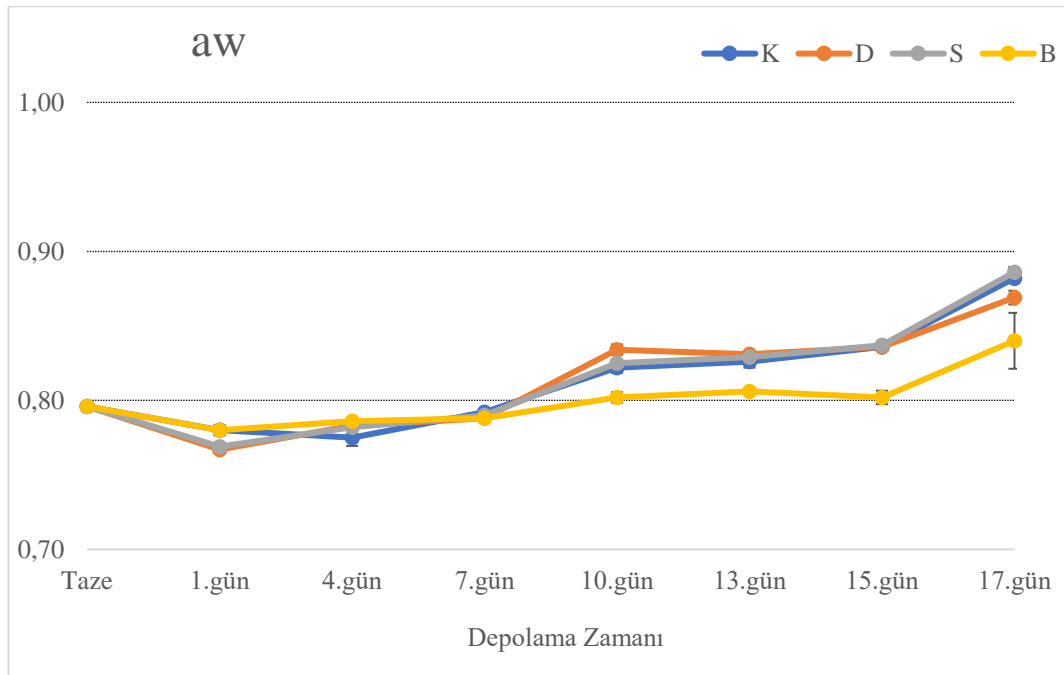
Başlangıç taze çipura balıklarında pH değeri 6.25 olarak belirlenmiştir. Depolama süresince kontrol grubunda sürekli bir artış söz konusu iken oksitetrasiklin uygulanmış gruplarda 7. günde bir düşüştü sonra artış gözlenmiştir. Depolamanın 13. gününden itibaren özellikle K ve D grubunda diğer gruplara oranla bu artışın daha fazla olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). Depolama sonunda K, D, S ve B grubunun pH değerleri sırasıyla 6.75, 6.75, 6.66 ve 6.60 olarak tespit edilmiştir. K ve D ile S ve B gruplarının pH değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuştur ($P>0.05$).

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan su aktivitesi sonuçları Çizelge 4.29 ve Şekil 4.37’de verilmiştir.

Çizelge 4.29. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan su aktivitesi sonuçları

	<i>Su Aktivitesi (a_w)</i>			
	K	D	S	B
<i>Taze</i>	0.80 ±0.00 ^{aB}	0.80 ±0.00 ^{aB}	0.80 ±0.00 ^{aB}	0.80 ±0.00 ^{aB}
<i>1.gün</i>	0.78 ±0.00 ^{aB}	0.77 ±0.00 ^{bB}	0.77 ±0.00 ^{bB}	0.78 ±0.00 ^{aC}
<i>4.gün</i>	0.78 ±0.00 ^{bB}	0.78 ±0.00 ^{bB}	0.78 ±0.00 ^{bB}	0.79 ±0.00 ^{aB}
<i>7.gün</i>	0.79 ±0.00 ^{aB}	0.79 ±0.00 ^{aB}	0.79 ±0.00 ^{aB}	0.79 ±0.00 ^{aB}
<i>10.gün</i>	0.82 ±0.00 ^{aA}	0.83 ±0.00 ^{aA}	0.83 ±0.00 ^{aA}	0.80 ±0.00 ^{bB}
<i>13.gün</i>	0.83 ±0.00 ^{aA}	0.83 ±0.00 ^{aA}	0.83 ±0.00 ^{aA}	0.81 ±0.00 ^{bB}
<i>15.gün</i>	0.84 ±0.00 ^{aA}	0.84 ±0.00 ^{aA}	0.84 ±0.00 ^{aA}	0.80 ±0.00 ^{bB}
<i>17.gün</i>	0.88 ±0.00 ^{aA}	0.87 ±0.00 ^{bA}	0.89 ±0.00 ^{aA}	0.84 ±0.02 ^{cA}

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.37. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan su aktivitesi sonuçları

Laboratuvara getirilen taze ıpuralarda su aktivitesi (a_w) değeri 0.80 olarak belirlenmiştir. Depolamanın boyunca tüm grupların a_w değerlerinde çok az artış meydana gelmiş ve istatistiksel olarak aralarındaki farkın anlamsız olduğu belirlenmiştir ($P>0.05$). Depolama sonunda K, D, S ve B gruplarının a_w değerleri sırasıyla 0.88, 0.87, 0.89 ve 0.84 olarak tespit edilmiştir.

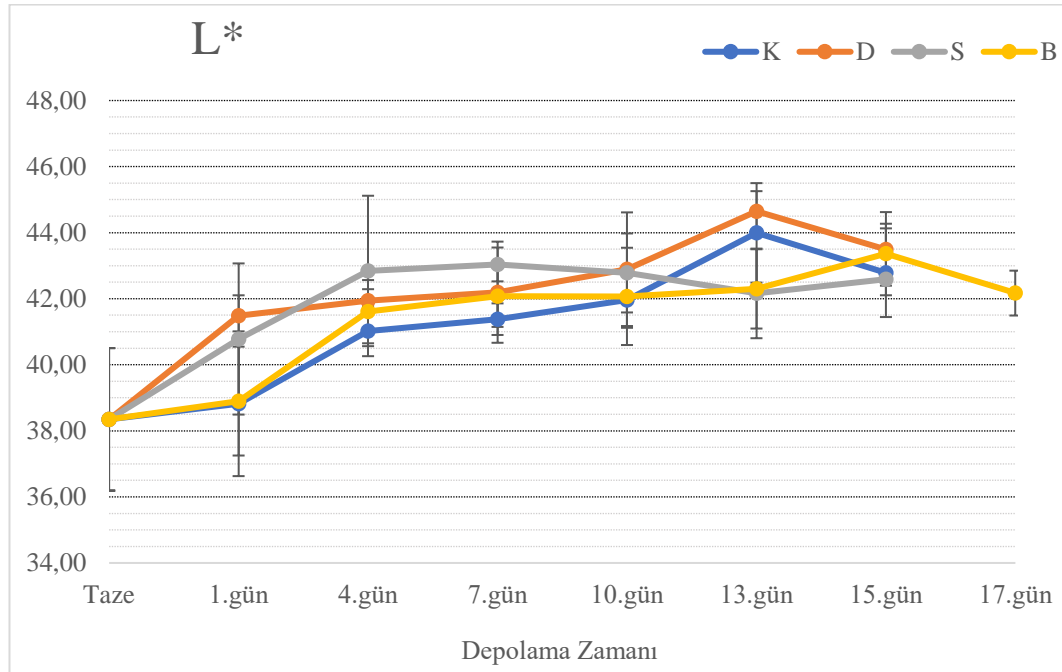
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan L^* (parlaklık) sonuçları izelge 4.30 ve Şekil 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.30. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan L^* sonuçları

	L^*			
	K	D	S	B
Taze	38.35 \pm 2.16 ^{aC}	38.35 \pm 2.16 ^{aD}	38.35 \pm 2.16 ^{aC}	38.35 \pm 2.16 ^{aC}
1.gn	38.82 \pm 2.19 ^{bC}	41.48 \pm 0.62 ^{aC}	40.78 \pm 2.29 ^{aB}	38.90 \pm 1.65 ^{bC}
4.gn	41.02 \pm 0.76 ^{cB}	41.94 \pm 0.35 ^{bC}	42.84 \pm 2.28 ^{aA}	41.61 \pm 0.96 ^{bB}
7.gn	41.38 \pm 0.48 ^{cB}	42.20 \pm 1.53 ^{bB}	43.04 \pm 0.51 ^{aA}	42.08 \pm 0.93 ^{bA}
10.gn	41.96 \pm 0.84 ^{bB}	42.89 \pm 1.72 ^{aB}	42.78 \pm 1.20 ^{aA}	42.07 \pm 1.47 ^{bA}
13.gn	43.99 \pm 1.51 ^{bA}	44.65 \pm 0.61 ^{aA}	42.16 \pm 1.36 ^{cA}	42.30 \pm 1.20 ^{cA}
15.gün	42.79 \pm 1.34 ^{bA}	43.49 \pm 0.78 ^{aA}	42.59 \pm 0.20 ^{bA}	43.36 \pm 1.26 ^{aA}
17.gün	-	-	-	42.17 \pm 0.68 ^{aA}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

stsel olarak verilen büyük harfler stnlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.38. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan L^* sonuçları

Taze çipura balıklarının L* değeri 38.35 olarak belirlenmiştir. Depolamanın boyunca tüm grupların L* değerlerinde az miktarda artış görülmüş ve istatistiksel olarak gruplar arasındaki farkın anlamsız olduğu belirlenmiştir (P>0.05).

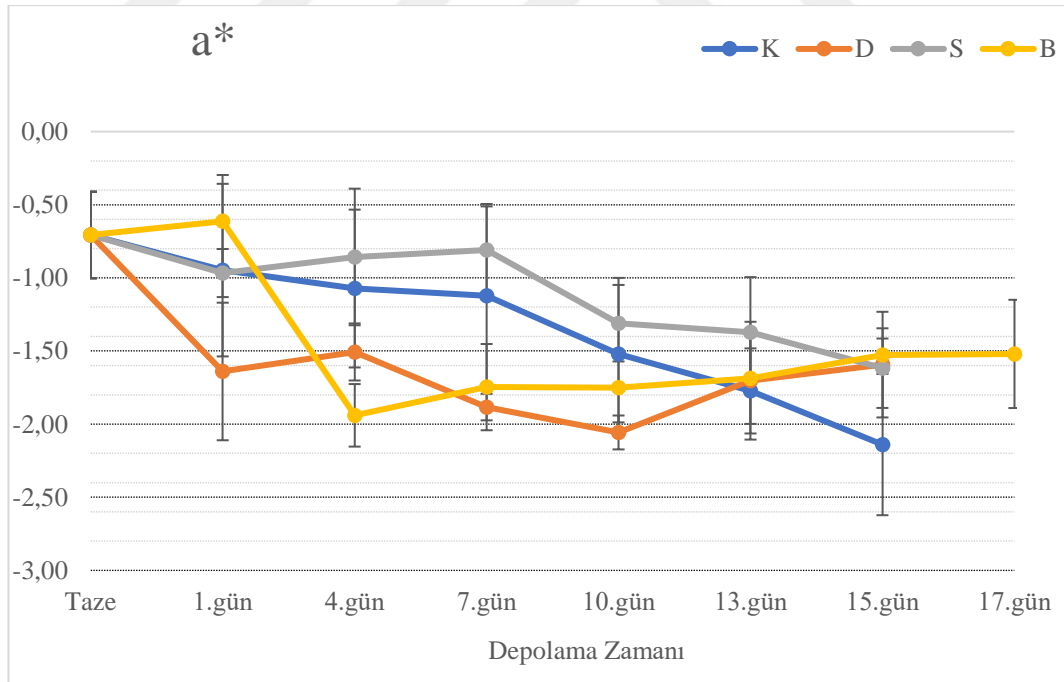
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan a* (kırmızı/yeşil) sonuçları Çizelge 4.31 ve Şekil 4.39'da verilmiştir.

Çizelge 4.31. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan a* sonuçları

	a*			
	K	D	S	B
Taze	-0.71 ±0.30 ^{aA}	-0.71 ±0.30 ^{aA}	-0.71 ±0.30 ^{aA}	-0.71 ±0.30 ^{aA}
1.gün	-0.95 ±0.59 ^{bB}	-1.64 ±0.47 ^{cB}	-0.97 ±0.16 ^{bA}	-0.61 ±0.32 ^{aA}
4.gün	-1.07 ±0.54 ^{aB}	-1.51 ±0.20 ^{bB}	-0.86 ±0.47 ^{aA}	-1.94 ±0.21 ^{cD}
7.gün	-1.12 ±0.63 ^{bB}	-1.88 ±0.09 ^{cC}	-0.81 ±0.30 ^{aA}	-1.75 ±0.29 ^{cC}
10.gün	-1.52 ±0.52 ^{abC}	-2.06 ±0.12 ^{cD}	-1.31 ±0.26 ^{aB}	-1.75 ±0.24 ^{bC}
13.gün	-1.77 ±0.29 ^{bC}	-1.70 ±0.18 ^{bB}	-1.37 ±0.38 ^{aB}	-1.69 ±0.31 ^{bBC}
15.gün	-2.14 ±0.48 ^{cD}	-1.59 ±0.36 ^{bB}	-1.62 ±0.34 ^{bC}	-1.53 ±0.11 ^{aB}
17.gün	-	-	-	-1.52 ±0.37 ^{aB}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).



Şekil 4.39. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan a* sonuçları

Taze çipura balıklarının a* değeri ise -0.71 olarak belirlenmiştir. Depolamanın boyunca tüm grupların a* değerlerinde negatif yönde bir artış (kırmızı renkte azalış, yeşil renkte artış) tespit edilmiş ve istatistiksel olarak S grubunun diğer gruplar ile

arasındaki farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Yeşil renge doğru en fazla artış genel olarak K ve D gruplarında görülmüştür.

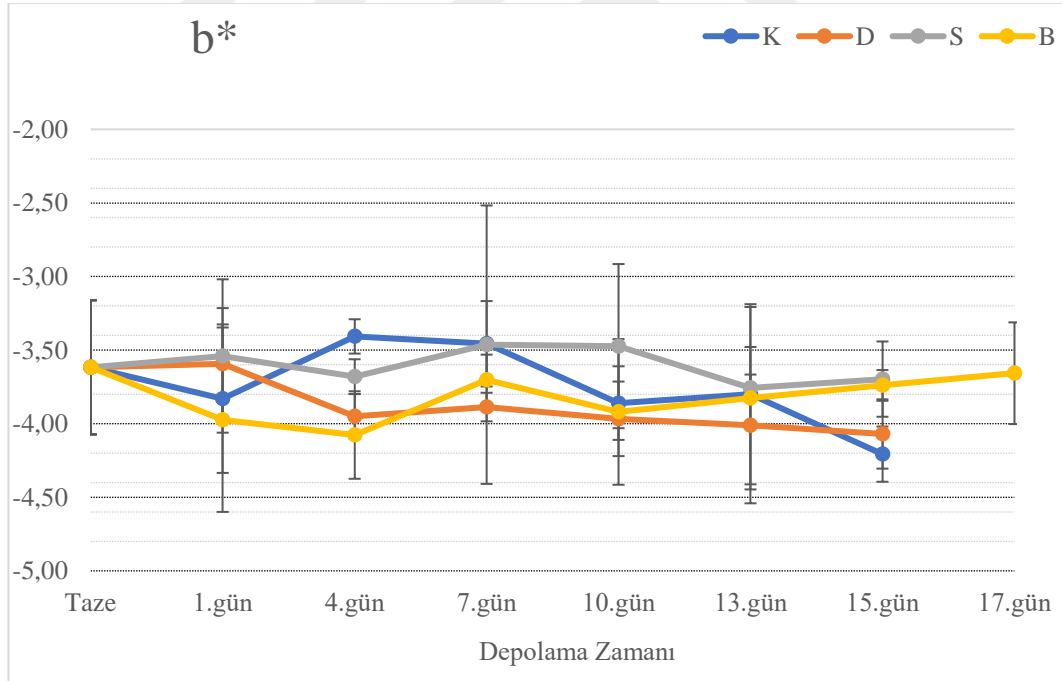
Depolama süresince analiz günlerinde yapılan b^* (sarı/mavi) sonuçları Çizelge 4.32 ve Şekil 4.40'de verilmiştir.

Çizelge 4.32. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan b^* sonuçları

	b^*			
	K	D	S	B
Taze	-3.62 ±0.46 ^{aAB}	-3.62 ±0.46 ^{aA}	-3.62 ±0.46 ^{aB}	-3.62 ±0.46 ^{aA}
1.gün	-3.83 ±0.50 ^{bB}	-3.59 ±0.38 ^{aA}	-3.54 ±0.52 ^{aAB}	-3.97 ±0.63 ^{cB}
4.gün	-3.41 ±0.12 ^{aA}	-3.95 ±0.15 ^{cB}	-3.68 ±0.12 ^{bB}	-4.08 ±0.30 ^{dC}
7.gün	-3.46 ±0.29 ^{aA}	-3.89 ±0.10 ^{cB}	-3.46 ±0.95 ^{aA}	-3.70 ±0.17 ^{bA}
10.gün	-3.86 ±0.25 ^{cB}	-3.97 ±0.25 ^{bBC}	-3.47 ±0.56 ^{aA}	-3.92 ±0.50 ^{bB}
13.gün	-3.80 ±0.61 ^{bB}	-4.01 ±0.53 ^{cC}	-3.76 ±0.09 ^{aC}	-3.83 ±0.62 ^{bAB}
15.gün	-4.21 ±0.19 ^{cC}	-4.07 ±0.66 ^b	-3.70 ±0.26 ^{aC}	-3.74 ±0.10 ^{aA}
17.gün	-	-	-	-3.66 ±0.35 ^{aA}

-Duyusal bozulma gerçekleştiği için analiz yapılmamıştır.

Üstsel olarak verilen büyük harfler sütunlar, küçük harfler satırlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.40. Depolama süresince analiz günlerinde yapılan b^* sonuçları

Taze çipura balıklarının b^* değeri -3.62 olarak belirlenmiştir. Depolamanın boyunca tüm grupların b^* değerlerinde negatif yönde (sarı renkte azalış, mavi renkte artış) bir artış tespit edilmiş ve istatistiksel olarak yine S grubunun diğer gruplar ile arasındaki farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). En fazla artış a^* değerine benzer olarak

K ve D gruplarında görülürken, depolama günlerine bağlı olarak en az artışın ise S grubunda olduğu tespit edilmiştir.

4.4.5. Depolanan grupların besin analiz sonuçları

Depolama süresince analiz günlerinde yapılan besin kompozisyonu sonuçları Çizelge 4.33'de verilmiştir.

Çizelge 4.33. Taze ve depolama sonunda yapılan besin kompozisyonu analiz sonuçları

		Besin Kompozisyonu (%)			
		Protein	Yağ	Nem	Kül
Depolama Başı	TAZE	18.56 ±0.41 ^a	10.55 ±0.82 ^a	68.23 ±0.48 ^a	1.64 ±0.12 ^b
Depolama Sonu (17. gün)	K	17.57 ±0.10 ^b	9.00 ±0.84 ^b	70.60 ±1.07 ^c	1.43 ±0.03 ^{cd}
	D	16.97 ±0.20 ^c	6.74 ±0.37 ^d	73.55 ±1.13 ^b	1.55 ±0.05 ^{bc}
	S	16.53 ±0.03 ^c	8.55 ±0.64 ^c	72.17 ±0.81 ^b	1.38 ±0.02 ^d
	B	18.23 ±0.05 ^a	10.49 ±0.72 ^a	67.97 ±0.89 ^a	2.57 ±0.10 ^a

Üstsel olarak verilen harfler sütunlar arası istatistiksel karşılaştırmayı ifade etmektedir. Farklı harfler gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (P<0.05).

Depolama başında taze çipuraların %protein, yağ, nem ve kül içeriği sırasıyla 18.56, 10.55, 68.23 ve 1.64 olarak belirlenmiştir. Depolama sonunda K, D ve S gruplarının %protein, yağ, nem ve kül içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülürken (P>0.05), B gruplarında değişim anlamsız bulunmuştur (P<0.05).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

İnsanoğlunun beslenmesinde önemli bir yeri olan su ürünleri; uygun avlama, işleme ve depolama şartları dışında oldukça hızlı bozulan bir gıda maddesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Her ne kadar balık eti hasattan sonra steril olarak kabul edilse de hasattan sonraki süreçlerde yalnızca solungaç deri ve iç organlarda bulunan mikroorganizmalar değil ayrıca taşıma, işleme, depolama gibi yapılan her türlü işlem sırasında dışardan kontaminasyon da söz konusu olmaktadır (Çaklı ve Kışla, 2003; Öksüztepe vd., 2010). Bu yüzden spesifik bozulma etmeni mikroorganizmaların belirlenmesi ve inhibe edici yolların araştırılması mikrobiyolojik kaliteyi koruyabilmek için önem arz etmektedir.

Çalışma materyali olarak Muğla ilinin su ürünleri üretiminde ve ihracatında önemli yeri olan, ülkemizde sevilerek tüketilen çipura balığı seçilmiştir. Ilıman sularda yaşayan çipurada doğal yaşam sürecinde deri, solungaç ve sindirim sistemindeki mikroflora *Pseudomonas*, *Morexella*, *Acinetobacter*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia* gibi türlerden oluşmaktadır. Çalışmada öncelikle çipuranın aerobik şartlarda soğukta muhafaza edildiğinde bozulma etmeni olan mikroorganizmaların belirlenmesi hedeflenmiştir. Bunun için ağ kafes ve toprak havuzdan temin edilen balıklar aerobik şartlarda +4°C'de depolanmıştır. Depolama süresi, çipuranın raf ömrü üzerine yapılan diğer çalışmalarla (Grigorakis vd., 2003; Tsironi ve Taoukis, 2010; Parlapani vd. 2013) uyumlu olacak şekilde 16 gün olarak belirlenmiştir. Depolama süresince iki farklı kaynaktan temin edilen çipuralardan toplam bakteri, lipolitik bakteri, maya&küf ve psikrotrofik bakteri ekimleri yapılmıştır. Ekim sonuçlarına göre hem ağ kafes hem de toprak havuz örneklerinde 6 gün boyunca analizi yapılan bakterilerin gelişimi sayılabilir limit değerinin (<1 log) altında kalmıştır (Çizelge 4.2). Her iki kaynaktan temin edilen çipuraların toplam mezofilik bakteri yükü, depolamanın sonuna kadar ICMSF (1986) tarafından kabul edilebilir limit değer olarak belirlenmiş 7 log geçmediği belirlenmiştir. Psikrotrofik bakteri açısından iki grubun da depolamanın sonlarına doğru limit değeri geçtiği belirlenmiştir. Balıklara soğuk zincirin uygulandığı göz önüne alındığında soğuk seven psikrotrofik bakterileri artışının daha fazla olması beklenen bir sonuçtur. Diğer yandan lipolitik ve psikrotrofik bakteri artışı ağ kafes örneklerinde daha hızlı gerçekleşmiştir. Balıkların kimyasal kompozisyonu

ve mikroflorası yetiştirme, beslenme ve avlanma şekillerine göre farklılık gösterir (Haard, 1992; Marco vd., 2017). Buna göre ağ kafes ve toprak havuz örneklerindeki mikrobiyolojik farkın çipura balıklarının farklı boyutlarda ve yetiştirme ortamlarının farklı olmasından kaynaklanabileceği ve bu yüzden daha büyük ve daha yağlı olan ağ kafes balıklarında daha hızlı bir artışın gözlemlenmiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak saklama koşulları aynı olan iki grubun depolamanın sonunda mikrobiyolojik yüklerinin de hemen hemen aynı olduğu elde edilen sonuçlar da görülmektedir (Şekil 4.1).

Yapılan çalışmada hem ağ kafes hem de toprak havuz örneklerindeki mezofilik ve psikrotrofik bakterileri ekimlerinden depolama boyunca toplam 155 adet izolat alınmıştır (Çizelge 4.3). Bu izolatların hepsine moleküler tanımlama yapılacak maddi kaynak bulunmadığından dolayı, izolatlar gram boyama ve oksidaz test sonuçlarına göre gruplandırılmıştır (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Farklı gruplardan olmasına özen gösterilerek seçilen izolatlardan 19 tanesine hem API hem de 16S rDNA analizi, 45 tanesine yalnızca API ve 15 tanesine yalnızca 16S rDNA tanımlaması yapılmıştır.

API kit tanımları sonucu ağ kafes örneklerinde mezofilik bakteri izolatları; *A. junii/johnsonii*, *P. alcaligenes*, *A. hydrophila/caviae*, *P. fluorescens*; toprak havuz örneklerindeki ise *A. lwoffii*, *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. fluorescens* olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Ağ kafes örneklerindeki psikrotrofik bakteri izolatlarının API tanımlama sonuçları; *P. alcaligenes*, *Moraxella* spp., *R. pickettii*, *A. lwoffii*, *P. fluorescens*, *B. vesicularis*, *P. stutzeri*, *O. anthopi*, *B. cepacia*; toprak havuz psikrotrofik bakteri izolatları ise; *B. vesicularis*, *P. fluorescens*, *S. maltophilia*, *D. acidovorans*, *O. anthopi*, *P. stutzeri*, *P. orzyhabitans*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *S. paucimobilis*, *A. hydrophila/caviae* olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8). Çalışmamızda kullanılan çipura balıklarından alınan izolatlarda H₂S bakterilerine rastlanmamıştır.

Genetik tanımlama sonuçlarına göre ağ kafes örneklerinde toplam mezofilik bakteri ekimlerinden alınan izolatlar *A. bouvetii*, *S. warneri*, *P. fluorescens* group; toprak havuz örneklerindeki mezofilik izolatlar ise *A. lwoffii*, *P. lundensis*, *A. gandavensis*, *P. fluorescens* olarak tanımlanmıştır. Psikrotrofik bakteri ekimlerinden elde edilen izolatların genetik tanımlama sonuçları ise ağ kafes örneklerinde *Pseudomonas* sp., *P. cibarius*, *Acinetobacter* sp., *J. lividum*, *F. hercynium*, *P. fluorescens* group, *P. fragi*; toprak havuz örneklerinde ise *Frigoribacterium* sp., *P. lurida*, *Flavobacterium* sp., *A.*

citreus, *P. fluorescens*, *F. frigidimaris*, *F. branchiarum*, *A. johnsonii*, *P. fragi* olarak ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.9).

API kitleri ile yapılan tanımlamalar ile genetik tanımlar arasında bazı farklar mevcuttur. Yapılan literatür taramalarında farklı tanımlama yöntemleri ile örneğin hazırlanması, kullanılan kültür ortamı gibi nedenlerden farklı sonuçlar elde edilebileceği bu yüzden moleküler tanımların mutlaka yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Fonnesbech Vogel vd., 2005; Böhme vd., 2010; Uğur vd., 2012; Parlapani vd., 2013).

Tanımlama sonuçları genel olarak ele alındığında az sayıda tespit edilen gram negatif oksidaz negatif izolatlar *Acinetobacter* spp. (3, 5, 9, 77, 149) olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilk günlerinde her iki kaynaktaki çipuralardan da izole edilen gram pozitif türler ise *Frigoribacterium* sp., *Arthrobacter* spp., *Stahpylococcus* sp. olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 12. gününden itibaren hem ağ kafes hem de toprak havuzdaki izolatlar gram negatif oksidaz pozitif türlerden oluşmaktadır. Genetik tanımlama sonuçlarına göre hem ağ kafes hem de toprak havuz örneklerinin SBO'larının *P. fragi* ve *P. fluorescens* grup olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamıza benzer olarak Parlapani vd. (2013) çipuranın başlangıç dominant mikroflorası *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Pseudomonas* ve *Flavobacterium* türlerini içerirken iken bozulma etmeni mikroorganizmaları *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve *Shewanella* olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca Parlapani vd. (2014)'nin çipura balığının farklı şartlar ve sıcaklıktaki bozulma mikroflorasını belirledikleri diğer bir çalışmada tüm deneme koşulları altında *Pseudomonas* spp.'nin dominant olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızdan farklı olarak H₂S (*Shewanella putrefaciens*) ve *Enterobacteriaceae* bakteri türlerinin de mevcut olduğunu belirtmişlerdir. Bu farklılığın çipuraların temin edildiği suların kirlilik oranı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Zira kirli kaynaklardan elde edilen balıklarda *Enterobacteriaceae* türlerinin bozulmadan sorumlu olabileceği aktarılmıştır (Çaklı ve Kışla, 2003; Hisar vd., 2004).

Tryfinopoulou vd., (2002) çipurada baskın olarak bozulmaya neden *Pseudomonas* spp. suşlarının hangileri olduğunu belirlemek için yaptıkları çalışmada *P. fluorescens* ile birlikte *P. lundensis*'in en fazla olduğunu *P. fragi* ve *P. putida* suşlarının ise daha az miktarda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada bulunan suşlar çalışmamızla

benzerlik göstermektedir. Çalışmamıza benzer diğer bir çalışmada ise Giarratana vd., (2016) çipuranın spesifik bozulma organizmalarını *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, *P. fragi*, *S. putrefaciens* ve *S. baltica* olarak belirtmişlerdir. İyon ve Ege Denizi'nden temin edilen çipura balıklarında direkt 16S NGS (kültürden bağımsız analiz) yöntemi ile yapılan tanımla sonuçlarına göre Ege Denizi'ndeki çipuralarda dominant mikroflora *Psychrobacter* yanısıra *Pseudomonas* olarak ifade edilmiştir. İyon Denizi'nden temin edilen örneklerin dominant mikroflorası ise yalnızca *Pseudomonas* olarak belirtilmiştir (Parlapani vd., 2018).

Gıdalarda spesifik bozulma organizmalarının belirlenmesi üzerine artan çalışmalarla birlikte bu organizmaları üzerinde bakteriyostatik ya da bakterisid etki gösterebilecek bileşenlerin araştırılması da hız kazanmıştır. Aynı ortamda bulunan bakteriler birbirleri ile rekabet içindedir. Özellikle ortamda besin azaldığı zaman bakteriler diğer bakterileri öldürmek için çeşitli kimyasallar sentezler. Bu tez çalışmasında istenmeyen mikroorganizmaları öldürmek için yine mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, metabolit adı verilen bu doğal bileşenlerin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan çipura balıklarının dominant mikroflorası literatürle uyumlu şekilde *Pseudomonas* spp. olarak ortaya konulmuştur. Bu türler içerisinde bozulmadan sorumlu mikroorganizmalar *P. fragi* ve *P. fluorescens* şeklinde belirlenmiş ve çalışmanın devamında kullanılacak metabolitler bu izolatlar üzerinde denenmiştir.

Nisin, mevinolin ve oksitetrasiklin metabolitlerinin *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerinde öncelikle minimum inhibisyon konsantrasyonları belirlenmiştir. Nisin metabolitinin 128 µg/ml konsantrasyona kadar her iki tür içinde herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Mevinolin metabolitinin MİK değerinin ise her iki bakteri türü içinde 32 µg/ml olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Ancak çipuranın spesifik bozulma etmeni olarak belirlenen *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerinde sırasıyla 1 µg/ml ve 8 µg/ml ile en düşük miktarlarda bile etki gösterebilen metabolit oksitetrasiklin olmuştur (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Çalışmada yalnızca belirlenen spesifik bozulma mikroorganizmalarına karşı değil ayrıca gıdalarda önemli patojen bakteriler olan *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerine de MİK analizleri yapılmıştır. Buna göre nisin *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı MİK değeri 1024 µg/ml konsantrasyona kadar tespit edilememiştir. *S. aureus* üzerinde ise 64 µg/ml konsantrasyonlarında etkili olabileceği belirlenmiştir. Mevinolin ve oksitetrasiklin

metabolitlerinin konsantrasyonun 128 µg/ml çıkması durumunda patojenlere karşı nisinden daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Scarano vd., (2018) çipuradan (*Sparus aurata*) izole ettikleri 104 *Aeromonas spp* karşı 15 antibiyotiğin MİK değerini mikrodilüsyon yöntemi ile ölçtükleri çalışmalarında 0.06 µg/ml'den 128 µg/ml'ye kadar antibiyotik konsantrasyonlarını denemişlerdir. Oksitetrasiklinin çipuradan elde edilen *Aeromonas* türlerine karşı MİK90 değeri 16 µg/ml olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada portakal, greyluft ve limondan elde edilen R(+) limonenden (LMN) 2, 4 ve 8 µl kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile çipura filetolarından elde edilen spesifik bozulma organizma suşları üzerinde etkisi araştırılmıştır. *S. putrefaciens* üzerinde özellikle 8 µl'nin güçlü etkisinin olduğu diğer suşlar üzerinde etkisinin daha zayıf olduğu bildirilmiştir. Tüm bakteriler üzerinde 2 µl'nin herhangi bir etkisinin görülmediği aktarılmıştır (Giarratana vd., 2016). 9 antibiyotiğin mikrodilüsyon metodu ile *E. coli* üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonlarının araştırıldığı diğer bir çalışmada da oksitetrasiklinin *E. coli* üzerinde MİK90 değeri 8 µg/ml olarak bildirilmiş ve 1 ile 128 µg/ml gibi geniş bir aralıkta etkiye sahip olduğu aktarılmıştır (Boer vd., 2015).

Nisin ile yapılan MİK denemeleri sonucu gram negatif bakteriler üzerinde antimikrobiyal bir etki göstermediği belirlenmiştir. Yapılan farklı çalışmalar ile nisin hücre duvarından kaynaklı olarak gram negatiflere karşı antimikrobiyal etki göstermediği aktarılmıştır (Cleveland vd, 2001; Williams ve Delves 2003; Field vd., 2012; Gharsallaoui vd., 2016). Yürütülen tez çalışmasında ise *Pseudomonas* gibi gram negatif bakteriler üzerinde durulduğu için çipuraya uygulanacak metabolit solüsyonunda nisin kullanımını uygun görülmemiştir.

Mevinolin metabolitinin kullanımının balık tüketimini fonksiyonel gıda açısından öne çıkarabilecek olmasına karşın, çalışma bulgularına göre çipuranın spesifik bozulma mikroorganizmaları üzerindeki MİK değerinin oksitetrasiklinden daha fazla olduğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca tıpta kullanılan kolestrol düşürücü bu metabolitin maliyetinin oldukça yüksek olması sebebi (litre başına yaklaşık 3.700 TL) ile balık üreticilerinin tercih edebileceği bir seçenek olmaktan çıkmaktadır. Bu yüzden düşük miktarlarda etkili olabilen ve fiyat açısından hem üretici hem de tüketiciye ek bir külfet getirmeyecek olan oksitetrasiklin (litre başına yaklaşık 50 kuruş) metabolitinin tezin

ileriki aşamasında metabolit solüsyonu olarak çipuraya uygulanarak raf ömrü ve et kalitesi üzerine etkilerinin denenmesinin daha uygun olduğu ortaya çıkmıştır.

Çipurada metabolit solüsyonu uygulamasına geçilmeden önce oksitetrasiklinin belirlenen MİK değerine uygun şekilde hazırlanan ön solüsyonun 48 saat boyunca $+4\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiş ve belirli aralıklar ile *P. fragi*, *P. fluorescens* ve *P. aeuroginosa* üzerindeki inhibisyon zonları ve pH değeri (Ek B) ölçülmüştür. *P. fragi* için en büyük inhibisyon zonu solüsyonun hazırlanmasından 1 saat sonra yapılan analiz 22.6 mm olarak ölçülmüştür. *P. fluorescens* için en büyük inhibisyon zonu 2 saat sonunda yapılan ölçümlerde 12.1 mm olarak tespit edilmiştir. Solüsyonun genel olarak *P. aeuroginosa* üzerine etkisinin olmadığı ancak 8 saatlik solüsyonda 10.1 mm inhibisyonun zonun gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.10).

Oksitetrasiklin her ne kadar mikroorganizmalardan üretilen doğal bir bileşen olsa da antibiyotik katagorisi altında yer almaktadır (TKB, 2003). Bu yüzden çipuraya direkt uygulanması halinde endişelere neden olabilir. Ancak JECFA (2002) tarafından oksitetrasiklinin düşük derecede toksisiteye sahip ve tetrasiklinler veya kombinasyonları için günlük alınabilir dozajın (ADI) $0-30 \mu\text{g}/\text{kg}$ olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda yapılan çalışmada NOEL (deney hayvanlarında saptanabilir ters bir etki oluşturmayan, kg-vücut ağırlığı başına düşen maksimum mg madde miktarı) değerini $2 \text{ mg}/\text{gün}$ (günde $33 \mu\text{g}/\text{kg}$ eşdeğer) olduğu aktarılmıştır. Tetrasiklinler için MRL (maksimum kalıntı limiti) olarak tahmini günlük alım miktarı ise $0.37 \text{ mg}/\text{gün}$ olarak belirtilmiştir (JECFA, 2002). Çalışmada solüsyon olarak kullanılacak oksitetrasiklinin, belirlenen bu limit değerlerin çok altında olması antibiyotik endişesini bir nebze gidermektedir.

Araştırılması gereken diğer bir konu antibiyotiğin dokularda birikimidir. Vorbach vd., (2019)'nin ele aldıkları çalışmada oksitetrasiklin antibiyotiğini *Devario aequipinnatus* balığına oral yoluyla vermektense farmakokinetik daldırma banyo terapisi için farklı konsantrasyon denemeleri yapmışlardır. Balıklar $0, 25, 50, 100 \text{ mg}/\text{l}$ konsantrasyonlardaki oksitetrasiklin banyosunda 6 saat; $200, 300, \text{ and } 400 \text{ mg}/\text{l}$ konsantrasyonlardaki oksitetrasiklin banyosunda 12 saat süre ile tutulmuştur. Daha sonra kan ve kas dokularındaki oksitetrasiklin miktarının belirlenen $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ maksimum serum konsantrasyonu (C_{max}) değerine ulaşip ulaşmadığı incelenmiştir. 12 saat boyunca $400 \text{ mg}/\text{l}$ oksitetrasiklin banyosunda tutulan balıkların kan ve kas

dokularındaki Cmax değerinin 1 µg/ml geçtiği belirtilmiştir. Oksitetrasiklinin yarılanma ömrü kanda 10.27 ve kasta 15.02 saat olarak tespit edildiği aktarılmıştır. Oksitetrasiklinin banyo terapisi ile çipura balıklarına uygulandığı diğer bir çalışma da 17 ila 18°C'deki su sıcaklığında 24 saat boyunca 50 µg/ml OTS konsantrasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 24 saat sonunda kas/deri ve plazmadaki OTS seviyelerinin tespit edilebilir olduğu ve sırasıyla 0.096 µg/g ve 0.047 µg/ml olarak ölçüldüğü bildirilmiştir. (Rigos vd., 2006). Yapılan her iki çalışmada da kas ve dokulardaki oksitetrasiklin miktarlarının JECFA (2002) tarafından belirlenen ADI, NEOL ve MRL değerinin altında olduğu açıktır. Ayrıca çalışmamızda oksitetrasiklin kullanımı çok daha az miktarlarda (ml'de 8 µg) ve daldırma/spreyleme yöntemleri için uygulama süresi çok daha kısadır.

Çalışmamız açısından olumlu diğer bir araştırma sonucunun ise Ueno vd., (1999)'nin marketlerde satışa sunulmuş 12 tür balıkta, oksitetrasiklin kalıntısının belirlenememiş olarak aktarılmasıdır. Ulusal kalıntı programı kapsamında yetiştirilen su ürünlerinde olması gereken maksimum kalıntı limitleri oksitetrasiklin için < 100 ppb olarak verilmiştir. Ankara ve İzmir bölgesinde üç farklı alabalık çiftliğinden, üç farklı dönemde 20'şer adet olmak üzere alınan toplam 120 adet örnekte oksitetrasiklin kalıntısına rastlanmadığı ifade edilmiştir (Özdemir, 2010). Tetrasiklinler süt, antiasitler, demir bileşikler, kalsiyum, magnezyum, alüminyum gibi bileşikler ile alındığında sindirim sisteminden emiliminin azaldığı bildirilmiştir (Özaras vd., 2002). Su ürünlerinin özellikle kalsiyum ve magnezyum açısından zengin olduğu göz önünde tutulursa oksitetrasiklinin balıklara doğal koruyucu olarak kullanılırken bağırsaklardaki emiliminin daha az olabileceği düşünülmektedir.

Oksitetrasiklinin raf ömrü çalışmalarında olumsuz olarak değerlendirilebilecek husus antibiyotik direnç kazanımıdır. Turtura vd., (1990) tavuk karkaslarından izole edilen koliform bakteriler *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. ve *Serratia* spp., antibiyotik dirençlerini test ettikleri çalışmalarında 30 µg/ml tetrasiklini disk difüzyon yöntemi ile uygulamışlar ve sonuçta %85 ile *E. coli* en dirençli olduğunu onu sırasıyla %35 *Citrobacter*, %21 *Klebsiella*, %14 *Serratia* ve %12 ile *Enterobacter* suşlarının izlediğini bildirmişlerdir. Ancak yine de su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıklarla mücadelede oksitetrasiklin ve tetrasiklinin bakteriler üzerindeki etkinliklerinin yüksek olması sebebi ile kullanımının daha güvenli olacağı tavsiye edilmektedir (Çapkın vd., 2015). Oksitetrasiklinin veteriner ilacı olarak

satılan prospektüsünde Gram pozitif aeroblar (*Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Erysipelothrix rhusiopathia*, *L. monocytogenes* ve *Streptococci*) ve Gram negatif bakterilere (*Actinobacillus* sp., *Bordetella* sp., *Francisella tularensis*, *Haemophilus* sp., *Pasteurella multocida*, *P. haemolytica*, *Yersinia* sp., *Campylobacter fetus*, *Borrelia* sp., *Leptospira* sp., *Moraxella bovis*) karşı etkisinin iyi derecede olduğu yönünde ibare bulunmaktadır. *Staphylococci*, *Enterococci*, *Enterobacter* sp. ve *Enterobacteriaceae* familyasına dahil *Enterobacter* sp., *E.coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp., türlerine karşı etkisinin değişken olduğu ifade edilmektedir. Tetrasiklinlere dirençli olan türler ise *Mycobacterium* sp., *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Serratia* sp., *Mycoplasma bovis* ve *M. hyopneumoniae* olarak aktarılmaktadır (Anonim, 2005). Bu tez çalışmasında kullanılan bakterilerin direnç kazanıp kazanmadığı halen araştırılması gereken bir nokta olarak kalmaktadır.

Son olarak oksitetrasiklin solüsyonu çipura balıklarına 3 farklı metotla uygulanarak duyuşal, mikrobiyolojik, kimyasal, fiziksel kalitesine ve besin kompozisyonundaki değişimlere bakılmıştır. Öncelikli olarak gıdalarda duyuşal kalite raf ömrünü belirleyen en önemli unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Duyusal olarak kötü olan bir ürün mikrobiyolojik ya da kimyasal açıdan bozulmamış dahi olsa tüketiciler tarafından tercih edilmez (Varlık vd., 1993).

Tez çalışmasında temin edilen örnekler laboratuvara getirildiğinde deri, göz, solungaç, doku, koku ve dış görünüş kriterleri açısından panelistler tarafından “en iyi kalite” olarak değerlendirilmiştir. Depolamanın ilk günlerinde tüm gruplar en iyi kalite ve iyi kalite arasında değerler almıştır. K, D ve S gruplarının pek çok duyuşal kriter için 10. güne kadar tüketilebilir olduğu B grubunun ise 5 günlük fark ile 15. güne kadar tüketilebilir olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11-4.17 ve Şekil 4.19-4.25). Buz şeklinde uygulanan oksitetrasiklinin duyuşal açıdan kontrol grubuna göre çipuraların raf ömrünü 5 gün uzattığı yapılan analiz sonuçları ile ortaya konmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada buzlanarak soğukta muhafaza edilen çipuraların 9 günlük duyuşal analiz değerlendirmeleri sonucu sınır değeri aşmadığı aktarılmıştır (Erdem ve Çaklı, 2018). Çipura balıklarını İyon ve Ege Denizi’den ayrı ayrı temin edilerek yapılan farklı bir çalışmada sonuçlarımızla uyumlu olarak başlangıçta duyuşal kalitesinin mükemmel olduğu ve örneklerin iki farklı denizden temin edilmesine rağmen duyuşal olarak raf ömürleri arasında farklılık olmadığı belirtilmiştir. Depolama sıcaklık derecelerine göre

0, 4 ve 8°C'de sırasıyla 14, 6 ve 3 güne kadar duyusal olarak tüketilebilir olduğunu kaydetmişlerdir (Parlapani vd., 2018).

Portakal, greyfurt ve limondan elde edilen uçucu yağlardaki aromatik ana bileşen olan R(+) limonenin (LMN) uygulandığı çipura filetoları 15 gün boyunca 2°C'de vakum altında depolanmıştır. Düşük konsantrasyonlardaki limonen miktarının duyusal olarak belirgin bir etkisinin olmadığı ancak daha yüksek konsantrasyonlarda limon kokusunun hissedildiği kaydedilmiştir. Duyusal açıdan kontrol grubunun 9. günde kabul edilemez olduğu %0.8 limonen uygulanan grubunun 12. günde %1.2 ve %1.6 limonen uygulanan grupların ise 15. günde panelisler tarafından ret edildiği bildirilmiştir. Limonenin çipura balıklarının raf ömrünü uzattığı ve duyusal olarak hoş bir katkısının olduğu ifade edilmiştir (Giarratana vd., 2016). Yıldız anason esansiyel yağı, polilisin ve nisin karışımının nanoemülsiyon esaslı aktif kaplama olarak et ürününe uygulandığı çalışmada elde edilen duyusal analiz sonuçlarına göre, etin renginin, kokusunun ve genel kabul edilebilirliğinin iyi bir şekilde muhafaza edildiğini aktarmışlardır (Liu vd. 2020).

Mikrobiyolojik açıdan bir gıdayı koruyabilmek kalite ve sağlık açısından oldukça önemlidir. Su ürünleri gibi mikroorganizmalara karşı savunmasız bir gıdada antimikrobiyal koruyucular önem kazanmaktadır. Çalışma için laboratuvara getirilen çipura örneklerinde başlangıç toplam bakteri yükü sayılabilir limit değerinin altında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.18). Çipura filetolarının marine edildiği ve ışınlamanın etkisine bakıldığı diğer bir çalışmada ise başlangıç toplam mezofilik bakteri yükü 4.2 log olarak bulunmuşlardır (Chouliaro vd., 2005). Dikel (2012) tarafından yapılan çalışmada taze çipuranın etindeki toplam mezofilik bakteri yükü 1.65 log olarak tespit etmişlerdir. Yapılan farklı bir çalışmada başlangıç toplam bakteri yükü 3.9 log olarak belirtmişlerdir (Parlapani vd., 2014). Başlangıç yüklerindeki değişimler balıkların fileto olup olmadığına ve analize alınana kadar geçen sürede gördüğü işlemlere göre değişmektedir.

Depolamanın ilerleyen günlerinde K, D ve S gruplarında toplam bakteri yükündeki artış B grubuna oranla daha fazla olmuştur. Toplam bakteri açısından yalnızca K grubu 15. günde tüketilebilir limit değerinin üstüne çıkmıştır. D ve S grubu 6.7 ve 6.1 log ile limit değerine oldukça yakın olarak tespit edilmiştir. Depolamanın 17. gününde bile B grubu tüketilebilir limit değeri geçmemiş olduğu tespit edilmiştir. Oksistetrasiklinin

özellikle buz olarak uygulanmasının toplam bakteri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.26).

Parlapani vd., (2018) İyon ve Ege Denizi'nden alınan çipuralarda başlangıç toplam bakteri miktarını 4.5 log olarak tespit etmişlerdir. Çipura balıklarını 0, 4 ve 8°C'de saklayarak bakteri yükleri ve çeşitlerini ortaya koymuşlardır. İyon Denizi'nden elde edilen çipura balıklarının duyusal olarak bozulduğu noktadaki toplam bakteri yükü 0, 4 ve 8°C'de sırasıyla 7.71 (14. gün), 8.21 (6. gün) ve 7.74 (3. gün) log iken aynı sıra ile Ege Denizi'nden gelen balıklarda ise 7.42 log (14. gün), 8.03 log (6. gün) ve 7.55 log (3. gün) olarak belirtilmiştir.

Andrés- bello vd., (2015) çipura filetolarını vakum emprenye tekniği ile nisin üreten bakteri solüsyonu ve nisin ile muamele ettikleri çalışmada kontrol grubunun başlangıç toplam bakteri yükü 2.8 log iken depolamanın sonunda (15. gün) 8.5 log'a ulaştığı bildirilmiştir. LAB solüsyonuna daldırılan gruplarda depolama boyunca toplam bakteri yükü beklenildiği gibi yüksek çıkmış ve 7.1 ve 7.5 log aralığında olduğu aktarılmıştır. Ancak bu yükün LAB bakterilerinden kaynaklandığı LAB bakterileri dışında toplam mezofilik bakteri artışının sınırlandığı ifade edilmiştir. Nisin solüsyonu uygulanan gruplarda başlangıç değeri 2.63 log ile kontrol grubuna yakın iken zamana bağlı olarak kontrol grubundaki artıştan farklı olarak toplam bakteri değerinin 6. günde 5.3 log olarak kaldığı aktarılmıştır.

Limonenin (LMN) 15 gün boyunca 2°C'de depolanmış çipura filetolarının raf ömrü üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada çipura balıklarının başlangıç SBO yükü 3.5 log olarak tespit edildiği aktarılmıştır. Kontrol grubunun 6. günde limit değeri geçtiği, 15 günlük depolama sonunda kontrol grubu 8.6 log'ya çıkarken %0.8'lik grubun 7 log, %1.2'lik grubun 6.9 log ve %1.6'lik grubun ise 6.5 log'da kaldığı bildirilmiştir. Filetolara %0.8, %1.2 ve %1.6 oranında limonen içeren ayçiçek yağı uygulanmış gruplarda kontrol grubuna oranla mikrobiyolojik artış daha az kaydedilmiştir (Giarratana vd., 2016).

Aerobik şartlarda saklanan balık ve et ürünlerinde *Pseudomonas* spp.'nin dominant mikroorganizma olduğu belirtilmektedir (Gram ve Huss, 1996; Kyra vd., 1997). Belirlenen bozulma etmeni mikroorganizmaların da içinde yer aldığı *Pseudomonas* spp. başlangıçta tespit edilememiştir. Ancak 4. günden itibaren özellikle kontrol grubunda hızla yükselerek 15. günde 9.3 log'a ulaştığı belirlenmiştir. Oksistetrasiklin

uygulanan gruplarda bu artış çok daha az seviyelerde kalmış, özellikle buz uygulaması 15. günde 6.9 log ile en düşük değeri almıştır (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.27). Oksitetrasiklin uygulamasının *Pseudomonas* spp. üzerine en az 2 log düşüş sağladığı ortaya konmuştur. Tsironi ve Taoukis (2010) ozmotik ön işlem, MAP ve nisin uygulama kombinasyonlarının çipuranın raf ömrü üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada başlangıç *Pseudomonas* spp yükünü 2,9 log olarak tespit etmişlerdir. Bulgular arasındaki bu farkın, çalışmalarda farklı tipte materyal (bütün balık/fileto) kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Parlapani vd. (2014) çipura balıklarını aerobik koşullarda ve MAP paketleme ile farklı sıcaklıklarda depoladıkları çalışmada, *Pseudomonas* spp. yükünün sıcaklığa bağlı olarak aerobik şartlar için 8 – 8,5 log, MAP için 7 – 8 log aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

Enterobacteriaceae gıda sanayisinde önemli bir bakteri grubudur. Özellikle kirli sulardan avlanılan balıklarda ya da avlandıktan sonra geç soğutma uygulandığında bozulmada önemli rol oynamaktadır. Koliform grubu bakteriler bu aileye dahil bakterilerdir ve hijyen eksikliği göstergesidir (Böhme vd., 2010; Ganguly ve Bordoloi, 2014; Andrés-Bello vd., 2015). Çalışmada kullanılan taze çipura balıkları koliform bakteri açısından temiz bulunmuş ve depolamanın 7. gününe kadar koliform bakteri yükü sayılabilir limit değerinin altında kaldığı görülmüştür. Depolamanın sonunda kontrol grubu ile oksitetrasiklinin daldırma ve sprey olarak uygulandığı gruplar arasında bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Koliform grubu bakteri üzerinde oksitetrasiklinin inhibe edici bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.28). Çalışmamıza benzer olarak nisin ve laktik asit bakterileri içeren solüsyonun çipura balıklarına daldırma yöntemi ile uygulandığı diğer bir çalışmada *Enterobacteriaceae* için kontrol grubunda hızlı bir artışın söz konusu olduğu ve depolama sonunda 3.78 log (kob/g) değerine ulaştığı ifade edilmiştir. LAB solüsyonu uygulanan grupta 10 gün boyunca solüsyonun koruyucu etkisi gözlenirse de depolama sonunda kontrol grubuna yakın bir değer bulunduğu aktarılmıştır. Ancak nisin uygulanan grupta *Enterobacteriaceae* yükü 15. günde 2 log olarak tespit edilmiştir. Nisinin bu grup bakteriler üzerinde bakteriyostatik etkisinin olduğu vurgulanmıştır (Andrés- bello vd., 2015).

Lipolitik bakteri gelişimi kontrol grubunda diğer gruplara oranla daha hızlı gelişmiştir. Oksitetrasiklin her ne kadar depolamanın başlangıcında lipolitik bakteri gelişimini yavaşlatmış olsa da depolamanın sonuna doğru etkisini kaybetmiştir. Depolamanın 15.

gününde K, D, S ve B gruplarının sırasıyla 7.9, 9.4, 7.7 ve 7.3 log olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.29).

Proteolitik bakteri açısından oksitetrasiklinin daha etkili olduğu gözlenmiştir. Özellikle buz uygulamasında proteolitik bakteri gelişimi kontrol grubuna oranla 1 log (kob/g) daha düşük seviyede kalmıştır (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.30).

Çalışmamızdaki taze çipura etinde maya&küf hiçbir grupta görülmemiştir. Maya&küf balıklarda daha çok deri üzerinde bulunmakta ete bulaşımı zaman içerisinde gerçekleşmektedir (Hisar vd., 2004). Depolamanın ilk günlerinde gruplardaki maya&küf gelişimi sayılabilir limit değerinin altında kalsa da 10. günden itibaren K, D ve S grubunda artış söz konusudur. Depolamanın 15. gününde B grubunun maya&küf yükü 4.8 log ile diğer gruplara oranla daha düşük seviyelerde kalmıştır (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.31).

Su ürünleri çabuk bozulan bir gıda grubu olduğu için hasattan hemen sonra soğutulmalı ve tüketiciye kadar bu soğuk zincir kırılmamalıdır. Ancak psikrotrofik bakteriler gibi soğuk seven bakteriler soğuk zincir altında da gelişebilmekte ve bozulmaya neden olmaktadır. Depolamanın ilk gününde psikrotrof bakteri yükü tüm gruplar için sayılabilir limit değerinin altında olarak bulunmuştur. Depolama boyunca oksitetrasiklinin daldırma yöntemi ile uygulanmasının psikrotrof bakteri üzerinde herhangi inhibe edici etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. K ve D grubu 10. günde tüketilebilir limit değeri geçmiştir. S grubu 13. günde 7.9 log ile limit değeri geçmişken B grubu 15. güne kadar bu değerinin altında kalmıştır (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.32). Psikrotrofik bakteri açısından değerlendirildiğinde oksitetrasiklinin buz olarak uygulaması çipura balıklarının raf ömrünü kontrol grubuna göre 5 gün kadar uzattığı ortaya konulmuştur.

Çalışmamızda *Vibronaceae* grubuna rastlanmamıştır. Bu çipuraların temin edildiği suların temiz olduğunu ve depolama sırasında bulaşma kaynağının olmadığını göstergesidir (Ganguly ve Bordoloi, 2014).

Balıklarda oluşan TVB-N, esas olarak proteinlerin ve protein olmayan azotlu bileşiklerin parçalanması sonucu oluşan amonyak ve primer, sekonder, tersiyer aminlerden oluştuğu ve bozulma indikatörü olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Hisar vd., 2004; Ganguly ve Bordoloi, 2014). Taze balıklarda TVB-N değeri 5 – 20 mg/100g (Parlapani ve Boziaris, 2016) arasında olduğu tüketilebilir limit değerinin ise 30 – 35

mg/100g olarak aktarılmıştır (EC 2005; Ganguly ve Bordoloi, 2014). Laboratuvara getirilen çipura balıklarında TVB-N değeri 18.82 mg/100g olarak tespit edilmiştir. K ve D gruplarındaki TVB-N artışı 13. günde sırasıyla 35.46 ve 36.89 mg/100mg ile; S grubu ise 15. günde 41.41 mg/100g ile sınır değeri geçmiştir. B grubu depolama boyunca sınır değerini geçmemiştir (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.33). Çipura filetolarının LAB solüsyonu ve nisin solüsyonu ile muamele edildiği çalışmada +4°C’de 15 günlük depolama sonucu LAB solüsyonu uygulanan gruplarda TVB-N değeri 11.5 mg /100g; nisin solüsyonu uygulanan grupta ise 11.0 mg/100 g olarak tespit edildiği ve çalışmamızdaki B grubuna benzer şekilde depolama boyunca limit değerini aşmadıkları aktarılmıştır (Andrés-Bello vd., 2015).

Balıklarda önemli kalite kriterlerinden biri lipit oksidasyonu sonucu oluşan malonaldehitlerin göstergesi TBA değeridir (Üretener, 2009; Dikel, 2012). Laboratuvara getirilen taze çipura balıklarında TBA değeri 0.18 mg manolaldehit/kg olarak tespit edilmiştir. Dikel (2012) çipura balıklarını kitosan eklenen jelatin ile kapladığı tez çalışmasında taze balıkların TBA değeri, 0.16 mg manolaldehit/kg olarak bildirilmiştir. Balıkların üzerine yüksek hidrostatik basınç uygulamalarının kalite ve raf ömrü üzerine etkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada taze çipura balığının TBA değeri Kontrol grubu için 1.53 mg manolaldehit/kg olarak aktarılmıştır (Üretener, 2009). Başlangıç TBA değeri balığın türü, yağ miktarı, mevsim vb. faktörlere göre değişse de taze balık eti için genellikle 1-2 mg manolaldehit/kg olarak bildirilmiştir (Connell, 1990). Oksidasyona bağlı olarak TBA da artmıştır. Değolamanın 17. gününde K, D, S ve B gruplarının TBA miktarı 5.30, 4.71, 4.94 ve 2.46 mg manolaldehit/kg olarak tespit edilmiştir. Çalışma boyunca hiçbir grup tüketilebilir sınır değer olan 8 mg manolaldehit/kg (Alparslan vd., 2019) aşmasa da buz olarak uygulanan oksitetrasiklinin antioksidan olarak etkisinin en yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26 ve Şekil 4.34).

Balıkların bozulmasına neden olan mikrobiyal aktiviteyi belirlemek için trimetilamin (TMA) seviyesi kullanılır (Ghaly vd., 2010). Balık türlerinin çoğu trimetilamin oksit (TMAO) içermektedir. *Aeromonas* spp., psikrofil *Enterobacteriaceae*, *P. phosphoreum*, *S. putrefaciens* ve *Vibrio* spp. gibi bakteriler TMAO’yu anaerobik solunumda terminal elektron alıcısı olarak kullanarak TMA’ya indirgeyebilir. TMA balığa özellikle karakteristik "balık kokusu" veren bileşendir ancak onun da indirgenmesi ile bozulma ürünü bileşikler ve kötü koku ortaya çıkmaktadır (Gram ve

Huss 1996; Soyer, 1999; Hisar vd., 2004; Fonnesbech Vogel vd., 2005). Çipura balıkları laboratuvara getirildiğinde TMA-N miktarı 0.25 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Depolama boyunca bu değer tüm gruplarda artmıştır. Taze veya dondurulmuş balıklarda TMA-N analizine göre kalite sınıflandırılması 0-1 mg/100 g (0-5 mg TMA/100 g) birinci kalite; 1-5 mg/100 g (5-26 mg TMA/100 g) satılabilir kalite; >5 mg/100 g işlemeye ve tüketime uygun değil şeklinde yapılmaktadır (Serdaroğlu ve Deniz, 2001). Bu sınıflandırmaya göre hiçbir grup depolama boyunca tüketilebilir limit değeri geçmemişse de B grubu 1.03 mg/100g TMA-N değeri ile diğer gruplar arasında en düşük değere sahip olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.27 ve Şekil 4.35).

Taze balıklarda pH değeri balığın türü, büyüklüğü ve ortam sıcaklığına göre değişse de 6.2 ila 6.6 arasında olmalıdır (Soyer, 1999). Çipura balıklarının başlangıç pH değeri 6.25 olarak bulunmuştur. Mikroorganizmaların aktivitesi sonucu amonyak gibi alkali bileşiklerin birikmesi, pH değerinde artışa neden olur (Ganguly ve Bordoloi, 2014). Depolama boyunca tüm gruplarda mikroorganizmaların aktivitesinin artışı ile birlikte pH değeri de artmaktadır. B grubundaki artış diğer gruplara oranla daha az seviyelerde kalmıştır (Çizelge 4.28 ve Şekil 4.36). Çipura filetoları üzerinde LAB ve nisin solüsyonunun etkilerinin denendiği diğer bir çalışmada, muamele edilmemiş çipura filetolarının başlangıç pH değeri 6.26 olarak bulunmuş; LAB solüsyonuna daldırılan çipura filetolarının başlangıç pH'ı 6.23; nisin solüsyonuna daldırılanların ise 6.18 olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Tüm grupların depolama boyunca artış gösterdiği ve nisin ve LAB solüsyon grubu arasında pH açısından herhangi istatistiksel bir farkın oluşmadığı ifade edilmiştir (Andrés-Bello vd., 2015).

Çipura örneklerinde su aktivitesi laboratuvara getirilen ilk gün 0.80 olarak tespit edilmiştir. Depolamanın ilk günlerinde aw değerinde bir miktar düşüş meydana gelmiş ancak daha sonra yükselmiştir (Çizelge 4.29). B grubundaki su aktivitesi değişimi 15. güne kadar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($P>0.05$). Diğer gruplardaki su aktivitesi değerleri 10. günden sonra taze değere göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişime uğramıştır ($P<0.05$). Besinlerdeki su aktivitesinin artması mikroorganizmaların gelişimini desteklemektedir (Petruzzi vd., 2017). Bu yüzden su aktivitesindeki bu anlamlı artışın K, D ve S gruplarındaki mikroorganizmaların daha fazla artmasına ortam sağlamış olabileceği düşünülmektedir. Andrés-Bello vd., (2015) vakum emprenye tekniği ile çipura filetolarını LAB ve nisin solüsyonu ile muamele

ettikleri çalışmada taze çipura filetolarının aw değeri 0.99 olarak verilmiştir. 15 günlük depolama sonucunda kontrol, LAB ve nisin solüsyonu gruplarının aw değerleri sırasıyla 0.99, 0,98 ve 0,98 olarak bulunduğunu ve su aktivitesinde çok büyük bir değişimin olmadığını kaydetmişlerdir.

Çalışma boyunca renk analizleri yapılmış, örnekler parlaklık, kırmızı/yeşil ve sarı/mavi renk açısından değerlendirilmiştir. Çipura balıklarında başlangıç L*, a* ve b* değerleri sırasıyla 38.35, -0.71 ve -3.62 olarak tespit edilmiştir. Depolamanın ilerleyen günlerinde tüm gruptaki çipura balıklarında parlaklık (L*) artmıştır. Taşkaya vd., (2010) balıklarda parlaklık değeri önemli bir kalite parametresi olarak değerlendirilmekte olduğunu ifade etmişlerdir. Gruplarda kırmızı renkten yeşil renge (a*) doğru bir artış söz konusudur. Yapılan çalışmalarda kırmızı rengin (a*) depolama bağlı olarak düştüğü ifade edilmektedir (Erdem ve Çaklı, 2018; Dowlati vd., 2013). Ancak B grubunun a* değerindeki değişim diğer gruplara oranla en az seviyede kalmıştır. Çipura balıklarında depolama boyunca tüm gruplarda mavi rengin arttığı tespit edilmiş ve artışın en az olduğu gruplar sırasıyla S ve B grubu olmuştur (Çizelge 4.30-4.32 ve Şekil 4.38-4.40).

Yapılan başka bir çalışmada LAB ve nisin solüsyonları vakum emprenye tekniği ile çipura balıklarına uygulanmıştır. Renk analiz sonuçlarına bakıldığında kontrol, LAB solüsyonu ve nisin solüsyonu gruplarının başlangıç L* değerleri sırasıyla 35, 38 ve 36; a* değerleri - 2,6, -2,2 ve - 1,8; b* değerleri ise 0.38, -1,8 ve - 2,1 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmamızla benzer olarak bu çalışmada da L* değerlerinde depolama boyunca artış olduğu aktarılmıştır. Renkteki değişimin empresyon sıvısından daha çok depolama zamanından kaynaklandığı vurgulanmıştır (Andrés-Bello vd., 2015).

Çalışma için temin edilen çipura balıklarının besin kompozisyonu ilk gün % 18.56 ham protein, %10.55 ham yağ, %68.23 nem ve %1.64 kül olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda tüm grupların ham protein ve yağ değerlerinde, mikrobiyolojik ve enzimatik faaliyetlerin artması sonucu azalma görülmüştür. Özellikle lipolitik bakteri artışının fazla olduğu D grubu, ham yağ miktarındaki düşüşün en fazla görüldüğü grup olmuştur. Bunun yanında B grubunda ham protein %18.23 ve ham yağ %10.49 ile değişimin en az olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 4.33). Soğuk ve sıcak dumanlamanın çipuranın raf ömrü ve besin içeriği üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada taze çipura balığının protein, yağ nem ve kül değerleri sırasıyla %20.40,

%2.98, %72.93 ve %1.39 olarak tespit edildiği belirtilmiştir (Bilgin vd., 2008). Yapılan diğer bir çalışmada Yunanistan'da Ağustos ve Ocak aylarında avlanan çipura balıklarını, 15 gün süre ile kimyasal ve mikrobiyolojik olarak karşılaştırmışlardır. Ocak ayında protein, yağ nem ve kül değerleri sırasıyla %18.1, %9.80, %71.1 ve %1.36 iken, ağustos ayında aynı sıra ile %18.1, %10.5, %70 ve %1.24 olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir (Grigorakis vd., 2003). Balıkların besin içeriklerinin balığın beslenmesi, olgunluğu, çevre sıcaklığı ve boya göre değiştiği aktarılmıştır (Varlık vd., 2004). Bu yüzden farklı çalışmalar ile çalışmamızda elde edilen sonuçlar arasındaki ufak farklılıkların çipuraların farklı yerlerden temin edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak:

- Çipura balıklarının aerobik şartlarda buz ile soğukta ($+4\pm 2^{\circ}\text{C}$) depolandığında spesifik bozulma mikroorganizmaları *P. fragi* ve *P. fluorescens* olarak tespit edilmiştir.
- Mevinolin, nisin ve oksitetrasiklinin bu mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkileri denenmiştir. Nisinin gram negatif bakteriler olan *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerinde 128 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonuna kadar herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Mevinolinin her iki bakteri üzerindeki MİK değeri 32 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir. Oksitetrasiklinin ise *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerindeki MİK değeri sırasıyla 1 ve 8 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir.
- Daha düşük miktarlarda etki gösterebilmesi ve fiyatının uygunluğu nedeni ile oksitetrasiklin metabolitinin solüsyon olarak kullanılmasının diğer test edilen metabolitlere göre daha uygun olacağı belirlenmiştir. Oksitetrasiklinden hazırlanan solüsyonun disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkisi denendiğinde, *P. fragi* ve *P. fluorescens* üzerinde sırasıyla 22.6 ve 11.6 mm inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir.
- Oksitetrasiklin solüsyonunun daldırma, sprey ve buz yöntemleri ile çipura balıklarına uygulandığında; buz uygulamasının diğer uygulamalara göre çipuranın mikrobiyolojik, kimyasal kalitesini ve besin içeriğini koruduğu, raf ömrünü duyuşsal ve mikrobiyolojik açıdan kontrol grubuna göre 5 gün kadar uzattığı tespit edilmiştir.

- Oksitetrasiklinin üreticiye ve tüketiciye ek bir ekonomik külfet getirmeden su ürünlerinin raf ömrünü uzatmada kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Öneriler:

- Metabolitlerin solüsyon halinde su ürünleri işleme tesislerine uygulanmasından önce birçok araştırmanın daha yapılması gerekmektedir. Ancak yapılan çalışmalar sonucu kullanımında herhangi bir sakıncanın ortaya çıkmaması ve resmi olarak yönetmeliklerde yer alması halinde; halinde glazing işleminde, fileto yıkama suyunda, tesis içerisindeki kısa süreli duraklama noktalarında buz/solüsyon olarak kullanımı önerilmektedir.
- İleriki çalışmalarda oksitetrasiklin uygulamasının bakteriler üzerindeki gen değişimlerinin ve direnç kazanıp kazanmadığının mutlaka araştırılması gerekmektedir.
- Ayrıca bu konudaki en önemli nokta oksitetrasiklinin, bütün balığa veya filetoya, hangi yöntemle uygulanırsa uygulansın, dokulara geçişi ve birikiminin tespit edilmesi elzemdir.

Yürütülen tez çalışması kapsamında ilk defa mevinolin yalnızca patojen mikroorganizmalar üzerinde değil, bozulma etmeni mikroorganizmalar üzerinde de denenmiştir. Balık hastalıklarında sıkça kullanılan oksitetrasiklin ise ilk defa solüsyon halinde çipuranın raf ömrü çalışmalarında denenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen olumlu ve bir o kadar da başarılı sonuçların, mikrobiyolojik metabolitlerin doğal koruyucu olarak su ürünleri işleme tesislerinde kullanılabilirliğine önderlik edeceği kaçınılmazdır. Bu sayede raf ömrü kısılgından kaynaklı ortaya çıkan ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Elde edilen araştırma sonuçları; oksitetrasiklin solüsyonunun ticari olarak değerli diğer su ürünleri (karides, yengeç, diğer balık çeşitleri vb.) üzerindeki etkilerinin ortaya konulacağı; farklı araştırmalarında yürütülmesine önderlik edebilecektir. Yalnızca su ürünleri değil benzer SBO'lara sahip diğer gıda çeşitlerinde de raf ömrü çalışmalarının yapılması mümkündür.

KAYNAKLAR

- Alparslan, Y., Baygar, T., Metin, C., Hasanhocaoğlu Yapıcı ve H., Baygar, T. (2019) The role of gelatin-based film coating combined with orange peel essential oil on the quality of refrigerated shrimp, *Acta Aquatica Turcica* 15(2), 197-212.
- Andrés-Bello, A., De Jesús, C., García-Segovia, P., Pagán- Moreno, M..J. ve Martínez-Monzó, J. (2015) Vacuum impregnation as a tool to introduce biopreservatives in gilthead sea bream fillets (*Sparus aurata*), *LWT - Food Science and Technology*, 60(2)1: 758-765.
- Andrews, W.H. ve Hammack, T.S. (2003) Bacteriological analytical manual Chapter 1: Food sampling and preparation of sample homogenate, FDA/BAM, April 2003, 12s.
- Angiş, S. ve Oğuzhan, P. (2008) Su ürünlerinde kullanılan katkı maddeleri, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs Erzurum, 603-606.
- Anonim (2005) Texal La %30 (Prospektüs Onay Tarihi: 22.03.2005), Hektaş Ticaret T.A.Ş., G.O.S.B., Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Pazarlama İzni Tarihi Ve No : 08.03.2005-14/046.
- Anonim (2015a), *Mikroorganizma*, Wikipedia, <http://tr.wikipedia.org/> Şubat 2015, 1s.
- Anonim (2015b) *Su ürünleri ihracatında AB ön sırada*, Hürriyet, <http://www.hurriyet.com.tr>, Aralık 2015, 1s.
- Anonim (2015c) *Çipura*, Wikiedia, <http://tr.wikipedia.org>, Aralık 2015, 1s.
- Anonim (2019), *Mikrobiyoloji-ilk bakteri*, Cosming Laboratuvar, <https://www.mikrobiyolojiktest.com>, Ekim 2019, 1s.
- Antonacopoulos, N. (1973) *Fische und fischerzeugnisse*, Bestimmung des Flüchtigen Basen Stickstoofs, Editor: Ludorf, W., Meyer, V., Berlin.
- AOAC (1990) *Official methods of analysis*, Official method 950.46 (13th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., USA.

- AOAC (2006) *Official methods of analysis*, Official method 934.01 and 984.13 (18th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Washington DC., USA.
- Atlı, B. ve Yamaç, M. (2012) Fungal Metabolit Olarak Statinler: Aktivite Biyosentez ve Üretim, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 10 (2): 1-12.
- Attouchi, M. ve Sadok. S. (2012) The effects of essential oils addition on the quality of wild and farmed sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice, *Food and Bioprocess Technology*, 5, pp. 1803-1816.
- Aubourg, S.P. (2001) Chilled storage of horse mackerel, *J. Am. Oil Chem.' Soc*, 78 (8): 857-862.
- Azizkhani, M., Misaghi, A., Basti, A. A., Gandomi, H. ve Hosseini, H. (2013) Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and gene expression of enterotoxins A, C and E in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213", *Int J Food Microbiol*, 163 (2-3): 159-165.
- Babacan, O. ve Karadeniz, H. (2019) Çiğ tavuk etlerinden izole edilen *Salmonella* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, *Vet Hekim Der Derg.*, 90 (2): 105-114.
- Baptista, C.R., Horita, C.N. ve Sant'Ana, A.S. (2020) Review: Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood, *Food Research International*, Volume 127:108762.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. ve Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *American Journal of Clinical Pathology*, 45 (4): 493-496.
- Bekaert, K., Devriese, L., Maes, S. ve Robbens, J. (2015) Characterization of the dominant bacterial communities during storage of Norway lobster and Norway lobster tails (*Nephrops norvegicus*) based on 16S rDNA analysis by PCR-DGGE, *Food Microbiol*, 46: 132-138.
- Bilgin, Ş., Ünlüsayın, M., İzci, L. ve Günlü A. (2008) The determination of the shelf life and some nutritional components of gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758) after cold and hot smoking, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*; 32(1): 49-56.

- Bingöl, E.B. ve Bostan, K. (2012) Derleme: Bir gıda katkı maddesi olarak laktatların et ve et ürünlerinde kullanımı, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 38(1), 79-88.
- Bligh, E.G. ve Dyer, W.J. (1959) A rapid method for total lipid extraction and purification, *Can J Biochem Physiol*, 37: 911-917.
- Boer, M., Heuer, C., Hussein, H. ve McDougall, S. (2015) Minimum inhibitory concentrations of selected antimicrobials against *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* of bovine uterine origin, *Int. J. Dairy Sci*, 98 (7): 4427-4438.
- Borgstorm, G. ve Farber, L. (1965) *Fish as food*, 2. Basım, Academic Press New York and London.
- Böhme, K., Fernández-No, I.C., Barros-Velázquez, J., Gallardo, J.M., Calo-Mata, P. ve Cañas, B. (2010) Species differentiation of seafood spoilage and pathogenic gram-negative bacteria by MALDI-TOF mass fingerprinting, *J Proteome Res.*, 9 (6): 69-83.
- Cai, L., Wu, X., Dong, Z., Li, X., Yi, S. ve Li, J. (2014) Physicochemical responses and quality changes of red sea bream (*Pagrosomus major*) to gum arabic coating enriched with ergothioneine treatment during refrigerated storage, *Food Chem*, 160: 82-89.
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K. ve Madden, T.L. (2009) BLAST plus: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10(421): 1.
- Ceylan, Z. ve Mol, S. (2015) Derleme Nisin ve su ürünleri, *Ege J Fish Aqua Sci*, 32(2): 115-120.
- Chahad, O.B., El Bour, M., Calo-Mata, P., Boudabous, A. ve Barros-Velázquez, J. (2012) Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products, *Res Microbiol*, 163 (1): 44-54.
- Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Panagiotakis, N. ve Kontominas, M.G. (2004) Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes, *Food Microbiol*, 21: 351-359.

- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. ve Chikindas, M.L. (2001) Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation, *Int J Food Microbiol.*, 4;71(1):1-20.
- CLSI (2010) *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria* 2nd ed., Approved guideline M45-A2, Clinical Laboratory Standarts Institute, Wayne, Pa.
- Connell, J.J. (1990) Methods of assessing and selecting for quality, 122-150, *In Control of Fish Quality* (3rd ed), Fishing News Books, Oxford.
- Coşkun, F. (2010) Derleme Makale: gıdalarda kullanılan bazı baharat ve baharat özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi, *Akademik Gıda*, 8 (4) 41-46.
- Çaklı, Ş. ve Kışla, D. (2003) Su ürünlerinde mikrobiyal kökenli bozulmalar ve önleme yöntemleri *EgeJFAS*, 20 (1-2): 239-245.
- Çapkın, E. Öztürk, R. Ç., Altınok, İ. ve Karadeniz, S. (2015) Balıklardan izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi, *Ekoloji Sempozyumu 2015/05/06*, Sinop.
- Çapkın, K. (2008) *Kadife balığı (Tinca Tinca L., 1758) köftesinin buzdolabı koşullarında muhafazası sırasında meydana gelen bazı kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler*, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Fen Bilim. Enst., Afyon, 1-8s.
- Çelikyurt, G. ve Arıcı, M. (2008) Gıda koruyucusu olarak mikrobiyal kaynaklı organik asitlerin önemi, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs Erzurum, 1023-1026s.
- Çetinkaya, S., Bilgin, Ş. ve Ertan, O.Ö. (2017) Increasing shelf life of sous-vide cooked rainbow trout by natural antioxidant effective rosemary: Basic quality criteria, *LIMNOFISH-Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 3(2): 69-77.
- Çoban, S. (2013) *Mikrobiyal büyüme kinetiği*, Gıda Gündemi.com, <http://forum.gidagundemi.com>, Aralık 2013, 48s.
- Çolakoğlu, F.A. (2004) Farklı işleme teknolojilerinin Kızılğöz (*Rutilus rutilus*) ve Beyaz Balık (*Coregenus sp.*) mikroflorası üzerine etkisi, *Türk J Vet Anim Sci*, 28: 239-247.

Demirpek, U. (2012) *Antimikrobiyal duyarlılık testleri*, Klimik, <http://www.klimik.org.tr>, Şubat 2012, 34s.

Dikel, Ç. (2012) *Kitosan eklenen jelatin ile kaplamanın çipura (Sparus aurata L., 1758) filetolarının soğukta (+4 °c) depolanması esnasında fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal değişimler üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 71s.

Dolapçı, İ. (2016) *Bakterilerde izolasyon, tanı ve identifikasyon yöntemleri*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Şubat 2016, Ankara, 16s.

EC (2005) *Commission regulation No 2074/2005*, Official Journal of the European Union 338(27).

EİB (2019) *Sektörel Değerlendirme Raporu*, Ege İhracatçı Birlikleri, Su Ürünleri ve Hayvansal Mamuller İhracatçıları Birliği, <http://upload.eib.org.tr/20150512/00000000006746.pdf>, Ocak 2019, 5s.

Erdem, Ö. A. ve Çaklı, Ş. (2018) Soğuk muhafaza şartlarında depolanan kültür çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) elektronik burun ve bilgisayarlı resim analizi kullanılarak kalite takibi, Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 15(2): 51 – 58.

FAO (1986) *Food and nutrition paper manuals of food quality control food analysis*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Quality Adulteration and Tests of Identity, Rome.

Field, D., Begley, M., O'Connor, P.M., Daly, K.M., Hugenholtz, F., Cotter, P.D. Hill, C. ve Ross, R.P. (2012) Bioengineered nisin a derivatives with enhanced activity against both gram positive and gram negative pathogens, *Plos One* 7(10): e46884.

Fonnesbech Vogel, B., Venkateswaran, K., Satomi, M. ve Gram. L. (2005) Identification of *Shewanella baltica* as the most important H₂S-producing species during iced storage of Danish marine fish, *Appl Environ Microbiol.*,71(11):6689-97.

Ganguly, S. ve Bordoloi, R. (2014) An insight to the quality parameters in fish processing technology: a review, *Ind. J. Sci. Res. and Tech.*, 2(3):1-3.

- Genç, D. (2019) Muğla'dan 70 ülkeye balık ihraç ediliyor, Anadolu Ajansı, <https://www.aa.com.tr/>, Mayıs 2019, 1s.
- Gerçek, G. (2014) Defne ve kekik yağı eklenen jelatin ile kaplamanın çipura (*Sparus aurata* L., 1758) filetolarının soğukta (+4°C) depolanması esnasında fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal değişimler üzerine etkisi, 5. *Doğu Anadolu Bölgesi Su Ürünleri Sempozyumu*, 31 Mayıs-02 Haziran 2014, Elazığ.
- Ghaly, A.E., Dave, D., Budge S. ve Brooks, M.S. (2010) Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review, *Am. J. Applied Sci.*, 7: 859-877.
- Gharsallaoui, A., Oulahal, N., Joly, C. ve Degraeve, P. (2016) Nisin as a Food Preservative: Part 1: Physicochemical Properties, Antimicrobial Activity and Main Uses, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56 (8): 62-74.
- Giarratana, F., Muscolino, D., Beninati, C., Ziino, G., Giuffrida, A. ve Panebianco A. (2016) Activity of R(+) limonene on the maximum growth rate of fish spoilage organisms and related effects on shelf-life prolongation of fresh gilthead sea bream fillets, *Int J Food Microbiol.* 2016 Nov 21(237):109-113.
- Gram, L. ve Dalgaard, P. (2002) Fish spoilage bacteria – problems and solutions, *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 262–266.
- Gram, L. ve Huss, H.H. (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products, *International Journal of Food Microbiology*, 33: 121-137.
- Grigorakis, K., Taylor, K.D.A. ve Alexis, M.N. (2003) Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*), *Food Chem*, 81: 263–268.
- Gülyavuz, H. ve Ünlüsayın, M. (1999) *Su ürünleri işleme teknolojisi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Eğridir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta.
- Gümüş, T. ve Bursa İ.A. (2015) Eritme peynirinde bazı patojen bakteriler üzerine farklı baharatların inhibisyon etkisi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(03): 18-26.
- Güralp, H. (2012) *Deniz kültür balıklarında görülen bakteriyel patojenlerin teşhisi ve antibakteriyel maddelere duyarlılıklarının belirlenmesi*, Yüksek lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Gürgün, V., ve Halkman, K. (1990) *Mikrobiyolojide sayım yöntemleri* (2. Baskı), Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no 7. Ankara.

Güven, K., Kıvanç, M., Mutlu, M.B., Sarıözlü, N., Demirel, R. ve Yılmaz, M. (2011) *Genel mikrobiyoloji*, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 1961, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1041 ISBN:978-975-06-0649-6, Eskişehir.

Haard, N.F. (1992) Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish, *Food Res Int*, 25: 289-307.

Halkman, A.K. (2005) *Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları* Ed. AK Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.

Halkman, A.K. ve Doğan, H.B. (2000) *Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları*, (2. Baskı), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara.

Hamed, I., Özoğul, F., Özoğul, Y. ve Regenstein, J.M. (2015) Marine bioactive compounds and their health benefits: a review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, 14 (3): 446-465.

Hariggan, W.F. ve McCance, M.E. (1976) *Laboratory methods in food and dairy microbiology*, Academic Press, London, 78-79.

Hisar, A.Ş., Hisar, O. ve Yanık, T. (2004) Balıklarda mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmalar, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4), 261-265.

Hofstetter, S., Gebhardt, D., Ho, L., Gänzle, M. ve McMullen, L.M. (2013) Effects of nisin and reutericyclin on resistance of endospores of *Clostridium* spp. to heat and high pressure, *Food Microbiology*, 34(1): 46-51.

Huss, H.H. (1995) *Quality and quality changes in fresh fish*, Food and Agriculture Organization Fisheries Technical Paper, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome.

Ibrahim, S.A., Dharmavaram, S.R., Seo C.W. ve Shahbazi, G. (2003) Antimicrobial activity of *Bifidobacterium longum* (NCFB 2259) as influenced by spices, *Internet Journal of Food Safety*, 2: 6-8.

ICMSF (1986) *Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications* International Commission on Microbiological Specifications for foods, Microorganisms in Foods, University of Toronto Press., Vol 2. Toronto, Canada.

ISO (2017) *Microbiology of food chain – Horizontal method for the determination of *Vibrio* spp.*, International Standard, ISO 21872-1, June 2017, 11s.

Iturrida, L. ve Olabarrieta, I. (2012) Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against *Listeria innocua* and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films, *Int. J. Food Microbiol*, 158 (1): 58-64.

İlkimen, H. ve Gülbandilar, A. (2018) Lavanta, ada çayı, kekik ve papatya ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 48(4):241-246.

JECFA (2002) *Oxytetracycline*, Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, <http://apps.who.int/>, 2002, 1s.

Kaktcham, P.M., Piame, L.T., Sileu, G.M.S., Kouam, E.M.F., Temgoua, J., Ngoufack, F. Z. ve Pérez-Chabela, M. (2019) Bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 3MT isolated from freshwater Nile Tilapia: isolation, safety traits, bacteriocin characterisation, and application for biopreservation in fish pâté, *Archives of Microbiology*, <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01690-4>.

Kartal, M.Y. (2018) *Muğla tarım ve hayvancılık sektör yatırım raporu*, Muğla Yatırım Destek Ofisi, Temmuz 2018, 40s.

Kater, A. (2006) Türkiye’de ruhsatlı normal ve uzun etkili oksitetrasiklin müstahzar prospektüslerinin farmakokinetik ve farmakodinamik bilgiler yönünden incelenmesi, Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi, T. C. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, 43s.

Katoh, K., Asimenos, G. ve Toh, H. (2009) Multiple alignment of DNA sequences with MAFFT, *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis*, 39–64.

Kaya, S., Çetin, E.S., Arıkan, S., Tetik, T., Kesbiç, H. ve Yaşar, Sulhaddin (2007) Tavuklardan izole edilen *E.coli*, *Klebsiella* ve Enterokoklarda antibiotik duyarlılık durumları, *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 14(2): 24-27.

- Keegan J. ve O'Leary E. (2014) Primary versus secondary metabolites of microorganisms, *BT4: Module BE421*, Lecturer: Donal OShea.
- Kılınç, B. ve Yavuz, A.B. (2011) Farklı laktik asit konsantrasyonlarının 4°C'de depolanan alabalık filetolarının mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri, *BİDAB*, 4 (1): 31-36.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences, *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111–120.
- Kocatepe, D. ve Turan, H. (2018) Derleme su ürünleri işleme teknolojisinde kullanımı yasal olan gıda katkı maddelerinin değerlendirilmesi, *Uluslararası Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1(1): 78-96.
- Koutsoumanis, K. ve Nychas, G.J.E. (2000) Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life prediction, *Int. J. Food Microbiol*, 60 (2–3), 171-184.
- Kurt, A. ve Akyüz, N (1984) Van otlu peynirin yapılu ve mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal nitelikleri, *Gıda*, 9(3): 141-146.
- Kyranas VR, Lougovois VP, Valsamis DS. 1997. Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Intl J Food Sci Technol* 32:339–47.
- Lee, J.S., Damte, D., Lee, S.J., Hossain, M.A., Belew, S., Kim, J.Y., Rhee, M.H., Kim, J.C. ve Park, S.C. (2015) Evaluation and characterization of a novel probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 isolated from Japanese eel (*Anguilla japonica*) for its use in aquaculture, *Aquaculture Nutrition*, 21(4): 444-456.
- Liu, Q., Zhang, M., Bhandari, B., Xu, J. ve Yang C. (2020) Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products, *Food Control*, 107(March 2019) (2020): 1-7.
- Luo, M.R. (2006) Applying colour science in colour design, *Optics & Laser Tech*, 38: 392-398.

- Madigan M.T. ve Martinko J.M., 2012. Brock Mikrobiyoorganizmaların Biyolojisi. 11. Baskı, Palmiye Yayıncılık, Ankara.
- Manthey, M., Karnop, G. ve Rehbein, H. (1988) Quality changes of European catfish from warm-water aquaculture during storage ice, *Int J Food Sci Tech*, 23: 1-9.
- Marco, P.D., Petochi, T., Marino, G., Priori, A., Finoia, M.G., Tomassetti, P., Porrello, S., Giorgi, G., Lupi, P., Bonelli, A., Parisi, G. ve Poli, B.M. (2017) Insights into organic farming of European sea bass *Dicentrarchus labrax* and gilthead sea bream *Sparus aurata* through the assessment of environmental impact, growth performance, fish welfare and product quality, *Aquaculture*, 471: 92-105.
- Maturin, L.J. ve Peeler, J.T. (2001) *Aerobic plate count*, Bacteriological analytical manual, FDA.
- MEB (2012) *Gıda teknolojisi duyuşal test teknikleri*, MEGEP Modülü 541GI0094, Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, 51s.
- Mol, S. ve Ceylan, Z. (2011) Su ürünleri ve ışınlama teknolojisi, *Dünya Gıda Dergisi*, 2011:10.
- Murray, J. ve Burt, J.R. (2011) *The composition of fish*, Torry advisory note, Ministry of Technology, Torry Research Station, No:38.
- Navarro-Segura, L., Ros-Chumillas, M., López-Cánovas, A. E., García-Ayala, A. ve López-Gómez A. (2019) Nanoencapsulated essential oils embedded in ice improve the quality and shelf life of fresh whole seabream stored on ice, *Heliyon*, 5(6):2-10.
- Nigro, O.D. ve Steward, G.F. (2015) Differential specificity of selective culture media for enumeration of pathogenic vibrios: Advantages and limitations of multi-plating methods, *J Microbiol Methods*, 111: 24-30.
- Onbaşılı, D. ve Aslım, B. (2011) *Pseudomonas* Cinsi Bakterilerin Biyoteknolojik Açıdan Önemli Bazı Sekonder Metabolitleri”, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 09 (2): 25-34.
- Öksüztepe, G., Çoban, E.Ö. ve Güran, H.Ş. (2010) Sodyum laktat ilavesinin taze gökkuşığı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* w.) yapılan köftelere etkisi, *Kafkas Univ Vet Fak*, 16: 65-72.

- Özaras, R., Tabak, F. ve Öztürk, R. (2002) Antibiyotikler III, İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişiminde Toplumdan Edinilmeyen Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31:s. 55-82.
- Özdemir, E. (2010) Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*-Walbaum 1792) bazı antibiyotik kalıntılarının saptanması, Doktora Tezi, T. C. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, 75s.
- Özel, B. ve Şimşek, Ö. (2017) Nisinin sinerjistik antimikrobiyel etkisi, *Akademik Gıda*, 15 (3): 288-299.
- Özyurt, G., Özkütük, A.S., Polat, A. 2010. "Capability of the Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the oxidative stability of cooked sea bream (*Sparus aurata*) during frozen storage, *J Verbrauch Lebensm*, 6: 167-174.
- Parlapani, F.F. ve Boziaris I.S. (2016) Monitoring of spoilage and determination of microbial communities based on 16S rRNA gene sequence analysis of whole sea bream stored at various temperatures. *LWT - Food Science and Technology*, 66: 553-559.
- Parlapani, F.F., Mallouchos, A., Haroutounian, S. ve Boziaris, I.S. (2014) Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions, *Int J Food Microbiol*, 189: 153-163.
- Parlapani, F.F., Meziti, A., Kormas K.A. ve Boziaris, I.S. (2013) Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis, *Food Microbiol*, 33: 85-89.
- Parlapani, F.F., Michailidou, S., Pasentsis, K., Argiriou, A., Krey, G. ve Boziaris, I.S. (2018) A meta-barcoding approach to assess and compare the storage temperature-dependent bacterial diversity of gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) originating from fish farms from two geographically distinct areas of Greece, *International Journal of Food Microbiology*, 278: 36-43.
- Pereira, J.O., Soares, J., Monteiro, M.J.P., Gomes, A. ve Pintado, M. (2018) Impact of whey protein coating incorporated with Bifidobacterium and Lactobacillus on sliced ham properties, *Meat Sci*, 139: 125-133.

- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. ve Bevilacqua, A. (2017) *Microbial spoilage of foods: Fundamentals*, The Microbiological Quality of Food Foodborne Spoilers (Ed. Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M.) WoodHead Publishing, UK.
- Reynisson, E. (2009) *Rapid quantification of specific spoilage organisms(SSOs) in fish using real-time PCR*, TAFT, Copenhagen, 16s.
- Rigos, G., Nengas, I. ve Alexis, M. (2006) Oxytetracycline (OTC) uptake following bath treatment in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), *Aquaculture*, 261(4): 1151-1155.
- Saghaei, S. (2014) Farklı saklama şartlarında muhafaza edilen oksitetrasiklin, enrofloksasin, sülfonamid–trimetoprim ve levamizol içeren veteriner müstahzarlarının orjinal ve açılmış şekillerindeki etkin madde düzeyi, Doktora Tezi, T.C. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 157s.
- Sallam, I.K. (2007) Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *Food Control*, 18: 566-575.
- Scarano, C., Piras, F., Viridis, S., Ziino, G., Nuvoloni, R., Dalmaso, A., De Santis, E.P.L. ve Spanu, C. (2018) Antibiotic resistance of *Aeromonas* ssp. strains isolated from *Sparus aurata* reared in Italian mariculture farms, *Int J Food Microbiol*, 284: 91-97.
- Schormüller, J. (1968) *Handbuch der lebensmittel chemie* (Band III/2 Teil), Tierische Lebensmittel Eier, Fleisch, Buttermilch, Berlin: Springer Verlag Heidelberg.
- Schuhmacher, R., Krska, R., Weckwerth, W. ve Goodacre, R. (2013) Metabolomics and metabolite profiling, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(15), 5003–5004.
- Serdaroğlu M. ve Deniz E.E. (2001) Derleme: Balıklarda ve bazı su ürünlerinde trimetilamin (TMA) ve dimetilamin (DMA) oluşumunu etkileyen koşullar, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 18(3-4): 575 – 581.
- Serdaroğlu, M. ve Barış, P. (2012) Et ve et ürünlerinde biyokoruyucuların kullanımı, Gıda Teknolojisi Haber, <http://www.gidateknolojisi.com.tr/haber>, 2012, 1s.

- SGB (2019) *Tarım ürünleri piyasaları su ürünleri*, SGB Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr>, Temmuz 2019, 4s.
- Sidhu, P. ve Nehra, K. (2017) Bacteriocin-nanoconjugates as emerging compounds for enhancing antimicrobial activity of bacteriocins, *Journal of King Saud University – Science*, 2017, 11s.
- Soyer A. (1999) Balıkta avlanma sonrası meydana gelen biyokimyasal değişimler, *Gıda* 24(1): 33-39.
- Sun, Y., Sriramajayam, K., Luo, D. ve Liao, D. J. (2012) A quick, cost-free method of purification of DNA fragments from agarose gel, *J Cancer*, 22, 93–95.
- Susever S. (2016), *Mikrobiyolojiye giriş mikroorganizmaların yapısı ve sınıflandırılması*, Yakın Doğu Üniversitesi, <http://docs.neu.edu.tr>, Ekim 2016, 58s.
- Şanlı, T. (2019) Mikrobiyolojinin tarihçesi ve gelişimi, Ankara Üniversitesi, <http://cv.ankara.edu.tr/>, 15s.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. ve Kumar, S. (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0., *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Tangüler, H. ve Erten H. (2006) Propiyonik asit bakterileri ve bakteriyosin üretimi, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T. ve Dugan T.L. (1960) A distillation method for quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 37: 44-48.
- Taş, E. ve Erginkaya, Z. (2008) Bazı probiyotik laktik asit bakterilerinin *Escherichia coli* O157:H7 üzerine inhibisyon etkisi, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 877-880s.
- Taşkaya, L., & Yaşar, E. 2018. Determination of some quality proper ties of "hamsi kaygana" prepared with different additives. *Food Science & Nutrition*, 6(2), 483–491.

Taşkaya, L., Chen, Y., & Jaczynski, J. (2010). Color improvement by titanium dioxide and Its effect on gelation and texture of proteins recovered from whole fish using isoelectric solubilization/precipitation. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 401–408.

TKB, (2003) *Su ürünleri, kanatlı hayvan ve etleri, bal ve çiğ sütte kalıntı izleme genelgesi*, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın 09.06.2003 tarih ve 2003/33 sayılı genelgesi, 23397 sayılı Resmi Gazete.

TOB, 2019., *Su ürünleri istatistikleri*, T.C. Tarım Ve Orman Bakanlığı, <https://www.tarimorman.gov.tr>, 21s.

Tryfinopoulou, P., Tsakalidou, E. ve Nychas, G-J.E. (2002) Characterization of *Pseudomonas spp.* associated with spoilage of gilt-head sea bream stored under various conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1): 65-72.

Tsironi, T.N. ve Taoukis, P.S. (2010) Modeling microbial spoilage and quality of gilthead seabream filets: combined effect of osmotic pretreatment, modified atmosphere, packaging, and nisin on shelf life, *Journal Of Food Science*, 75(4): 243-251.

Turan, H., Kaya, Y. ve Sönmez, G. (2006) Balık etinin besin değeri ve insan sağlığındaki yeri, *Ege Üniv Su Ürün Derg.*, 23(1/3), 505-508.

Turtura, G. C., Massa, S. ve Ghazvinizadeh, H. (1990) Short communication antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from carcasses of commercially slaughtered chickens, *International Journal of Food Microbiology*, 11: 351-354.

TÜİK (2019a) *Su ürünleri* <http://tuik.gov.tr>, Haziran 2019, 1s..

TÜİK (2019b) Dinamik sorgulama, T.C. Türkiye İstatistik Kurumu Başkanlığı.

Ueno, R., Sangrungruang, K., Miyakawa, M. (1999). A simplified method for the determination of several fish drugs in edible fish and shrimp by high-performance liquid chromatography, *Food Res. Int.* 32:629-633.

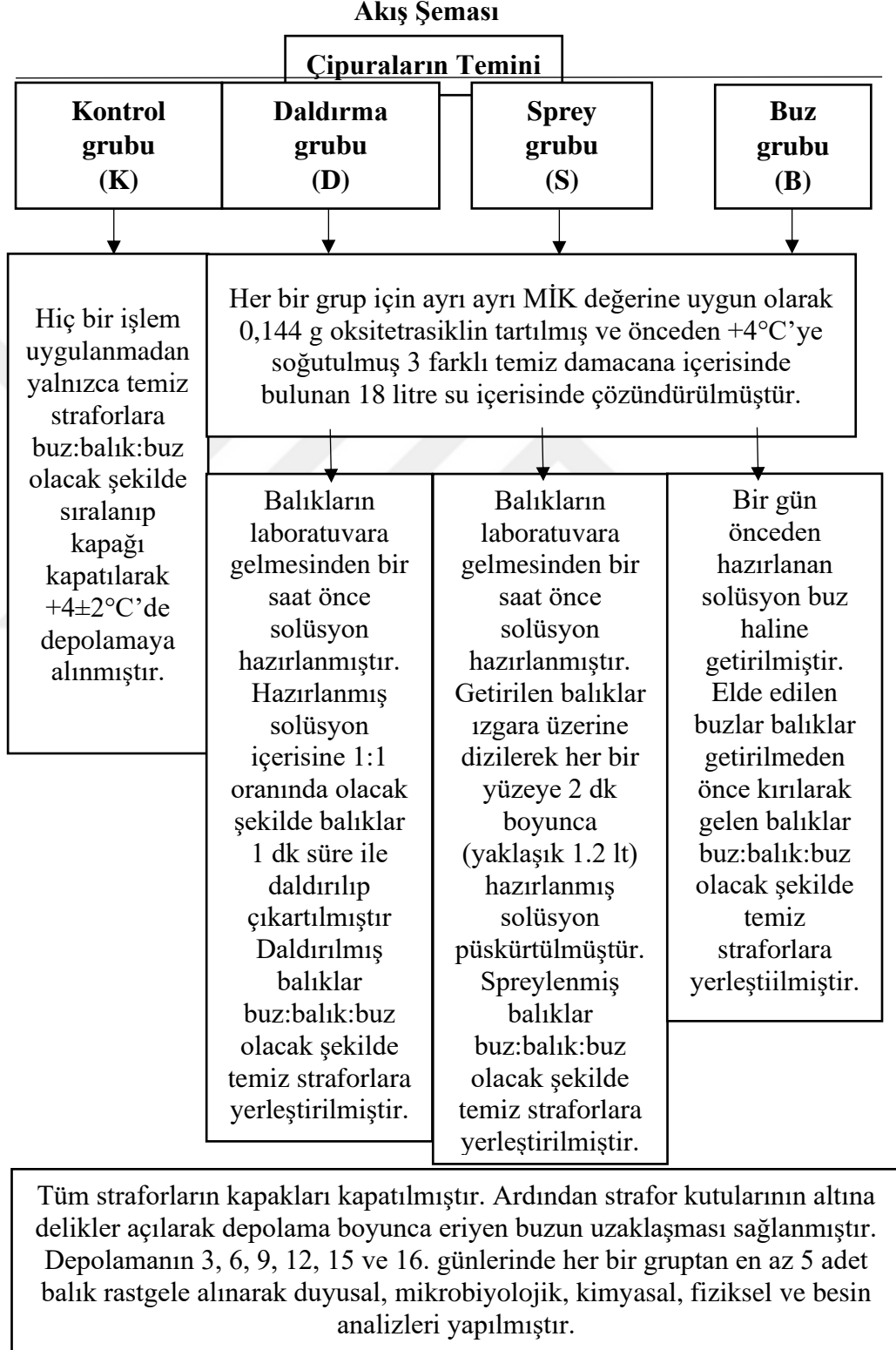
Uğur, A., Ceylan, Ö. ve Aslım, B. (2012) Characterization of *Pseudomonas spp* from seawater of the southwest coast of Turkey, *J. Biol. Environ. Sci.*, 6(16), 15-23.

- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (1999) *Gıda mikrobiyolojisi* (1. Basım), Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Üretener, G. (2009) Yüksek hidrostatik basınç uygulamasının balık kalitesi ve raf ömrü üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 111s.
- Varlık C., Erkan N., Özden, Ö. Mol, S. ve Baygar, T. (2004) *Su ürünleri işleme teknolojisi*, İstanbul Üniversitesi Yayın No:4465, Su Ürünleri Fakültesi No: 7, ISBN:975-404-715-4,491s.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., ve Gün, H. (1993) Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:17, İstanbul, 174 s.
- Vorbach, B.S., Chandasana, H., Derendorf, H. ve Yanong, R.P.E. (2019) Pharmacokinetics of oxytetracycline in the Giant Danio (*Devario aequipinnatus*) following bath immersion, *Aquaculture*, 498: 12–16.
- Williams, G. C. ve Delves-Broughton, J. (2003) *Nisin*, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), 4128-4135s.
- Wilson, K.H., Blitchington R.B. veGreene R. C. (1990) Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction, *J. Clin. Microbiol.*, 28:1942-1946.
- Yazdi, F. T., Behbahani, B. A. ve Mortazavi, A. (2014) “Investigating the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Lavandula stoechas* L. and *Rosmarinus officinalis* L. extracts on pathogen bacterias “in vitro”, *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*, 5(2): 91-101.
- Yıldırım, Y. (2010) Antimikrobiyel duyarlılık testleri; ilgili metodlar, sonuçların yorumlanması ve kanatlılarda bulunan bazı bakterilerdeki dirençlilik *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 117-130 s.
- Yılmaz, M., Yılmaz, Ş., Bostancı, D. ve Polat, N. (2007) Bafra Balık gölleri’nde yaşayan havuz balığı (*Carassius Gibelio*, Bloch 1782)’nın beslenme rejimi”, *Journal of FisheriesSciences.com*, 1 (2):48-57.
- Yüksel, E. ve Diler, A. (2019) Ankara İlinde su ürünleri tüketim tercihlerinin belirlenmesi, *Aydın Gastronomy*, 3 (1):11-21.

Zhang, X., Sun, G., Xiao, X., Yuanrui Liu, Y. ve Zheng, X. (2016) Review: Application of microbial TTIs as smart label for food quality: Response mechanism, application and research trends, *Trends in Food Science & Technology*, 51: 12-23.



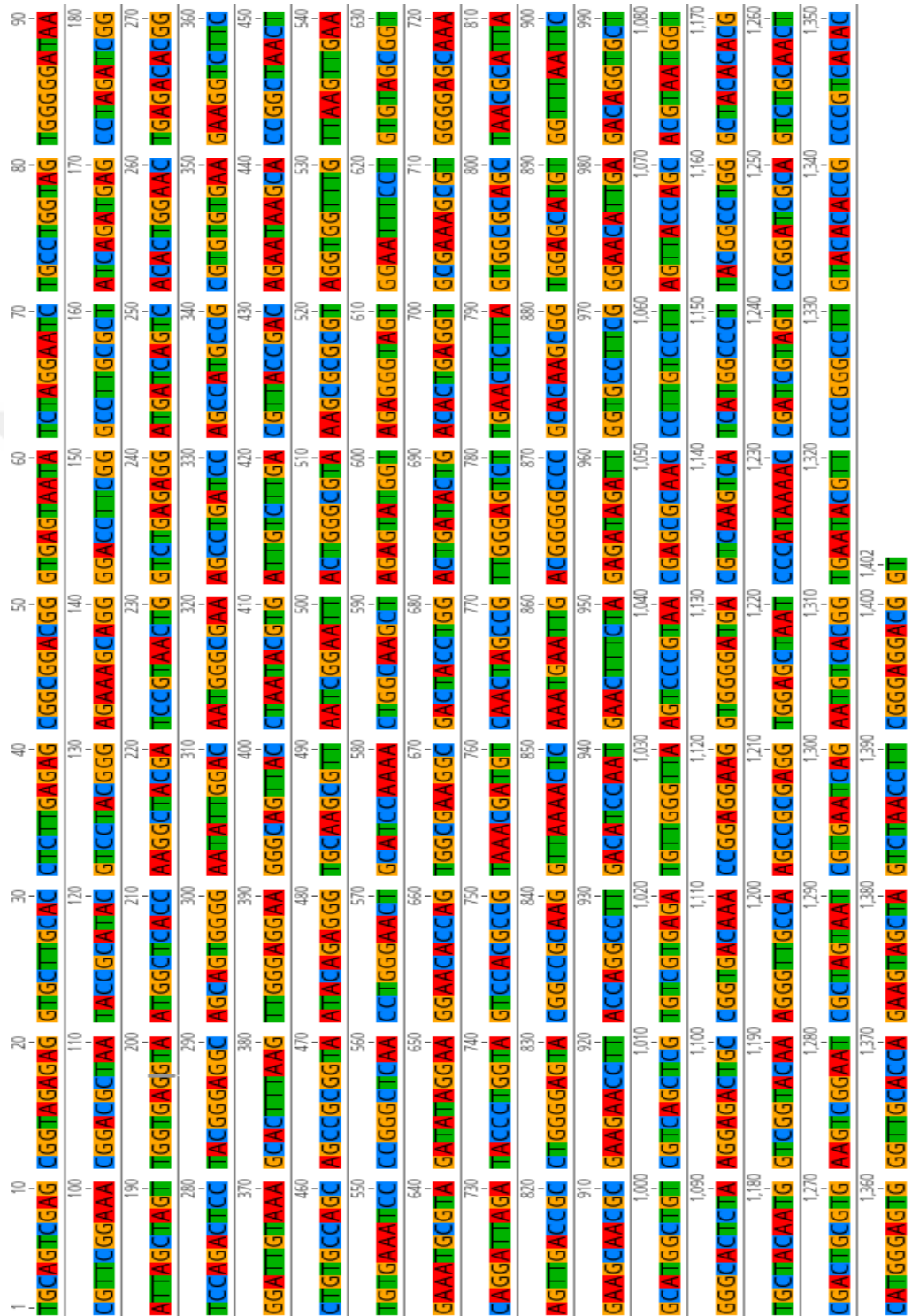
EK. A: Grupların Hazırlanma Akış Şeması



EK. B: Oksitetrasiklin Metabolit Solüsyonun Zamana Bağlı pH Değerleri

	Sıcaklık (°C)	pH
İlk ölçüm	32.2	7.15
30 dakika	22.2	7.30
1 saat	16.3	7.13
2 saat	10.1	7.22
4 saat	6.1	7.30
8 saat	5.2	7.36
12 saat	5.0	7.37
24 saat	5.3	7.33
48 saat	6.9	7.68
96 saat	4.6	7.65

EK. C: *Pseudomonas fragi* 16S rDNA Sekans Dizilimi



EK. D: *Pseudomonas fluorescens* 16S rDNA Sekans Dizilimi



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad :Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI

Uyruk : T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi: Aydın 28/04/1986

Medeni Hali :Evli

Telefon : 0 544 687 64 15

E-posta : hatice_gokce@mu.edu.tr

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Süleyman Demirel Anadolu Lisesi	2004
Lisans	Trakya Üniversitesi	2008
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2013

İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2008-2009	Tekirdağ	Gıda Mühendisi
2011-	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	Arş. Görevlisi

Yabancı Dil(ler)

İngilizce YÖKDİL:90 (2018)

Yayımlar

SCI veya SCI Expanded, SSCI, AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan tam makale

1- 2018. The effect of lavender (*Lavandula stoechas*) on the shelf life of a traditional food: hamsi kaygana. *Food Science and Technology*

2- 2017. Combined effect of orange peel essential oil and gelatin coating on the quality and shelf life of shrimps. *JOURNAL OF FOOD SAFETY AND FOOD QUALITY*

3- Alparslan.,Y., Yapıcı.,H., Metin.,C., Baygar.,T., Günlü.,A., Baygar.,T., 2016. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. *LWT - Food Science and Technology*

4- Alparslan.,Y., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Metin.,C., Baygar.,T., 2014. Determination of meat quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) sold at different selling areas. Emirates Journal of Food and Agriculture

5- Alparslan.,Y., Baygar.,T., Baygar.,T., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Metin.,C., 2014. Effects of Gelatin-Based Edible Films Enriched with Laurel Essential Oil on the Quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets During Refrigerated Storage. Food Technology and Biotechnology

SCI veya SCI-Expanded, SSCI, AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayımlar

1- Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Yapıcı.,S., Ağdamar.,S., Acar.,Ü., 2015. Occurrence of the Erythrean invader *Pteragogospelycus* Randall, 1981 (Teleostei: Labridae) in the eastern Aegean sea. Journal of Applied Ichthyology

SCI veya SCI Expanded, SSCI, AHCI dışındaki uluslararası indexler tarafından taranan dergilerde yayımlanan tam makale

1- Alparslan, Yunus, Metin, Cansu, Hasanhocaoğlu Yapıcı, Hatice, Baygar, Taçnur 2017. Determination of sensory, chemical and microbiological quality of different mullet (*Mugilidae*) species caught from Köyceğiz Lagoon. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

2- Taşkaya.,L., Alparslan.,Y., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Metin.,C., Baygar.,T., 2016. Determination of shelf life of Gibel Carp (*Carassius gibelio*, Bloch 1782) marinades in different sauces stored at 4 °C. . Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

3- Yabancı.,M., Alparslan.,Y., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Yapıcı.,S., Yozukmaz.,A., 2016. Determination of Heavy Metal Content in Commercial Marine Fish Hunted From South East of Aegean Sea and Their Potential Risk For Public Health. Caspian Journal of Environmental Sciences (CJES)

4- Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Baygar.,T., Alparslan.,Y., Metin.,C., 2015. Günlük Ağacı (*Liquidambar orientalis*) Yapraklarından Elde Edilen Ekstraktın Kültür Levreğinin (*Dicentrarchus labrax*) Raf Ömrü Ve Et Kalitesi Üzerine Etkisi. Journal of Food and Health Science

5- Alparslan.,Y., Baygar.,T., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Metin.,C., 2013. Effects of scale and skin on chemical and sensory quality of marinated sea bass filets (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) in sunflower oil during storage at 4°C. Emirates Journal of Food Agriculture

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanmış tam makale

1- Alparslan.,Y., Hasanhocaoğlu Yapıcı.,H., Baygar.,T., 2013. Ortam Şartlarında (23 ±4°C) Birden Fazla Uygulanan Çözündürme İşleminin Levrek Balığı (*Dicentrarchus labrax*, L., 1758) nın Et Kalitesine Etkisi. Journal of FisheriesSciences.com

Uluslararası kongre, sempozyum, panel, çalıştay gibi bilimsel, sanatsal toplantılarda sözlü olarak sunulan ve tam metin olarak yayımlanan bildiri

1- 2018. The Evaluation of Physico-Chemical and Microbiological Water Quality of İztuzu Beach (*Caretta caretta* Beach).

2- 2018. Total phenolic Components and Antioxidant Properties of Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed Oil Combined with Gelatin and Effect on Peroxide Value of Shrimp.

Uluslararası kongre, sempozyum, panel, çalıştay gibi bilimsel, sanatsal toplantılarda özet metin olarak yayımlanan bildiri

1- 2018. The Effect of Repeated Freeze-thaw Cycles Process on the Fattyacid Profile of Seabream (*Sparus aurata*).

- 2- 2018. Risk Assessment of Consumer Health by Determination of Heavy Metals Concentrations in Marinated and Smoked Seafood.
 - 3- 2018. Evaluating the Effects of Freezing and Thawing Under Different Conditions on the Skin and Meat Color of Seabass.
 - 4- 2018. The Effect of Freezing and Thawing Under Different Conditions on the Skin and Meat Color of Seabream.
 - 5- 2017. Fish Meatball From By-product of Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.1758) Fillet Processing..
 - 6- 2017. Nutritional composition of a green macroalgae and ist usage potantial as seaweed tea.
 - 7- 2017. Usage of bacteria and their metabolites in seafood processing technology.
 - 8- 2017. Akıllı Ambalajların Su Ürünlerinde Kullanımı..
 - 9- 2017. Su Ürünleri Gıda Kalitesi Üzerine Patojenik Bakterilerin Etkisi ve Moleküler İdentifikasyon Yöntemleri..
 - 10- 2017. Yenilebilir Jelatin ve Esansiyel Yağların Su Ürünlerinde Kullanımı..
 - 11- 2017. Farklı Çözündürme Metotlarının Jelatin ile Glaze Edilmiş Karideslerin Kalitesi Üzerine Etkisi..
 - 12- 2016. Proximate and Fatty Acid Composition of Mullet Species Caught from Köyceğiz Lagoon.
 - 13- 2016. Effects of Orange Peel Citrus *sinensis* L Osbeck Essential Oil Combined with Gelatin Coatings On the Quality and Shelf Life of Shrimp *Parapenaeus longirostris* L 1846.
 - 14- 2016. Do Not Afraid Of Jellyfish Blooms Use It For Healthy Eating.
 - 15- 2016. Evaluating The Industrial Waste Products Of Orange A Natural Preservative On Shrimp *Melanosis*.
 - 16- 2014. Production Of Meatball Of Silver Crucian Carp *Carassius gibelio* Bloch 1782 And Sensory Evaluation Of The Product.
 - 17- 2013. Su Ürünleri Sektöründe Gıda Güvenliği.
 - 18- 2013. Farklı Soslarda Buzdolabı Şartlarında 4 1 C Depolanan Gümüşi Havuz Balığı *Carassius gibelio* Bloch 1782 Marinatlarında Meydana Gelen Kalite Değişimleri ve Raf Ömrünün Belirlenmesi.
 - 19- 2013. Balığa Güvenmiyor Musunuz.
 - 20- 2013. Determination Of Meat Quality Of Sea Bass *Dicentrarchus labrax* Sold At Different Salesroom Of Fish İn Mugla Province Turkey.
 - 21- 2013. Antioxidant and seafood.
 - 22- 2013. Isolation Of *Listeria Monocytogenes* From Bivalve Molluscs And Sea Waters.
- Ulusal kongre, sempozyum, panel, çalıştay gibi bilimsel, sanatsal toplantılarda özet metin olarak yayımlanan bildiri**
- 1- 2015. Portakal Yaprağı Esansiyel Yağı İçeren Jelatin Film Kaplamaların Karideslerin Kalitesi ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi.
 - 2- 2015. Denizel Kaynaklı Kozmesötikler.
 - 3- 2015. Balıklarda Mikrobiyolojik Bozulma Ve Gıda Zehirlenmeleri.
 - 4- 2015. Sürdürülebilir Balıkçılık Yönetimi Ve Gıda Güvenliği Açısından Eko etiket Uygulamaları.
 - 5- 2013. Bazı Makro Alglerin Endüstriyel Alanda Değerlendirilmesi.

6- 2013. Günlük Ağacından Liquidambar orientalis Elde Edilen Sığılanın Kültür Levreğinin Dicentrarchus labrax Raf Ömrü ve Et Kalitesi Üzerine Olan Etkisinin Belirlenmesi.

TÜBİTAK, TÜBA, DPT, KOSGEB, Bakanlıklar vb. kamu kurumları veya özel kuruluşlarca desteklenen ve tamamlanan proje yürütücülüğü

1- Proje Durum: Devam Ediyor. Projedeki Görev: Yürütücü. Proje Türü: TÜBİTAK PROJESİ. Mikrobiyolojik Metabolitlerin Çipuranın Spesifik Bozulma Organizmaları ve Raf Ömrü Üzerine Etkileri. 2019-

TÜBİTAK, TÜBA, DPT, KOSGEB, Bakanlıklar vb. kamu kurumları veya özel kuruluşlarca desteklenen ve tamamlanan projede görev (araştırmacı, eğitmen, danışman vb, olarak)

1- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Bursiyer. Proje Türü: TÜBİTAK PROJESİ. Üzüm Çekirdeği Yağı İçeren Jelatin Solüsyonu ile Glaze Edilmiş Karideslerin Kalite ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. 2015-2017

2- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Bursiyer. Proje Türü: TÜBİTAK PROJESİ. Köyceğiz Dalyanındaki Kefal Balığı (*Mugilidae*) Türlerinin Et Kalitesi ve Besin Kompozisyonunun Belirlenmesi. 2015-2016

Bilimsel Araştırma Projelerinde (BAP) görev alma (araştırmacı, eğitmen, danışman, vb. olarak)

1- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Araştırmacı. Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. İztuzu Dalyanı'nın Fiziko-Kimyasal ve Mikrobiyal Su Kalitesinin Belirlenmesi. 2016-2017

2- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Araştırmacı. Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. Çipuranın (*Sparus aurata*) Spesifik Bozulma Organizmalarının Tespit Edilmesi. 2016-2018

3- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Araştırmacı. Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. Çipura (*Sparus aurata* L. 1758) Balığı Üzerine Uygulanan Pişirme Yöntemleri ve Depolanmasına Bağlı Kalite değişimleri. 2015-2017

4- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Araştırmacı. Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. Yöresel "Hamsi Kaygana"nın Üretimi ve Üretiminde Kullanılan Kurutulmuş Ot ve Baharatların Raf Ömrü Üzerine Etkisi. 2013-2014

5- Proje Durum: Tamamlandı. Projedeki Görev: Araştırmacı. Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. Kültür Sariağz Balığı (*Argyrosomus regius*)'nın Ölüm Sonrası Kas Proteinlerindeki Değişimlerinin SDSPAGE Kullanılarak Belirlenmesi. 2013-2016